

DNAREN nanoteknologia eta materia aktiboaren auto-antolakuntza

DNA nanotechnology and self-assembly of active matter

Ibon Santiago*

Department of Physics, University of Oxford, Oxford, Erresuma Batua

LABURPENA: DNA material bikaina da nano-egiturak eraikitzeko. Garrantzi genetikoz gaindi, azido nukleikoak nano-teknologiarako eraikuntza material programagarriak dira. «DNA Origami» eta «DNA bricks» (adreiluak) DNA nano-teknologiaren bidez sorturiko adibide nagusiak dira. DNA molekula itsaskorra ere bada, eta base-parekatzeari esker nano-partikulen arteko interakzioa kontrola daiteke, adibidez «DNA nano-loreak» sortuz. Lan honek DNA nano-teknologiaren teknika desberdinak aurkeztu eta materia aktiboarekin lotzen ditu. Materia aktiboa erregaia kontsumituz orekatik kanpo mantentzen diren material mugikorak dira. Hemen, DNA bidez auto-antolatutako nano-egiturak aurkezten ditugu, nano-motor katalitikoaren laguntzarekin higitzen direnak. Ikerketa hau nano-eskalako garraio kontrolatua lortzeko aurrerapausoa da.

HITZ GAKOAK: biofisika, DNAREN nanoteknologia, materia bigunaren fisika, materia aktiboa.

ABSTRACT: *DNA is an extraordinary material with which to build nanostructures. Going beyond its genetic importance, nucleic acids can act as programmable building blocks for nanostructures, such as DNA Origami and DNA bricks. DNA is also a molecular glue between nanoparticles, which help form DNA nanoflowers, thanks to the specific pairing between strands. This work presents different DNA nanotechnology techniques and combines them with active matter. Active matter are materials that are kept out-of-thermodynamic equilibrium and self-propel in the presence of a fuel. Here we present DNA self-assembled nanostructures that can self-propel assisted by catalytic nanomotors. This research is a step forward towards controllable transport at the nanoscale.*

KEYWORDS: *biophysics, DNA nanotechnology, soft matter physics and active matter.*

* **Harremanetan jartzeko / Corresponding author:** Ibon Santiago. Department of Physics, University of Oxford, Clarendon Laboratory, Parks Road, Oxford OX13PU, United Kingdom. – ibon.santiago@physics.ox.ac.uk – <https://orcid.org/0000-0002-2822-9830>.

Nola aipatu / How to cite: Santiago, Ibon (2019). «DNAREN nanoteknologia eta materia aktiboaren auto-antolakuntza»; *Ekaia*, 35, 2019, 9-19. (<https://doi.org/10.1387/ekaia.19679>).

Jasoa: 7 ekaina, 2018; Onartua: 21 abendua, 2018.

