

Friedrich C. Simmel

DNA-Nanotechnologie – Nanostrukturen und molekulare Maschinen aus DNA

1. Einleitung

Für Außenstehende kann der Begriff "DNA-Nanotechnologie" zunächst befremdlich wirken: Desoxyribonukleinsäure (DNA) – das Erbmolekül – und Nanotechnologie? Vielleicht klingt er sogar ein wenig besorgniserregend, deutet er doch eine Vermischung von 'Lebendem' und 'Technischem' an und das noch dazu auf der Nanoskala! Es gibt aber gute Gründe für das Zusammenführen beider Begriffe und deren anscheinend unterschiedliche Gegenstands- und damit Forschungsbereiche.

Zunächst also: Was ist Nanotechnologie? Wie der Name schon andeutet, beschäftigt sich dieser Forschungsbereich mit Objekten in der Größenordnung einiger Nanometer ($1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$). Die Gründe für das Interesse an dieser Längenskala sind vielfältig. Einerseits liegt die Nanoskala oberhalb der atomaren Skala (in der Größenordnung von $0,1 \text{ nm}$), andererseits ist sie noch weit von der makroskopischen Skala entfernt, auf der man die Granularität der Materie nicht bemerkt und daher mit effektiven oder gemittelten physikalischen Größen arbeiten kann. Typische Nanoeffekte ergeben sich aus dem Zusammenspiel unterschiedlicher Wechselwirkungen und Kräfte auf der Nanoskala. So sind in Nanopartikeln noch immer Quanteneffekte nachweisbar, das mechanische Verhalten kleiner Objekte wird dominiert von starker Brownscher Bewegung, und die Eigenschaften von Oberflächen sind häufig wichtiger als die des Inneren von Nanoobjekten. Von der gezielten Ausnutzung und Kombination solcher Nanoeffekte erhofft man sich eine Vielzahl von Anwendungen in verschiedensten Bereichen – von der Elektronik über die Materialwissenschaften bis hin zur Medizin.

Ein wesentliches Problem ist die Herstellung solcher nanometergroßen Strukturen. Einerseits können Chemiker immer größere und komplexere Moleküle synthetisieren und damit gewissermaßen 'von unten' ("down top") in den Nanometerbereich vordringen, andererseits können Physiker und Ingenieure makroskopische Objekte mit physikalisch-chemischen Verfahren verkleinern und sich damit dem Nanobereich 'von oben' ("top down") nähern. Dennoch ist es bislang keineswegs möglich, beliebige Nanostrukturen herzustellen, da sich die Herstellungsverfahren selbst an den physikalischen und chemischen Eigenschaften der zu strukturierenden Materialien orientieren müssen.

Die Bionanotechnologie – zu der die DNA-Nanotechnologie als Teilbereich zu zählen ist – betrachtet die Biologie als Inspiration und Ideengeber für eine alternative Form der Nanotechnologie. Ist nicht jede lebende Zelle geradezu eine Nanofabrik, fähig zur Herstellung komplexer chemischer Verbindungen, aber auch fähig zu Wachstum, Bewegung und sogar zur Wahrnehmung ihrer Umwelt? Im Gegensatz insbesondere zu den physikalischen Methoden der Nanotech-

nologie beruhen biologische Zellen aber auf vollkommen anderen Bauprinzipien – auf der spontanen Zusammenlagerung von Molekülen ("self-assembly") und der molekularen Selbstorganisation.¹

Jede lebende Zelle enthält eine Vielzahl von Makromolekülen mit speziellen Eigenschaften, die verschiedenen Eigenschaftsklassen zuzuordnen sind: Den Nucleinsäuren DNA und RNA kommt die Aufgabe der Informationsspeicherung, Vervielfältigung und Regulation zu. Lipide sind u.a. Komponenten der Zellmembranen, die die Zellen selbst und auch darin enthaltene Organellen definieren und als Hülle umgeben. Zucker spielen neben ihrer Eigenschaft als Energiespeicher bei der Zell-Zell-Kommunikation eine Rolle. Die Proteine schließlich sind an allen Lebensprozessen beteiligt und gelten Vielen als die zentrale Klasse von Biomakromolekülen. Sie übernehmen strukturelle Funktionen, wie z.B. im Zellskelett, sind aber vor allem als Katalysatoren – als Enzyme – für die Produktion nahezu aller Biomoleküle zuständig. Manche haben regulatorische und sensorische Funktionen, während andere als 'molekulare Motoren' fungieren. Proteine sind Nanoobjekte und erinnern in ihrer Funktion in vielerlei Hinsicht an Maschinen – sie sind de facto also *Nanomaschinen*, wie sie auch der Traum von so manchem Nanotechnologen sind.

Die Biologie inspiriert die Nanotechnologie auf unterschiedlichen Ebenen. Wir können z.B. ganz allgemein fragen, ob wir eine biologische Nanotechnologie entwickeln können, die allein auf (molekularer) Selbstorganisation beruht – und dies könnte im Prinzip auch mit nichtbiologischen Komponenten erreicht werden. Eine andere Frage ist, ob wir biologische Moleküle und Prozesse selbst, u.U. leicht modifiziert, für die Produktion künstlicher Materialien oder die Durchführung nichtbiologischer Aufgaben verwenden können (in dieser Hinsicht überschneidet sich die Bionanotechnologie mit der synthetischen Biologie, mit der sie als deren in vitro-Spielart gelegentlich auch zusammengeworfen wird). Beispielsweise wäre es naheliegend, neuartige Proteine zu entwickeln, die als Enzyme nichtbiologische Reaktionen katalysieren oder als biologisches 'Material' verwendet werden könnten. Tatsächlich werden auch solche Versuche mit einigem Erfolg unternommen. Da aber die Vorhersage von Proteinstrukturen sehr schwierig und deren de novo-Design, von kleinen Peptiden abgesehen, bislang nicht möglich ist, steckt die Protein-Nanotechnologie derzeit noch in den Kinderschuhen [1].

Im Gegensatz zu Proteinen spielen Nucleinsäuren in der heutigen² Biologie kaum eine Rolle als strukturelles Material oder als Katalysatoren, allerdings verstehen wir ihre biochemischen und biophysikalischen Eigenschaften und Wechselwirkungen wesentlich besser. Die DNA-Nanotechnologie nutzt nun dieses Wissen und diese Eigenschaften für die Herstellung bioinspirierter, aber künstlicher Nanosysteme.

2. Von der Entdeckung der Nucleinsäuren zur DNA-Nanotechnologie

2.1 Die Entdeckung der DNA

Nucleinsäuren wurden erstmals im Jahre 1869 von Friedrich Miescher in Tübingen als eigenständige Klasse von biologischen Molekülen identifiziert; ihre Funktion war zunächst unklar [3]. Erst wesentlich später, durch Experimente von Avery, MacLeod und McCarty 1944 sowie von Hersh-

1 Self-assembly – deutsch gelegentlich 'Selbstanordnung' genannt – ist ein Teilaspekt der Selbstorganisation, aber damit nicht identisch. Mit Selbstorganisation werden z.B. auch strukturbildende Nichtgleichgewichtsprozesse, die räumliche Muster oder Oszillationen generieren, etc. bezeichnet.

2 Vgl. aber die so genannte RNA-Welt-Hypothese der präbiotischen Evolution [2]

ey und Chase 1952, wurde nachgewiesen, dass es sich bei den Nukleinsäuren um das Erbmateriale handelt. Mit Hilfe von Röntgenbeugungsexperimenten an kristallinen DNA-Proben von Rosalind Franklin und Maurice Wilkins konnten schließlich James Watson und Francis Crick 1953 die molekulare Struktur der DNA entschlüsseln [4-6].

Demnach sind DNA-Moleküle Polymere, die aus einer Abfolge von Nukleotiden gebildet werden. Jedes Nukleotid besteht aus dem Zuckermolekül Desoxyribose, an dem eine Phosphatgruppe hängt sowie eine Base. Als Basen wiederum treten die vier Moleküle Adenin (A), Cytosin (C), Guanin (G) und Thymin (T) auf. In der berühmten Doppelhelix-Struktur der DNA (Abbildung 1a) winden sich zwei einzelsträngige DNA-Moleküle umeinander, stabilisiert durch die 'Basenpaarungswechselwirkung' – in doppelsträngiger DNA paart sich nämlich (fast) immer ein A(-Nukleotid) auf einem mit einem T auf dem anderen Strang sowie entsprechend ein G mit einem C. Dies resultiert aus dem komplizierten Zusammenspiel von so genannten Stapelwechselwirkungen zwischen aufeinander folgenden Basenpaaren und Beiträgen von Wasserstoffbrückenbindungen sowie elektrostatischen Wechselwirkungen zwischen den Einzelsträngen.

