

# **ДНК нанотехнология**

**Зверева Мария Эмильевна**

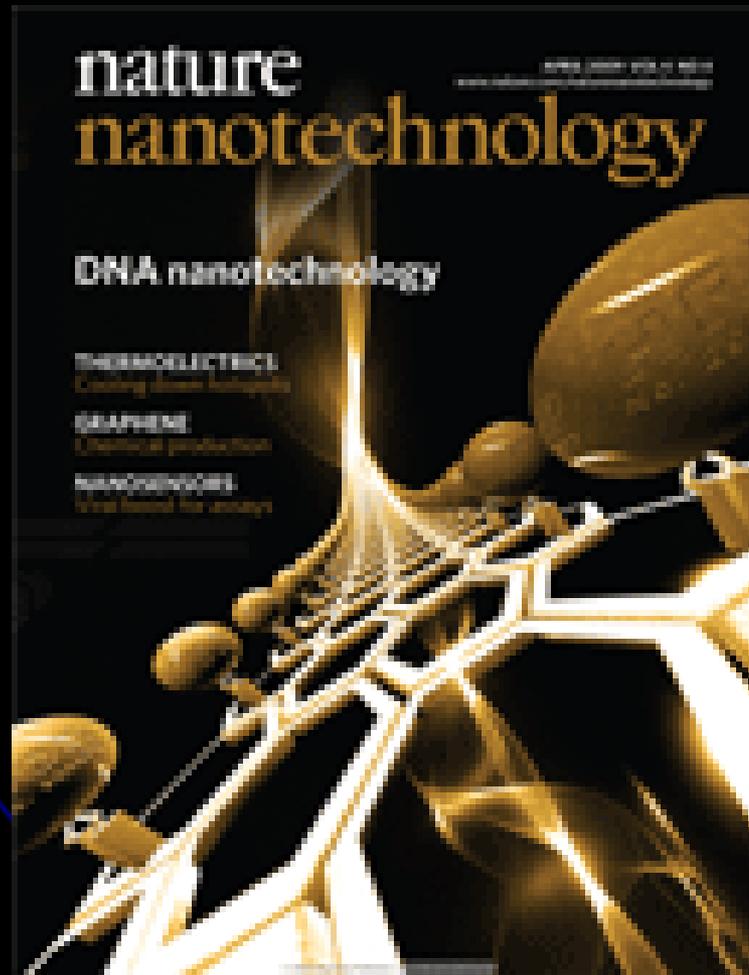
**кхн, доцент**

**Химического факультета**

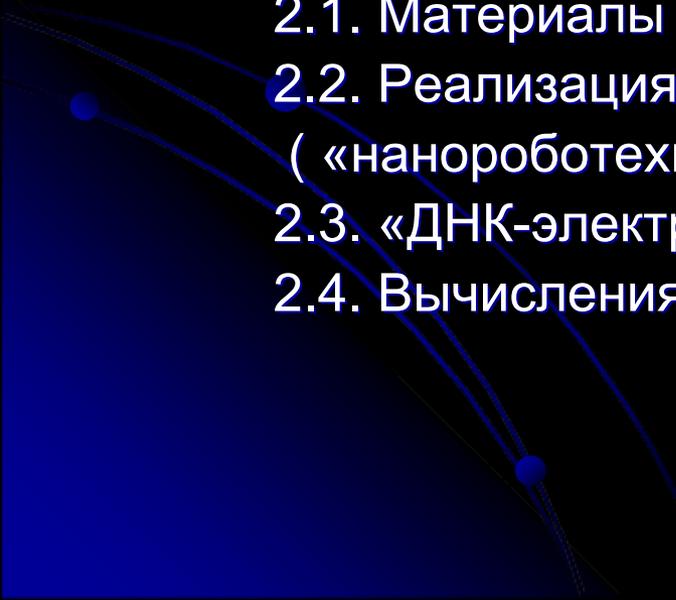
**кафедры химии природных соединений**

**[zvereva@genebee.msu.ru](mailto:zvereva@genebee.msu.ru)**

**ДНК нанотехнология – это использование ДНК в качестве конструкционного материала для различных целей.**

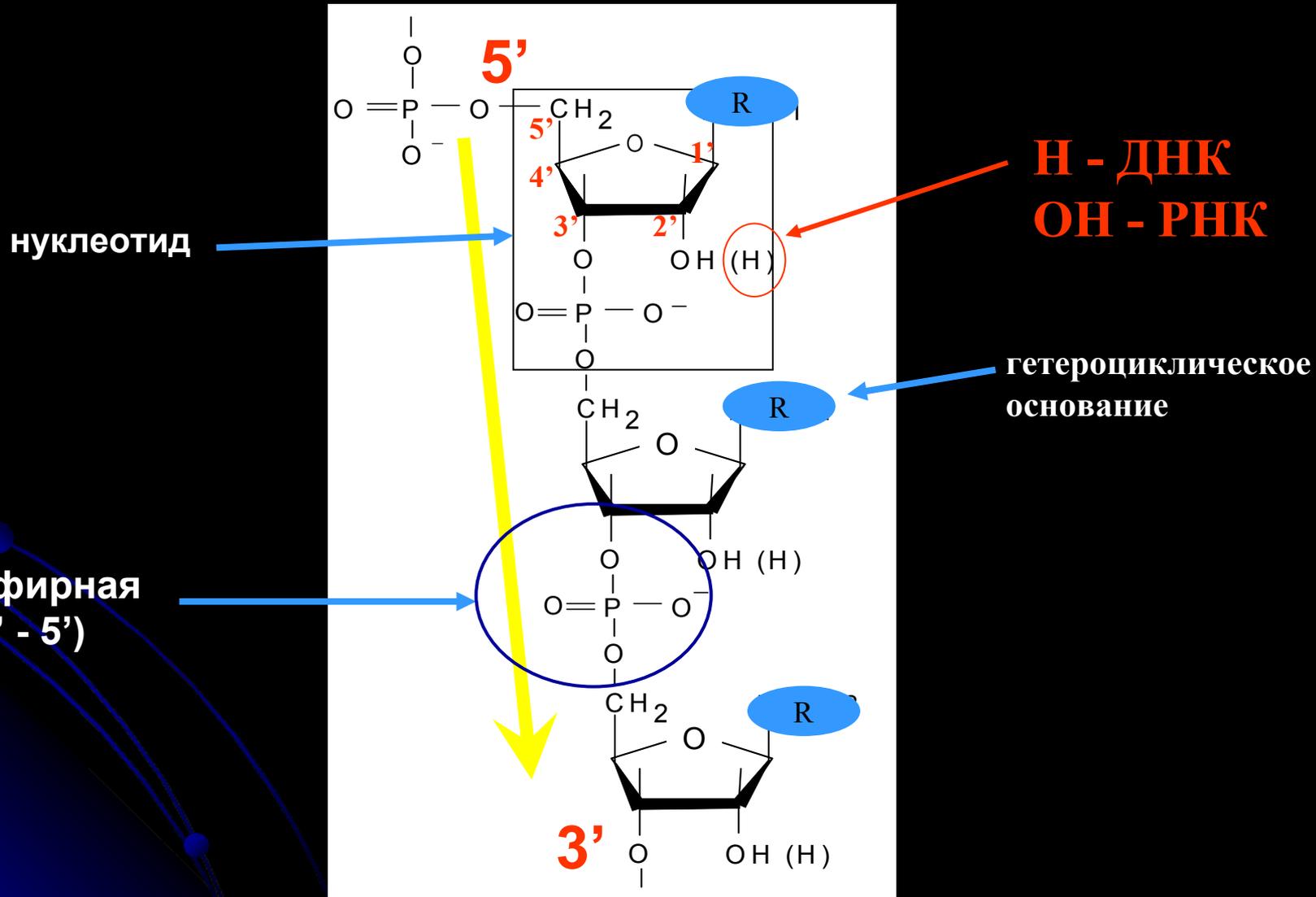


# План лекции:

- 1. Введение
    - 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты?
    - 1.2. Способность к самосборке ДНК.
    - 1.3. Плавление двойной спирали ДНК.
  - 2. ДНК-нанотехнология
    - 2.1. Материалы на основе ДНК
    - 2.2. Реализация направленного движения ( «нанороботехника» )
    - 2.3. «ДНК-электроника»
    - 2.4. Вычисления на основе ДНК. «Сложные диагностикумы».
- 

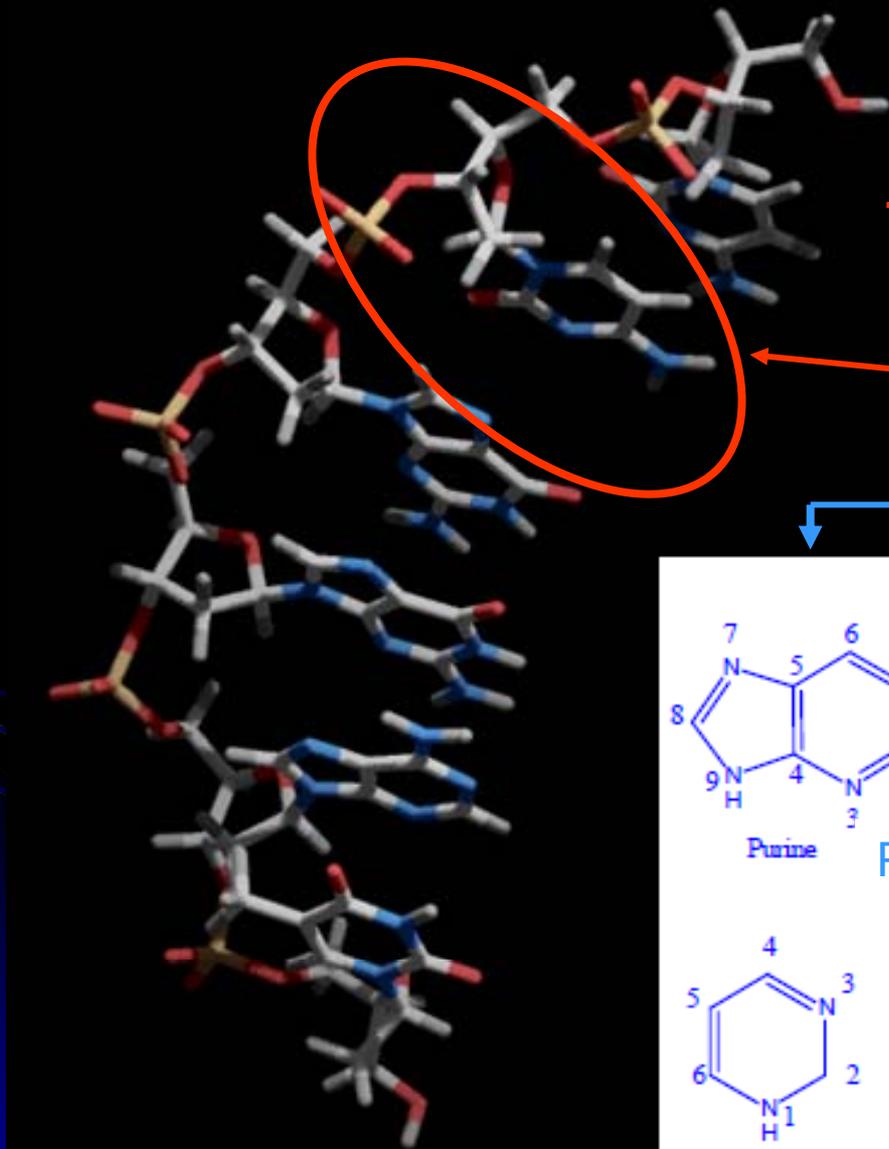
# Введение: 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты?