ISSN 0214-9001 - eISSN 2444-3255 / © 2019 UPV/EHU



Obra hau Creative Commons Atribución 4.0 Internacional-en lizentziapean dago

1. SARRERA

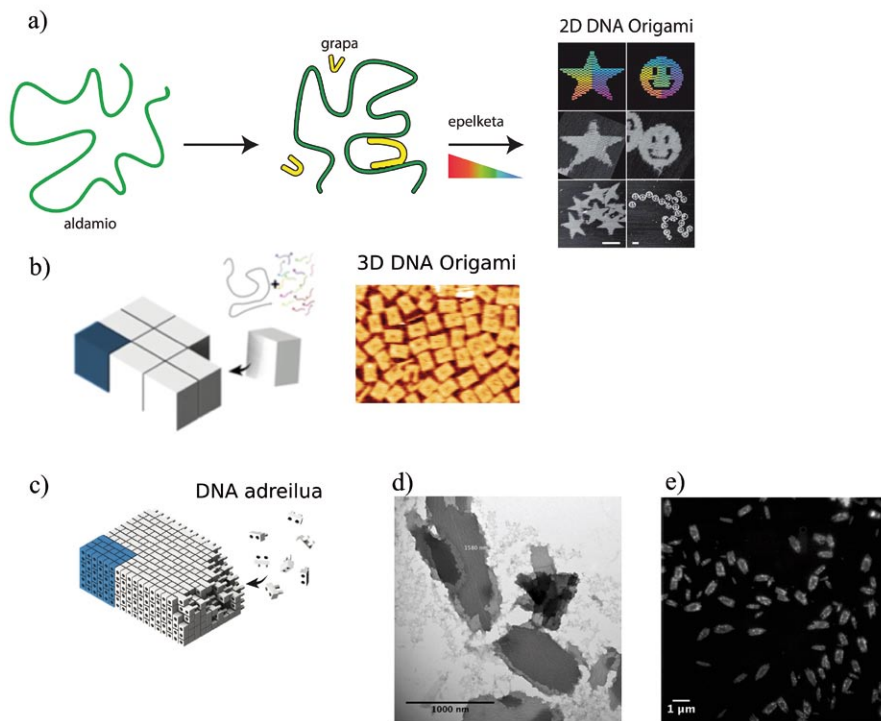
Materia biziduna inspirazio-iturria izan da zientzialari, ingeniari eta artista askorentzat. DNA biomolekularen kasua adierazgarria da, helize bikoitza testuinguru biologikoetatik kanpo ere egunero erabiltzen dugun sinboloa baita. Rosalind Franklinen 1952ko X izpien difrakzio bidezko DNAREN lehen irudiek iraultza ekarri zuten biologia molekularrean, Watson eta Crickek proposaturiko helize bikoitzaren modeloarekin batera. Gaur egun, DNAREN garrantzi biologikoa ondo ezagutzen dugu, molekula honek gordetzen baitu proteinak sortzeko beharrezkoa den informazio genetikoa. Horrez gain, DNA nukleotidoz osaturiko polimeroa ere bada eta informazio espaziala garraiatzen du baseen sekuentzian (T timinarekin parekatzen da A adenina, eta G guanina, C zitosinarekin). Base-parekatzeari esker, osagarriak diren bi kate (adibidez, ATTA eta TAAT) batzen dira eta helize bikoitza sortu.

LEGO jokoan bezala, osagarriak diren piezekin egitura konplexuak eraiki daitezke. Azken hamarkadan, DNAREN berezitasun honek «arkitektura molekularrari» atek ireki dizkio, eta nanoteknologiaren munduan erreminta paregabea bihurtu da materiaren antolakuntza espaziala kontrolatzeko. Giza ile baten diametroa baino ehun mila aldiz txikiagoa da nanometroa. Tamaina honetan bereizmen atomikoko nanomaterialak sortzea oso zaila da, eta normalean tresna oso garestiak behar dira. Aldiz, DNAREN molekulen auto-antolaketa gaitasunari esker, base-sekuentzia batean programatu dezakegu 3D-ko edozein egitura. DNAREN bidezko nanoegituren eraikuntzari *DNA nanoteknologia* deritzo.

Beharrezkoa da DNA nano-egiturak higikorak izatea testuinguru biologikoan erabilgarri izateko. Biologia eta fisika uztartzen dituen arlo berria da *materia aktiboaren fisika*, zeinak aztertzen dituen energia kimikoa higidura bihurtzen duten materialak [1]. Lan honetako emaitzek lehenengo aldiz lotzen dituzte DNAREN nanoteknologiaren erremintak eta materialak aktiboa, mugitzeko gai diren nano-egituren auto-antolaketa ikertuz.

2. DNA ORIGAMIA: LEGO MOLEKULARRA

1982. urtean, DNA eraikuntza-material gisa erabiltzea bururatu zitzaion lehenengo aldiz Nadrian Seeman kristalografoari [2]. Harrezkero, hainbat DNA nano-egitura sortu dira, besteak beste DNA kuboak eta Oxford Unibertsitateko DNA tetraedroak [3]. Gaur egun, DNAREN nanoteknologia arloan nagusiki erabiltzen diren bi teknika aipa ditzakegu: DNA Origamia eta DNA adreiluak (1. irudia).



