

Hybridmaterialien

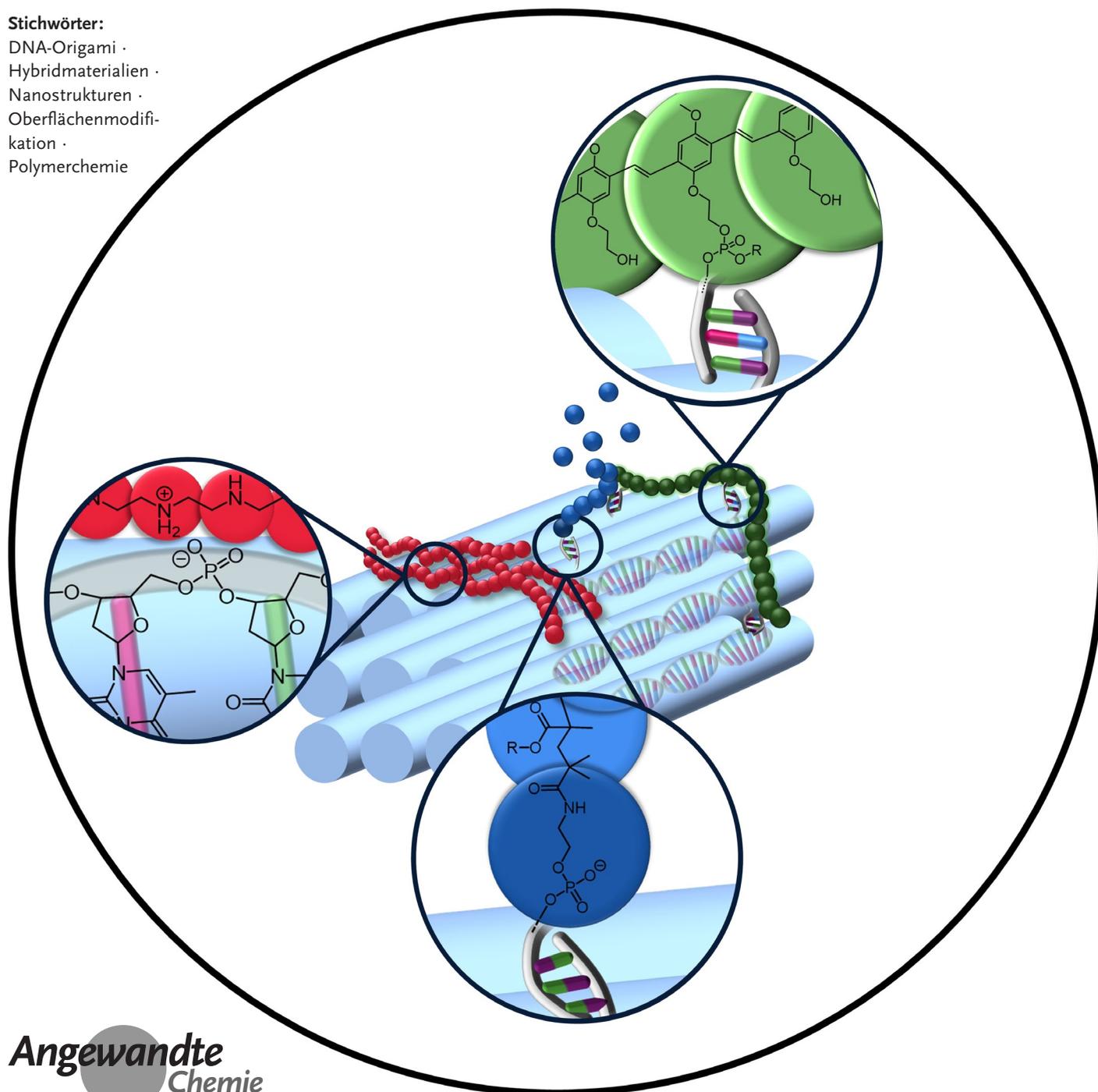
Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2021**, 60, 6218–6229Internationale Ausgabe: doi.org/10.1002/anie.202005907Deutsche Ausgabe: doi.org/10.1002/ange.202005907

Kombination von DNA-Origami und Polymeren: Eine leistungsstarke Methode zum Aufbau definierter Nanostrukturen

Nadine Hannewald⁺, Pia Winterwerber⁺, Stefan Zechel, David Y. W. Ng,
Martin D. Hager, Tanja Weil und Ulrich S. Schubert*

Stichwörter:

DNA-Origami ·
Hybridmaterialien ·
Nanostrukturen ·
Oberflächenmodifi-
kation ·
Polymerchemie



Die Kombination von DNA-Origami-Nanostrukturen und Polymeren bietet neue Möglichkeiten für die Herstellung definierter Strukturen im 100-nm-Bereich. Im Allgemeinen dient hierbei das DNA-Origami als vielseitige Vorlage für die hochspezifische Anordnung von Polymerketten. Polymer-DNA-Hybrid-Nanostrukturen können durch Synthese des Polymers direkt auf der DNA-Matrix oder durch Anknüpfung vorgeformter Polymere an das DNA-Gerüst hergestellt werden. Diese Konjugationen können kovalenter Natur sein oder auf einer Basenpaarhybridisierung zwischen entsprechend modifizierten Polymeren und DNA-Origami beruhen. Darüber hinaus ermöglicht das negativ geladene DNA-Gerüst die Wechselwirkung mit positiv geladenen Polyelektrolyten unter Bildung stabiler Komplexe. Die Kombination von Polymeren mit einstellbaren Eigenschaften und DNA-Origami ermöglicht die Herstellung einer neuen Klasse von Hybridmaterialien mit möglichen Anwendungen für den Energietransfer, Schaltkreise im Nanomaßstab oder die Templat-gesteuerte Synthese von Polymerstrukturen mit Nanomustern.

1. Einleitung

Die Herstellung von funktionellen Nanopartikeln und definierten nanoskaligen Oberflächen wird intensiv in der aktuellen Forschung untersucht. Neben der Synthese solcher Materialien sind auch die Verbesserung der Herstellung von kleineren und präziseren Geometrien sowie die Entwicklung präzise adressierbarer Oberflächen von Interesse. Signifikante Verbesserungen solcher Herstellungstechniken könnten daher von großem Nutzen sein, z. B. für die Verkleinerung von Datenspeichern und optischer Vorrichtungen oder für die Entwicklung neuer Arzneimittel.^[1-3]

Die Herstellung solcher Nanostrukturen kann auf viele verschiedene Arten und Weisen erfolgen, wobei zwei der wichtigsten Methoden die Lithographie und Selbstorganisation sind. Die Lithographie als Top-down-Technik ermöglicht die Bearbeitung größerer Objekte, was zu kleineren Geometrien mit der gewünschten Form führt.^[4] Häufig sind jedoch teure und komplizierte Versuchsaufbauten erforderlich, wodurch die hergestellten Proben teuer und für die Herstellung in großem Maßstab nicht geeignet sind.^[5] Im Gegensatz dazu beruht die Selbstorganisation als Bottom-up-Prozess auf den Wechselwirkungen der verschiedenen Struktureinheiten, auf die im Folgenden am Beispiel kleiner Moleküle eingegangen wird.^[4] Solche Einheiten können beispielsweise auf Wasserstoffbrücken,^[6] Van-der-Waals-Kräften,^[7] hydrophoben und hydrophilen^[8,9] oder π - π -Wechselwirkungen beruhen.^[10] Durch die Selbstorganisationsprozesse synthetischer Moleküle können somit verschiedene Strukturen gezielt hergestellt werden, was diesen Prozess im Vergleich zur Lithographie zu einer kostengünstigen und schnellen Alternative macht.^[11] Es können allerdings nicht alle Nanostrukturen realisiert werden.

Ein prominentes Beispiel für einen vielseitigen Selbstorganisationsprozess in der Natur ist die DNA-Doppelhelix-

bildung, die auf Wasserstoffbrücken zwischen komplementären Basenpaaren basiert. 1982 haben sich Seeman und Mitarbeiter von solchen Prozessen inspirieren lassen und realisierten die Faltung von DNA zu Überstrukturen.^[12,13] Diese Idee wurde 2006 von Rothemund weiter vertieft, indem die so genannte DNA-Origami-Technologie eingeführt wurde, die zu einem Durchbruch bei der Konstruktion von DNA-basierten Objekten führte.^[14] Hierbei wird eine lange, ringförmige Einzelstrang-DNA („Gerüst-DNA“) mithilfe einer Reihe kurzer „Klammerstränge“ in eine bestimmte Form gefaltet. Diese Klammerstränge hybridisieren mit komplementären Sequenzen innerhalb der Gerüst-DNA. Die Verlängerung bestimmter Klammerstränge durch kurze Oligonukleotide führt dazu, dass einzelsträngige DNA-Ketten (ssDNA) über die Origami-Oberfläche herausragen und

anschließend mit DNA-funktionalisierten Molekülen hybridisiert werden können (Abbildung 1). Somit bietet das DNA-Origami eine präzise adressierbare Oberfläche und hat sich dadurch als leistungsfähige Methode für die eindeutige Positionierung von z. B. Nanopartikeln auf vordefinierte Weise erwiesen.^[12,15]

In diesem Kurzaufsatz befassen wir uns mit der Funktionalisierung von DNA-Origami-Nanostrukturen mit synthetischen Polymeren sowie Polymer-Oligonukleotid-Konjugaten, um einzigartige Hybrid-Nanostrukturen herzustellen, die mit anderen Techniken nur sehr schwer zugänglich sind. Im Gegensatz zu früheren Beiträgen wird das reine Selbstorganisationsverhalten von Polymer-DNA-Konjugaten

[*] N. Hannewald,^[1] Dr. S. Zechel, Dr. M. D. Hager, Prof. Dr. U. S. Schubert
Lehrstuhl für Organische und Makromolekulare Chemie (IOMC)
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Humboldtstraße 10, 07743 Jena (Deutschland)
E-Mail: ulrich.schubert@uni-jena.de

N. Hannewald,^[1] Dr. S. Zechel, Dr. M. D. Hager, Prof. Dr. U. S. Schubert
Jena Center for Soft Matter (JCSM)
Friedrich-Schiller-Universität Jena
Philosophenweg 7, 07743 Jena (Deutschland)

P. Winterwerber,^[1] Dr. D. Y. W. Ng, Prof. Dr. T. Weil
Max-Planck-Institut für Polymerforschung
Ackermannweg 10, 55128 Mainz (Deutschland)

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

Die Identifikationsnummern (ORCID) der Autoren sind unter: <https://doi.org/10.1002/ange.202005907> zu finden.

© 2020 Die Autoren. Veröffentlicht von Wiley-VCH GmbH. Dieser Open Access Beitrag steht unter den Bedingungen der Creative Commons Attribution License, die jede Nutzung des Beitrages in allen Medien gestattet, sofern der ursprüngliche Beitrag ordnungsgemäß zitiert wird.