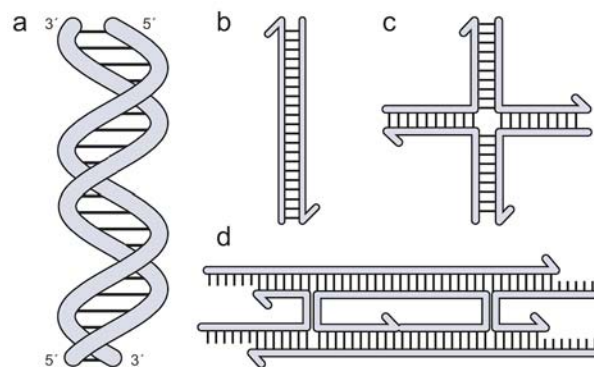


Abb. 1: DNA Struktur

(a) Die Doppelhelix-Struktur der DNA. Zwei DNA-Moleküle mit komplementären Sequenzen können eine doppelhelikale Struktur bilden, in der eine DNA-Base auf einen Strang mit der jeweils komplementären auf dem anderen gepaart ist (Adenin mit Thymin bzw. Guanin mit Cytosin). Die Basenpaare sind durch horizontale schwarze Striche angedeutet. Der Durchmesser der DNA-Doppelhelix ist etwa 2 nm, der Abstand aufeinander folgender Basenpaare 0,34 nm. In einer vollen Windung der DNA-Helix befinden sich etwa 10,5 Basenpaare. 5' und 3' bezeichnen die chemisch unterschiedlichen Enden eines DNA-Stranges – die beiden DNA-Stränge der Doppelhelix verlaufen antiparallel zueinander.

(b) In einer vereinfachten Schreibweise werden DNA-Stränge häufig als Pfeile (vom 5' zum 3'-Ende) dargestellt, ein DNA-Duplex damit einfach als antiparallele Pfeile.

(c) Vier DNA-Moleküle mit geeignet komplementären Sequenzen können eine DNA-Kreuzungsstruktur bilden – eines der strukturellen Grundmotive der DNA-Nanotechnologie.

(d) Durch wiederholten Strangaustausch zwischen zwei parallelen DNA-Duplexen können strukturell steife DNA-Bausteine hergestellt werden – hier eine Double crossover (DX)-Struktur.

Die speziellen Eigenschaften der DNA und ihrer Basenpaarung sind essentiell für ihre biologische Funktion – und sind auch die Grundlage für Anwendungen in der DNA-Nanotechnologie. DNA-Moleküle sind Heteropolymere, d.h. die DNA ist zwar aus den vier Nukleotiden aufgebaut, diese können aber in beliebiger Reihenfolge auftreten. Damit gibt es im Prinzip eine riesige kombinatorische Vielfalt von unterschiedlichen DNA-Sequenzen gleicher Länge – z.B. gibt es etwa 1 Million verschiedene Sequenzen der Länge 10, und bereits 1 Billion (10^{12}) Sequenzen der Länge 20.

Wie wir aus unserem alltäglichen Umgang mit Computern gewohnt sind, können Symbolsequenzen zur Informationsspeicherung und -codierung verwendet werden. Da statt der binären Symbole 0 und 1 bei der DNA vier Symbole (also A,C,G,T) zur Verfügung stehen, beträgt die Speicherkapazität eines einzelnen Basenpaares, salopp gesprochen, 2 Bit. Das menschliche Genom besteht aus 3 Milliarden Basenpaaren und kann mithin 725 MB speichern (die Zahl drückt die potentielle Speicherkapazität aus und sagt leider nichts darüber aus, was diese Information bedeutet). Der Umstand, dass ein DNA-Einzelstrang sich mit einem 'sequenzkomplementären' Strang paaren kann, ist von besonderer Bedeutung für das Ablesen und Kopieren der gespeicherten Information. So dient die Basenabfolge auf einem DNA-Templatstrang auch als Vorlage für die Herstellung neuer DNA-Moleküle oder als Anleitung für die Synthese von RNA-Molekülen. Letztere unterscheiden sich geringfügig in der chemischen Struktur von DNA-Molekülen und spielen eine zentrale Rolle bei der Proteinproduktion sowie bei der Genregulation.

Schon kurz nach der Entdeckung der Doppelhelix und der Basenpaarung begannen Versuche mit synthetisch hergestellter DNA. Die erste Hybridisierungsreaktion (also Bildung einer doppelsträngigen Duplex-Struktur) zwischen künstlichen DNA-Molekülen komplementärer Sequenz wurde 1956 von Alexander Rich beschrieben [7], und in den folgenden Jahren wurde eine überwältigende Menge an Information auch über die chemischen und physikalischen Eigenschaften der DNA gesammelt. Aufgrund dieser Entwicklung ist es heute nicht nur möglich, DNA-Moleküle beliebiger Sequenz mit Hilfe automatisierter Synthesemethoden herzustellen – man kann auch relativ verlässlich wichtige thermodynamische Kenngrößen berechnen, und sowohl die elektrostatischen wie auch mechanischen Eigenschaften des Moleküls sind gut erforscht. Die DNA-Nanotechnologie profitiert von diesem Wissen ungemein, und macht sie daher zumindest gegenwärtig zur am weitesten entwickelten molekularen Nanotechnologie.

2.2 Anfänge der strukturellen DNA-Nanotechnologie

Allein die Bildung einer künstlichen Doppelhelix ist aus dem Blickwinkel der Nanotechnologie interessant. Die DNA-Doppelhelix selbst ist mit 2 nm Durchmesser und einem Basenabstand von ≈ 0.34 nm ein nanoskaliges Molekül (Abbildung 1a und b). Zwei einzelsträngige DNA-Moleküle binden aneinander aber nur, wenn sie entsprechend komplementäre Basensequenzen aufweisen. Die Wechselwirkung zwischen den Molekülen ist also gewissermaßen durch die Sequenz 'programmierbar'. Hinzu kommt, dass einzelsträngige DNA wesentlich flexibler ist als doppelsträngige – aus mechanischer Sicht ist die DNA-Hybridisierung mithin eine Versteifung einer molekularen Komponente.

Allerdings ist die Bildung linearer Molekülstrukturen – also Polymeren, wenn auch von definierter Länge – für die Nanotechnologie nur von begrenztem Nutzen. Für viele Anwendungen wäre es notwendig, die Anordnung nanoskaliger Objekte in zwei oder drei Dimensionen kontrollieren zu können – dafür benötigt man verzweigte Molekülstrukturen. Aus diesem Grunde wird das Geburtsjahr der DNA-Nanotechnologie gern auf das Jahr 1982 gelegt, in dem der US-amerikanische Forscher Nadrian Seeman vorschlug, kreuzförmige DNA-Strukturen für die Realisierung von künstlichen molekularen Gittern zu verwenden [8]. Die Motivation hierfür waren potentielle Anwendungen in der Strukturbiologie: Könnte man nämlich z.B. gezielt Proteine auf einem dreidimensionalen DNA-Gerüst anordnen, so würde dies die kristallographische Strukturaufklärung dieser Proteine erleichtern.

Tatsächlich finden sich Vorbilder für solche DNA-Kreuzstrukturen auch in der Natur. Bei biologischen Prozessen, wie der Rekombination oder der DNA-Reparatur, werden DNA-Stränge zwi-

schen zwei DNA-Duplexen identischer Sequenz ausgetauscht, was am Überkreuzungspunkt in einer vierarmigen Molekülstruktur resultiert – der so genannten Holliday-Kreuzung (Abbildung 1c). Davon inspiriert, konnte Seeman in den 1990er Jahren eine Reihe verzweigter und verknüpfter DNA-Strukturen demonstrieren, z.B. einen molekularen Würfel oder ineinander verwobene molekulare Ringe.