1. irudia. *a)* DNA Origamia: DNA kate luze bat (aldamioa) eta osagarriak kate txikiagoak (grapak) batzen dira. Berotze- eta epeltze-prozesu kontrolatu baten ondoren, alde aurretik diseinaturiko egiturak sortzen dira. Eskuineko irudian bi dimentsioko lehen DNA Origamia (izarra eta irribarrea) [4]. *b)* Egileak sortutako 3Dko Origamia, indar atomizkoko mikroskopioz behatuta. *c)* DNA adreilu teknikaren bidez DNAzko gainazalak sortzen dira, kristalizazio-prozesu batean bezala. *d)* irudian mikroskopio elektronikoz behaturiko 2 mikrometroko DNA gainazal auto-antolatuak aurkezten dira 10 nmko tarteko lerroekin. *e)* irudian egitura berberak azaltzen dira, fluoreszentziako mikroskopioz behaturik.

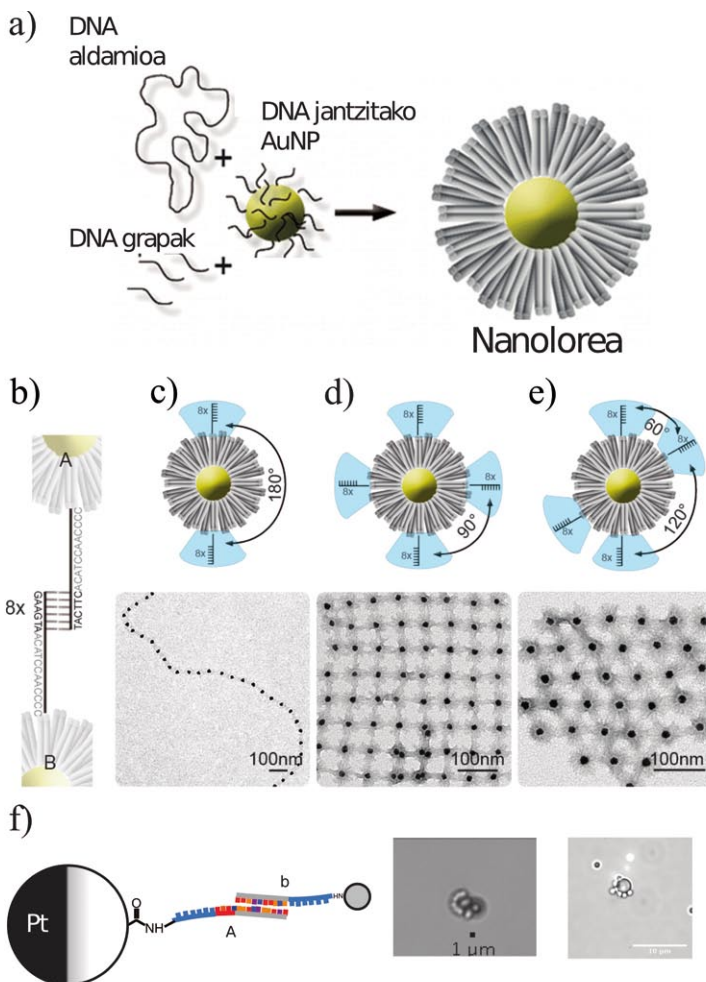
Japoniarrek egitura ederrak sortzen dituzte papera tolestuz, Origami deitzen den antzinako tradizio artistikoari jarraituz. Era berean, DNA kate luze bat (aldamioa edo «scaffold» deiturikoa) bere osagarriak diren kateekin (grapa edo «staple» deiturikoak) parekatzen da, DNA Origami egitura sortuz (1a irudia). Paul Rothemundek, Caltech-eko unibertsitatean, 2D DNA Origamia sortu zuen [4]; gaur egun, ordea, 3D-ko edozein nano-egitura sor daiteke teknika honen bidez (1b Irudia). Paperezko Origamiarekin bezala, arau jakin batzuk bete behar dira: besteak beste, base-parekatze arauak (A-T eta G-C) eta helize bikoitzaren kurbadura finkoa. DNAREN ezaugarri fisiko-kimikoez ezarritako muga hauek kontuan har-