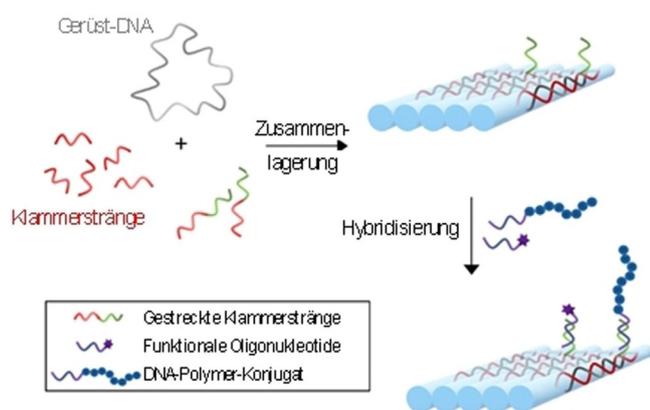


Abbildung 1. DNA-Origami-Strukturen werden durch die Zusammenlagerung einer Gerüst-DNA mit komplementären Klammersträngen und verlängerten Klammersträngen erzeugt. Die hervorstehenden DNA-Stränge können mit komplementären, funktionalisierten Oligonukleotiden und DNA-Polymer-Konjugaten hybridisiert werden.

jedoch nicht diskutiert werden.^[16–18] Darüber hinaus werden verschiedenen Methoden zur gezielten Anbindung von Polymeren an DNA-Nanostrukturen aufgezeigt. Zusätzlich werden die Fortschritte sowie die Einschränkungen der DNA-Origami-Funktionalisierung diskutiert und mit Lithographie und traditionellen Selbstorganisationsmethoden verglichen. Abschließend zeigen wir, dass die Funktionalisierung von DNA-Origami eine leistungsfähige Methode

für die Herstellung von nanostrukturierten Polymeren sein kann.

2. Polymere und DNA-Origami: Wie man beide Themenbereiche verbinden kann

Die Kombination von Polymeren und DNA-Origami ermöglicht die Zusammenführung synthetischer und natürlicher Makromoleküle, wobei das Beste aus diesen beiden Welten genutzt werden kann.^[19,20] Einerseits kann DNA-Origami zur Organisation von Polymeren im Nanobereich verwendet werden, die typischerweise für Verschlaufungen oder Aggregation bekannt sind. Dadurch wird der Weg für nanotechnologische Geräte und Struktur-Funktions-Untersuchungen geebnet. Andererseits verfügen Polymere über eine große Vielfalt an attraktiven und einstellbaren Eigenschaften, z. B. unterschiedliche Ladungen, Hydrophobie oder Hydrophilie sowie Adressierbarkeit durch äußere Einflüsse. Weiterhin können sie auch DNA-Objekte stabilisieren. Um die Verbindung der beiden Materialklassen zu erreichen, gibt es eine Vielzahl an Möglichkeiten, die den Prozess steuern können (Abbildung 2). Hierbei sind zwei grundlegende Strategien zu unterscheiden: Entweder wird das Polymer in situ auf der DNA-Origami-Matrize (siehe Abschnitt 2.1) synthetisiert, oder das Polymer wird vor der Konjugation an die DNA-Plattform (siehe Abschnitt 2.2) hergestellt und modifiziert.



Nadine Hannewald studierte Chemie an der Friedrich-Schiller-Universität Jena und schloss ihr Studium 2018 auf dem Gebiet der organischen und makromolekularen Chemie ab. Zurzeit arbeitet sie als Doktorandin in der Gruppe von Prof. Schubert, wo sie sich mit der Synthese definierter Polymerarchitekturen für die Bindung an DNA-Origami beschäftigt.



Tanja Weil studierte Chemie an der TU Braunschweig (Deutschland) und der Universität Bordeaux (Frankreich) und fertigte ihre Dissertation am Max-Planck-Institut für Polymerforschung (MPIP) in Mainz an, für die sie 2003 mit der Otto-Hahn-Medaille ausgezeichnet wurde. Nach mehreren Jahren in der Industrie kehrte sie an die Wissenschaft zurück, indem sie 2008 eine außerordentliche Professorenstelle an der National University of Singapore annahm. 2010 wechselte sie als Direktorin des Instituts für Organische Chemie III an die Universität Ulm. Seit 2017 ist sie Direktorin am MPIP und leitet die Abteilung „Synthese von Makromolekülen“.



Pia Winterwerber studierte biomedizinische Chemie an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz (Deutschland) und erhielt 2018 ihren Master-Abschluss. Während ihres Studiums konzentrierte sie sich auf die Synthese von hyperverzweigten Sternpolymeren sowie amphiphilen Biomakromolekülkonjugaten. Als Doktorandin trat sie 2018 in die Gruppe von Prof. Tanja Weil am Max-Planck-Institut für Polymerforschung in Mainz ein und arbeitet nun an der Entwicklung von DNA-Origami-Hybrid-Nanostrukturen.



Ulrich S. Schubert studierte Chemie in Frankfurt und Bayreuth sowie an der Virginia Commonwealth University, Richmond (USA). Er promovierte an den Universitäten Bayreuth und South Florida. Nach einem Postdoktorat bei J.-M. Lehn (Universität Straßburg, Frankreich) wechselte er an die TU München und habilitierte sich 1999. Er war 1999–2000 Professor an der Universität München und 2000–2007 an der TU Eindhoven (Niederlande). Seit 2007 ist er Professor an der Friedrich-Schiller-Universität Jena. Er ist gewähltes Mitglied der Deutschen Akademie der Technikwissenschaften (acatech) und externes wissenschaftliches Mitglied der Max-Planck-Gesellschaft (MPI für Kolloid- und Grenzflächenforschung, Golm).

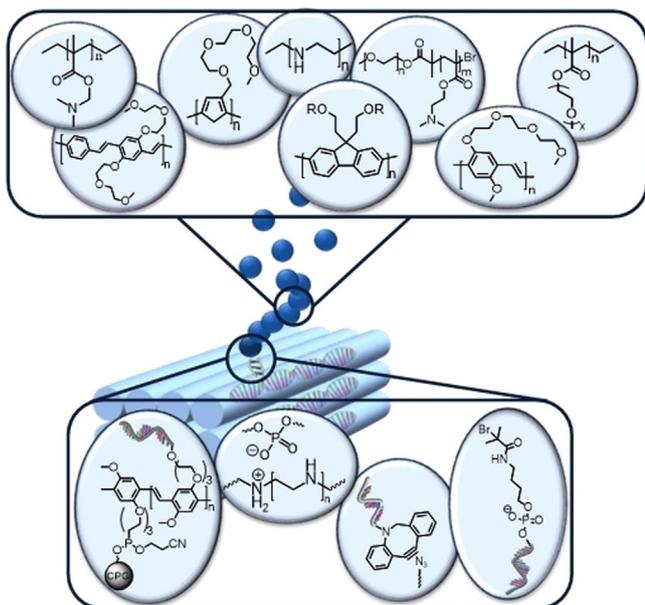


Abbildung 2. Schematische Darstellung der bisher auf DNA-Origami immobilisierten Polymerstrukturen. Im unteren Kasten sind Verknüpfungsmechanismen und Einheiten dargestellt.

Auf molekularer Ebene können verschiedene Methoden zur Polymeranknüpfung angewendet werden. Das Polymer kann durch Einbau entsprechender positiver Ladungen elektrostatisch an das negativ geladene DNA-Gerüst oder durch Basenpaar-Hybridisierung an die DNA-Origami-Oberfläche gebunden werden. Die dafür erforderlichen Oligonukleotide können durch Klickreaktionen und etablierte Biokonjugationstechniken verknüpft oder aus Nukleotiden hergestellt werden. Darüber hinaus können hydrophobe Wechselwirkungen zwischen den eingeführten Polymeren genutzt werden, um Polymer-DNA-Konstrukte zu höher geordneten Strukturen anzuordnen (siehe Abschnitt 2.3). Die relativ geringe Anzahl von Veröffentlichungen auf dem Gebiet des DNA-Origamis und entsprechender Polymerhybride gibt jedoch einen ersten Hinweis darauf, wie herausfordernd dieses Thema zu sein scheint. Die Synthese leidet nicht nur unter verschiedenen Aspekten, z. B. Löslichkeitsproblemen oder sterischen Hindernissen sowohl der DNA als auch der Polymere, sondern auch unter den begrenzten Charakterisierungstechniken. Einer der Hauptnachteile ist die typischerweise extrem geringe Menge an DNA-Origami-Strukturen, die z. B. Gefrier-Pump-Tau-Zyklen für kontrollierte radikalische Polymerisationen, die Gewährleistung einer ausreichenden Menge an gebundenen Initiatoren oder die konventionelle Polymeranalyse mittels Größenausschlusschromatographie (SEC), kernmagnetischer Resonanzspektroskopie (NMR) oder dynamischer Lichtstreuung (DLS) erschwert oder sogar verhindert.

2.1. Polymerwachstum auf dem DNA-Origami

Die Polymerisation beginnend auf der Oberfläche ist ein geeigneter Ansatz zur Synthese von Biomolekül-Polymer-

Konstrukten mit maßgeschneiderten Eigenschaften, die durch eine einfache Aufarbeitung des Hybridmaterials und eine üblicherweise hohe Pfropfdichte gekennzeichnet ist.^[21] Kontrollierte Polymerisationstechniken haben sich dabei als leistungsstarke Methoden zur Herstellung von Polymeren mit kontrollierten Molmassen und genau definierten Architekturen erwiesen.^[22] Unter anderem bietet die radikalische Atomtransferpolymerisation (ATRP) die Möglichkeit, die Polymerisation unter biologisch relevanten Bedingungen durchzuführen, die für die Stabilität von Biomolekülen essentiell sind. Dabei kann eine geringe Konzentration an funktionellen Gruppen oder das Vorhandensein von Salzen bei der Arbeit mit Puffern trotzdem genutzt werden.^[23] Eine erfolgreiche Polymerisation, ausgehend von der Biomoleküloberfläche, erfordert jedoch die Anknüpfung von reaktiven Initiatorstellen. Wir verwendeten dafür das hochpräzise Gerüst aus DNA-Origami, um ATRP-Initiatoren an vordefinierten Positionen zu verankern und so ein gerichtetes Polymerwachstum im Nanobereich zu erzielen (Abbildung 3).^[24] Dafür wurden DNA-Origami-Rechtecke mit verschiedenen Mustern von kurzen Oligonukleotidsequenzen hergestellt, welche über die Origamioberfläche herausragen. Komplementäre Oligonukleotide wurden mit ATRP-Initiatoren modifiziert und durch Basenpaar-Hybridisierung an die DNA-Origami-Matrize gebunden. Dieser Makroinitiator wurde anschließend verwendet, um die Polymerisation von Poly(ethylenglycolmethylethermethacrylat) (PEGMEMA) zu induzieren. Dieses Monomer wurde aufgrund seiner Biokompatibilität sowie seiner Löslichkeit in Wasser ausgewählt,