Ein großer Schritt für die noch junge DNA-Nanotechnologie war schließlich die Einführung neuartiger Struktur motive (Abbildung 1d), in denen gleich mehrere Vierarmkreuzungen hinter- und nebeneinander gesetzt wurden [9]. Die dabei entstehenden, mehrfach miteinander verwobenen DNA-Strukturen zeichneten sich durch eine wesentlich größere Steifigkeit aus, als die einfachen Holliday-Kreuzungen. Auf diesen Motiven aufbauend, gelang es Nadrian Seeman in Zusammenarbeit mit Erik Winfree im Jahre 1998 erstmals, in zwei Dimensionen ausgedehnte molekulare Gitter aus DNA zu bauen [10].

Mit ähnlichen Strategien wurde in den folgenden Jahren eine Vielzahl unterschiedlicher molekularer Gitter demonstriert, aber auch eine Reihe von diskreten molekularen Objekten, wie platonische und archimedische Körper [11]. Einigen Forschern, wie z.B. dem Arbeitskreis um Luc Jaeger, gelang es auch, Gitter und Objekte aus RNA-Molekülen zu realisieren [12, 13] – RNA ist chemisch weniger stabil und auch insgesamt schwerer zu handhaben – dafür könnten RNA-Objekte theoretisch auch von lebenden Zellen hergestellt werden. Als Schritt hin zu möglichen Anwendungen wurden – der ursprünglichen Vision Nadrian Seemans folgend – DNA-Gitter auch bereits zur Anordnung von Nanopartikeln oder Proteinen verwendet. Ein Meilenstein war im Jahre 2009 die Demonstration eines makroskopischen – mit bloßem Auge sichtbaren! – durch Self-assembly aus einem einfachen DNA-Strukturmotiv gebildeten Kristalls [14].

2.3 DNA-Origami und neuere Entwicklungen

Obwohl die Erfolge der ersten Generation der DNA-Nanotechnologie bereits beachtlich waren, beschränkte sich die Aktivität in diesem Feld weltweit zunächst nur auf einige wenige Forschergruppen. Dies lag nicht zuletzt an der mangelnden Robustheit der verwendeten Assembly-Protokolle, was sich u.a. in geringer Ausbeute und unbefriedigender Reproduzierbarkeit äußerte. Dies hat sich in den vergangenen Jahren durch die Entwicklung neuartiger, robusterer Assembly-Strategien wesentlich verbessert, und das Feld der DNA-Nanotechnologie erlebt seitdem einen regelrechten Boom.

Ein Problem bei der Herstellung von DNA-Nanostrukturen aus vielen Einzelsträngen unterschiedlicher Sequenz ist das Einhalten der exakten Stöchiometrie: Sind nicht alle Stränge in der richtigen Menge vorhanden, führt dies zu Fehlern in den Strukturen und vorzeitigem Abbruch ihres Aufbaus. Eine äußerst erfolgreiche Technik, die dieses Problem umgeht, ist die *Origami-Methode*, die erstmals von Paul Rothemund im Jahre 2006 demonstriert wurde [15]. DNA-Origami arbeitet mit einem einzelnen, sehr langen DNA-Gerüststrang ("scaffold") und sehr vielen kurzen Klammersträngen ("staples"). Die Sequenzen der Klammerstränge sind derart gewählt, dass sie an geeignet gewählten Regionen des Gerüststranges anbinden und diesen dadurch in eine gewünschte Form falten können (Abbildung 2a). Die Faltung der Nanostruktur findet sozusagen intramolekular – also innerhalb eines einzelnen Gerüststranges – statt, wodurch die Reaktion schnell und kooperativ erfolgt, und auch die Stöchiometrie der Klammerstränge keine entscheidende Rolle spielt.

Das Origami-Prinzip hat sich mittlerweile als eine sehr robuste Methode für die Realisierung molekularer Strukturen mit nahezu beliebiger Form erwiesen. Bereits Rothemund konnte in seiner

ersten Arbeit flache (d.h. zweidimensionale) DNA-Origami-Strukturen in der Form von Rechtecken (Abbildung 2b und c), Dreiecken, Kreisen etc. zeigen. Dazu wurden die jeweiligen Formen durch eine geeignete Anzahl miteinander verknüpfter paralleler DNA-Doppelstränge approximiert. Im Jahre 2009 wurde dieses Konzept von der Gruppe um William Shih in die dritte Dimension erweitert (Abbildung 2d und e) [16] und bald danach konnten Dietz und Shih sogar gekrümmte Origami-Strukturen demonstrieren [17].

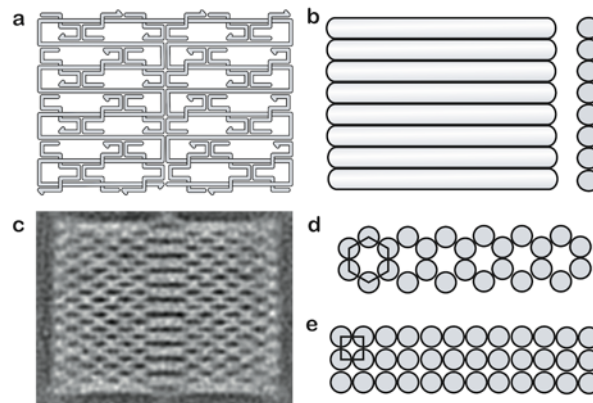


Abb. 2: DNA-Origami

- (a) Bei der DNA-Origami-Technik wird ein einzelner, sehr langer DNA-Strang mit vielen kurzen DNA-Stücken gewissermaßen 'verwoben' und dadurch in eine gewünschte Struktur gezwungen. Lokal entstehen dabei ähnliche Überkreuzungsstrukturen wie in Abb. 1d, b). Die Origami-Struktur aus (a) besteht aus acht parallelen DNA-Doppelhelices, was abstrakt auch mit acht parallelen Zylindern dargestellt wird. Gezeigt ist die Draufsicht und die Seitenansicht des flachen DNA-Rechtecks.
- (c) Ein aus einer Vielzahl von elektronenmikroskopischen Aufnahmen durch Mittelung gewonnenes Bild des realen DNA-Origami-Rechtecks – die Breite dieses DNA-Rechtecks ist etwa 80 nm.
- (d) Durch Aufeinanderlagern mehrerer DNA-Lagen können auch dreidimensionale Objekte erzeugt werden – hier die Seitenansicht (entlang der Achse der DNA-Helices) einer Wabenstruktur.
- (e) Seitenansicht einer dichten DNA-Packung mit DNA-Helices auf einem rechteckigen Gitter.

In den letzten Jahren wurde die Origami-Methode weiter verfeinert und durch Bereitstellung einer Reihe von Design-Werkzeugen tatsächlich zu einer Art 'Technologie' entwickelt. Für das Entwerfen von DNA-Origami-Strukturen sind inzwischen mehrere "computer aided design"(CAD)-Programme verfügbar [18], und in gewissem Umfang können sogar ihre mechanischen Eigenschaften berechnet werden [19]. Verbesserte Assembly-Protokolle erlauben eine schnellere Herstellung der Strukturen [20] – die Faltung einfacher Objekte kann inzwischen innerhalb einer Stunde durchgeführt werden, komplexere benötigen z.T. immer noch mehrere Tage! Die detaillierte elektronenmikroskopische Untersuchung eines DNA-Origami-Objektes hat überdies Einblicke in die tatsächliche molekulare Struktur im Inneren von Origami-Strukturen geliefert [21], was für die Aufstellung verbesserter Design-Regeln hilfreich ist.

Inzwischen hat sich gezeigt, dass effektives DNA-Assembly sogar ohne Gerüststrang möglich ist. Im so genannten "*single-stranded tile (SST) assembly*" [22, 23], das von der Gruppe um Peng Yin entwickelt wurde, wird die Zielstruktur ähnlich wie beim DNA-Origami vollständig mit DNA-Doppelhelices ausgefüllt, die im Gegensatz dazu aber ausschließlich von kurzen DNA-Strängen gebildet werden. Dies ist insbesondere von Interesse, da die Größe der Strukturen damit nicht mehr vom verwendeten Gerüststrang vorgegeben wird; ferner sind die Sequenzen vollkommen frei wählbar.