tzeko, caDNAno (<http://cadnano.org>) izeneko softwarea erabiltzea komeni da. Nano-egituren diseinua errazten da software libre honekin, 3D egitura DNA sekuentzietara itzultzen baitu. Behin DNA grapen sekuentziak lorturik, hauek soluzioan nahasten dira, lehenik berotuz eta hozketa-prozesu kontrolatu bati jarraituz (tenplaketa). DNA hoztu ahala, grapek aldamia diseinaturiko nano-egiturara moldatzen dute. Diseinaturiko helburuzko egitura termodinamikoki egonkorrena da. Proteinen tolesduraren kasuan bezala, Origamiaren tolesdura prozesua kooperatiboa da, hau da, lehenik parekatzen diren grapak gainerakoekin parekatzea errazten dute. Azkenean, indar atomikozko mikroskopiaarekin (AFM), edo mikroskopia elektronikoarekin (TEM), behatzean, 1. irudikoa bezalako 200 nm inguruko Origami egituren irudiak lortzen dira.

DNA brick edo adreilu-metodoa erabil daiteke Origamia baino egitura handiagoak sortzeko. Kristalizazio-prozesu batean bezala, DNA bere osagarriak diren beste DNA kateekin lotzen da «kristal nukleoak» sortuz, eta hauek hazten dira hainbat mikrometroko luzera duten gainazalak lortu arte. DNAz egindako egiturak hain dira txikiak, ezen mikroskopia elektronikoak erabili behar baititugu. Lan honetan lorturiko hainbat mikrometroko DNA gainazal ageri da 1d Irudian. Fluoreszentea den DNA erabiltzean, mikroskopia arrunt batekin ere beha daitezke egiturak (1f irudia).

3. DNA MOLEKULA ITSASKOR PROGRAMAGARRIA

Demagun nanopartikula jakin bat beste batekin lotu nahi dugula. Posible ote da DNAREN base-parekatze propietateak erabiliz bi partikulak lotzea? Horretarako, beharrezkoa da partikula horien gainazalean DNA kateak kokatzea, betiere base-parekatze osagarritasuna betez. Hau posible izanda ere, partikulen arteko interakzioa isotropoa litzateke, norabide guztiek aukera bera baitute. Partikulen «balentzia», hau da, loturaren norabidea eta kopurua kontrolatzea erronka konplexua da nanozientzian.



2. irudia. a) *Nanolorea* baten osagaiak eta eraikuntza-prozesua. DNA aldamiok eta grapek, erdialdean hutsunea duen Origamia sortzen dute. Urrezko nanopartikula, DNA katez «jantzia» dago. Guztia nahastuz, berotu eta epelduz, nanolorea (DNA Origami+ nanopartikula egitura) auto-antolatzen da. b) Nanolore biren arteko direkziozko lotura programatzeko, lorearen «petaloen» sekuentzia aldatu beharra dago. A eta B nanoloreak elkarren osagarriak dira. c) Bi petalozko nanoloreak kate lineal bat osatzen dute. d) 90 graduz banandutako petaloekin simetria karratzuko nanoloreen sare bat sortzen da. e) Simetria hexagonalezko nanoloreen sare. Irudi guztiak mikroskopio elektronikoarekin egin dira. f) Mikrometro bateko Janus mikromotorra erdiesfera batean DNA base-parekatze bidez txikiagoa den partikulei lotua.

Nano-lore Origami egiturarekin (2. irudia) galdera honi erantzuna eman diezaiokegu [5]. Origami honek 30 nm-ko hutsunea du erdialdean, eta hau DNA osagarriak estalita dagoen urrezko nanopartikula batek betezen du. Horrez gain, Nano-loreak petalo programagarriak ditu, horien kopurua eta kokapena nahieran alda daitezkeelako. DNA Origamiaren egitura egonkorra grapen sekuentzian programaturik dago. Horrela, petaloen kopurua eta kokapena Origamiaren diseinutik petaloei dagozkien grapak gehituz edo kenduz programa ditzakegu. Petalo osagarriak dituzten A eta B nano-loreak elkartu egiten dira (2b irudia) eta kate linealak sortzen dituzte (2c irudia). Era berean, petaloen kokapenak aldatuz, simetria ezberdineko sareak osa daitezke, besteak beste karratu simetria (2d irudia) eta simetria hexagonalak (2e irudia). DNA molekula itsaskorra mikropartikulekin ere erabili daiteke. Mikropartikula bati txikiagoak diren partikula osagarriak itsatsi zaizkio DNAz estalitako esferaerdian (2f irudia). Teknika honen bidez bi partikulen arteko interakzioa eta horien kokapena zehazki kontrola daitezke.