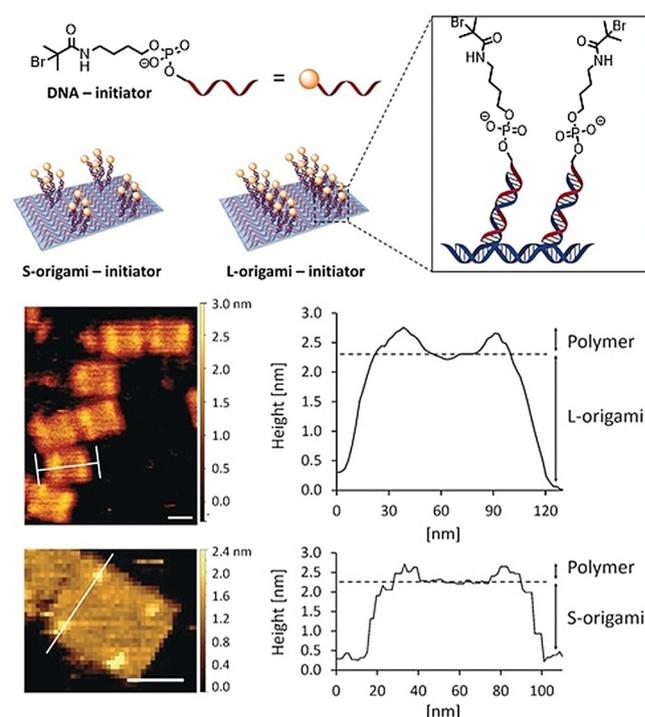


Abbildung 3. Oben: Schematische Darstellung der bei der ATRP von PEGMEMA verwendeten DNA-Origami-Initiatoren. Unten: AFM-Bilder und Höhenprofile des L- und S-Origamis nach Polymerisation auf der DNA. Abgebildet mit Genehmigung aus Lit. [24].

und es wurde angenommen, dass die eher sperrigen Seitenketten die Nachverfolgung des Polymerisationsprozesses durch Rasterkraftmikroskopie (AFM) erleichtern bzw. ermöglichen. Darüber hinaus erwies sich das Vorhandensein von Opferinitiatoren (überschüssige Menge an freier Initiator-DNA, die nicht an das DNA-Origami gebunden ist) als entscheidend für ein erfolgreiches Polymerwachstum. Die Visualisierung der Origami-Strukturen mittels AFM, insbesondere die Aufzeichnung des Höhenprofils, zeigten das Auftreten neuer Objekte an genau jenen Positionen, an welchen Initiatoren auf dem DNA-Nanoobjekt positioniert wurden. Darüber hinaus wiesen diese Objekte unterschiedliche mechanische Eigenschaften auf, die den Merkmalen weicher Polymermaterialien wie PEGMEMA entsprechen. Eine typische Charakterisierung des Polymers, wie die Bestimmung der Kettenlänge oder Dispersität durch Größenausschlusschromatographie, ist hier jedoch aufgrund der sehr geringen Menge nicht möglich gewesen. Der Einbau eines bifunktionellen Monomers, PEG-Dimethacrylat (PEG-DMA), in den Polymerisationsprozess führte zu einem vernetzten Polymer, dessen Struktur auch nach Entfernung der DNA-Matrize aufrechterhalten werden konnte.

Eine grundlegend andere Polymerisationsmethode, aber dennoch eine Polymerisation auf der Origami-Oberfläche, wurde von Ding et al. beschrieben.^[25] Hierbei funktionalisieren die Autoren eine doppelsträngige DNA-Matrize mit Guanin-reichen Oligonukleotidsequenzen, den so genannten DNAzymen, welche die Aktivität des Enzyms Meerrettichperoxidase (HRP) nachahmen können. Beim Einbau des Cofaktors Hämin und Zugabe von Wasserstoffperoxid katalysiert das aktive DNAzym die Polymerisation von Anilin. Somit wurden 1D-Polyanilin (PANI)-Strukturen durch *para*-Kupplung gebildet, wobei die erzeugten Anilinradikale zur geladenen DNA-Oberfläche diffundieren. Die regioselektive Bildung von PANI wurde dann auf 2D-Origami-Dreiecke übertragen (Abbildung 4).^[26] Die Verwendung von DNA-Origami-Strukturen war jedoch schwierig und erforderte eine Optimierung der Reaktionsbedingungen: Während eine hohe Ionenstärke die *para*-Kupplung von PANI ungünstig beeinflusste, beeinträchtigte eine unzureichende Mg^{2+} -Konzentration die Stabilität der DNA-Faltung. Durch AFM-Bildgebung konnte die Gruppe zeigen, dass das Polymerwachstum um die DNAzyme herum begünstigt war und kein Polymerwachstum in DNAzym-freier Region auftrat. Auf diese Weise wurde eine strukturelle Informationsübertragung vom Origami-Muster auf PANI erreicht, was zu einem Polymer mit vordefinierten Geometrien führte. Darüber hinaus macht das reversible Redoxverhalten von Polyanilin, das durch pH-Änderung ausgelöst werden kann, diese leitfähigen Hybridobjekte zu vielversprechenden Kandidaten für die Bereiche Elektronik, Sensorik und Energiespeicherung.

Die relativ einfache und gut funktionierende Polymerisationsstrategie wurde auch auf die Polymerisation von Dopamin auf DNA-Origami-Nanostrukturen angewendet.^[27] Polydopamin ist ein von Muscheln inspiriertes Polymer, das aufgrund seiner hervorragenden Eigenschaften bei der Oberflächenfunktionalisierung großes Interesse in den Materialwissenschaften geweckt hat.^[28,29] Die Autopolymerisation von Dopamin und die noch nicht vollständig aufgeklärte

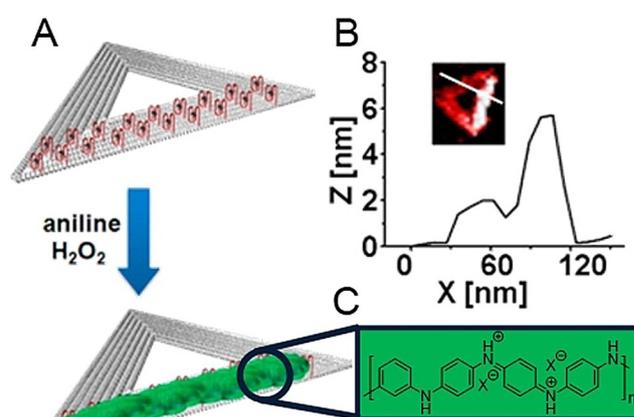


Abbildung 4. A) DNA-gestützte Synthese von Polyanilin (grün) an Origami-Dreiecken (grau) mit DNAzymen (rote Strukturen mit schwarzen Punkten) in Gegenwart von Anilin und H₂O₂. B) AFM-Bild eines einzelnen PANI-beschichteten Origami-Dreiecks. C) Struktur der Salzform von PANI. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [26]; Copyright (2020) American Chemical Society.

vielschichtige Polymerstruktur schränken jedoch das volle Potenzial ein. Durch Verwendung der gleichen DNAzyme wie oben beschrieben konnten wir die Polydopaminbildung auf einem 2D-DNA-Nanoblatt induzieren und ermöglichen. Es war hierbei wichtig, die Polymerisation in einem sauren Milieu durchzuführen, um die Autopolymerisation von Dopamin zu unterdrücken und die Kontrolle über den Prozess zu erlangen. Verschiedene Polydopaminanordnungen konnten erhalten werden, indem die katalytischen Zentren in verschiedenen Mustern auf dem Origami-Gerüst angeordnet wurden. Die Reaktionskinetik konnte durch Veränderung der Ionenstärke und der Wasserstoffperoxidkonzentration manipuliert werden. Die hergestellten Polydopamin-Nanostrukturen konnten als „supramolekularer Klebstoff“ eingesetzt werden. Insgesamt betrachtet ist dies ein überaus anschauliches Beispiel dafür, wie die DNA-Matrize die Polymerbildung beeinflussen kann und umgekehrt. In einer Folgestudie wurden 3D-Origami-Strukturen mit einem Photosensibilisator versehen, der an verschiedenen Positionen von Guaninreichen Oligonukleotiden (G-Quadruplexen) angebunden wurde (Abbildung 5).^[30] Bei der Bestrahlung mit sichtbarem Licht wurde Dopamin oxidiert und Polydopamin um die Reaktionszentren abgeschieden. Aufgrund des Lichtimpulses wird das Vorhandensein von Wasserstoffperoxid nicht mehr benötigt, was das System vereinfacht. Zusätzlich konnte durch einfaches Ein- und Ausschalten des Lichts der Polymerisationsprozess zeitlich gesteuert werden. Somit wurden photostrukturierte 3D-Nanostrukturen mit einer Abmessung weit unter 100 nm erzeugt, die nicht nur die DNA-Matrize in salzarmen Medien konservieren, sondern auch unter stark sauren Bedingungen aus der Matrize freigesetzt werden können.

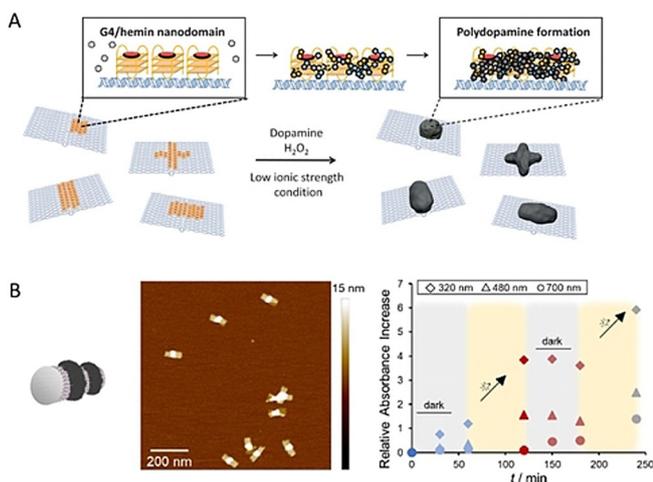


Abbildung 5. A) Chemisch induzierte Polydopaminbildung auf 2D-DNA-Origami über DNAzyme zur Erzeugung hochpräziser Hybridobjekte.^[27] B) Photoinduzierte Polydopaminbildung auf 3D-DNA-Origami unter raumzeitlicher Kontrolle mithilfe eines Photosensibilisators. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [30].