3. Anwendungen für DNA-Nanostrukturen

Durch DNA-Origami, SST-Assembly und andere Techniken ist es in den vergangenen Jahren also möglich geworden, nahezu beliebig geformte molekulare Objekte zu realisieren. Dies geschieht zwar nicht atomar genau, da die Objekte im Detail natürlich immer von der chemischen Struktur der DNA selbst bestimmt sind, aber immerhin mit einer Präzision im Nanometerbereich – entsprechend z.B. dem Abstand zwischen zwei benachbarten Basenpaaren oder dem Durchmesser der Doppelhelix. Durch Verwendung chemisch modifizierter oder funktionalisierter DNA kann man nun andere Moleküle oder Nanoobjekte entlang von DNA-Nanostrukturen anordnen – und dies ist für eine Reihe von Anwendungen von größtem Interesse.

3.1 DNA-Nanostrukturen als Werkzeuge für die Grundlagenforschung

Der größte Anwendungsbereich findet sich gegenwärtig in der Grundlagenforschung. In vielen Bereichen der Physik, Chemie und Molekularbiologie spielt ganz allgemein die Frage des Einflusses räumlicher Nähe von Funktionskomponenten auf das Verhalten eines Gesamtsystems eine Rolle. Beispielsweise können mit Hilfe von DNA-Nanostrukturen Farbstoffmoleküle kontrolliert so angeordnet werden, dass sie nach Bestrahlung mit Licht Anregungsenergie entlang von Energietransferketten transportieren können [24, 25]. Solche Prozesse sind analog denen in der natürlich vorkommenden Photosynthese, bei der in antennenartigen Lichtsammelkomplexen Lichtenergie gesammelt und zu photosynthetischen Reaktionszentren geleitet wird. Dort finden schnelle Energie- und Ladungstransferreaktionen statt, die ebenfalls von der präzisen räumlichen Anordnung von Farbstoffmolekülen abhängen. Eine andere Anwendung der Anordnung von Molekülen durch DNA ist die *DNA-dirigierte Synthese*, bei der an DNA gebundene, reaktive Moleküle auf einem DNA-Gerüst zusammengeführt werden [26]. Durch die stark erhöhte lokale Konzentration der Moleküle können damit Reaktionen durchgeführt werden, die unter normalen Bedingungen nicht möglich wären. Ein gegenwärtig sehr aktives Feld ist auch die Realisierung künstlicher Enzymkaskaden, in denen durch Kooperation mehrerer co-lokalisierter Enzyme bestimmte Synthesen schneller und effizienter ablaufen könnten als in Lösung [27-30].

Neben Enzymen und Enzymkaskaden kann man aber auch versuchen, die Strukturen anderer biologischer Molekülkomplexe nachzuempfinden und zu nutzen. Ein Beispiel hierfür ist die Realisierung künstlicher Membrankanäle mit Hilfe der DNA-Origami-Technik (Abbildung 3) [31]. In der Biologie spielen Membranproteine eine wichtige Rolle, da über sie die Kommunikation von Zellen mit der Außenwelt stattfindet. So genannte Ionenkanäle dienen dem Transport von Ionenströmen und regeln das Membranpotential, andere Kanalstrukturen sind für den Stofftransport zuständig. Viele Transmembranproteine dienen auch als Rezeptoren oder dienen anderweitig dem Signalaustausch über die Zellmembran. Künstliche Molekülstrukturen, die sich in Lipidmembranen einlagern können, sind daher in vielerlei Hinsicht von Interesse. Eine viel versprechende Anwendung für Membranporen findet sich beispielsweise in der *Einzelmolekülsensorik*. Passiert ein Molekül die nanometergroße Öffnung einer solchen Pore, so blockiert bzw. verändert es dabei auch den Ionenstrom durch diese, was man durch elektrische Widerstandsmessungen feststellen kann. Basierend auf diesem Messprinzip können Moleküle detektiert und in manchen Fällen Eigenschaften wie Größe, Ladung etc. quantifiziert werden. Eines der großen Ziele der Nanoporensensorik ist die Sequenzierung von DNA-Molekülen anhand ihrer Blockadesignatur. Bislang wurden Nanoporenexperimente entweder mit natürlich vorkommenden Proteinporen oder aber mit künstlichen Poren in Glas oder Silizium durchgeführt. Während man Parameter, wie z.B. den Durchmesser bei künstlichen Poren, besser 'einstellen' kann, so sind diese im Gegensatz zu Prote-

inen aber nicht atomar präzise definiert und funktionalisiert. DNA-basierte Nanoporen könnten u.U. beides bieten: freies Design und dabei molekulare Definiertheit.

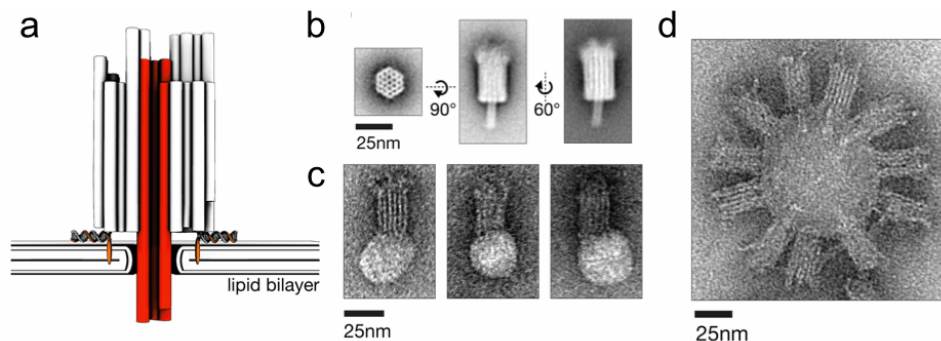


Abb. 3: Ein Membrankanal aus DNA (vgl. Ref. [31])

(a) Mit Hilfe der DNA-Origami-Technik lässt sich eine Struktur mit der Form einer Pinnadel herstellen. Durch geeignete Funktionalisierung der zylindrischen Kappe mit hydrophoben Molekülen (Cholesterol) kann man die Struktur in einer Lipidmembran verankern. Die zentralen 6 (von insgesamt 54) DNA Doppelhelices durchdringen die Membran und bilden eine nanoskalige Pore.

(b) Elektronenmikroskopische Draufsicht und Seitenansicht der DNA-Struktur.

(c) und (d) Elektronenmikroskopische Bilder von DNA-Poren, die in kleinen Lipidvesikeln stecken.

Viel versprechende Anwendungen für DNA-Nanostrukturen finden sich auch in der *Strukturbiologie*. So wurde bereits gezeigt, dass die Anwesenheit von anisotropen DNA-Nanostrukturen das Signal bei der Strukturaufklärung mittels Magnetresonanzspektroskopie verbessern kann [32]. Darüber hinaus kann die Anordnung von schwer kristallisierbaren Proteinen auf DNA-Nanostrukturen helfen, diese mittels Elektronenmikroskopie besser identifizieren zu können [33], und die Organisation von Proteinen in dreidimensionalen künstlichen DNA-Kristallen – die ursprüngliche Vision Nadrian Seemans – ist in greifbare Nähe gerückt.

3.2 DNA-Nanostrukturen in Materialwissenschaften und Nanomedizin

Gegenwärtig werden DNA-basierte Molekülsysteme nur relativ kostspielig und in vergleichsweise geringen Mengen hergestellt. Mit solchen Strukturen kann aber erstmals systematisch Prototyping auf der Nanoskala betrieben werden, also das gezielte Anfertigen von Modellen, an denen die Wechselwirkungen zwischen Molekülen, Proteinen und anderen Nanoobjekten studiert werden können. Dies ermöglicht die Überprüfung von entsprechenden theoretischen Vorhersagen und die Verbesserung der Geometrien solcher Nano-Assemblies. Falls sich bestimmte DNA-basierte Prototypen als besonders erfolgreich und viel versprechend erweisen sollten, könnten diese für mögliche Anwendungen hochskaliert werden. Dafür gibt es verschiedene Strategien: Eine Möglichkeit wäre die Standardisierung von DNA-Nanostrukturen und die Herstellung der dafür benötigten DNA-Moleküle in großem Maßstab, z.B. durch biotechnologische Verfahren. Eine andere wäre die Übersetzung der mit Hilfe der DNA-Prototypen optimierten Strukturen auf eine 'andere Chemie', so dass diese mit synthetischen Methoden in größerer Menge herstellbar wären.