## Структура полинуклеотидной цепи



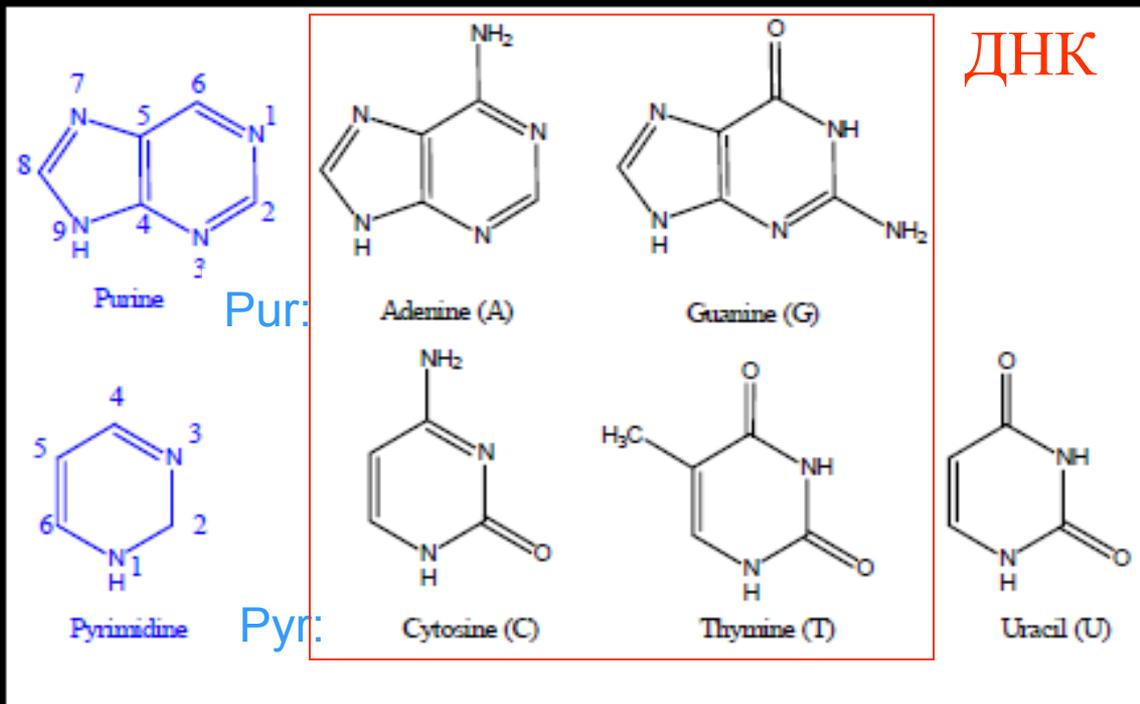
# Введение: 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты (НК)?

## Первичная структура НК



✓ определяется последовательностью нуклеотидных звеньев, связанных между собой ковалентными связями в полинуклеотидной цепи

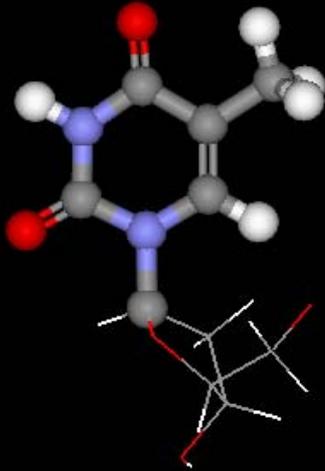
✓ нуклеотид – это углеводный остаток, и фосфатная группа + гетероциклическое основание.



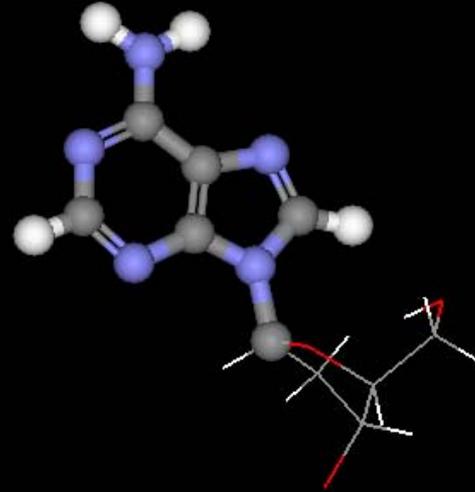
Введение: 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты?

## Гетероциклические основания

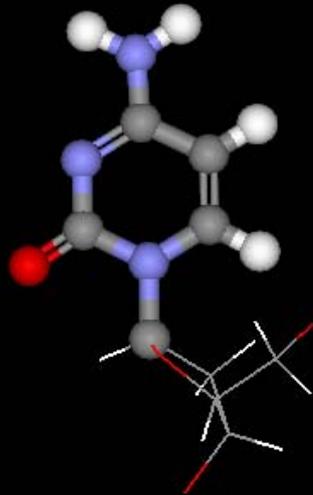
T



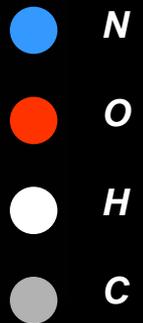
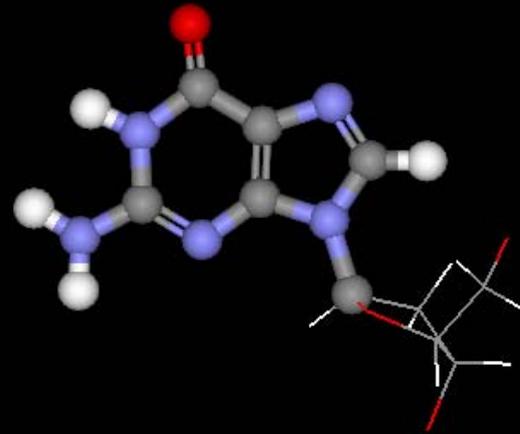
A



C



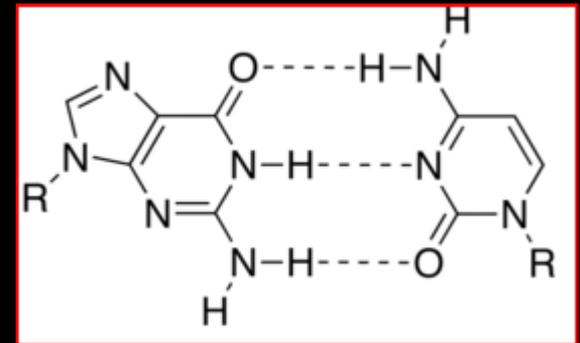
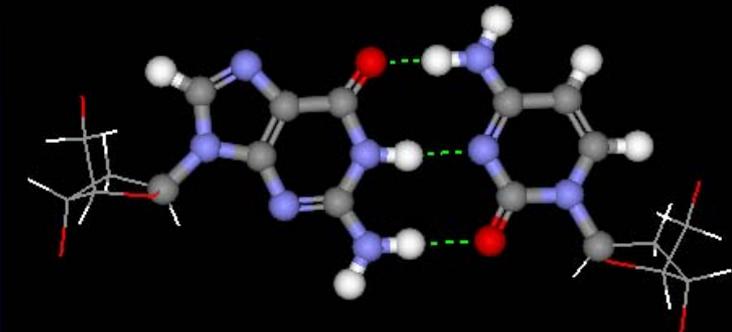
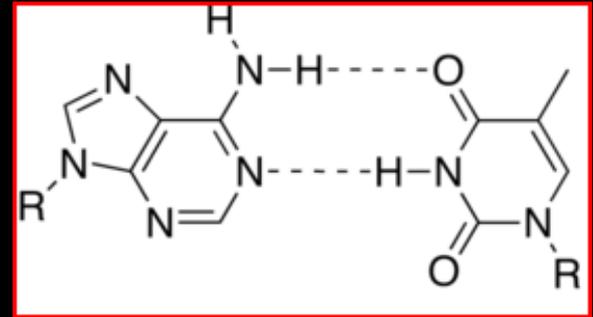
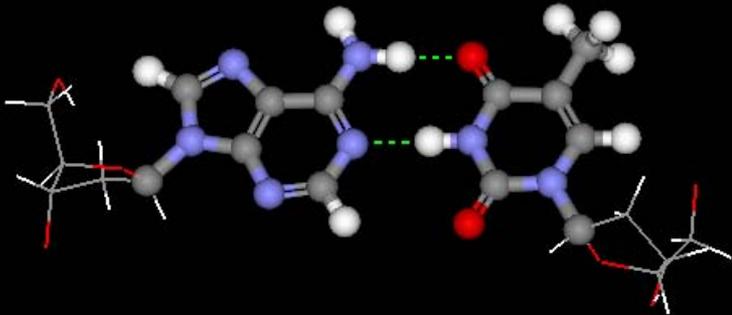
G



# Введение: 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты?

## Комплементарные пары оснований (водородные связи по типу Уотсон-Крика)

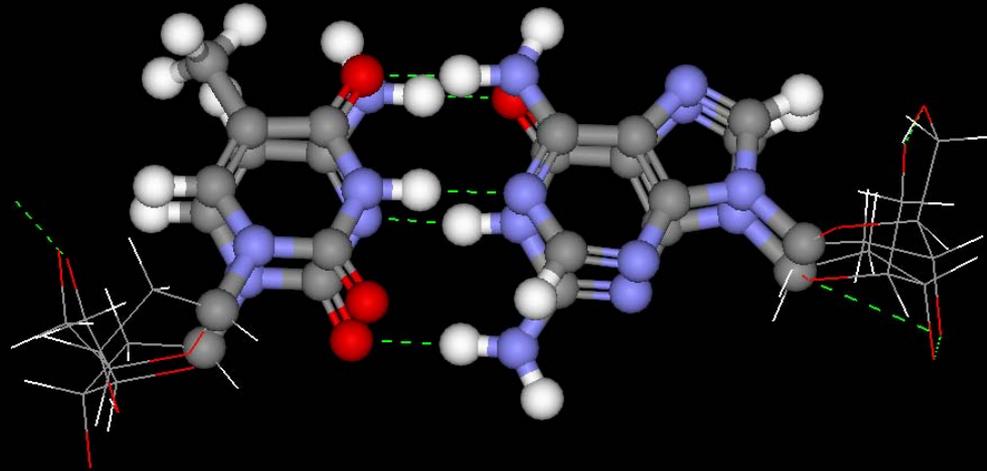
➤ Образование водородных связей между  
пурином и пиримидином (A-T и G-C)



➤ Основной тип связей при образовании двойной спирали

# Введение: 1.1. Что такое нуклеиновые кислоты?

## Изогеометричность комплементарных пар



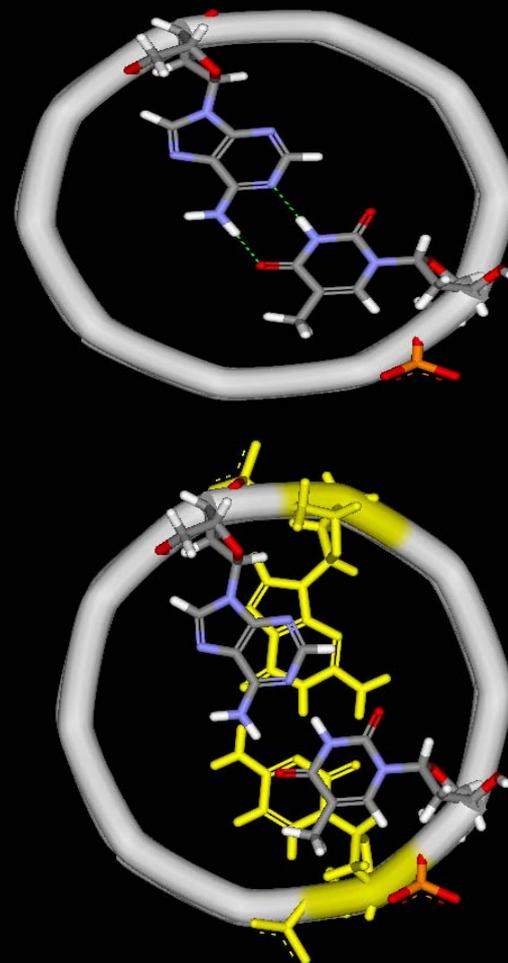
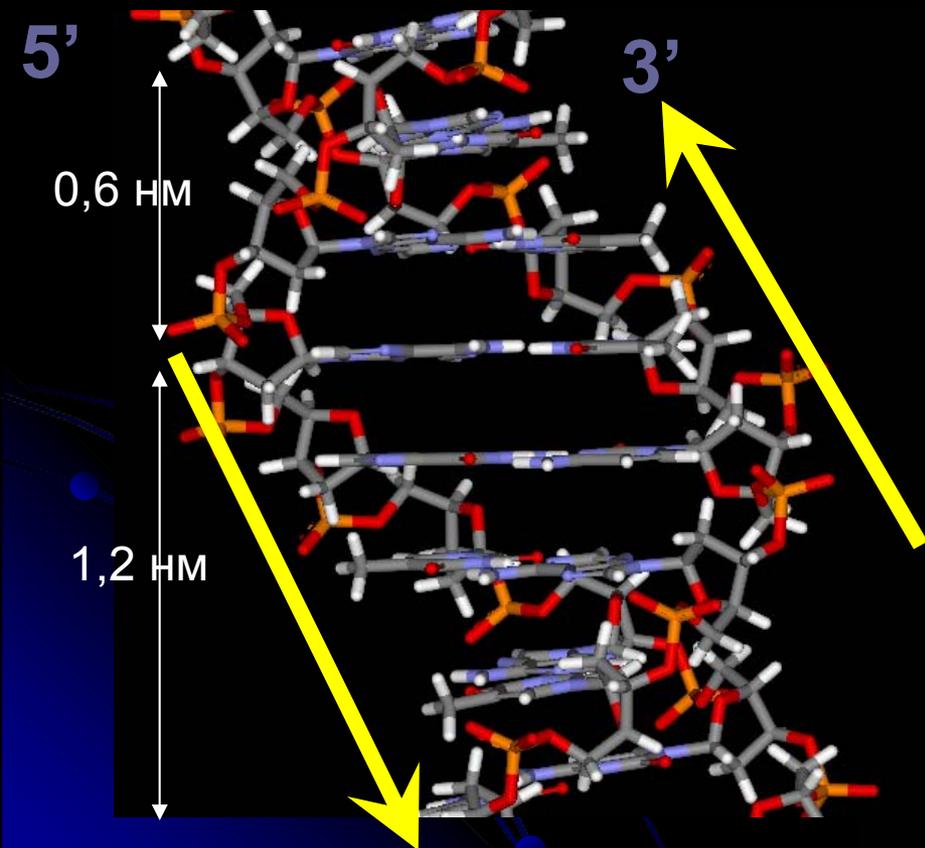
Одинаковая геометрия А-Т и G-C пар обеспечивает формирование ДНК-дуплексов, структура которых регулярна и мало зависит от нуклеотидного состава