2.2. Polymer-Anknüpfung an DNA-Origami

In allen oben diskutierten Beispielen wurde die Polymerkette von der DNA-Origami-Oberfläche ausgehend in unterschiedlichen Mustern gebildet, entweder kovalent durch eine kontrollierte Polymerisationstechnik oder nicht kovalent neben den Initiatoren auf der DNA-Matrize abgeschieden. Im Gegensatz zu dieser Methodik kann auch ein vorgeformtes Polymer (synthetisiert oder biologisch abgeleitet) verwendet werden, und es können geeignete funktionelle Gruppen angebracht und mit DNA-Nanostrukturen verknüpft werden. Neben der eher intuitiven Idee, ein positiv geladenes Polymer durch elektrostatische Wechselwirkungen anzubinden, ist es auch attraktiv, Polymere durch Basenpaarerkennung zu hybridisieren oder mittels Klick-Chemie zu verbinden. Viele der Studien veranschaulichen jedoch die Grenzen dieser maßgeschneiderten Strategien, etwa den sterischen Anspruch von Polymeren, ihre geringe Löslichkeit und die mangelnde Stabilität der DNA, die alle eine Konjugation negativ beeinflussen.

2.2.1. Elektrostatische Wechselwirkungen

Aufgrund der ionischen Natur des Phosphatrückgrats der DNA ist es möglich, Polymere durch elektrostatische Wechselwirkungen an DNA-Origami zu binden. Normalerweise werden die DNA-Origami-Strukturen durch das zweiwertige Kation Mg^{2+} stabilisiert, das mit dem negativ geladenen Phosphatrückgrat der DNA-Sequenz interagiert, um die Ladungsabstoßung zwischen dicht gepackten DNA-Strängen zu kompensieren. In einer Vielzahl von Studien weisen die angebrachten Polymere Aminogruppen in der Seitenkette oder im Grundgerüst auf, die im sauren Milieu eine Quaternisierung des Stickstoffs bedingen. Diese Polykationen können dann durch ionische Wechselwirkungen mit DNA-Origami interagieren.

Basierend auf dieser Idee haben Kiviahio und Mitarbeiter die elektrostatische Bindung zwischen einer 60-Helix-gebündelten DNA-Nanostruktur und kationischen Blockcopolymeren untersucht.^[31] Um den Einfluss der Polymerstruktur auf die Bindungsaffinität zu bewerten, synthetisierten die Autoren Copolymere vom AB- und vom ABA-Typ mittels ATRP. Dafür verwendeten sie einen entsprechenden mono- und bifunktionellen Makroinitiator auf PEG-Basis, um 2-Dimethylaminoethylmethacrylat (DMAEMA) zu polymerisieren, wobei die PEG-Einheit die schlechte Biokompatibilität von PDMAEMA erhöhen sollte. Die Beschichtung wurde durch einfaches Mischen der Verbindungen unter sauren Bedingungen erreicht, um die Protonierung der Amine sicherzustellen. Es konnte gezeigt werden, dass alle Polymere eine geeignete Bindungseffizienz aufwiesen, aber interessanterweise hatte die Blockstruktur nur einen geringen Einfluss. Stattdessen war das Verhältnis der Gesamtzahl der Polymeramine und der Gesamtzahl der Phosphate in der DNA (als N/P-Verhältnis bezeichnet) unabhängig von der Anordnung des Stickstoffs im Polymer entscheidend. Darüber hinaus waren verschiedene Polymerbeschichtungen geeignet, um die Aktivität von enzymbeladenen DNA-Origami-Nanocontainern zu steuern, was durch die Biolumineszenzreaktion von Luciferaseenzymen gezeigt werden konnte. In einer weiteren Studie wurden lineares Polyethylenimin (LPEI) und Chitosan als natürliches Polymer zur Bildung von Polyplexen mit DNA-Origami-Nanostrukturen eingesetzt (Abbildung 6).^[32] Hierbei wollten die Autoren verschiedene Faktoren untersuchen, die sich unter physiologischen Bedingungen auf die Origami-Stabilität auswirken könnten, beispielsweise den Polymerisationsgrad, die Ladungsdichte und das Verhältnis von Stickstoff zu Phosphat. Zu diesem Zweck wurden drei verschiedene DNA-Objekte synthetisiert und verwendet: ein Nanostab, eine Nanoflasche und eine Gitter-

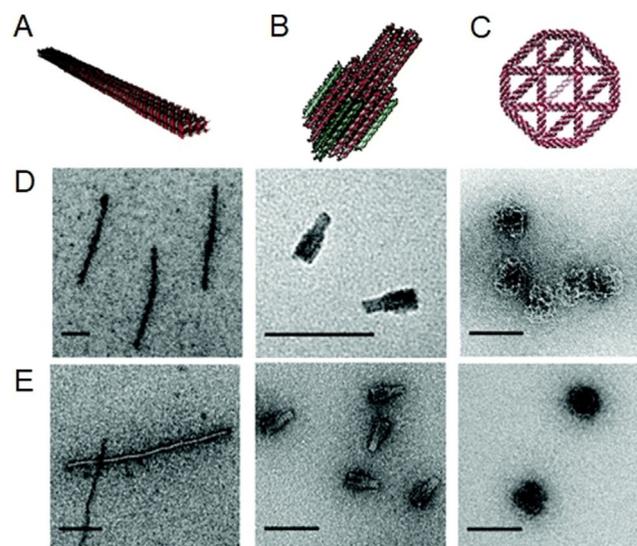


Abbildung 6. Darstellung der verschiedenen DNA-Origami-Strukturen. A) Nanostab, B) Nanoflasche und C) Gitterstruktur. D) TEM-Bilder von unbeschichteten DNA-Origami-Strukturen. E) Mit Uranylacetat gefärbte Origami-Strukturen nach Zersetzung mit Dextransulfat zeigten intakte Origami-Strukturen. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [32].

Origami-Struktur. Beim einfachen Mischen von DNA- und Polymerverbindungen wurde die erfolgreiche Beschichtung durch einen PicoGreen-Assay nachgewiesen, der auf der Interkalation des Farbstoffs in die DNA-Doppelhelix beruht und gleichzeitig eine starke Fluoreszenz zeigt. Aufgrund der Polykationenbeschichtung wurde PicoGreen aus dem Polymer-DNA-Komplex verdrängt, was zu einer Abnahme der Fluoreszenz führte. Während nicht funktionalisiertes Origami durch Transmissionselektronenmikroskopie mit negativer Färbung (nsTEM) abgebildet werden konnte, war eine Färbung von LPEI-modifiziertem Origami nur möglich, nachdem die Polymerbeschichtung durch Behandlung mit polyanionischem Dextransulfat entfernt worden war, wodurch intakte Origami-Strukturen sichtbar wurden und somit indirekt eine erfolgreiche Polymerverkapselung nachgewiesen werden konnte. Es konnte gezeigt werden, dass LPEI die strukturelle Integrität des DNA-Origamis effizienter schützt als Chitosan und dass diese Effizienz stark vom Verhältnis von Stickstoff zu Phosphat (N/P) abhängt. Es muss jedoch berücksichtigt werden, dass die einzigartige Adressierbarkeit der DNA-Origami-Oberfläche durch die Polymerbeschichtung maskiert werden kann.

2017 untersuchten zwei Studien die Verwendung von Copolymeren auf PEG-Oligolysin-Basis zum Schutz von DNA-Origami-Strukturen vor salzarter Denaturierung und Nuklease-Abbau. Dabei ist der Lysinblock mit seinen positiven Ladungen für die elektrostatische Wechselwirkung mit dem DNA-Objekt verantwortlich, und das PEG bewirkt einen Abschirmeffekt.^[33,34] Daher synthetisierten Schmidt und Mitarbeiter Poly(ethylenglycol)-*b*-poly(L-lysin) (PEG12kDa-PLys18) durch Ringöffnungspolymerisation von *N*^ε-Trifluoracetyl-L-lysin-*N*-carboxyanhydrid, welches durch einen aminterminierten 12-kDa-PEG-Makroinitiator initiiert wurde. Im Unterschied zu unfunktionalisierten Origami-Strukturen widerstanden polymerbeschichtete Objekte der Behandlung von DNase I, fötalem Rinderserum (FBS) und niedrigen Salzgehalten und behielten die strukturelle Integrität bei. Die Anlagerung von sterisch anspruchsvollen Gold-Nanopartikeln (AuNPs) hat den Prozess der Polyplexbildung jedoch nicht überstanden. Die Ablösung konnte durch Transmissionselektronenmikroskopie (tSEM) sichtbar gemacht werden. Das Problem konnte durch den Einsatz kürzerer PEG-Ketten umgangen werden, die immer noch die gleiche Schutzeffizienz bieten. Diese Ergebnisse stimmen mit einer ähnlichen Studie von Shih und Mitarbeitern überein, die den vorteilhaften Beitrag der PEG5kDa-PLys10-Polymerbeschichtung zur Origami-Stabilität untersuchten. Die Autoren konnten ferner nachweisen, dass die Oberflächenadressierbarkeit der DNA-Nanostrukturen nicht durch den Polymerfilm eingeschränkt wurde, und immobilisierte Liganden konnten spezifisch mit Rezeptoren interagieren, was zur zellulären Aufnahme der Hybridobjekte führte. Vor kurzem versuchten auch Gang und Mitarbeiter, die Grenzen der Stabilität der DNA-Assemblierung in komplexen biologischen Flüssigkeiten zu erweitern (Abbildung 7).^[35] Sie testeten eine neue Klasse polykationischer Polymere, nämlich Peptide. Peptide sind neue Peptidmimetika, deren Seitenketten nicht an das α -Kohlenstoff-, sondern an das Stickstoffatom des Peptidrückgrats gebunden

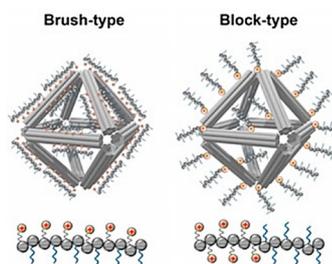


Abbildung 7. Bürsten- und Block-artige Peptide sollen zu unterschiedlichen Oberflächenbeschichtungen auf oktaederförmigem DNA-Origami führen. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [35].

sind, wodurch die Bildung von Sekundärstrukturen über Wasserstoffbrücken verhindert und Proteolysebeständigkeit erreicht wird. In Übereinstimmung mit den oben beschriebenen Ansätzen untersuchte die Gruppe den Effekt der Peptoidarchitektur und der Sequenzabhängigkeit auf die Origami-Stabilität. Daher synthetisierten sie Bürsten- und Block-ähnliche Peptide über Festphasenpeptidsynthese, die aus positiv geladenen Monomeren (elektrostatische DNA-Komplexierung) und neutralen Oligo(ethylenoxy)-Einheiten (Oberflächenpassivierung) aufgebaut waren. Sie konnten zeigen, dass Bürsten-artige Peptide beim Schutz von oktaederförmigen DNA-Origami-Strukturen überlegen waren. Darüber hinaus wurde die Fähigkeit dieser Strukturen aufgezeigt, als Wirkstoffträger für die kontrollierte Freisetzung von Doxorubicin zu fungieren, was zuvor noch nicht erreicht worden war. Alle diese Beschichtungsstrategien lassen sich vergleichsweise einfach durch Mischen der Origami-Nanostrukturen mit einem Überschuss an Polymer erreichen, es fehlt jedoch die Möglichkeit, das Polymer in unterschiedlichen Mustern anzuordnen.