Die Anordnung von nanoskaligen Komponenten ist nicht nur für die biochemische und biophysikalische Grundlagenforschung von Interesse, sondern auch für Anwendungen in den *Materialwissenschaften*. Schon lange ist der Aufbau von molekularen elektronischen Schaltkreisen mit Hilfe von DNA-Nanostrukturen eines der Ziele von Forschern in diesem Bereich. Zwar gab es in den vergan-

genen Jahren einige Achtungserfolge – z.B. der Aufbau eines Transistors aus Kohlenstoffnanoröhrchen mit Hilfe einer DNA-Origami-Struktur [34] oder die Synthese eines leitfähigen Polymers entlang einer mit DNA vorgegebenen Kontur [35] – die DNA-basierte Nanoelektronik hat jedoch noch mit einer Vielzahl von technologischen Problemen zu kämpfen, die eine Hochskalierung behindern.

Erfolg versprechender sind möglicherweise Anwendungen in der *Nanooptik*, die sich mit der Wechselwirkung von Nanostrukturen mit Licht beschäftigt. Die Wellenlänge von sichtbarem Licht liegt mit etwa 400-800 nm nahezu außerhalb des Nanometerbereichs, so dass z.B. die räumliche Variation der elektromagnetischen Lichtwellen auf der Skala typischer Nanostrukturen vernachlässigbar ist. Dennoch kann Licht durch Nutzung von Nanoeffekten fokussiert und lokalisiert werden. So können durch Anregung von Elektronenschwingungen in metallischen Nanostrukturen (so genannter Plasmonen) elektromagnetische Felder lokal stark verstärkt werden. Ferner wird in sehr kleinen Nanopartikeln – ähnlich wie in Atomen und Molekülen – die Quantisierung der Elektronenenergien bemerkbar. Damit können elektronische Übergänge durch Licht angeregt werden, was z.B. zur Fluoreszenz von Nanopartikeln führt.

Je nach Abstand zwischen zwei Nanopartikeln, können diese z.B. über elektromagnetische Effekte miteinander wechselwirken. Dadurch kann Anregungsenergie von einem auf das andere übertragen werden und damit auf der Nanometerskala weitergeleitet werden. Durch die kontrollierte Anordnung von Nanopartikeln kann man so gewissermaßen Lichtleiter erzeugen sowie elektromagnetische Energie sammeln oder verteilen. Solche Strukturen sind von Interesse als Komponenten von integrierten optischen Systemen, oder für Anwendungen in der Sensorik, der Photovoltaik und Photokatalyse – bei letzterer bemüht man sich, den Prozess der natürlichen Photosynthese mit künstlichen Komponenten zu imitieren. So sind plasmonische Nanoantennen denkbar, die Lichtenergie in ein künstliches Reaktionszentrum leiten, in dem eine nichtbiologische Reaktion katalysiert wird.

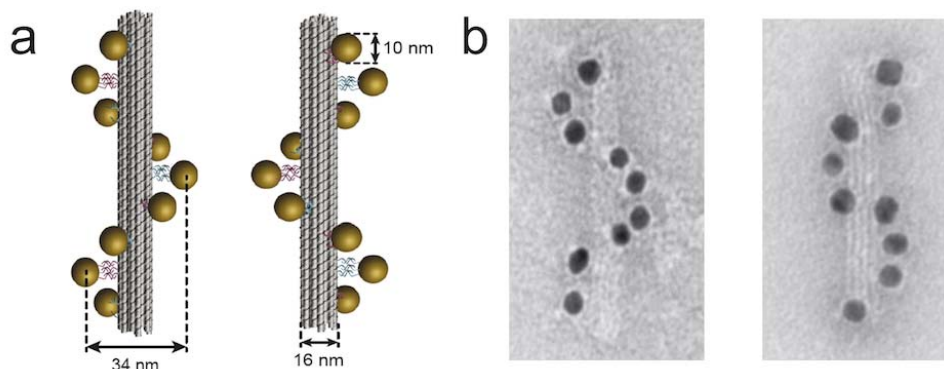


Abb. 4: Chirale Nanopartikel-Strukturen (vgl. Ref. [36])

(a) Schematische Darstellung von DNA Strukturen aus 24 Doppelhelices, die als Gerüst für die helikale Anordnung von 9 Gold-Nanopartikeln dienen – der Drehsinn der Helices kann im Design eingestellt werden.

(b) Elektronenmikroskopische Aufnahmen einer links- sowie rechtshändigen Nanopartikelhelix. Die chirale Anordnung der Partikel verleihen den Strukturen besondere nanooptische Eigenschaften, wie z.B. einem ausgeprägten plasmonischen Zirkulardichroismus.

Tatsächlich konnten in den vergangenen Jahren mit Hilfe der DNA-Origami-Technik erste Systeme mit besonderen nanooptischen Eigenschaften realisiert werden, die bislang kaum mit anderen Nanostrukturierungstechniken zugänglich waren. Ein Beispiel hierfür ist die Organisation von

Gold-Nanopartikeln entlang einer Helix, wofür eine DNA-Origami-Struktur mit 24 parallelen DNA-Doppelhelices als Gerüst verwendet wurde (Abbildung 4) [36]. Die Goldpartikel wurden dabei präzise so angeordnet, dass sie miteinander elektromagnetisch wechselwirken und sich damit kollektive plasmonische Anregungen entlang der Helix ausbilden konnten. Die helikale Struktur ist chiral – kann also nicht durch Drehungen mit ihrem Spiegelbild in Übereinstimmung gebracht werden – weswegen die Struktur zirkular polarisiertes Licht je nach Drehsinn unterschiedlich stark absorbiert. Das Ergebnis ist ein optischer Effekt namens Zirkulardichroismus, der bei den plasmonischen DNA-Helices besonders stark ausgeprägt ist.

Ein anderes potentiell Anwendungsfeld für DNA-Nanostrukturen ist die *Nanomedizin*. Hier ist eine der zentralen Zielsetzungen die Realisierung neuartiger Wirkstofftransportsysteme, die hochwirksame Pharmaka gezielt und ausschließlich an der 'richtigen Stelle' freisetzen können. In solche 'intelligenten' Wirkstoffvehikel müssen sensorische und aktorische Funktionen integriert werden, so dass z.B. bei Erkennung eines bestimmten Zell- oder Gewebetyps die Ausschüttung der Wirkstoffladung ausgelöst wird.

Wie bereits beschrieben, können mit Hilfe der DNA-Nanotechnologie molekulare Strukturen nahezu beliebiger Form realisiert werden - also auch molekulare Container [37]. Diese können mit chemisch modifizierter DNA vielfach funktionalisiert werden – beispielsweise mit Antikörpern, die spezifisch nur an Membranen bestimmter Zelltypen anhaften oder auch mit molekularen Verschlussmechanismen, die den Container nur in der Gegenwart gewisser Krankheitsindikatoren öffnen [38]. Tatsächlich wurden solche intelligenten Container schon von mehreren Arbeitsgruppen konstruiert und ihre prinzipielle Wirkungsweise im Reagenzglas ("in vitro") demonstriert.

Für tatsächliche Anwendungen in der Nanomedizin müssen allerdings noch viele weitere Probleme gelöst werden – dazu zählt die Kontrolle der chemischen Stabilität der Strukturen im Organismus, das Überwinden biologischer Barrieren, wie z.B. Zellmembranen, oder auch das Vermeiden von Immunreaktionen. In diesem Kontext werden derzeit weltweit Versuche durchgeführt – dabei deutet sich an, dass z.B. DNA-Origami-Strukturen vergleichsweise stabil in biologischer Umgebung sind, und dass manche der Strukturen auch relativ bereitwillig von Zellen aufgenommen werden [39-42]. Nicht zuletzt werden für konkrete Anwendungen in diesem Bereich auch ökonomische Faktoren eine Rolle spielen, also letztlich die günstige Herstellung großer Mengen solcher DNA-basierter "Delivery"-Systeme.

4. Künstliche molekulare Maschinen aus DNA

4.1 Molekulare Maschinen

Wie in den vorigen Abschnitten dargelegt, erlaubt es die strukturelle DNA-Nanotechnologie heute bereits, nanoskalige molekulare Objekte nahezu beliebiger Form zu realisieren. Diese können, geeignet chemisch modifiziert, als Gerüst für weitere, funktionstragende Komponenten dienen. In diesen Anwendungen haben DNA-Nanostrukturen also eine im Wesentlichen statische Funktion – als molekulares Gerüst. Biologische Systeme – Vorbilder für die molekulare Nanotechnologie – sind aber alles andere als statisch. Prozesse wie Stoffproduktion und -abbau, Wahrnehmung der Umwelt, Bewegung, Replikation, etc. sind allesamt dynamische Prozesse, deren Realisierung auch für künstliche Nanosysteme von großem Interesse wären.