# Введение: 1.2. Способность к самосборке.

## Двойная спираль ДНК

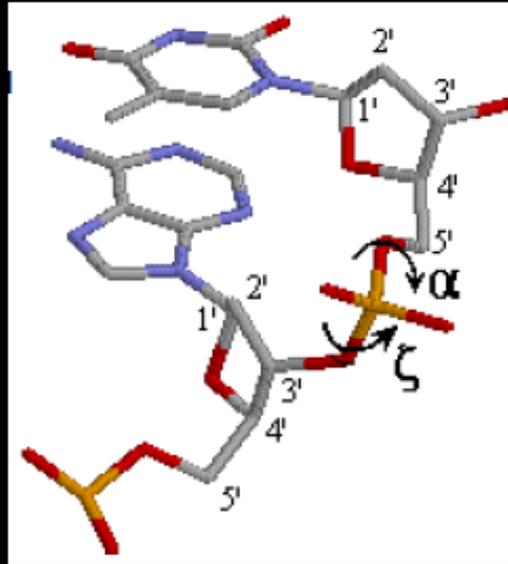
вид сбоку

вид с торца



# Введение: 1.2. Способность к самосборке. Изменение пространственной структуры при переходе от одноцепочечной к двуцепочечной ДНК

«Клубок»



«Стержень»



## Введение: 1.2. Способность к самосборке.

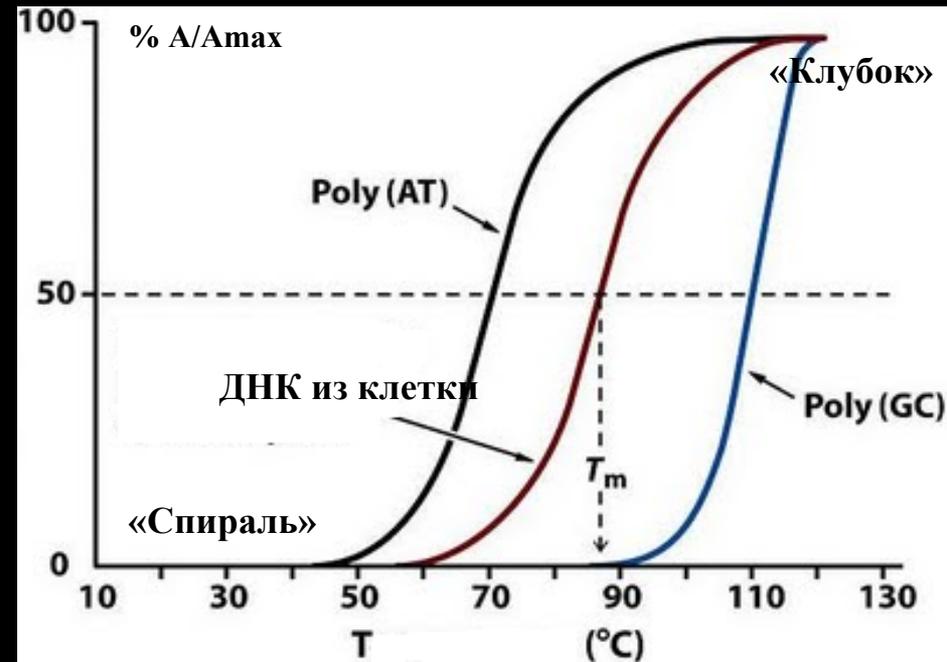
### Устойчивость пространственной структуры ДНК

- Характеризуется температурой плавления

Плавление НК - процесс перехода регулярной двойной спирали в клубкообразное состояние.

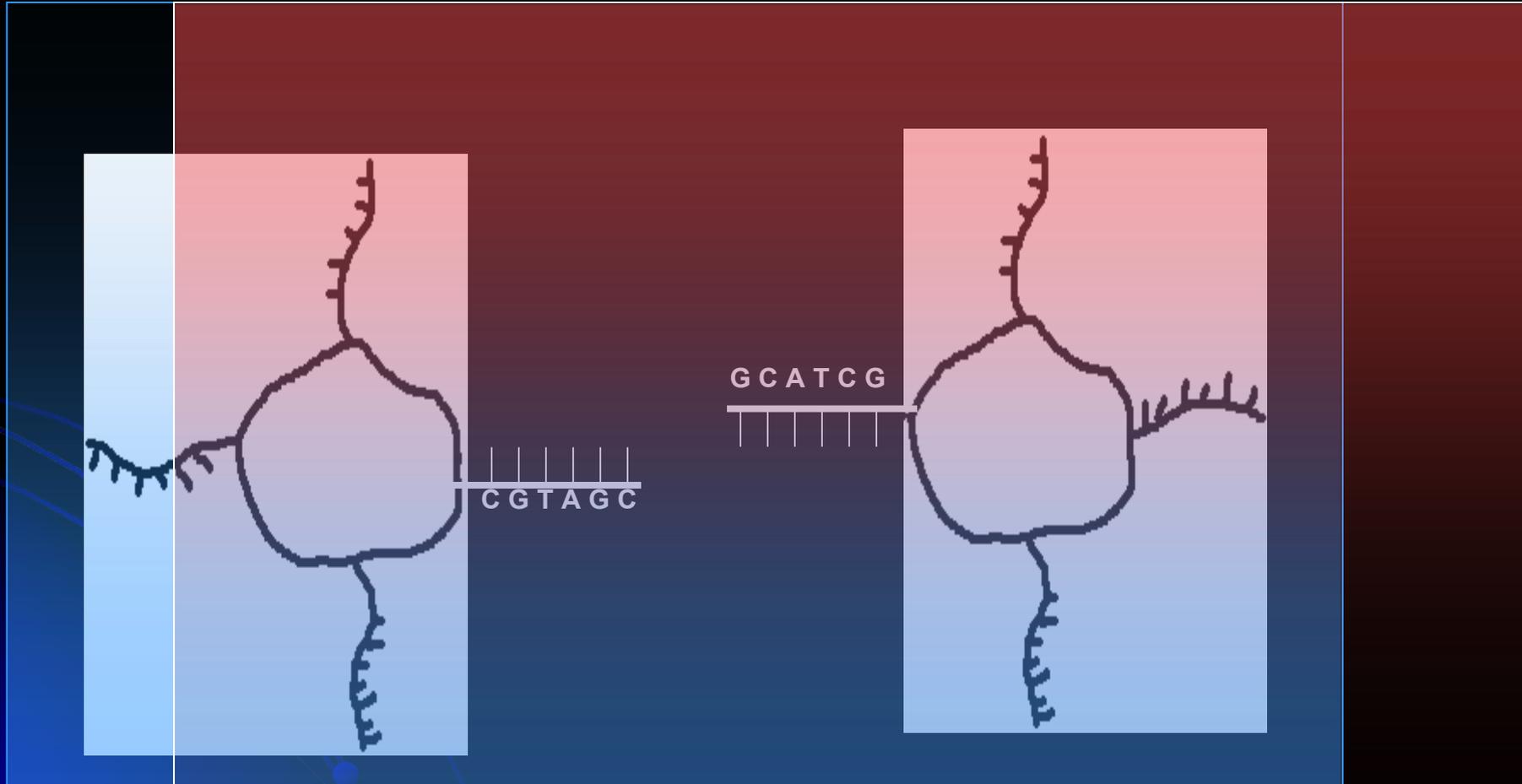
- Устойчивость двойной спирали определяют:

- количество А-Т и G-C
- длина дуплекса
- внешние условия: рН, концентрации ионов  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$



## Введение: 1.2. Способность к самосборке.

Плавление – обратимый процесс.



# Введение: 1.2. Способность к самосборке.

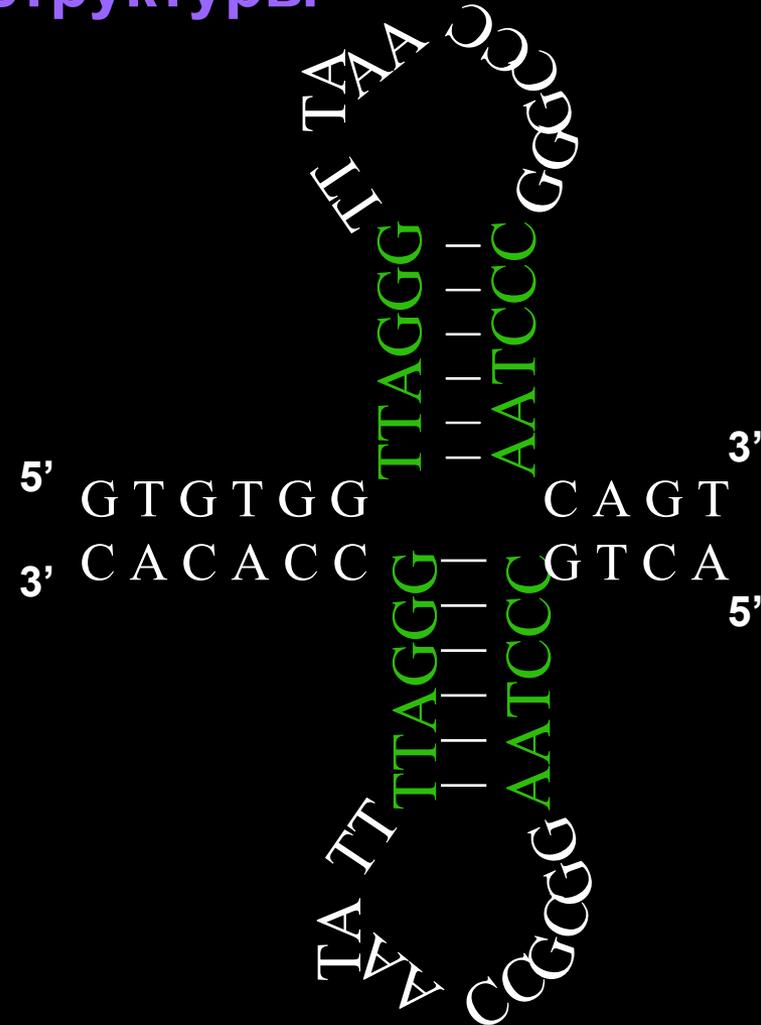
## Варианты пространственной структуры



Классический дуплекс



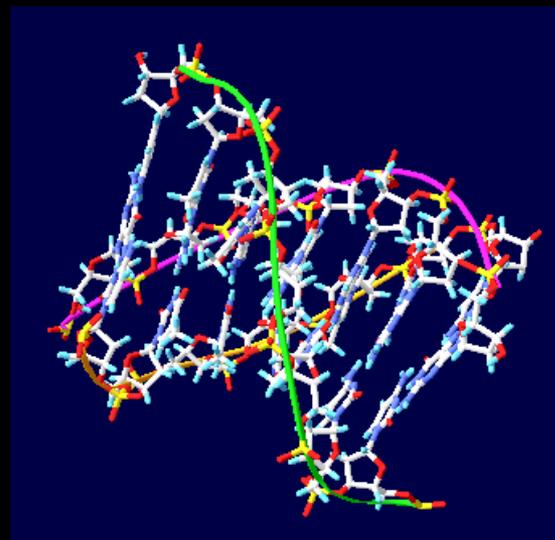
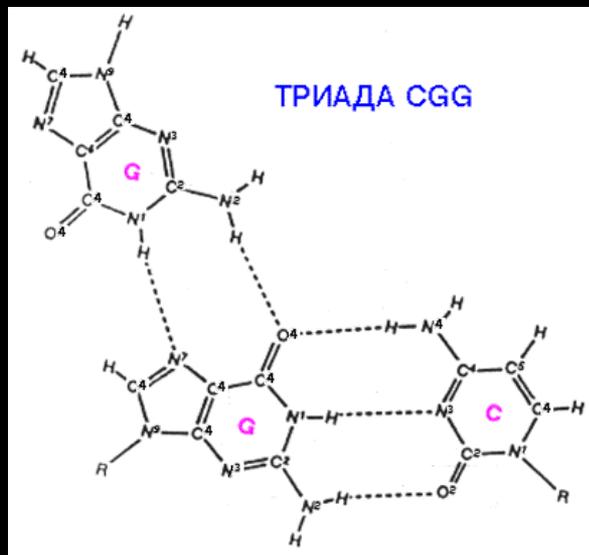
Одноцепочечные ДНК при наличии комплементарных последовательностей образуют «шпильки»