2.2.2. Oligonukleotid-Hybridisierung

Die Verknüpfung von Polymeren über ionische Wechselwirkungen, die häufig für die Stabilisierung von DNA genutzt werden, ist sehr vorteilhaft in Hinblick auf die Synthese und die einfache und unkomplizierte Kombination von Polymer und DNA-Origami. Diese Strategie berücksichtigt jedoch nicht die einzigartige Adressierbarkeit des DNA-Origami-Gerüsts – im Gegenteil, sie könnte sie sogar unterbinden. Daher ermöglicht die Verknüpfung von Polymeren mit DNA-Objekten durch komplementäre Basenpaarererkennung die hochpräzise Positionierung einzelner Polymerketten und überwindet somit den Mangel an intrinsischen Selbstorganisationseigenschaften. Um Polymere mit den erforderlichen funktionellen Gruppen auszustatten, d.h. Oligonukleotiden, die zu einzelsträngigen DNA-Sequenzen auf der Origami-Oberfläche komplementär sind, kann man entweder die Endgruppe des Polymers oder die Seitenketten entsprechend funktionalisieren. Daher hat es sich als nützlich erwiesen, entweder das Oligonukleotid an das Polymer zu „klicken“ oder Oligonukleotide direkt auf dem Polymergrundgerüst herzustellen. Die Hybridisierung des jeweiligen Polymers mit dem DNA-Origami ist stets reversibel und sollte ein programmiertes Schalten ermöglichen.

Gothelf und Mitarbeiter sehen große Chancen, konjugierte und daher potenziell leitende Polymere auf ein DNA-Origami-Template zu binden, um elektronische oder optische Drähte im molekularen Maßstab aufzubauen.^[36] Zu diesem Zweck synthetisierten die Autoren ein konjugiertes Polyphenylenvinyl mit Alkoxyseitenketten (APPV) aus einem Dithiocarbamat-Vorläufer. Jede Phenyl-Einheit im Grundgerüst trägt eine Triethylglycol-Seitenkette, und mithilfe von Schutzgruppenchemie wurde eine kleine Anzahl von Hydroxygruppen eingebaut, um das Polymer an den festen Träger zu binden, während die verbleibenden Hydroxygruppen in einer automatisierten Festphasen-DNA-Synthese verwendet wurden, um ein 9-mer-Oligonukleotid herzustellen. Dadurch erhielten sie ein vollständig wasserlösliches Bürstenpolymer mit ssDNA in einer Vielzahl der Seitenketten. Die Größenverteilung war jedoch recht breit, wie durch Größenausschlusschromatographie (SEC, 340 bis 3300 kDa) und AFM (Längen im Bereich von 20 bis 200 nm) gezeigt wurde, was die Autoren mit teilweiseem Abbau während der Aufarbeitung begründeten. Durch die Funktionalisierung von 2D- und 3D-DNA-Origami-Matrizen mit komplementären Oligonukleotidsequenzen konnten sie einzelne Polymerketten in verschiedenen Geometrien auf der Matrize anknüpfen. Darüber hinaus konnten sie den Förster-Resonanzenergietransfer (FRET) zwischen dem gebundenen Polymer (Donor) und einem coimmobilisierten Akzeptorfarbstoff beobachten, was beweist, dass die Absorption und Emission des Polymergrundgerüsts durch die angewendeten Verfahren nicht beeinträchtigt werden. Weitere Studien, die diese Strategie zur Entwicklung von Nanokreisläufen nutzen, werden in Abschnitt 3 erörtert.

Im Unterschied zur ausgeklügelten und anspruchsvollen Festphasensynthese von Oligonukleotiden direkt aus dem Polymergrundgerüst kann das Polymer auch mit einer geeigneten Endgruppe ausgestattet und auf die jeweilige ssDNA „geklickt“ werden. In diesem Zusammenhang wurden in verschiedenen Studien kupferkatalysierte Azid-Alkin-Reaktionen (CuAAC)^[37] sowie eine kupferfreie Variante mit spannungsinduzierter Azid-Alkin-Klickreaktion (spAAC)^[38,39] verwendet. Für die Entwicklung eines DNA-Origami-unterstützten elektrooptischen Modulators haben Canary und Mitarbeiter zwei verschiedene Arten von organischen Halbleitern, insbesondere Oligomere aus Oligophenylvinyl (OPV) und Oligoanilin (OANI), mit ssDNA-Strängen funktionalisiert, die eine Bindung an ein DNA-Origami-Gerüst ermöglichen (Abbildung 8).^[37]

Daher wurden die symmetrischen Oligomere mit Azidgruppen an jedem Ende mittels CuAAC mit Propargylresten-funktionalisierten Oligonukleotidsträngen „doppelt geklickt“. Folglich bestand die erhaltene Struktur aus einem Polymer mit Oligonukleotidsequenzen an beiden Enden. Durch Hybridisieren der Polymer-DNA-Konstrukte mit einem DNA-Origami-Rahmen mit vier komplementären Ankersträngen wurden die Halbleiter in räumliche Nähe gebracht und bildeten eine kreuzartige Struktur. Durch Einstellen der Oxidationsstufe von Polyanilin konnte der Energietransfer von HPV zu OANI so eingestellt werden, dass dies durch ein verändertes Fluoreszenzsignal sichtbar wird. Die Hybridisierungseffizienz von nur 20% korrekt gebildeten

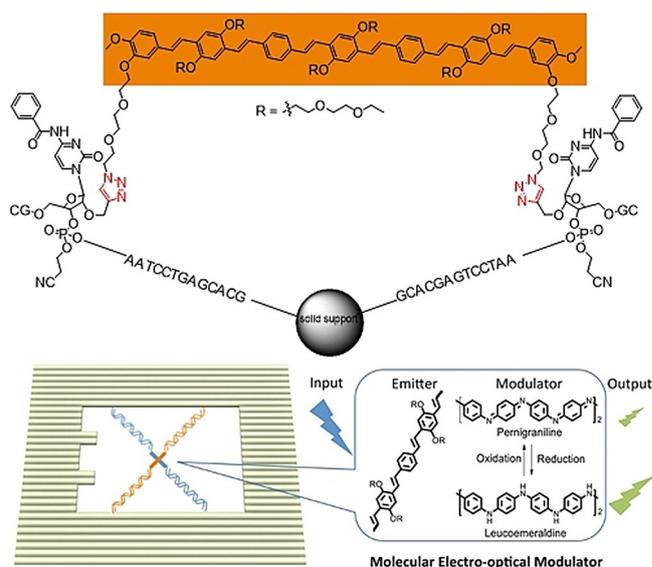


Abbildung 8. Oben: Produkt der Doppel-CuAAC-Reaktion zwischen Azid-funktionalisiertem Oligomer (OPV) und Alkin-funktionalisierter Oligonukleotidsequenz, immobilisiert auf einem festen Träger (Glas mit kontrollierten Poren). Unten: Schematische Darstellung des x-förmigen OANI- und OPV-DNA-Konjugats auf dem DNA-Origami-Rahmen. OANI (blau) wirkt als Modulator für die Fluoreszenzintensität des OPV (orange). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [37]. Copyright (2020) American Chemical Society.

Polymer-DNA-Origami-Strukturen (überprüft mit AFM) zeigt jedoch, wie schwierig die Bildung dieser Hybridobjekte ist, obwohl häufig angenommen wird, dass die Basenpaar-Hybridisierung einfach ist. Auch Mertig und Mitarbeiter verwendeten Klickreaktionen, um leitende Polymere in unterschiedlichen Mustern an eine Origami-Oberfläche zu konjugieren (Abbildung 9).^[38] Hierbei synthetisierten sie definierte Polymere auf Thiophenbasis über Kumada-Polykondensation mit Dispersitäten zwischen 1.1 und 1.3. Oligoethylenglycol-tragende Seitenketten stellten die Wasserlöslichkeit des Polymeren sicher und ermöglichten dadurch die Reaktion von Azid-funktionalisiertem Polymer und Dibenzocyclooctin-endfunktionalisierten Oligonukleotiden in wässriger Lösung. Es ist zu erwähnen, dass der Funktionalisierungsgrad der Polymeren nur im moderaten Bereich von 38 bis 71% liegt. Es wird jedoch nicht angenommen, dass unfunktionalisierte Polymerketten an weiteren Reaktionen beteiligt sind oder die Konjugate zerstören. Drei verschiedene Oligonukleotidsequenzen wurden an die Polymere konjugiert und an drei verschiedene DNA-Origamis gebunden, um Sequenzhybridisierungseffekte zu untersuchen. Praktisch alle Origamis wurden funktionalisiert, aber die Gesamtfunktionalisierungswahrscheinlichkeit betrug ungefähr ein Drittel. Zum Beispiel zeigten 4 von 14 Bindungsstellen auf einem Origami-Pad ein angehängtes Polymer. Dies zeigt erneut, dass die Hybridisierung von Polymeren an DNA-Oberflächen schwierig und sterisch anspruchsvoll ist. Das Aufbringen von Tensiden auf polymerfunktionalisiertem Origami ging mit einem blauverschobenen Anstieg der Fluoreszenz einher und zeigte somit indirekt, dass eine π - π -Wechselwirkung von Polythiopheneinheiten zwischen den Ketten auftritt. Diese

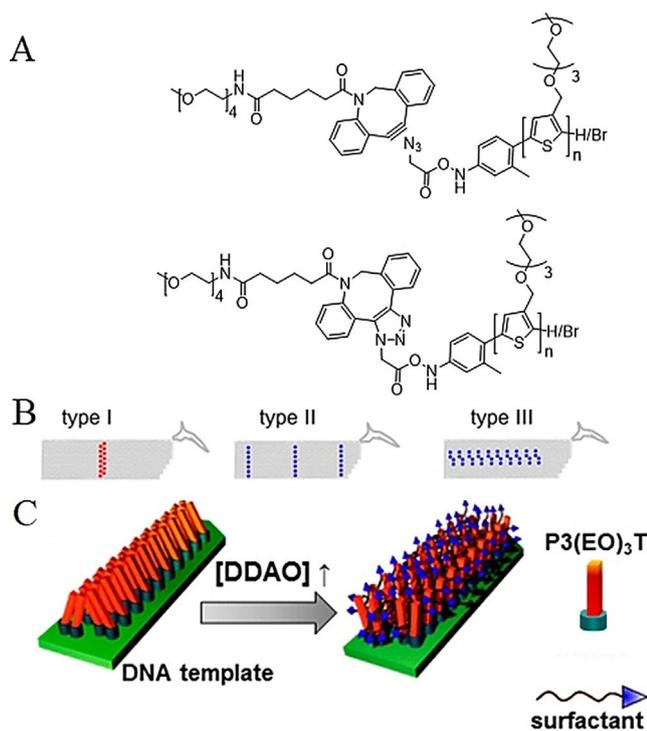


Abbildung 9. A) spAAC-Reaktion mit einem Cyclooctin-funktionalisiertem Oligonukleotid und Azid-funktionalisiertem Polythiophen. B) Die drei verschiedenen DNA-Origami-Typen. C) Darstellung von aggregiertem P3(EO)₃T auf dem DNA-Origami (links) und der nicht-aggregierten Struktur (rechts) nach Zugabe des Tensids. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [38]. Copyright (2020) American Chemical Society.