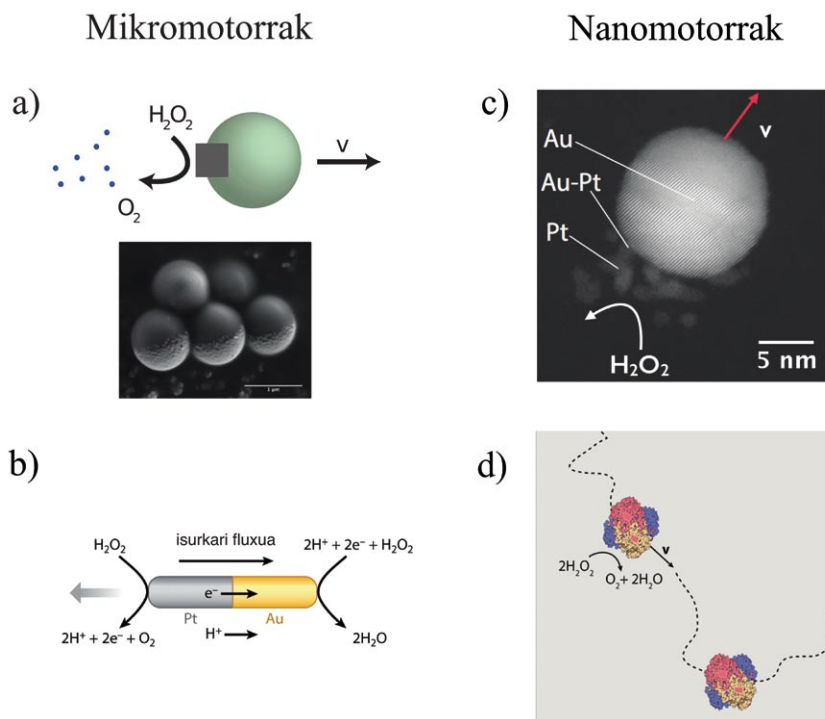
4. NANO-MOTOR KATALITIKOAK

Naturak trikimailu asko erabiltzen ditu energia kimikoa higadura bihurtzeko. Mikro- eta nano-eskalan, Reynolds zenbaki baxuko inguruetan, inertzia indarren garrantzia txikia da, eta horregatik denboran itzulkorrak diren mugimenduek ez dute partikula higiarazten (honi Bieiraren Teorema deritzen). Bakterio batek, adibidez, flageloa erabiltzen du mugimendu asimetrikoak burutzeko eta horrela bere burua higiarazteko. Partikula sintetiko batek, ordea, inguruan duen erregai kimikoa higadura bihurtzean, 3a irudikoa bezalako *Janus*¹ geometria asimetrikoa izan behar du. Horrela, erregai kimikoa partikularen zati batean soilik kontsumitzen da eta partikula bultzatzen du suziri bat balitz bezala. Fenomeno honi *difusioforesia* deritzen, eta erregaiaren eta partikularen gainazalaren arteko interakzioari esker sortzen da. Zehazki, partikularen inguruan presio gradiente bat sortzen da, erreakzio kimikoaren produktuaren kontzentrazio gradiente batek eraginda.

Mikromotorrekin erabili diren estrategiak (3b Irudia) nano-motorrekin ere balio dute, azken hauetan asimetria lortzea zailagoa den arren. Bi nano-motor katalitiko mota dago: alde batetik, nano-motor bimetalikoa (3c irudia) [6,7] eta, bestetik, nano-motor entzimatikoa [8] (3d irudia). Nano-motor hauen higadura behatzea nahiko zaila da, eta horregatik, difusio-

¹ Bi aurpegiko jainko erromatarra da Janus. Pierre de Gennes zientzialariak erabili zuen izen hau lehenengo aldiz, partikula asimetrikoak izendatzeko.

koefizientea neurtzen da esperimentu guztietan². Difusio-koefizientearen aldaketak ematen digu nano-motorren aktibitatearen berri. Erregaiaren presentzia (kasu honetan, hidrogeno peroxidoa), bai nano-motor metalikoak, baita entzimakoak ere, arinago mugitzen dira erregarik gabe baino.