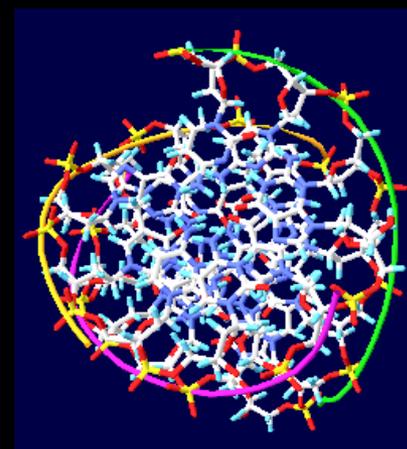
В структуре двуцепочечных ДНК могут возникать «кресты»

# Введение: 1.2. Способность к самосборке: неканонические взаимодействия – Отличные от двойной спирали структуры.

## Триплексы.

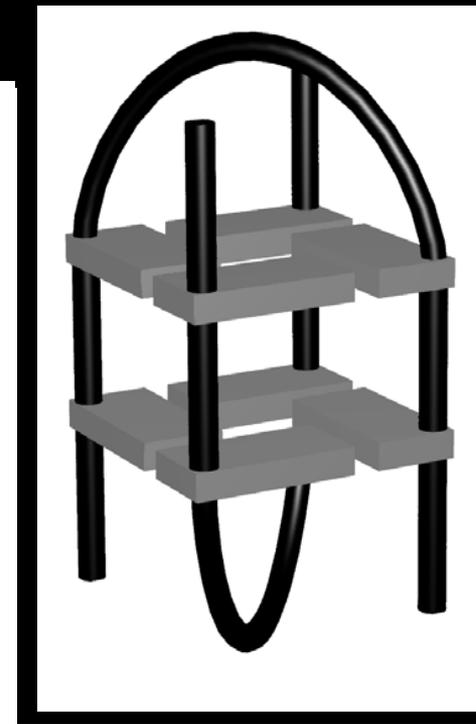
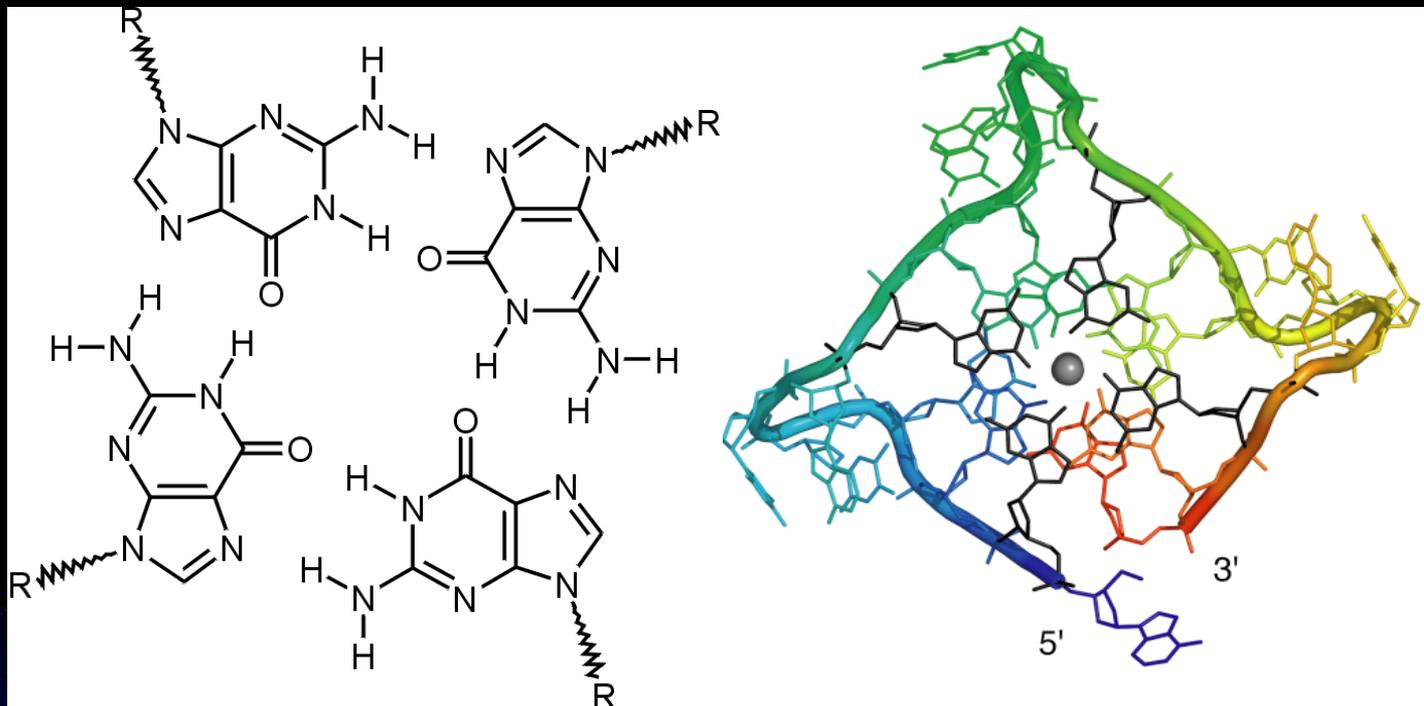


- три цепи
- устойчивы в широком диапазоне pH

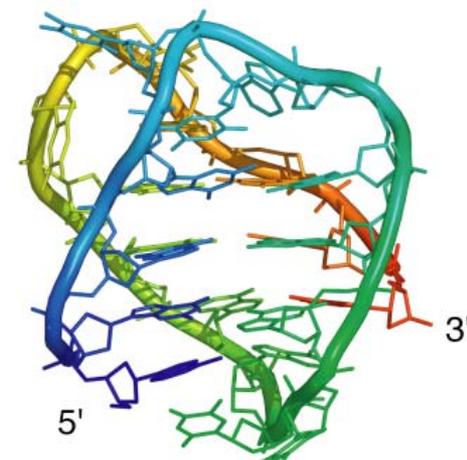


# Введение: 1.2. Способность к самосборке: неканонические взаимодействия – Отличные от двойной спирали структуры.

## Квадруплексы.



- ✓ Основа квартет- образованием четырьмя гуанинами
- ✓ Квартет координируются ионами металлов:  $K^+$ ,  $Na^+$
- ✓ Нужно 4-е цепи
- ✓ Очень стабильны, некоторые выдерживают  $100\text{ }^\circ\text{C}$



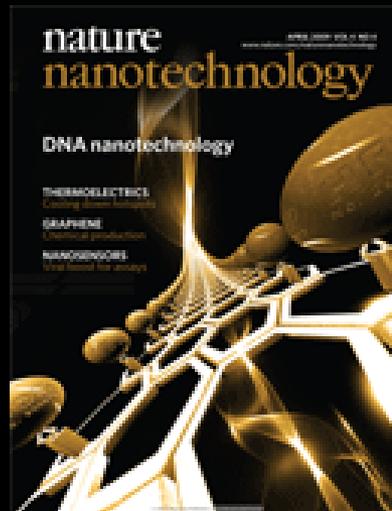
# 2. ДНК нанотехнология



Editorial Board  
JAMES H. ROSE

## DNA-Based Self-Assembly and Nanorobotics

On Constructing Complex, Fault-Tolerant  
Nanostructures And Programmable  
Nanorobotic Devices



- ✓ ДНК используется в качестве конструкционного материала для различных целей, а не как носитель генетической информации

## Почему?

- Хорошо развит химический синтез и секвенс
- Разработан арсенал методов манипуляции при развитии биотехнологии
- Много информации о свойствах

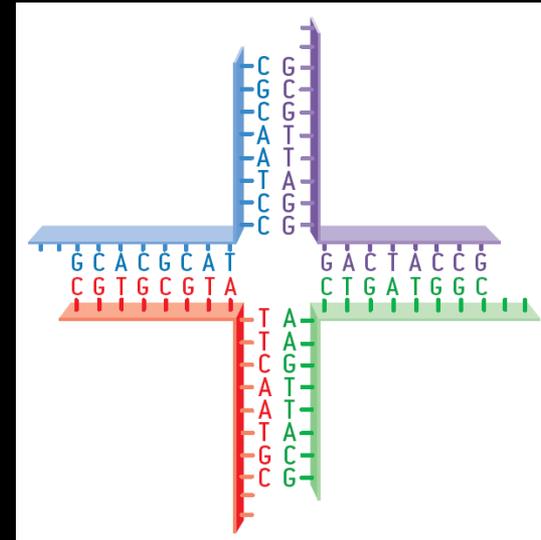
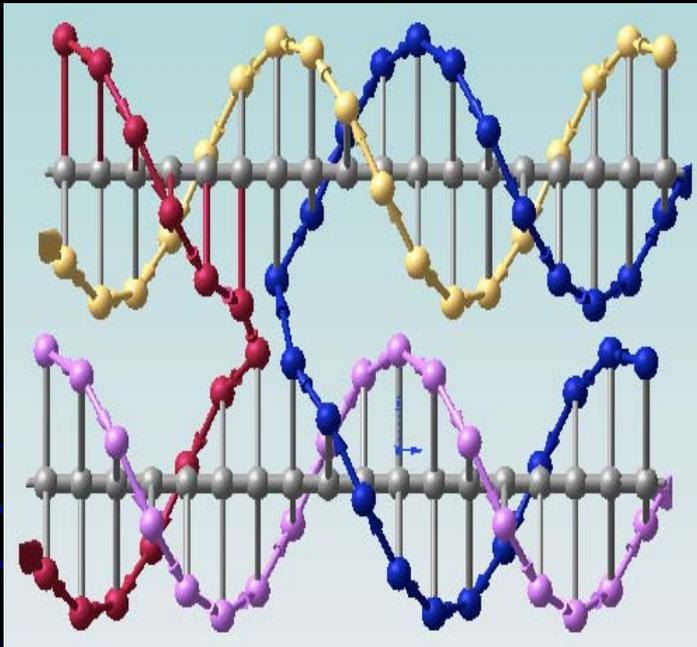
Специальный выпуск журнала  
Nature, Апрель 2009:

<http://www.nature.com/nnano/focus/dna-nanotechnology/index.html>

# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Блочная сборка

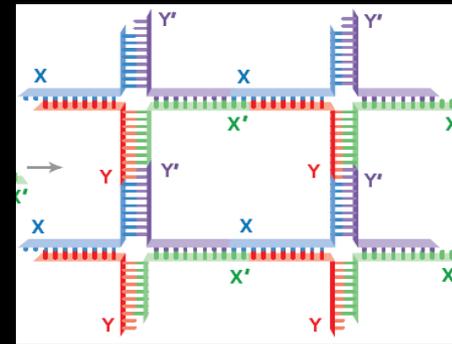
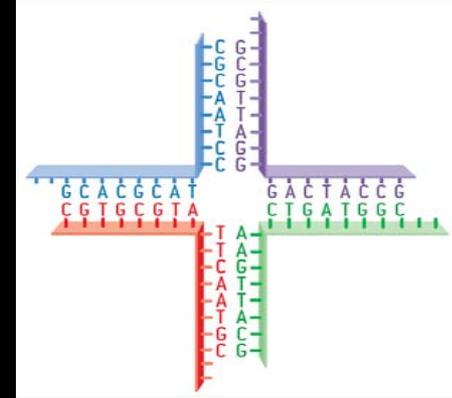
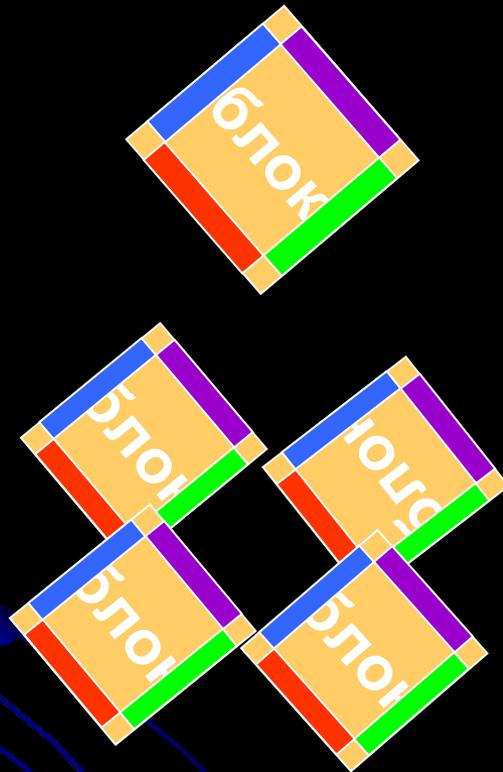
- Структура Холидея или перекрест – основа блочной сборки, так как дает разветвление