Funktion bietet eventuell die Möglichkeit, die optischen Eigenschaften auf molekularer Ebene zu optimieren.

2.3. Strukturen höherer Ordnung

Zusätzlich zu den oben erörterten Bindungsmethoden kann man auch den hydrophoben Effekt nutzen, um Strukturen höherer Ordnung zu bilden, die aus DNA-Origami und Polymeren aufgebaut sind. Durch Aufbringen von hydrophoben Polymeren auf DNA-Gerüste können die Oberflächeneigenschaften erheblich verändert werden, wodurch die Selbstorganisation der amphiphilen Strukturen induziert wird.

2015 konnten Liu und Mitarbeiter zeigen, dass durch Anbringen von hydrophoben Dendronen an DNA-Origami-Rechtecke Bereiche mit hoher lokaler Konzentration an hydrophoben Molekülen gebildet werden, die aufgrund des hydrophoben Effekts die Origami-Faltung in verschiedene thermodynamisch stabile Produkte induzieren. Daher wurden Poly(arylether)dendronen über Festphasensynthese an Oligonukleotide konjugiert, während die Modifikation mit Oligo(ethylenglycol)-Ketten die Wasserlöslichkeit der Dendronen erhöhen sollte. Die klassische Synthese von DNA-Origami in Gegenwart von verlängerten Klammersträngen und komplementär funktionalisierten Dendronen führte zum Auftreten von Sandwich-ähnlichen Strukturen. In einer Fol-

gestudie erzeugte dieselbe Gruppe Polymervesikel auf der Schale eines DNA-Origami-Würfels (Abbildung 10).^[40]

Die Anlagerung der oben genannten hydrophoben Dendronen an Origami-Würfel führte zu Aggregations- und Niederschlagsphänomen, höchstwahrscheinlich aufgrund der π - π -Wechselwirkung zwischen mehreren quaderförmigen Rahmen. Die Addition eines zweiten hydrophoben Dendrons, des so genannten Hauptamphiphils (PA), an das amphiphile Konstrukt unterbrach die Wechselwirkungen und förderte stärkere PA-Rahmen-Wechselwirkungen, was zur Bildung von Heterovesikeln führte. Um die Anwendbarkeit dieses Verfahrens auf verschiedene Moleküle zu demonstrieren, wurden die Dendronen durch Polymere substituiert: DNA-Quader wurden mit thermoaktivem Poly(propylenoxid) (PPO) funktionalisiert. Beim Erhitzen wird das Polymer hydrophob und ermöglicht so die Bildung von Vesikeln durch ein weiteres PPO-Polymer.

Dies ist ein beeindruckendes Beispiel für den Aufbau von Strukturen höherer Ordnung, die auf polymerfunktionalisierten DNA-Origami-Strukturen basieren. Die komplizierte Technik erfordert jedoch großes Fachwissen, um eine erfolgreiche Funktionalisierung zu ermöglichen. Es wurde auch gezeigt, dass die Verwendung von hydrophoben Wechselwirkungen zwischen Polymeren, die an 3D-DNA-Nanostrukturen gebunden sind, größere DNA-Mizellen ergibt.^[41,42] Zu diesem Zweck wurden DNA-Nanostrukturen in drei verschiedenen Formen (trigonales Prisma, Würfel und fünfeckiges Prisma) verwendet und mit Oligonukleotiden funktionalisiert, welche kovalent an Hexa(ethylen)phosphat gebunden sind, um DNA-Nanostrukturen mit Polymersträngen zu erhalten.^[41] Es konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der Hexa(ethylen)phosphat-Wiederholungseinheiten für die Mizellenbildung entscheidend ist: Mindestens sechs dieser Wiederholungseinheiten sind erforderlich, um Strukturen höherer Ordnung zu bilden, wobei Mizellenstrukturen beobachtet werden, wenn die Anzahl der Wiederholungseinheiten auf mindestens acht erhöht wird.^[41] Es wurden nicht

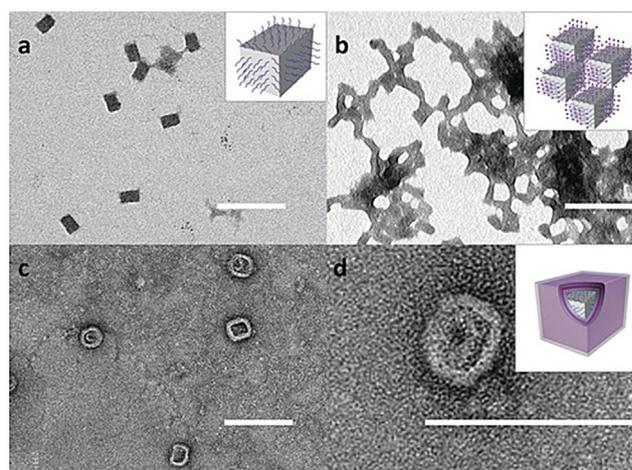


Abbildung 10. TEM-Bilder der DNA-Würfel-Dendron-Aggregate. a) Origami-Quader. b) Aggregate, die bei Zugabe von DTDOEG gebildet wurden. c, d) Heterovesikel, die nach Zugabe von G₂Cl 18 aus dem Aggregat gebildet wurden. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [40].

nur Mizellen mit den kubischen DNA-Strukturen synthetisiert, sondern auch die trigonalen und pentagonalen Prismen. TEM, AFM und DLS wurden verwendet, um die Mizellen der verschiedenen DNA-Strukturen zu vergleichen, wobei sich herausstellte, dass sie ungefähr dieselbe Größe zu haben scheinen, was nur durch die Anzahl der sich wiederholenden Einheiten des Hexa(ethylen)phosphats beeinflusst wird. Die Gruppe untersuchte ferner den Einfluss einer Kombination von hydrophoben und hydrophilen Wiederholungseinheiten auf die an die prismatischen Strukturen gebundenen DNA-Polymer-Konjugate.^[42] Der hydrophobe Block bestand aus 1,12-Dodecandiol (HE), während der hydrophile Block durch Hexaethylglycol (HEG) hergestellt wurde. Erste Experimente kombinierten die kubische DNA-Struktur mit vier DNA-Copolymersträngen, die aus sechs HE- und sechs HEG-Einheiten in unterschiedlicher Reihenfolge bestanden. Bemerkenswerterweise wurde mit zunehmender Länge des HE-Blocks eine höhere Mobilität bei der Gelelektrophorese beobachtet, was durch die Faltung der Polymerketten in eine Käfigstruktur erklärt wurde.^[42] Außergewöhnlich war die Nanostruktur mit dem HE₆HEG₆-Blockcopolymer, das anstelle der erwarteten Mizellenstrukturen ringförmige Objekte aus drei bis fünf polymerfunktionalisierten DNA-Würfeln bildete. Durch Erhöhung der Länge des hydrophilen HEG-Blocks konnte der Durchmesser der ringförmigen Anordnungen vergrößert werden, im Gegensatz zum HE₆HEG₆-Blockcopolymer, was darauf hinweist, dass der HEG-Block als Platzhalter fungiert.^[42] Hervorzuheben ist, dass die Bildung von Mizellen nicht beobachtet wird, wenn (Block-)Copolymere verwendet wurden, die aus hydrophoben und hydrophilen Einheiten bestehen. Diese können nur bei hydrophoben Polymeren beobachtet werden.^[42] Die zuvor diskutierten Beispiele zeigen, dass nicht nur DNA-Origami verwendet werden kann, um Polymere in größere Strukturen und gewünschte Formen zu lenken, sondern auch Polymer-Polymer-Wechselwirkungen die Erzeugung makromolekularer Strukturen mit zuvor gefaltetem DNA-Origami ermöglichen.

3. Die nächste Generation von polymeren Hybridmaterialien: Anwendungen

Im vorherigen Abschnitt haben wir verschiedene Techniken zur Verknüpfung von Polymeren und DNA-Origami sowie zur gegenseitigen Beeinflussung hervorgehoben. Auch wenn es weniger Beispiele gibt, als man hinsichtlich des Potenzials dieser Materialien erwarten könnte, und obwohl noch einige Herausforderungen zu bewältigen sind, berichten mehrere Studien doch bereits über erste Erfolge für zukünftige Anwendungen und Perspektiven.