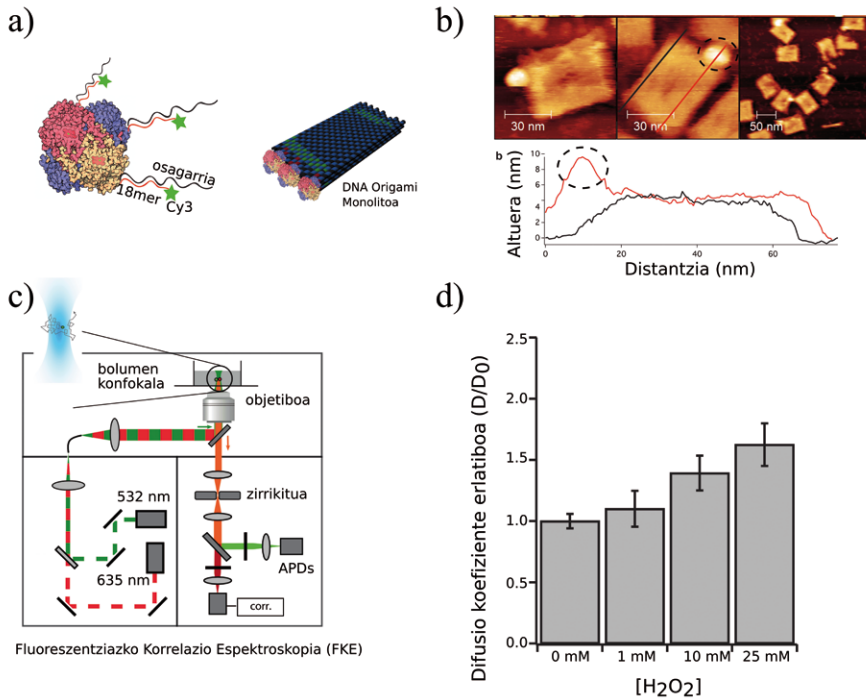
3. irudia. a) *Janus* (Jainko erromatarra) mikromotorrak, esferaren erdia platinoz estalita dute, eta, beraz, katalitikoki aktiboak dira esferardi batean soilik. Mikromotorra hidrogeno peroxidoan murgiltzean, nanosuziriak bezala mugitzen dira, platinoak H_2O_2 -ren deskonposizioa katalizatzen baitu, hau ura eta oxigeno bihurtuz. Oxigeno-kontzentrazio lokalizatua handitzean, partikula higiarazten da. Mikroskopia elektronikoarekin behatutako Janus motorrak azaltzen dira. b) Lehenbiziko mikromotor bimetalikoa, alde bat urrez eginda eta bestea platinoz [9]. Peroxidoan murgiltzean erredox erreakzio bat gertatzen da (pila batean bezala) eta elektroien garraioak, isurkari fluxu bat sortzen du nanomotorrari abiadura emanez. c) Nanomotor bimetaliko asimetricoa. Alde katalitikoak urrezko 15 nm ko nanopartikula batean platinozko gatz bat erabiliz hazi da. %50 bizkorrago higitzen da nanomotor H_2O_2 -ren presentzian [7]. d) Nanomotor biologikoa. Katalasa entzimak H_2O_2 erregai ura eta oxigeno bihurtzean bere difusio-koefizientea handitzen da, hau arinago mugituz.

² Difusioa-partikulen higadura itzulezina da, ur molekulen kolisioak eraginda. Nanomotorren kasuan, difusio aruntari, propulsio-abiadura gehitu behar zaio.