Auf molekularer Ebene sind in der Biologie für Produktion, Bewegung und Informationsverarbeitung komplizierte Molekülstrukturen verantwortlich, die in ihrer Funktionsweise tatsächlich an

Maschinen erinnern, und häufig kooperieren mehrere solcher Maschinen miteinander innerhalb eines größeren Funktionskomplexes. Inspiriert von solchen biologischen molekularen Maschinen bemühen sich Chemiker und Physiker daher seit einiger Zeit, künstliche maschinenähnliche Molekülstrukturen herzustellen – neben vielen anderen supramolekularen Ansätzen hat sich auch hier die DNA als interessantes Baumaterial für molekulare Maschinen etabliert.

Zur Begriffsklärung: Was ist eine Maschine? Als Maschine wird typischerweise eine Vorrichtung bezeichnet, die eine bestimmte Funktion erfüllt – und diese Funktion nur durch das Zusammenspiel mehrerer spezieller Komponenten erreicht. In vielen Fällen wird damit eine mechanische Funktion assoziiert, aber dies ist nicht unbedingt notwendig – z.B. würde man sicher auch einen elektronischen Computer als Maschine bezeichnen. Ferner muss erwartet werden können, dass eine Maschine ihre Funktion auch wiederholt vollführen kann, was letztlich bedeutet, dass sie zyklisch betrieben werden kann. Implizit im Maschinenbegriff ist der Aspekt des Designs, der Funktion sowie der 'Zusammengesetztheit'. Eine *molekulare Maschine* ist mithin eine aus mehreren molekularen Komponenten bestehende Einheit, deren Funktion sich aus dem Zusammenwirken dieser Komponenten ergibt. Ein Motor ist eine spezielle Form der Maschine, die unter Nutzung einer (nichtmechanischen) Energiequelle gerichtete mechanische Bewegung erzeugt. Dem entsprechend generiert ein molekularer Motor aus chemischer Energie gerichtete molekularskalige Bewegung.

Zu beachten ist, dass die Realisierung molekularer Maschinen kein reines Skalierungsproblem darstellt, denn auf der molekularen Ebene muss eine Maschine unter deutlich anderen Bedingungen arbeiten als auf der Makroskala. Vor allem die thermische Molekularbewegung dominiert und überlagert letztlich alle anderen Bewegungen auf der Nanometerskala. Die beste Strategie für molekulare Maschinen ist daher, diese Zufallsbewegung gewinnbringend zu nutzen, anstatt gegen sie anzukämpfen. Tatsächlich scheinen viele natürliche vorkommende molekulare Maschinen (also auch Motoren) nach dem Prinzip eines thermischen Gleichrichters zu funktionieren [43]. Hier wird also die Energie chemischer Reaktionen dazu genutzt, die ungeordnete Molekularbewegung wenigstens teilweise in gerichtete Bewegung umzuwandeln.

4.2 Schalter, Maschinen und Motoren aus DNA

Zu den einfachsten Beispielen für molekulare Maschinen zählen molekulare Schalter, die zwischen mehreren unterschiedlichen Konformationen hin- und hergeschaltet werden können. Solche molekularen Schalter können kleine organische Moleküle sein oder auch große supramolekulare Konstrukte – wie z.B. solche aus DNA. Ähnlich wie in der rein strukturellen DNA-Nanotechnologie lassen sich nämlich mit DNA dank ihrer Sequenzprogrammierbarkeit auch relativ einfach Funktionseinheiten für molekulare Schalter definieren. Als Schaltprinzip lässt sich beispielsweise die typische Konformationsänderung der DNA nutzen – die Bildung einer DNA-Doppelhelix aus zwei komplementären Einzelsträngen. Da DNA-Doppelstränge wesentlich steifer sind als Einzelstränge und sich beide Konformationen auch ansonsten stark in der Geometrie voneinander unterscheiden, kann Duplexbildung bzw. die Auflösung von Doppelsträngen für die Erzeugung einfacher Streck- oder Kontraktionsbewegungen genutzt werden (Abbildung 5), und eine Vielzahl von DNA-Schaltern und -Maschinen basiert darauf [44-46]. Bestimmte DNA-Sequenzen reagieren auch sensitiv auf die Änderung ihrer Umweltbedingungen, z.B. Salzkonzentrationen oder pH-Wert, und auch dies kann als Grundlage für molekulare Schalter genutzt werden. Manche Nukleinsäuresequenzen binden, ähnlich wie Antikörper, spezifisch an andere Moleküle, und auch mit solchen Wechselwirkungen lassen sich Schalter generieren. Übersetzt man die Bewegungen der Schalter in messbare Signale – z.B. mittels Fluoreszenz oder elektrochemischen Techniken – kön-

nen sie in vielen Fällen auch als Sensoren genutzt werden. Ein Überblick über molekulare Schalter aus DNA findet sich z.B. in Ref. [46].

Aus DNA lassen sich aber wesentlich komplexere Strukturen aufbauen. Im Prinzip fallen z.B. auch die künstlichen Membrankanäle aus Abschnitt 3.1 unter die Definition für molekulare Maschinen, und sogar molekulare Motoren wurden bereits mit Hilfe von DNA hergestellt. Während erste Prototypen solcher Motoren noch recht langsam waren und sich nur über extrem kurze Strecken bewegten, wurden in den vergangenen Jahren verbesserte Konzepte für freilaufende Motoren entwickelt, die sich auf Origami-Strukturen über Strecken von etwa 100 nm bewegen konnten [47, 48].

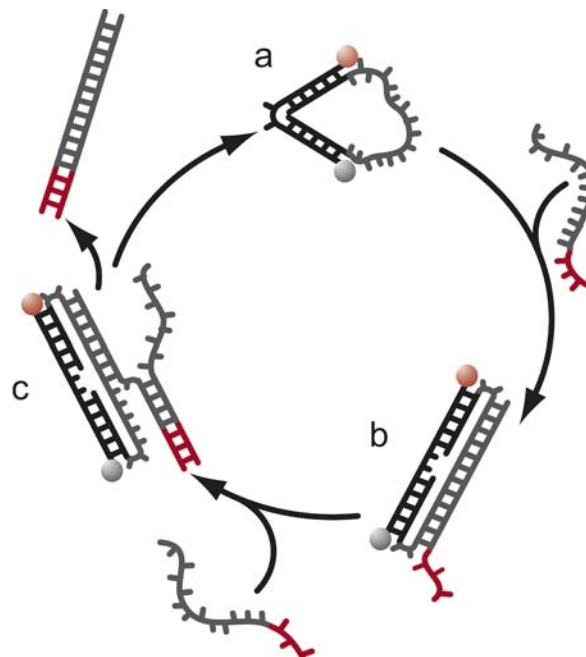


Abb. 5: Eine einfache DNA-Nanomaschine (vgl. Ref. [45])

- (a) Zwei DNA-Stränge bilden gemeinsam eine zirkuläre Struktur mit zwei steifen doppelhelikalen 'Armen', einem flexiblen Scharnier und einer längeren einzelsträngigen Region (grau).
- (b) Durch Anbindung eines DNA-'Treibstoff'-Stranges (grau-rot) an die graue Region wird die DNA-Struktur ausgezogen – und damit chemische Energie (aus der DNA-Duplex-Bildung) in mechanische Bewegung umgewandelt.
- (c) Durch Entfernen des Treibstoffstranges durch einen komplementären Strang kann die Struktur wieder in die Ausgangskonfiguration gebracht werden, was einen zyklischen Betrieb ermöglicht.

4.3 Molekulares Programmieren und molekulare Robotik

Die informationstragende Eigenschaft von DNA ist die Grundlage des programmierbaren Self-assembly. Durch die Wahl von DNA-Sequenzen wird festgelegt, welche Moleküle miteinander wechselwirken – und welche nicht. Bis zu einem gewissen Grad werden damit auch mechanische und chemische Eigenschaften der Moleküle bestimmt. DNA-Nanostrukturen können mithin als Resultat der Ausführung eines in DNA kodierten Programms aufgefasst werden.