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

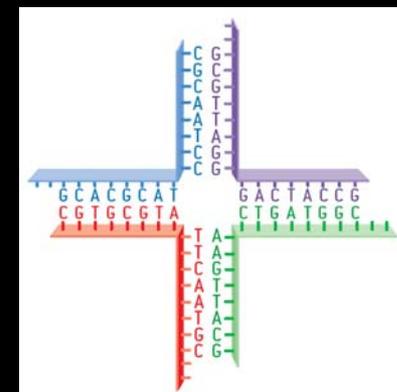
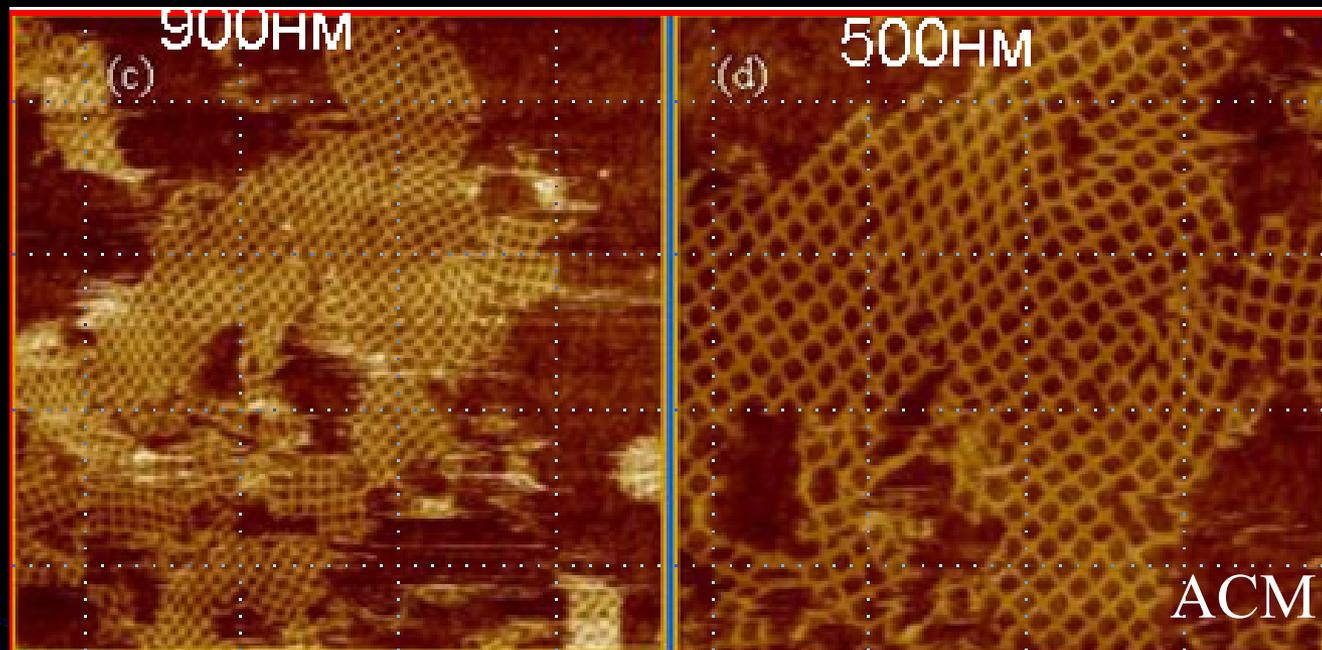
## 2.1.1. Блочная сборка

### Сборка из блоков



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Блочная сборка



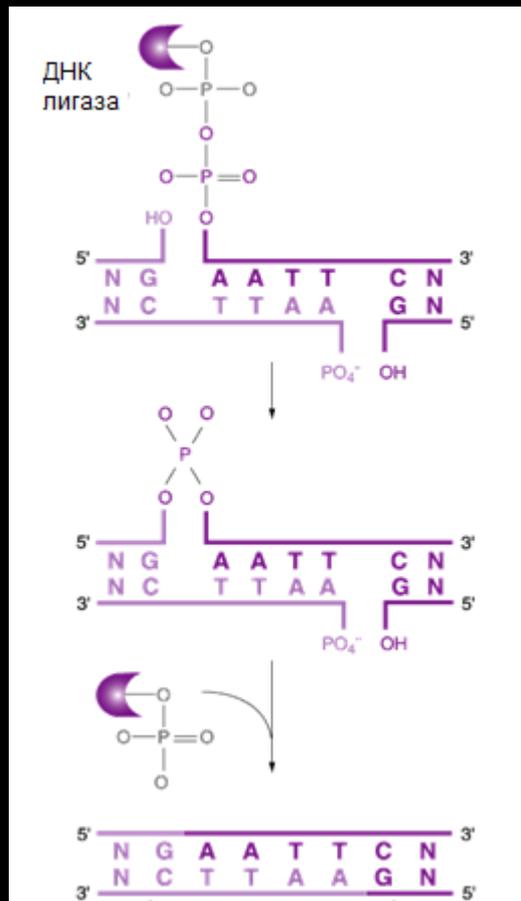
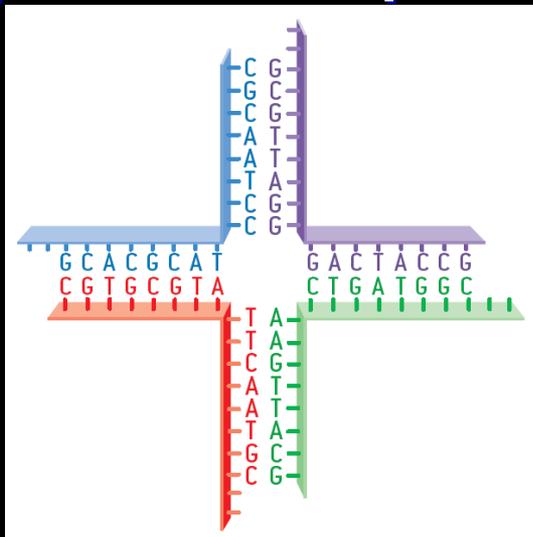
➤ молекулярные сетки разной пористости и форм отверстий

*Periodic Grid Lattices (Yan et al Nature, 2003)*

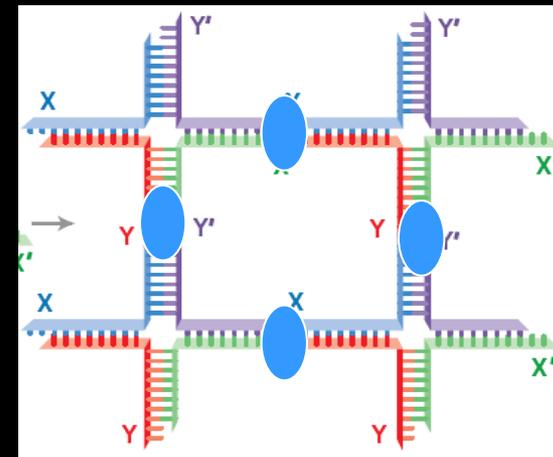
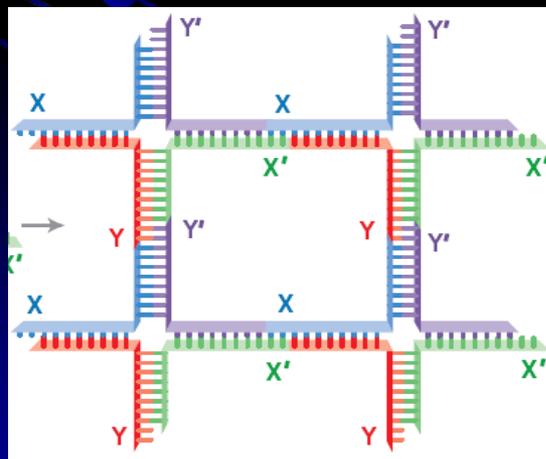
# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Блочная сборка:

фиксация образованием ковалентной связи



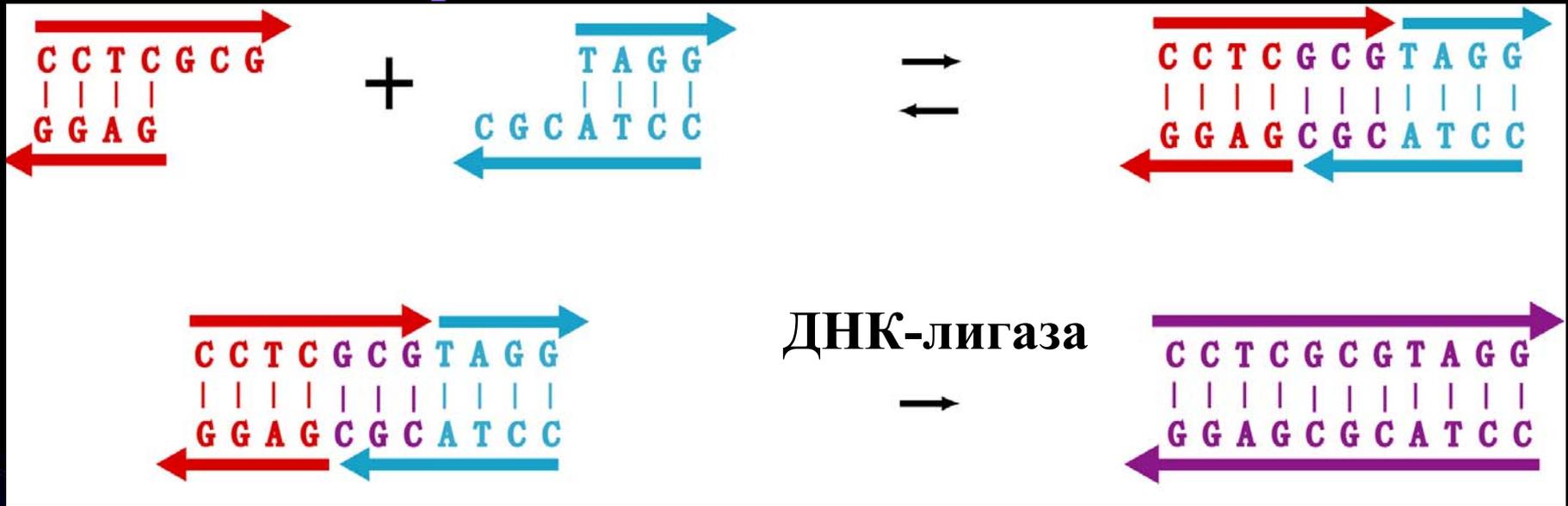
Фермент: ДНК-лигаза  
И АТФ



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Блочная сборка:

### Фиксация образованием ковалентной связи

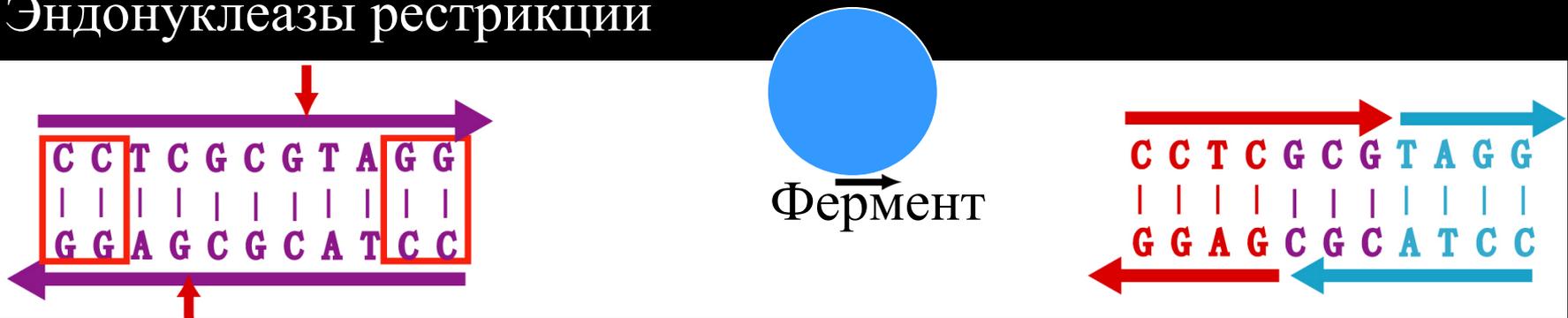


## ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

### 2.1.1. Блочная сборка:

Возможность получить новые одноцепочечные концы:

Эндонуклеазы рестрикции

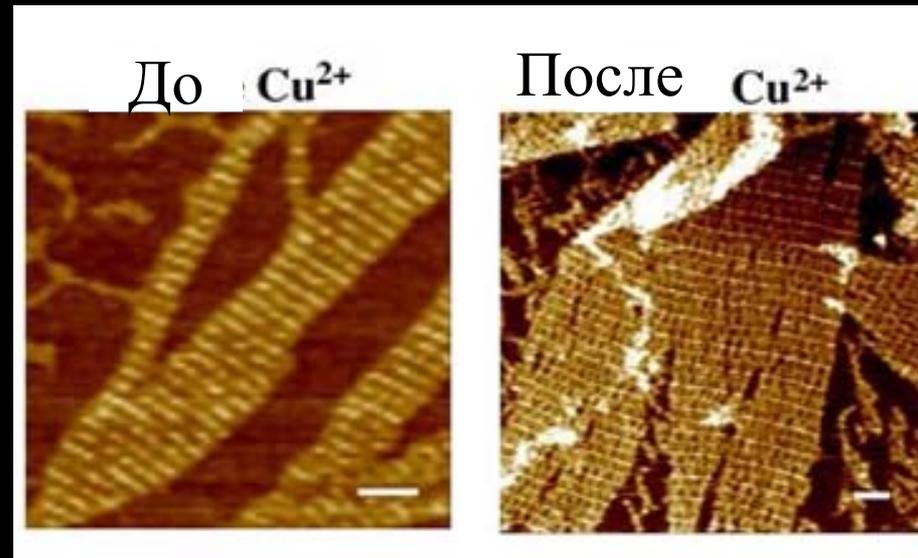
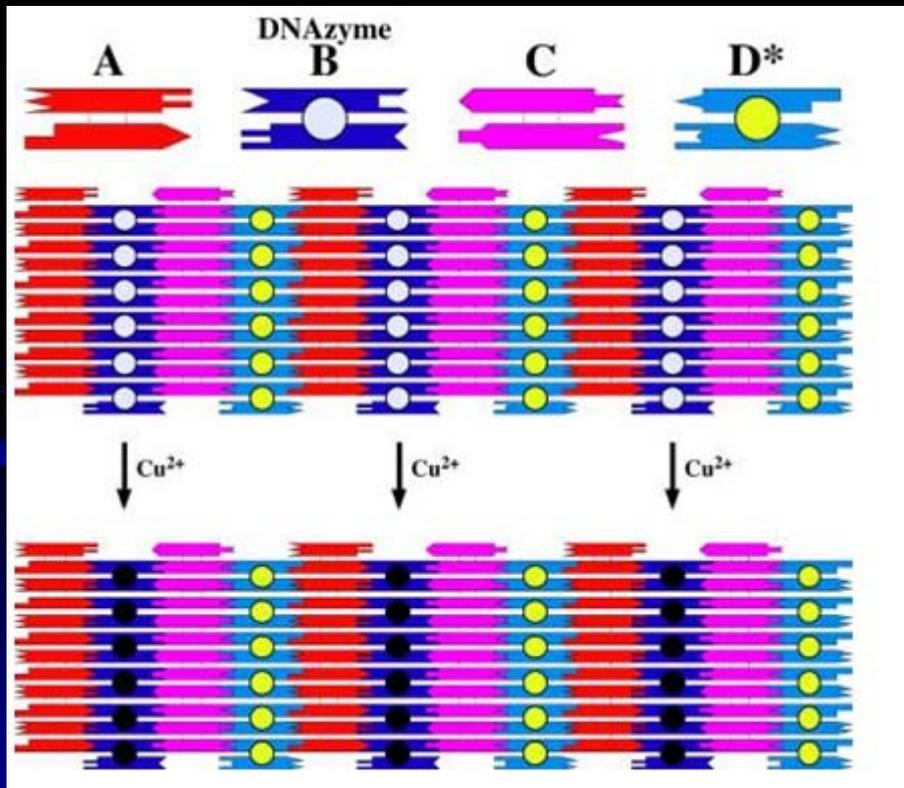


Рибозимы или дезоксирибозимы (DNAzyme) – НК с особой структурой, которые в присутствии кофакторов вносят разрыв в цепь НК в строго определенном и заданном месте

# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

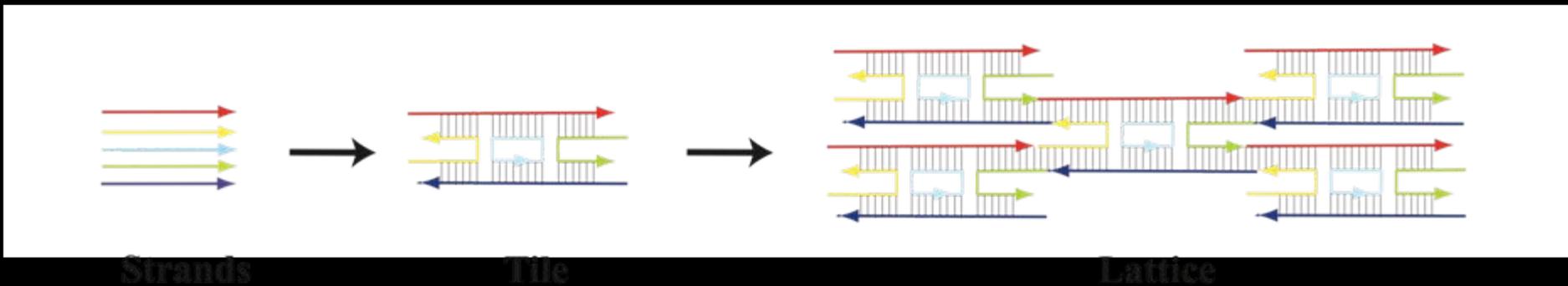
## 2.1.1. Блочная сборка.

Возможность получить новые одноцепочечные концы и изменить структуру.



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

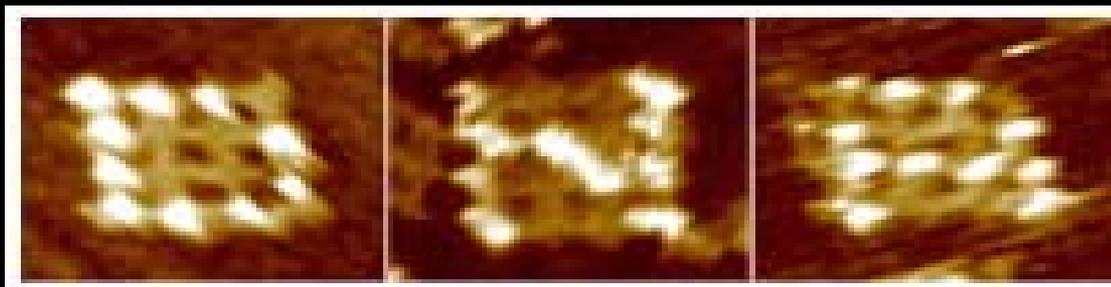
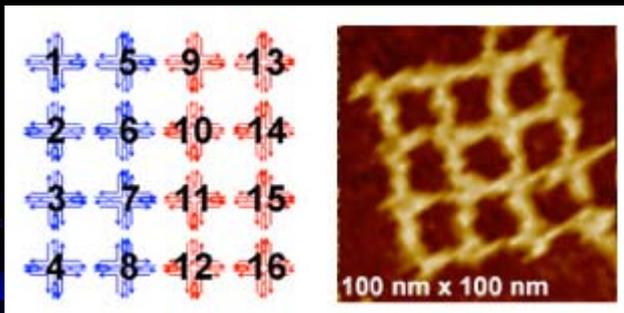
## 2.1.1. Блочная сборка. Усиление блоков: дополнительные дуплексы



Strands

Tile

Lattice



ACM

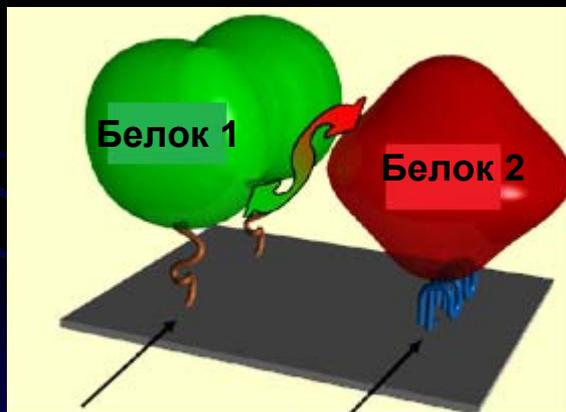
*Park et al: Angewandte Chemie , 2006*

# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

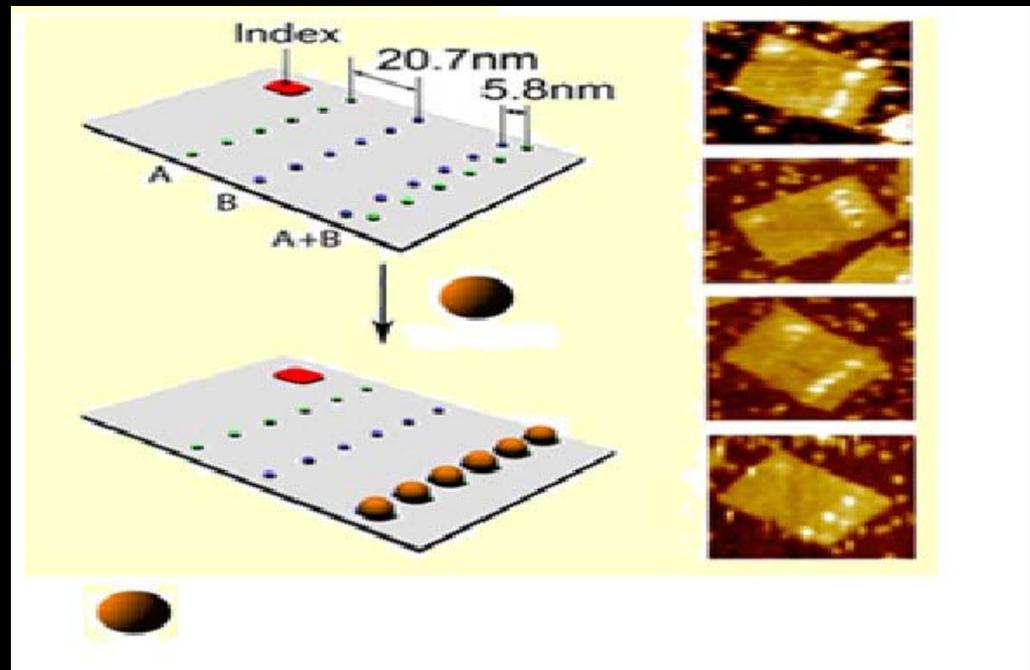
## 2.1.2. Применение ДНК-поверхности : подложка для сборки комплексов.

### ➤ Применение:

позволяют изучать пространственно-зависимые взаимодействия между различными биомолекулами и лигандами