Gothelf und Mitarbeiter nutzten ihr System, um ein konjugiertes bürstenartiges Polymer mit Oligonukleotid-Seitenketten auf DNA-Origami-Kacheln zu befestigen, um einen Beitrag zum Bereich nanophotonischer und nanoelektronischer Bauelemente zu leisten. Hierfür legten sie das Polymer nicht nur geordnet auf der Origamioberfläche ab, sondern steuerten das Polymer auch präzise, um seine Position und Konformation zu ändern (Abbildung 11 A).^[43] Es wurden zwei Arten von so genannten Führungssträngen ver-

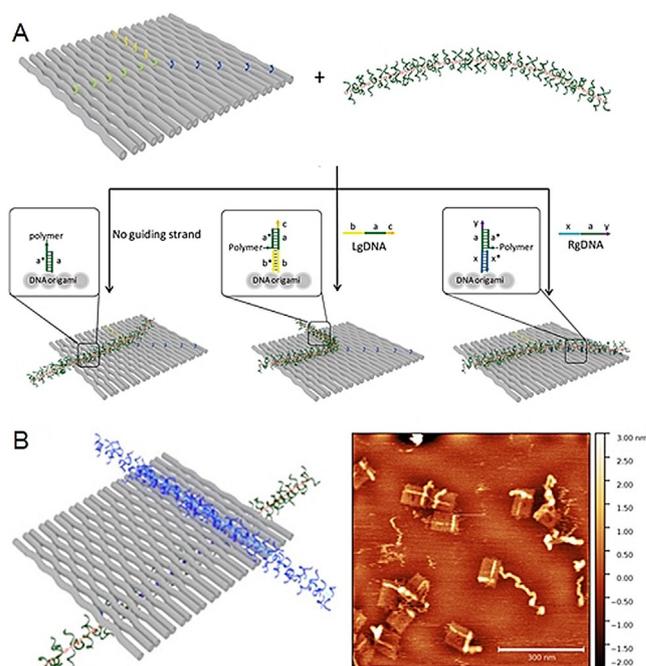


Abbildung 11. A) Umwandlung einer Polymerkonformation auf einem DNA-Origami durch Hinzufügen der Leit- und Entfernerstränge. B) p-(F-DNA) (blau) und p-(PPV-DNA) (grün) auf DNA-Origami mit AFM-Bild (rechts). Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [43, 44]. Copyright (2020) American Chemical Society.

wendet, die es dem Polymer ermöglichen, zwei verschiedene Wege auf der Origami-Struktur zu verfolgen, abhängig davon, welche Art von Führungsstrang verwendet wurde. Die Stränge sind mit einer kurzen Sequenz von Nucleotiden ausgestattet, die nicht an der Polymerhybridisierung beteiligt ist. Daher können die Führungsstränge von einem vollständig komplementären Entfernerstrang eingefangen werden, was zur Freisetzung des Polymers führt. Durch anschließendes Hinzufügen des anderen Satzes von Führungssträngen kann das Polymer entlang der zweiten Art auf dem Origami gebunden werden. Diese Ereignisse können über FRET zwischen dem Polymer und den jeweils angeordneten Farbstoffen nachvollzogen werden. Es ist anzumerken, dass ungefähr nur die Hälfte der Origami-Strukturen gut ausgerichtete Polymere (AFM) aufweist und dass eine Oberflächenverunreinigung nach dem Konformationswechsel die Bildgebung signifikant beeinträchtigte. In einer Folgearbeit zielte die Gruppe darauf ab, die Wechselwirkung zwischen zwei verschiedenen Arten von konjugierten Polymeren zu untersuchen, indem die einzigartige Adressierbarkeit von DNA-Origami genutzt wurde (Abbildung 11 B).^[44] Zusätzlich zu dem oben erwähnten APPV-DNA-Copolymer synthetisierten die Autoren auf ähnliche Weise ein Polyfluoren-DNA-Konjugat (Poly(F-DNA)). Sie konjugierten beide Polymere an das Origami-Rechteck, konnten jedoch keine Energieübertragung zwischen den beiden Polymeren beobachten. Dies könnte durch fehlenden Kontakt zwischen den Polymeren in Kombination mit einer Störung nicht gebundener Polymere verursacht werden, was abermals die Grenzen für die Konjugation komplizierter Polymere aufzeigt. Für weitere

Untersuchungen ordneten sie daher die Polymere direkt durch Hybridisierung der Seitenketten an.

DNA-Origami ist eine aufstrebende Plattform, um die Bewegung verschiedener Objekte im Nanobereich zu steuern. Die Bewegung der anhaftenden Objekte erfolgt jedoch häufig auf „Brennstoffbasis“, d. h., es werden Strangverdrängungsreaktionen von entsprechend entworfenen Oligonukleotiden eingesetzt, um alte Bindungen zu brechen und neue zu erzeugen. Dies macht eine Aufarbeitung nach jedem Schritt erforderlich. Baumberg und Mitarbeiter entwickelten einen DNA-Origami-Flexor, dessen Aktivierung durch ein thermoresponsives Polymer vermittelt wird, das von außen beeinflusst werden kann (Abbildung 12).^[39]

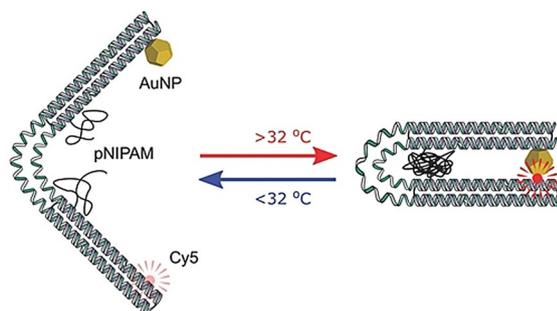


Abbildung 12. Darstellung eines DNA-Origami-Flexors. Beim Erhitzen des Flexors in einer Lösung von PNIPAM kommt es zu einer Änderung der DNA-Origami-Form. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [39].

Die Autoren entwarfen eine flexible DNA-Origami-Gelenkstruktur, an der sie Poly(*N*-isopropylacrylamid) (PNIPAM) auf beiden Seiten anbrachten. Dafür wurde ein PNIPAM-DNA-Konjugat über eine katalysatorfreie spannungsinduzierte Cycloaddition gebildet und an die komplementären Einfangstränge innerhalb der Gelenkregion gebunden. Durch Fixieren eines Goldnanopartikels und eines fluoreszierenden Farbstoffs an entgegengesetzten Enden konnte der Wechsel zwischen dem geöffneten und dem geschlossenen Zustand des Gelenks optisch verfolgt werden. Beim Erhitzen über die kritische Lösungstemperatur (LCST) von 32 °C wird PNIPAM hydrophob und zwingt das Gelenk zum Schließen. Dies konnte durch einen Anstieg der Fluoreszenz sowie durch Änderungen der Größenverteilung (DLS) eindeutig verfolgt werden. Die AFM-Bilder sind jedoch ein anschauliches Beispiel dafür, wie schwierig die direkte Visualisierung von DNA-Origami-Strukturen, welche die Konformation ändern, sein kann.

Tokura und Mitarbeiter entwickelten die zuvor beschriebene oberflächeninitiierte ATRP auf DNA-Origami weiter, indem sie die Technik auf eine 3D-Röhre übertrugen und damit den Weg für die 3D-Konstruktion von Nanomaterialien ebneten (Abbildung 13).^[45]

Hierbei entwarfen die Autoren ein System, bei dem orthogonales Polymerwachstum möglich ist: Nach dem Beschichten der Außenfläche mit vernetztem PEGMEMA wurde der innere Hohlraum des Origami-Röhrchens mit DNAzymen funktionalisiert, um die Polymerisation von Dopamin zu induzieren. Während AFM-Bilder, die nach dem

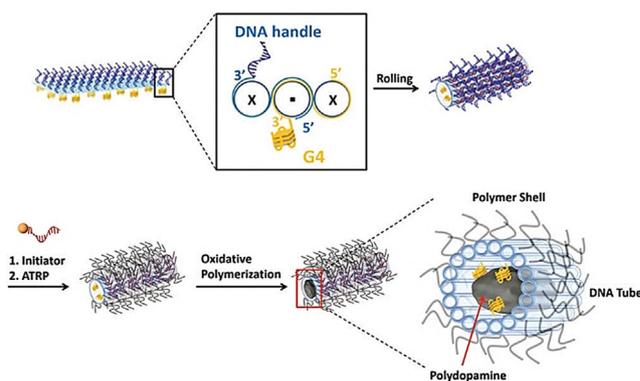


Abbildung 13. Faltung des DNA-Origami-Röhrchens und Funktionalisierung mit Oligonukleotid-modifizierten ATRP-Initiatoren und anschließende Polymerisation von PEGMEMA und PEGDMA. Wiedergabe mit Genehmigung aus Lit. [45] (Publiziert von der Royal Society of Chemistry).

ersten Polymerisationsschritt aufgenommen wurden, eine Zunahme des Höhenprofils und damit das Vorhandensein eines Polymers zeigen konnten, war keine Abbildung des im Inneren synthetisierten Polymers möglich. Die Polydopaminbildung konnte nur durch Absorptionsspektroskopie überwacht werden, was erneut unterstreicht, wie kompliziert die Charakterisierung von Polymer-DNA-Hybridobjekten ist.

4. Zusammenfassung und Ausblick

Die Kombination von DNA-Origami und Polymeren ist eine exzellente, aufstrebende Methode zur präzisen Oberflächenmodifizierung und zur Schaffung schwer zugänglicher Nanostrukturen im niedrigen Nanometerbereich. Dies stellt eine Art Top-up-Ansatz dar, bei dem konventionelle Bottom-up- und Top-down-Methoden zusammengeführt werden. Bis heute wird die Anordnung von polymeren Objekten in einer praktisch unendlichen Vielfalt von Geometrien mit einer Genauigkeit von wenigen Nanometern durch keine andere Methode ermöglicht. Dadurch werden die Grenzen etablierter Lithographie- und Selbstorganisationsansätze durch die Programmierung unterschiedlicher Nanoobjekte überschritten. Darüber hinaus ermöglicht DNA-Origami die orthogonale Funktionalisierung von Polymeren und anderen Molekülen, was die Untersuchung von Energieübertragungsprozessen sowie die Installation geeigneter Sensorsysteme oder Zielgruppen ermöglicht. Grundsätzlich ermöglichen zwei verschiedene Strategien die Bildung solcher Hybridstrukturen: Entweder wird das Polymer von der DNA-Origami-Matrize aus synthetisiert, oder ein vorgeformtes Polymer wird an die DNA gebunden. In Bezug auf die hier diskutierten Studien stellt sich heraus, dass es innerhalb der letztgenannten Kategorie deutlich mehr Berichte gibt. Die Synthese von Polymeren von der Origami-Oberfläche ausgehend ist aufgrund der extrem geringen Konzentration von DNA-Objekten und der damit einhergehenden geringen Anzahl von Initiatoren anspruchsvoll. Weiterhin sind die Reaktionen in ultraniedrigen Volumina besonders empfindlich gegen Sau-

erstoff, der nur schwer entfernt werden kann. Darüber hinaus ist es nicht möglich, Molmassen und Verteilungen der gewachsenen Ketten zu bestimmen. Aber auch die Anlagerung von Polymeren an das DNA-Origami steht vor einigen Hürden: Es wird vorteilhaft, wenn die Löslichkeit des Polymers mit der DNA kompatibel ist, und die Verschlaufungen der Polymere und die Faltung der DNA können ihre reaktiven Zentren abschirmen. Diese Strategie ermöglicht jedoch die Synthese von Polymeren in größerem Maßstab und deren gründliche Charakterisierung vor der DNA-Origami-Anknüpfung.