Die Vision des molekularen Programmierens geht jedoch weiter. Die Entwicklung hinreichend robuster Reaktionen würde im Prinzip erlauben, die tatsächlich in einem Reagenzglas ablaufenden Prozesse zu abstrahieren und in einer Art "High level"-Programmiersprache zu formulieren. Ähnlich wie ein Computerprogrammierer heutzutage nicht mehr direkt mit den physikalischen Prozessen in einem Computerchip zu tun hat, so könnte sich der molekulare Programmierer abstrakten

molekularen Designaufgaben widmen, die dann von einem geeigneten Compiler in DNA-Hardware-Sprache übersetzt würden.

Eine viel versprechende Spielart des molekularen Programmierens befasst sich mit der Realisierung von DNA-basierten Reaktionsnetzwerken mit komplizierter Dynamik. Hier fungieren DNA-Sequenzen als molekulare Adressen, die bestimmen, welches Molekül mit welchem in einem Reaktionsgemisch reagieren soll. Durch die geeignete Wahl der Sequenzen können unterschiedliche Topologien von Reaktionsnetzwerken definiert – z.B. Reaktionskaskaden oder Rückkopplungsnetzwerke – und damit unterschiedliche dynamische Funktionen erreicht werden. Auf dieser Idee basierend wurden in den vergangenen Jahren zahlreiche molekulare Schaltkreise realisiert, die etwa bistabile [49] oder oszillatorische [50] Dynamik zeigten, logische Funktionen auswerten [51, 52] und sogar als assoziative Speicher [53] fungieren konnten.

Seit kurzem gibt es auch Bestrebungen, die verschiedenen Aspekte der DNA-Nanotechnologie – die Realisierung molekularer Strukturen, Maschinen und Computer aus DNA – in elementaren Robotik-Systemen zu integrieren. So konnte von Seeman und Mitarbeitern vor kurzem eine Art molekulares Fließband demonstriert werden [54]. Auf diesem konnten auf einer DNA-Origami-Struktur bewegliche 'DNA-Läufer' eine Anzahl von Gold-Nanopartikeln aufsammeln und zu verschiedenen Nanopartikel-Assemblies zusammenstellen. In einer anderen Arbeit konnte demonstriert werden, wie sich ein DNA-Läufer an Weggabelungen kontextabhängig für die eine oder andere Richtung entscheidet [55], und unsere eigene Arbeitsgruppe konnte zusammen mit Erik Winfree und Mitarbeitern zeigen, wie sich mit künstlichen biochemischen Oszillatoren die Bewegung molekularer Schalter aus DNA kontrollieren lässt [56].

5. Ausblick

Die DNA-Nanotechnologie ist die gegenwärtig am weitesten entwickelte Nanotechnologie, die auf der programmierbaren Selbstorganisation von Molekülen basiert. Dies hat sie vor allem dem informationstragenden Charakter der DNA und ihren vergleichsweise einfachen und gut verstandenen Strukturbildungsregeln zu verdanken. Durch enorme technische und konzeptionelle Fortschritte konnten damit in den vergangenen Jahren komplexe DNA-basierte Molekülstrukturen sowie künstliche molekulare Maschinen und Computer realisiert werden. Es ist nun zu erwarten, dass die unterschiedlichen strukturellen und dynamischen Aspekte der DNA-Nanotechnologie in immer komplexeren Systemen zusammengeführt und integriert werden – z.B. in molekularen Robotiksystemen oder in zellähnlichen Bioreaktoren.

Bereits jetzt werden DNA-Nanostrukturen erfolgreich als Werkzeuge für die Grundlagenforschung eingesetzt, und eine Vielzahl von möglichen Anwendungen in Materialwissenschaften und Nanomedizin werden derzeit sondiert. Besonders für Anwendungen im größeren Maßstab ist aber zukünftig die Hochskalierung der entwickelten Verfahren zur kostengünstigen und einfachen Herstellung größerer Mengen von DNA-Nanostrukturen eine zentrale Herausforderung. Denkbar ist aber auch eine Übersetzung der grundlegenden Konzepte der DNA-Nanotechnologie und des molekularen Programmierens auf neue Technologien, die auf anderen biotechnologischen oder synthetischen chemischen Verfahren basieren.

Literatur

- [1] J. M. Fletcher, R. L. Harniman, F. R. H. Barnes, A. L. Boyle, A. Collins, J. Mantell, T. H. Sharp, M. Antognozzi, P. J. Booth, N. Linden, M. J. Miles, R. B. Sessions, P. Verkade and D. N. Woolfson: Self-Assembling Cages from Coiled-Coil Peptide Modules, *Science* 340, 595-599 (2013)
- [2] R. F. Gesteland, T. R. Cech and J. F. Atkins: The RNA World, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York (1999)
- [3] R. Dahm: Discovering DNA: Friedrich Miescher and the early years of nucleic acid research, *Hum. Genet.* 122, 565-581 (2008)
- [4] J. D. Watson and F. H. Crick: Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid, *Nature* 171, 737-8 (1953)
- [5] M. H. F. Wilkins, A. R. Stokes and H. R. Wilson: Molecular structure of deoxypentose nucleic acids, *Nature* 171, 738-40 (1953)
- [6] R. E. Franklin and R. G. Gosling: Molecular configuration in sodium thymonucleate, *Nature* 171, 740-1 (1953)
- [7] A. Rich and D. Davies: A new two stranded helical structure: polyadenylic acid and polyuridylic acid, *J. Am. Chem. Soc.* 78, 3548-3549 (1956)
- [8] N. C. Seeman: Nucleic acid junctions and lattices, *J. Theor. Biol.* 99, 237-247 (1982)
- [9] N. C. Seeman: An overview of structural DNA Nanotechnology, *Mol. Biotechnol.* 37, 246-257 (2007)
- [10] E. Winfree, F. R. Liu, L. A. Wenzler and N. C. Seeman: Design and self-assembly of two-dimensional DNA crystals, *Nature* 394, 539-544 (1998)
- [11] Y. He, T. Ye, M. Su, C. Zhang, A. Ribbe, W. Jiang and C. Mao: Hierarchical self-assembly of DNA into symmetric supramolecular polyhedra, *Nature* 452, 198-201 (2008)
- [12] A. Chworos, I. Severcan, A. Y. Koyfman, P. Weinkam, E. Oroudjev, H. G. Hansma and L. Jaeger: Building programmable jigsaw puzzles with RNA, *Science* 306, 2068-2072 (2004)
- [13] K. A. Afonin, E. Bindewald, A. J. Yaghoubian, N. Voss, E. Jacovetty, B. A. Shapiro and L. Jaeger: In vitro assembly of cubic RNA-based scaffolds designed in silico, *Nature Nanotech.* 5, 676-682 (2010)
- [14] J. Zheng, J. J. Birktoft, Y. Chen, T. Wang, R. Sha, P. E. Constantinou, S. L. Ginell, C. Mao and N. C. Seeman: From molecular to macroscopic via the rational design of a self-assembled 3D DNA crystal, *Nature* 461, 74-77 (2009)
- [15] P. W. K. Rothmund: Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns, *Nature* 440, 297-302 (2006)
- [16] S. M. Douglas, H. Dietz, T. Liedl, B. Högberg, F. Graf and W. M. Shih: Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes, *Nature* 459, 414-8 (2009)
- [17] H. Dietz, S. M. Douglas and W. M. Shih: Folding DNA into twisted and curved nanoscale shapes., *Science* 325, 725-730 (2009)