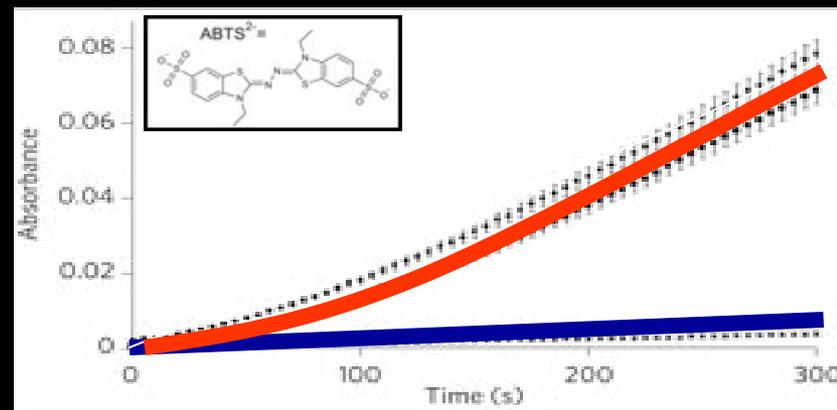
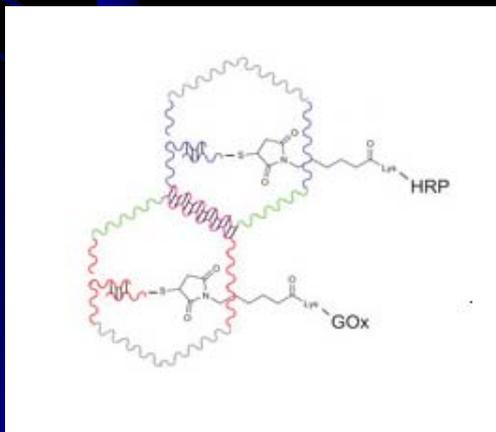
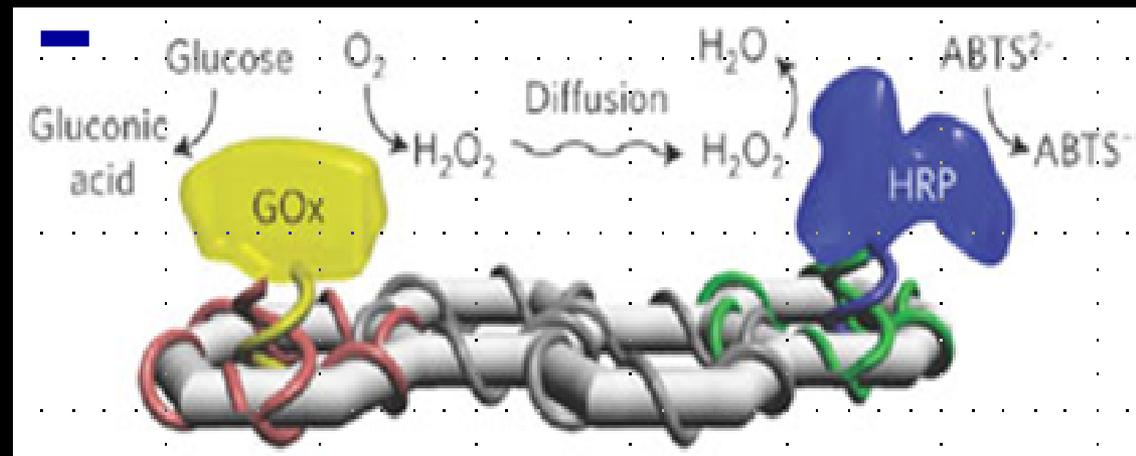
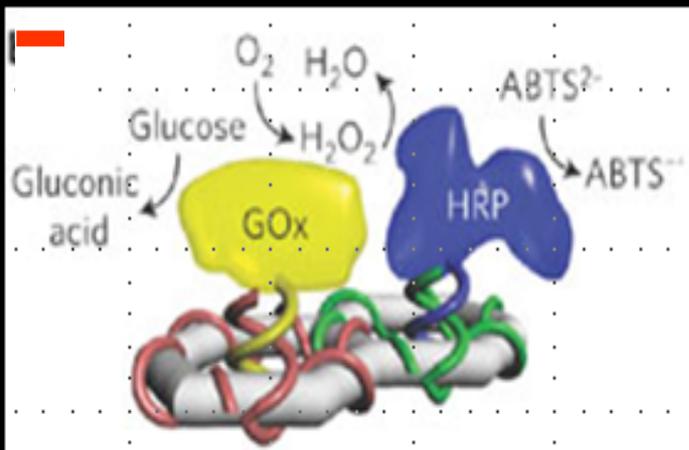
ДНК-адапторы



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

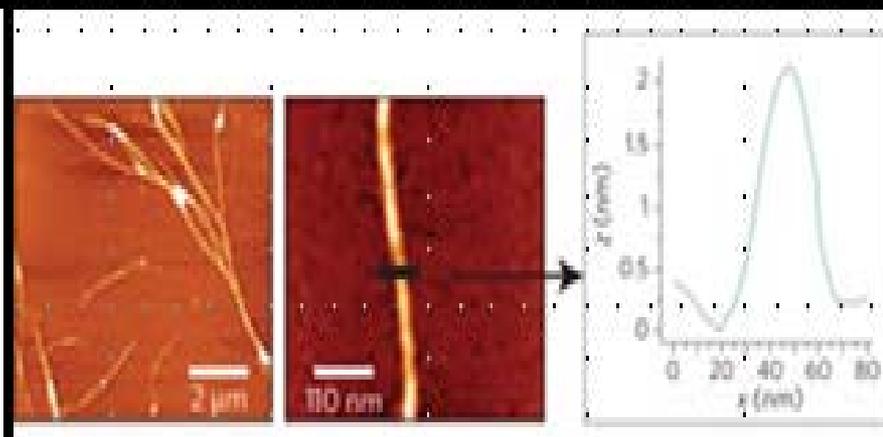
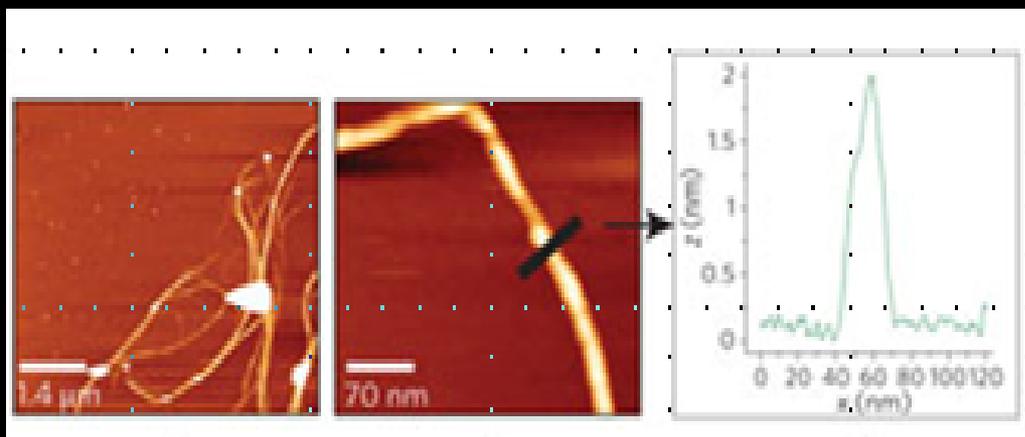
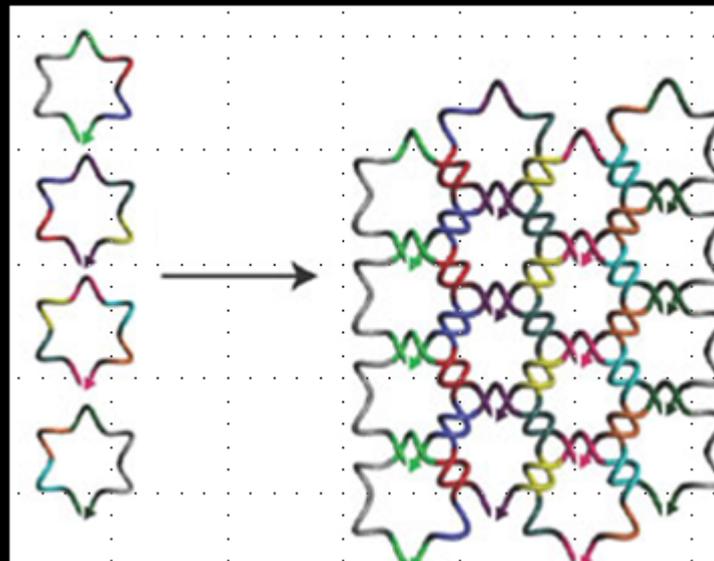
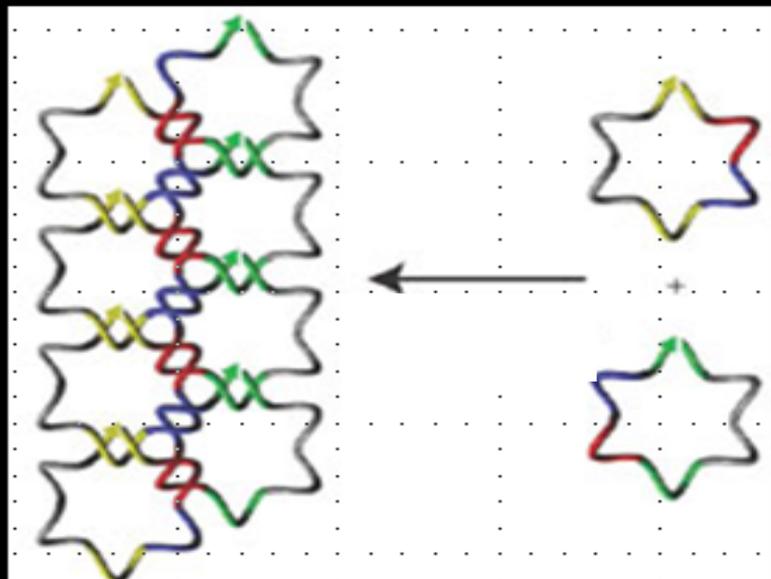
## 2.1.2. Применение ДНК-поверхности : подложка для сборки комплексов.

➤ **Применение:** для самоорганизации сложных каскадов мультиферментов, катализирующих последовательные превращения веществ



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

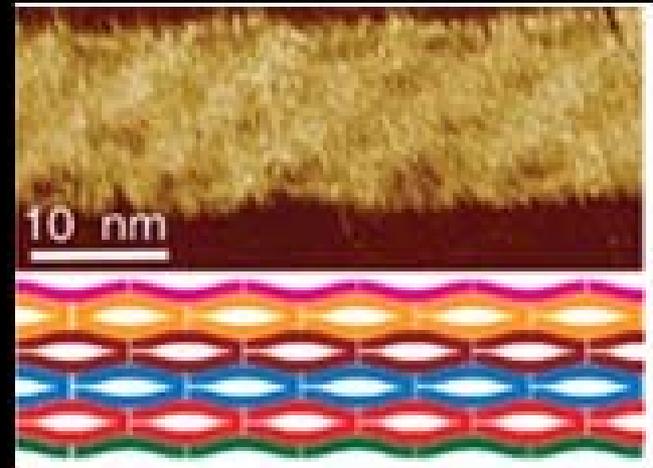
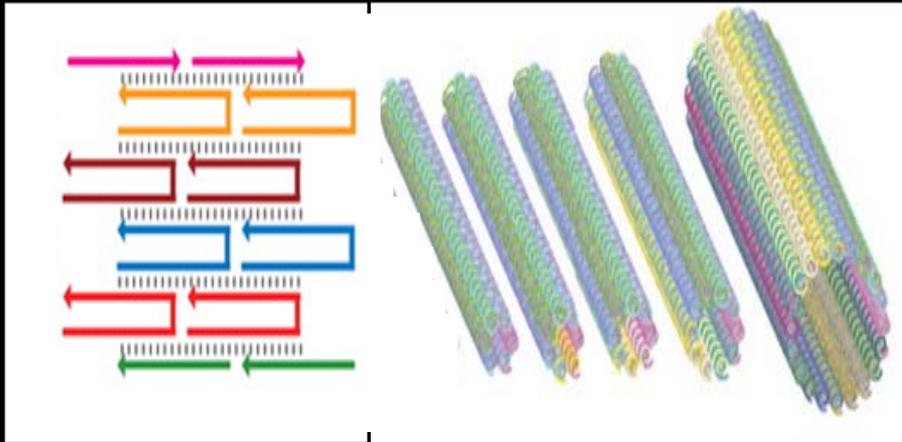
## 2.1.1. Блочная сборка поверхности: гексагональная основа



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Блочная сборка

### Днк-нанотрубки



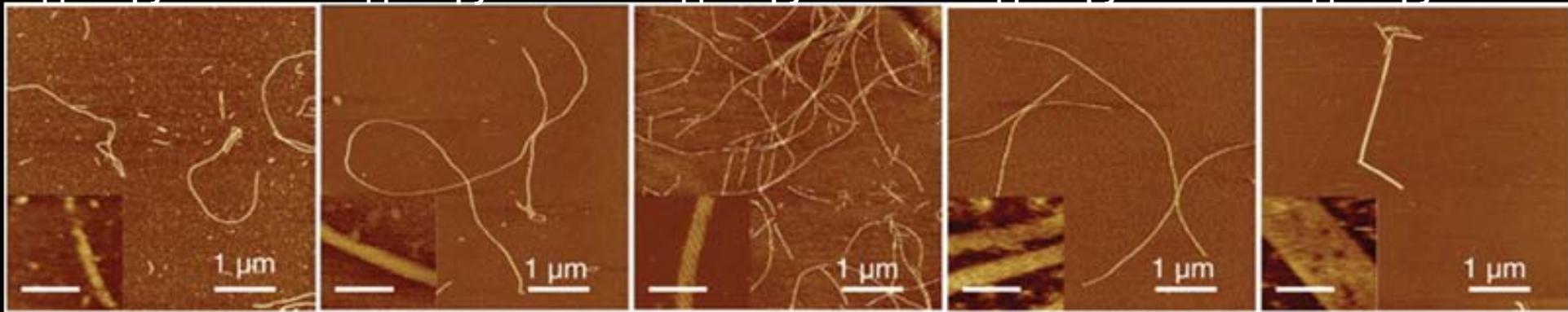
3-х спиральная  
ДНК-трубка

4-х спиральная  
ДНК-трубка

5-и спиральная  
ДНК-трубка

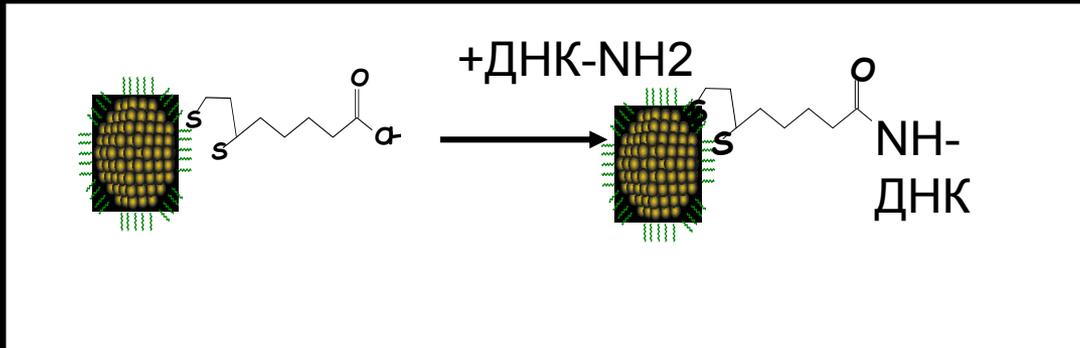
6-и спиральная  
ДНК-трубка

20-и спиральная  
ДНК-трубка



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Конъюгация с наночастицами металлов.