5. NANO-MOTORRAK, ZAMA MOLEKULARRA GARRAIATZEKO

Katalasa entzimak (3d Irudia) hidrogeno peroxidoa deskonposatzen du, eta badakigu nano-motorra dela [8,10]. Entzimetan behaturiko difusio-koefizientearen hazkuntza ikuspegi teorikotik ondo ulertzen ez den fenomeno da [6].

Entzima DNArekin lotzea posible da bioelkartze-prozesu baten bidez. Horrela, nanomotorrak zama molekular bat izan dezake atxikita eta hura garraiatu. Entzimari lotutako DNAREN kate osagarria Origami egitura batean jartzean, 4b irudikoa bezalako Origami/entzima egitura hibrido auto-antolatua sortzen da. Nahi den tokian koka daiteke zama; kasu honetan, nanomotorra Origamiaren ertzean kokaturik dago, DNA kate osagarriak hor jarri direlako.

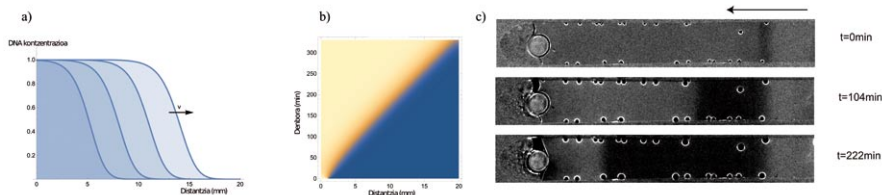


4. irudia. a) DNA fluoreszentez biokonjugaturiko katalasa-entzima. b) Monolito itxurako DNA Origamia entzimaren DNA kate osagarria ertz batean duelarik. Indar atomikozko mikroskopioz (AFM) katalasa entzima Origamiaren ertzean kokatuta dagoela beha daiteke. c) Nano-motorren difusioaren neurketa egiteko fluoreszentiako mikroskopio konfokalaren azalpen grafikoa. d) DNaz bioelkarturiko katalasa nanomotor entzimatiakoaren difusio-koefizientea handitzen da (50% hazkuntza) hidrogeno peroxido kontzentrazioa handitu ahala, nano-motorren ezaugarria.

Garrantzitsua da egitura hibrido hauek fluoreszenteak izatea; horrela, 4c irudian ageri den mikroskopioarekin hauen nano-motorren aktibitatea neur daiteke. Fluoreszentiako korrelazio-espektroskopiarekin, femtolitro inguruko bolumen txiki batean sartzen diren nano-motorren difusio koefizientea neur daiteke, fluoreszentzia seinalearen fluktuazioak aztertuz. 4d irudian DNA garraiatzen duen katalasa nano-motorren neurketa azaltzen da. Gero eta erregai gehiago orduan eta difusio-koefiziente handiagoa azaltzen du nano-motorrak. Emaitza honek frogatzen du nanomotor entzimatiakoak zama molekularrak garraiatzeko erabil daitezkeela.

6. DNA UHINAK: INGURUNE AKTIBOA INFORMAZIOA GARRAIATZEKO

DNA nanoeraikuntza-materiala izateaz gain, ingurune aktibo eta dinamikoak ere sor ditzake. Polimerasa eta nickasa entzimekin nahastuz, DNA kate batek bere burua bikoiztu dezake. Honi *erreakzio autokatalitiko*a deritzo eta DNA kate baten kontzentrazioaren hazkuntza oso azkarra (esponentziala) dakar. Erreakzio berezi hau kanal batean zehar hedatzen uzten badugu, baldintza batzuen pean, abiadura konstantez hedatzen den uhin kimikoa sortuko da (5 irudia). Hemen azaltzen diren ikerketen helburu nagusia DNA uhinen kontrol espaziala hobetzea izan da. DNA uhin bat zertarako, ordea? Sistema honen biobateragarritasuna eta progamagarritasuna oso erakargarriak dira. Uhinen abiadura difusio-koefizientearen eta erreakzio katalitikoaren zinetikaren menpe dago, Fisher-Kolmogorov erreakzio-difusiozko ekuazioari jarraituz (5 a Irudian ekuazio honen soluzio numerikoa azaltzen da). Sistema honekin, DNA uhinetan gordetako informazioa abiadura konstante eta kontrolagarri batean garraiatzea posible litzateke.