- [18] S. M. Douglas, A. H. Marblestone, S. Teerapittayanon, A. Vazquez, G. M. Church and W. M. Shih: Rapid prototyping of 3D DNA-origami shapes with caDNAo, *Nucl. Ac. Res.* 37, 5001-5006 (2009)
- [19] C. E. Castro, F. Kilchherr, D.-N. Kim, E. L. Shiao, T. Wauer, P. Wortmann, M. Bathe and H. Dietz: A primer to scaffolded DNA origami, *Nat. Methods* 8, 221-229 (2011)
- [20] J.-P. J. Sobczak, T. G. Martin, T. Gerling and H. Dietz: Rapid folding of DNA into nanoscale shapes at constant temperature, *Science (New York, NY)* 338, 1458-61 (2012)
- [21] X.-C. Bai, T. G. Martin, S. H. W. Scheres and H. Dietz: Cryo-EM structure of a 3D DNA-origami object, *Proc. Natl. Ac. Sci.* 109, 20012-20017 (2012)
- [22] B. Wei, M. Dai and P. Yin: Complex shapes self-assembled from single-stranded DNA tiles, *Nature* 485, 623-626 (2012)
- [23] Y. Ke, L. L. Ong, W. M. Shih and P. Yin: Three-dimensional structures self-assembled from DNA bricks, *Science (New York, NY)* 338, 1177-83 (2012)
- [24] I. H. Stein, C. Steinhauer and P. Tinnefeld: Single-Molecule Four-Color FRET Visualizes Energy-Transfer Paths on DNA Origami, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 4193-4195 (2011)
- [25] P. K. Dutta, R. Varghese, J. Nangreave, S. Lin, H. Yan and Y. Liu: DNA-Directed Artificial Light-Harvesting Antenna, *J. Am. Chem. Soc.* 133, 11985-11993 (2011)
- [26] X. Li and D. R. Liu: DNA-templated organic synthesis: Nature's strategy for controlling chemical reactivity applied to synthetic molecules, *Angew. Chem. Int. Ed.* 43, 4848-4870 (2004)
- [27] J. Muller and C. Niemeyer: DNA-directed assembly of artificial multienzyme complexes, *Biochemical and Biophysical Research Communications* 377, 62-67 (2008)
- [28] O. I. Wilner, Y. Weizmann, R. Gill, O. Lioubashevski, R. Freeman and I. Willner: Enzyme cascades activated on topologically programmed DNA scaffolds, *Nature Nanotech.* 4, 249-254 (2009)
- [29] J. Fu, M. Liu, Y. Liu, N. W. Woodbury and H. Yan: Interenzyme Substrate Diffusion for an Enzyme Cascade Organized on Spatially Addressable DNA Nanostructures, *J Am Chem Soc* 134, 5516-5519 (2012)
- [30] Y. Fu, D. Zeng, J. Chao, Y. Jin, Z. Zhang, H. Liu, D. Li, H. Ma, Q. Huang, K. V. Gothelf and C. Fan: Single-step rapid assembly of DNA origami nanostructures for addressable nanoscale bioreactors, *J Am Chem Soc* 135, 696-702 (2013)
- [31] M. Langecker, V. Arnaut, T. G. Martin, J. List, S. Renner, M. Mayer, H. Dietz and F. C. Simmel: Synthetic Lipid Membrane Channels Formed by Designed DNA Nanostructures, *Science* 338, 932-936 (2012)
- [32] M. J. Berardi, W. M. Shih, S. C. Harrison and J. J. Chou: Mitochondrial uncoupling protein 2 structure determined by NMR molecular fragment searching, *Nature* 476, 109-113 (2011)
- [33] D. N. Selmi, R. J. Adamson, H. Attrill, A. D. Goddard, R. J. C. Gilbert, A. Watts and A. J. Turberfield: DNA-Templated Protein Arrays for Single-Molecule Imaging, *Nano Lett.* 11, 657-660 (2011)

- [34] H. T. Maune, S.-p. Han, R. D. Barish, M. Bockrath, W. A. G. Iii, P. W. K. Rothmund and E. Winfree: Self-assembly of carbon nanotubes into two-dimensional geometries using DNA origami templates, *Nature Nanotech.* 5, 61-66 (2009)
- [35] J. B. Ravensbaek, M. F. Jacobsen, C. B. Rosen, N. V. Voigt and K. V. Gothelf: DNA-Programmed Glaser-Eglinton Reactions for the Synthesis of Conjugated Molecular Wires, *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 10851-10854 (2011)
- [36] A. Kuzyk, R. Schreiber, Z. Fan, G. Pardatscher, E.-M. Roller, A. Högele, F. C. Simmel, A. O. Govorov and T. Liedl: DNA-based self-assembly of chiral plasmonic nanostructures with tailored optical response, *Nature* 483, 311-314 (2012)
- [37] 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 and J. Kjems: Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid., *Nature* 459, 73-76 (2009)
- [38] S. M. Douglas, I. Bachelet and G. M. Church: A Logic-Gated Nanorobot for Targeted Transport of Molecular Payloads, *Science* 335, 831-834 (2012)
- [39] V. J. Schueller, S. Heidegger, N. Sandholzer, P. C. Nickels, N. A. Suhartha, S. Endres, C. Bourquin and T. Liedl: Cellular Immunostimulation by CpG-Sequence-Coated DNA Origami Structures, *Acs Nano* 5, 9696-9702 (2011)
- [40] A. S. Walsh, H. Yin, C. M. Erben, M. J. A. Wood and A. J. Turberfield: DNA Cage Delivery to Mammalian Cells, *ACS Nano* 5, 5427-5432 (2011)
- [41] Q. Mei, X. Wei, F. Su, Y. Liu, C. Youngbull, R. Johnson, S. Lindsay, H. Yan and D. Meldrum: Stability of DNA Origami Nanoarrays in Cell Lysate, *Nano Lett.* 11, 1477-1482 (2011)
- [42] J. Li, H. Pei, B. Zhu, L. Liang, M. Wei, Y. He, N. Chen, D. Li, Q. Huang and C. Fan: Self-Assembled Multivalent DNA Nanostructures for Noninvasive Intracellular Delivery of Immunostimulatory CpG Oligonucleotides, *ACS Nano* 5, 8783-8789 (2011)
- [43] C. Bustamante, D. Keller and G. Oster: The physics of molecular motors, *Acc. Chem. Res.* 34, 412-420 (2001)
- [44] B. Yurke, A. J. Turberfield, A. P. Mills, F. C. Simmel and J. L. Neumann: A DNA-fuelled molecular machine made of DNA, *Nature* 406, 605-608 (2000)
- [45] F. C. Simmel and B. Yurke: A DNA-based molecular device switchable between three distinct mechanical states, *Appl. Phys. Lett.* 80, 883-885 (2002)
- [46] Y. Krishnan and F. C. Simmel: Nucleic Acid Based Molecular Devices, *Angew. Chem. Int. Ed.* 50, 3124-3156 (2011)
- [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 and H. Yan: Molecular robots guided by prescriptive landscapes, *Nature* 465, 206-210 (2010)
- [48] S. F. J. Wickham, M. Endo, Y. Katsuda, K. Hidaka, J. Bath, H. Sugiyama and A. J. Turberfield: Direct observation of stepwise movement of a synthetic molecular transporter, *Nature Nanotech.* 6, 166-169 (2011)

- [49] J. Kim, K. S. White and E. Winfree: Construction of an in vitro bistable circuit from synthetic transcriptional switches, *Mol. Sys. Biol.* 1, 68 (2006)
- [50] J. Kim and E. Winfree: Synthetic in vitro transcriptional oscillators, *Mol Syst Biol* 7, 465 (2011)
- [51] G. Seelig, D. Soloveichik, D. Y. Zhang and E. Winfree: Enzyme-free nucleic acid logic circuits, *Science* 314, 1585 (2006)
- [52] L. Qian and E. Winfree: Scaling Up Digital Circuit Computation with DNA Strand Displacement Cascades, *Science* 332, 1196-1201 (2011)
- [53] L. Qian, E. Winfree and J. Bruck: Neural network computation with DNA strand displacement cascades, *Nature* 475, 368-372 (2011)
- [54] H. Gu, J. Chao, S.-J. Xiao and N. C. Seeman: A proximity-based programmable DNA nanoscale assembly line, *Nature* 465, 202-205 (2010)
- [55] S. F. J. Wickham, J. Bath, Y. Katsuda, M. Endo, K. Hidaka, H. Sugiyama and A. J. Turberfield: A DNA-based molecular motor that can navigate a network of tracks, 1-5 (2012)
- [56] E. Franco, E. Friedrichs, J. Kim, R. Murray, E. Winfree and F. C. Simmel: Timing molecular motion and production with a synthetic transcriptional clock, *Proc Natl Acad Sci USA* 108, E784-E793 (2011)

[26.01.14]

Anschrift des Autors:

Prof. Dr. Friedrich C. Simmel
Technische Universität München
Systems Biophysics and Bionanotechnology
Physics Department and ZNN/WSI
Am Coulombwall 4a
D – 85748 Garching
www.e14.ph.tum.de