Während die elektrostatische Beschichtung von DNA-Nanostrukturen mit Polykationen als unkompliziert angesehen werden kann, zielt sie häufig nur auf die Stabilisierung des inhärent anfälligen DNA-Konstrukts in biologisch relevanten Medien ab, nutzt jedoch die Adressierbarkeit nicht aus, um eine molekulare Strukturierung zu erreichen. Daher ist die Hybridisierung von entsprechend modifizierten Polymeren mit komplementären Strängen auf dem DNA-Origami zweckmäßiger, dennoch werden die Konjugationseffizienz und die Pfropfdichte häufig als eher gering angegeben. Wir sehen es weiterhin als Zielstellung des Kurzaufsatzes an, an dieser Stelle abermals die Herausforderungen bei der Charakterisierung hervorzuheben, die mit der Synthese von Polymer-DNA-Origami-Hybridstrukturen einhergehen und die einen schnellen Fortschritt auf diesem Gebiet hindern. Die ultrakleinen DNA-Origami-Mengen erschweren typische Polymeranalysemethoden wie SEC, NMR oder DLS. Um den Einfluss von Polymeren auf DNA-Origami auf qualitativer Ebene zu analysieren, kann eine Agarosegelelektrophorese genutzt werden. Die Integrität der Strukturen kann hier jedoch nicht nachgewiesen werden. Daher müssen Bildgebungstechniken wie AFM und TEM angewendet werden, um die Objekte zu visualisieren. In Bezug auf die geringe Größe von DNA-Origamis müssen sie in hochauflösenden Modi betrieben werden, und die Probenvorbereitung, z. B. Trocknungseffekte, muss berücksichtigt werden. Das repräsentativste Bild könnte durch AFM in einer flüssigen Umgebung aufgenommen werden, die dem natürlichen Vorkommen von DNA-Origami in wässriger Lösung entspricht. Weiterhin kann auch auf eine indirekte Charakterisierung, beispielsweise mittels FRET, zurückgegriffen werden, um Konformationsänderungen zu untersuchen.

Fazit: Die Kombination von Polymeren und DNA-Origami birgt ein großes Potenzial für die Entwicklung programmierbarer Nanoobjekte mit höchster struktureller Präzision. Auch gibt es bereits erste bahnbrechende Untersuchungen zur Anwendung dieser Klasse neuer Materialien.

Danksagung

Wir bedanken uns für die finanzielle Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) – Projektnummer 407426226, SFB/TRR 234 (CataLight, B01). Open Access Veröffentlichung ermöglicht und organisiert durch Projekt DEAL.

Interessenkonflikt

Die Autoren erklären, dass keine Interessenkonflikte vorliegen.

- [1] S. M. Bird, O. El-Zubir, A. E. Rawlings, G. J. Leggett, S. S. Staniland, *J. Mater. Chem. C* **2016**, *4*, 3948–3955.
- [2] M. Scuderi, M. Esposito, F. Todisco, D. Simeone, I. Tarantini, L. De Marco, M. De Giorgi, G. Nicotra, L. Carbone, D. Sanvitto, A. Passaseo, G. Gigli, M. Cuscunà, *J. Phys. Chem. C* **2016**, *120*, 24314–24323.
- [3] B. S. Bolu, R. Sanyal, A. Sanyal, *Molecules* **2018**, *23*, 1570.
- [4] A. Biswas, I. S. Bayer, A. S. Biris, T. Wang, E. Dervishi, F. Faupe, *Adv. Colloid Interface Sci.* **2012**, *170*, 2–27.
- [5] J. E. Poelma, C. J. Hawker, *Nat. Nanotechnol.* **2010**, *5*, 243–244.
- [6] C. C. Robertson, J. S. Wright, E. J. Carrington, R. N. Perutz, C. A. Hunter, L. Brammer, *Chem. Sci.* **2017**, *8*, 5392–5398.
- [7] B. Choi, J. Yu, D. W. Paley, M. T. Trinh, M. V. Paley, J. M. Karch, A. C. Crowther, C.-H. Lee, R. A. Lalancette, X. Zhu, P. Kim, M. L. Steigerwald, C. Nuckolls, X. Roy, *Nano Lett.* **2016**, *16*, 1445–1449.
- [8] J. Zhang, J. Tanaka, P. Gurnani, P. Wilson, M. Hartlieb, S. Perrier, *Polym. Chem.* **2017**, *8*, 4079–4087.
- [9] S. M. Brosnan, H. Schlaad, M. Antonietti, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 9715–9718; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 9851–9855.
- [10] J. Yang, H. Miao, Y. Wei, W. Li, Y. Zhu, *Appl. Catal. B* **2019**, *240*, 225–233.
- [11] Y. Guo, L. Xu, H. Liu, Y. Li, C. M. Che, Y. Li, *Adv. Mater.* **2015**, *27*, 985–1013.
- [12] B. Saccà, C. M. Niemeyer, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 58–66; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 60–69.
- [13] N. C. Seeman, *J. Theor. Biol.* **1982**, *99*, 237–247.
- [14] P. W. K. Rothmund, *Nature* **2006**, *440*, 297–302.
- [15] V. V. Thacker, L. O. Herrmann, D. O. Sigle, T. Zhang, T. Liedl, J. J. Baumberg, U. F. Keyser, *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 3448.
- [16] F. Jia, H. Li, R. Chen, K. Zhang, *Bioconjugate Chem.* **2019**, *30*, 1880–1888.
- [17] S. I. S. Hendrikse, S. L. Gras, A. V. Ellis, *ACS Nano* **2019**, *13*, 8512–8516.
- [18] H. Sun, L. Yang, M. P. Thompson, S. Schara, W. Cao, W. Choi, Z. Hu, N. Zang, W. Tan, N. C. Gianneschi, *Bioconjugate Chem.* **2019**, *30*, 1889–1904.
- [19] M. Madsen, K. V. Gothelf, *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 6384–6458.
- [20] X. Xu, P. Winterwerber, D. Ng, Y. Wu, *Top. Curr. Chem.* **2020**, *378*, 31.
- [21] R. Falatach, C. McGlone, M. S. Al-Abdul-Wahid, S. Averick, R. C. Page, J. A. Berberich, D. Konkolewicz, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 5343–5346.
- [22] M. S. Messina, K. M. M. Messina, A. Bhattacharya, H. R. Montgomery, H. D. Maynard, *Prog. Polym. Sci.* **2020**, *100*, 101186.
- [23] K. Matyjaszewski, *Macromolecules* **2012**, *45*, 4015–4039.
- [24] Y. Tokura, Y. Jiang, A. Welle, M. H. Stenzel, K. M. Krzemien, J. Michaelis, R. Berger, C. Barner-Kowollik, Y. Wu, T. Weil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 5692–5697; *Angew. Chem.* **2016**, *128*, 5786–5791.
- [25] Z.-G. Wang, P. Zhan, B. Ding, *ACS Nano* **2013**, *7*, 1591–1598.
- [26] Z.-G. Wang, Q. Liu, B. Ding, *Chem. Mater.* **2014**, *26*, 3364–3367.
- [27] Y. Tokura, S. Harvey, C. Chen, Y. Wu, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 1587–1591; *Angew. Chem.* **2018**, *130*, 1603–1607.
- [28] Y. H. Ding, M. Floren, W. Tan, *Biosurf. Biotribol.* **2016**, *2*, 121–136.
- [29] H. Lee, S. M. Dellatore, W. M. Miller, P. B. Messersmith, *Science* **2007**, *318*, 426–430.

- [30] P. Winterwerber, S. Harvey, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2020**, *59*, 6144–6149; *Angew. Chem.* **2020**, *132*, 6200–6205.
- [31] J. K. Kiviaho, V. Linko, A. Ora, T. Tiainen, E. Jarvihaavisto, J. Mikkila, H. Tenhu, Nonappa, M. A. Kostiaainen, *Nanoscale* **2016**, *8*, 11674–11680.
- [32] Y. Ahmadi, E. De Llano, I. Barisic, *Nanoscale* **2018**, *10*, 7494–7504.
- [33] N. P. Agarwal, M. Matthies, F. N. Gur, K. Osada, T. L. Schmidt, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 5460–5464; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 5552–5556.
- [34] N. Ponnuswamy, M. M. C. Bastings, B. Nathwani, J. H. Ryu, L. Y. T. Chou, M. Vinther, W. A. Li, F. M. Anastassacos, D. J. Mooney, W. M. Shih, *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 15654.
- [35] S.-T. Wang, M. A. Gray, S. Xuan, Y. Lin, J. Byrnes, A. I. Nguyen, N. Todorova, M. M. Stevens, C. R. Bertozzi, R. N. Zuckermann, O. E. Gang, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2020**, *117*, 6339–6348.
- [36] J. B. Knudsen, L. Liu, A. L. Bank Kodal, M. Madsen, Q. Li, J. Song, J. B. Woehrstein, S. F. Wickham, M. T. Strauss, F. Schueder, J. Vinther, A. Krissanaprasit, D. Gudnason, A. A. Smith, R. Ogaki, A. N. Zelikin, F. Besenbacher, V. Birkedal, P. Yin, W. M. Shih, R. Jungmann, M. Dong, K. V. Gothelf, *Nat. Nanotechnol.* **2015**, *10*, 892–898.
- [37] X. Wang, C. Li, D. Niu, R. Sha, N. C. Seeman, J. W. Canary, *Nano Lett.* **2018**, *18*, 2112–2115.
- [38] J. Zessin, F. Fischer, A. Heerwig, A. Kick, S. Boye, M. Stamm, A. Kiri, M. Mertig, *Nano Lett.* **2017**, *17*, 5163–5170.
- [39] V. A. Turek, R. Chikkaraddy, S. Cormier, B. Stockham, T. Ding, U. F. Keyser, J. J. Baumberg, *Adv. Funct. Mater.* **2018**, *28*, 1706410.
- [40] Y. Dong, Y. R. Yang, Y. Zhang, D. Wang, X. Wei, S. Banerjee, Y. Liu, Z. Yang, H. Yan, D. Liu, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2017**, *56*, 1586–1589; *Angew. Chem.* **2017**, *129*, 1608–1611.
- [41] C. J. Serpell, T. G. Edwardson, P. Chidchob, K. M. Carneiro, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 15767–15774.
- [42] P. Chidchob, T. G. Edwardson, C. J. Serpell, H. F. Sleiman, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 4416–4425.
- [43] A. Krissanaprasit, M. Madsen, J. B. Knudsen, D. Gudnason, W. Surareungchai, V. Birkedal, K. V. Gothelf, *ACS Nano* **2016**, *10*, 2243–2250.
- [44] M. Madsen, R. S. Christensen, A. Krissanaprasit, M. R. Bakke, C. F. Riber, K. S. Nielsen, A. N. Zelikin, K. V. Gothelf, *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 10511–10515.
- [45] Y. Tokura, S. Harvey, X. Xu, C. Chen, S. Morsbach, K. Wunderlich, G. Fytas, Y. Wu, D. Y. W. Ng, T. Weil, *Chem. Commun.* **2018**, *54*, 2808–2811.

Manuskript erhalten: 23. April 2020

Akzeptierte Fassung online: 10. Juli 2020

Endgültige Fassung online: 28. Oktober 2020