5. irudia. DNA uhina a) DNA uhinaren hedapena v abiadura konstantez. DNA-rik gabeko gunera heltzean, DNA kontzentrazioa bikoiztu egiten da eta esponentzialki hazten, uhina aurrerantz hedatuz. b) DNA uhinaren kimografoa, hedaturiko distantzia eta denbora aurkeztuz. c) Fluoreszentiako mikroskopioaz behatutako DNA uhinaren hedapena, mikrofluido kanal batean.

7. ONDORIOAK

Lan honetan aurkezturiko ikerketen emaitzak DNAREN nanoteknologiaren erremintak hobetu ditu eta materia aktiboaren arloan barneratu lehenengo aldiz. Alde batetik, lan honetan DNA eraikuntza-material gisa aurkeztu dugu, mikro- eta nano-partikulen arteko interakzioa kontrolatzeko. Nano-loreekin, DNA Origami eta nano-partikulez osaturiko egitura hibridoak sortu ditugu. Bestetik, nano-motorrak zama molekularrak garraiatzeko gai direla frogatu dugu, masa desberdineko DNA molekulak nano-motor entzimatikoei lotuz. Nano-motor katalitikoaren garapena eta materiaren auto-antolakuntza erronka teknologiko eta zientifikoa da. Helburu horiek lortzeko aurrerapausoak eman ditu lan honek, DNAREN nanoteknologiarekin.

8. ESKER ONAK

Proiektu honek Erresuma Batuko Engineering and Physical Sciences Research Council-en (EPSRC) (EP/G037930/1) eta Eusko Jaurlaritzako Hezkuntza sailaren laguntza jaso du.

9. BIBLIOGRAFIA

- [1] MARCHETTI, M. C., JOANNY, J. F., RAMASWAMY, S., LIVERPOOL, T. B., PROST, J., RAO, M., SIMHA, R. A. 2013. «Hydrodynamics of soft active matter». *Rev. Mod. Phys.* **85**, 1143-1189.
- [2] SEEMAN, N. C. 1982. «Nucleic acid junctions and lattices». *Journal of theoretical biology* **99**, 237-247.
- [3] BATH, J., TURBERFIELD, A. J. 2007. «DNA nanomachines». *Nature Nanotechnology* **2**, 275-284.
- [4] ROTHEMUND, P. W. K. 2006. «Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns». *Nature* **440**, 297-302.
- [5] SCHREIBER, R., SANTIAGO, I., ARDAVAN, A., TURBERFIELD, A. J. 1K.a. «Ordering Gold Nanoparticles with DNA Origami Nanoflowers». *ACS Nano* , **10**, 7303-7306.
- [6] SANTIAGO, I. 2018. «Nanoscale active matter matters: Challenges and opportunities for self-propelled nanomotors». *Nano Today*, **19**, 11-15.
- [7] SANTIAGO, I., JIANG, L., FOORD, J., TURBERFIELD, A. J. 2018. «Self-propulsion of catalytic nanomotors synthesised by seeded growth of asymmetric platinum-gold nanoparticles». *Chem. Commun.* **54**, 1901-1904.
- [8] JIANG, L., SANTIAGO, I., FOORD, J. 2017. «Observation of nanoimpact events of catalase on diamond ultramicroelectrodes by direct electron transfer». *Chem. Commun.*, **53**, 8332-8335.

- [9] PAXTON, W. F., KISTLER, K. C., OLMEDA, C. C., SEN, A., ST ANGELO, S. K., CAO, Y., MALLOW, T. E., LAMMERT, P. E., CRESPI, V. H. 2004. «Catalytic nanomotors: autonomous movement of striped nanorods». *Journal of the American Chemical Society*, **126**, 13424-13431.
- [10] RIEDEL, C., GABIZON, R., WILSON, C. A. M., HAMADANI, K., TSEKOURAS, K., MARQUSEE, S., PRESSE, S., BUSTAMANTE, C. 2014. «The heat released during catalytic turnover enhances the diffusion of an enzyme». *Nature*, **517**, 227-230.