✓ химические методы  
Разработаны

✓ Можно выделить частицы с определенным количеством коротких последовательностей ДНК (олигонуклеотидов)

Пример  
Разделения методом  
Электрофореза в агарозном геле:

Наночастицы  
золота 2нм

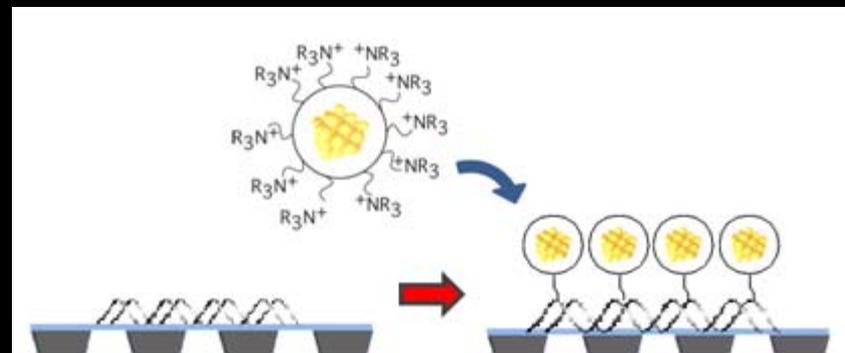
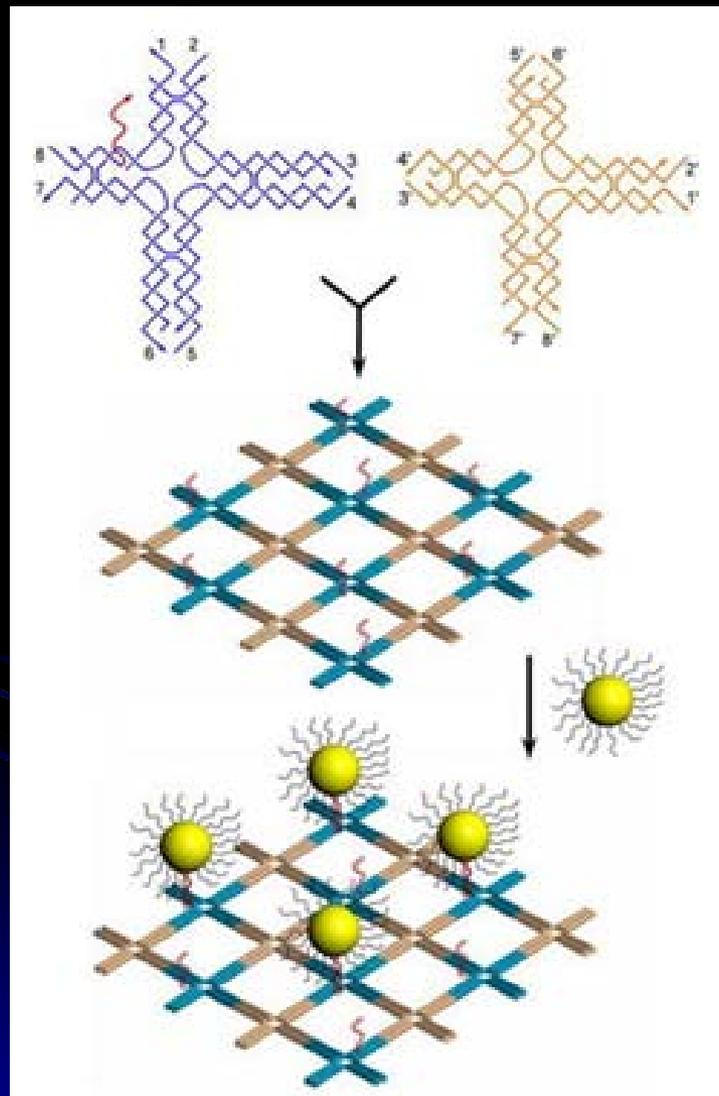


Наночастицы  
золота 2нм и

← + 4 олигонуклеотида  
← + 3 олигонуклеотида  
← контроль + 2 олигонуклеотида  
← + 1 олигонуклеотид

## ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

### 2.1.1. Блочная сборка: создание сеток из наночастиц металлов

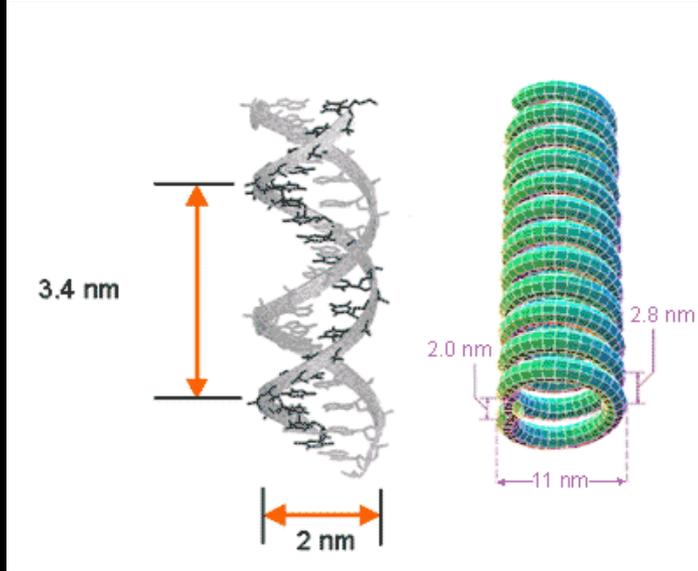


В Duke University выпускают grids с порами в 6 микрон для структурных исследований, полученные таким способом.

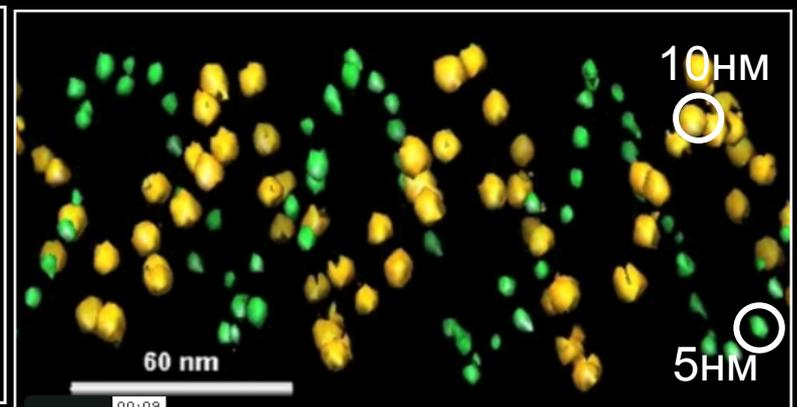
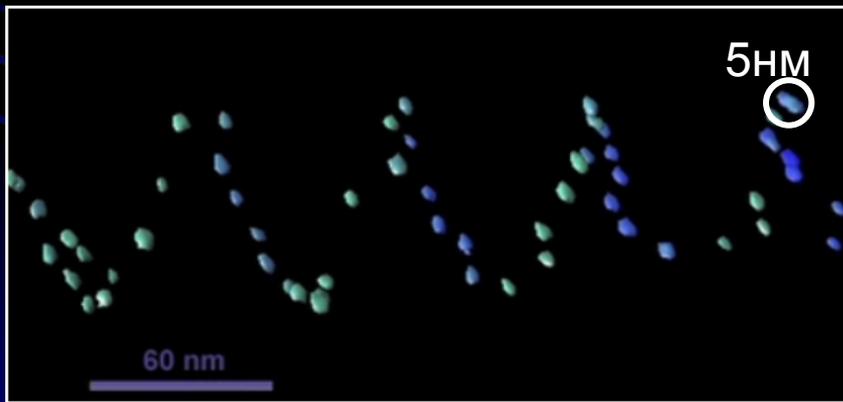
# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. Конъюгация с наночастицами.

### Создание любых структур из наночастиц металлов



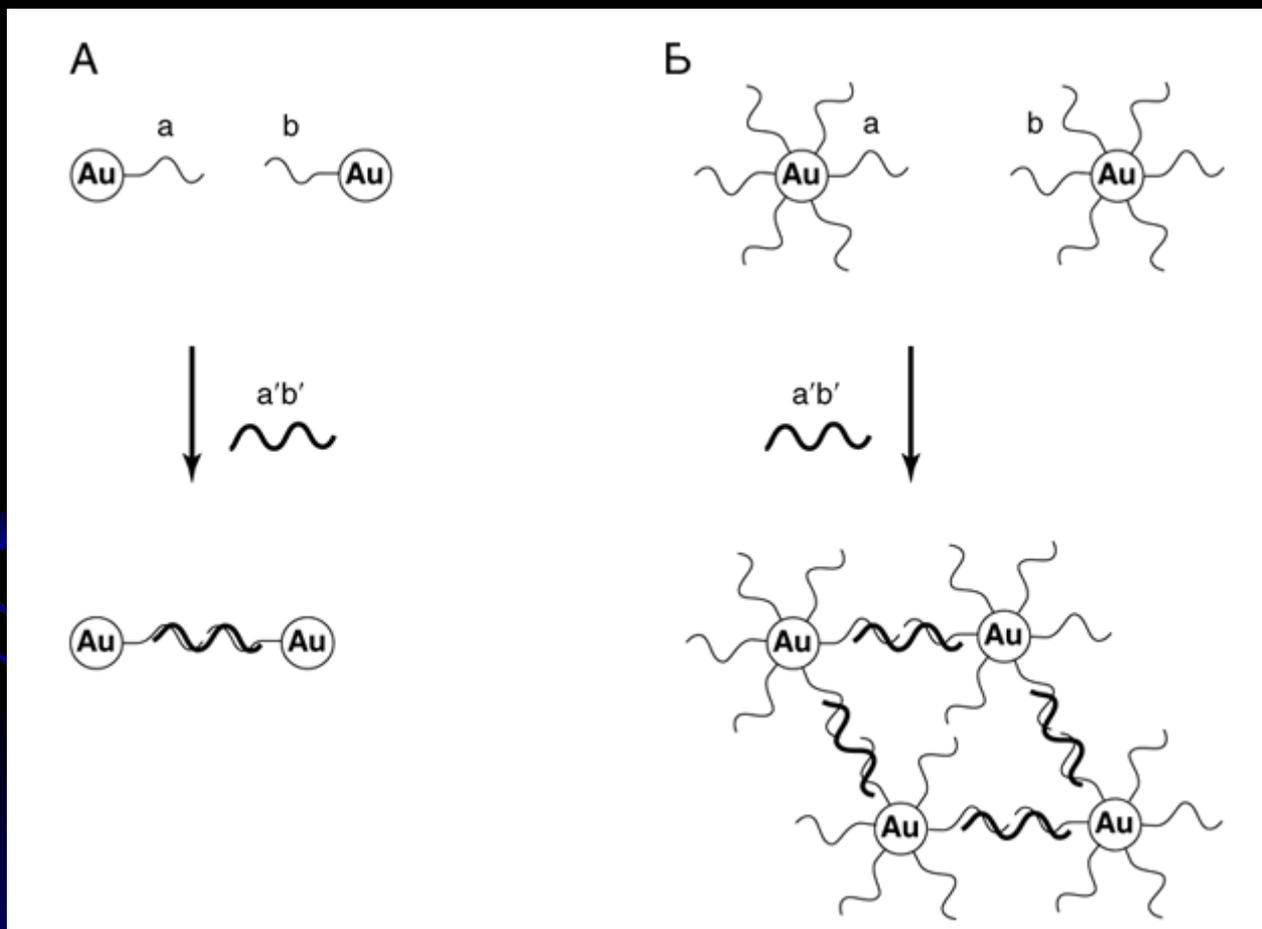
➤ ДНК-сборка позволяет поместить дискретное число наночастиц в 2-х и 3-х мерном пространстве с точностью миллимикрона



## ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

### 2.1.1. Конъюгация с наночастицами.

## Создание сеток из наночастиц металлов

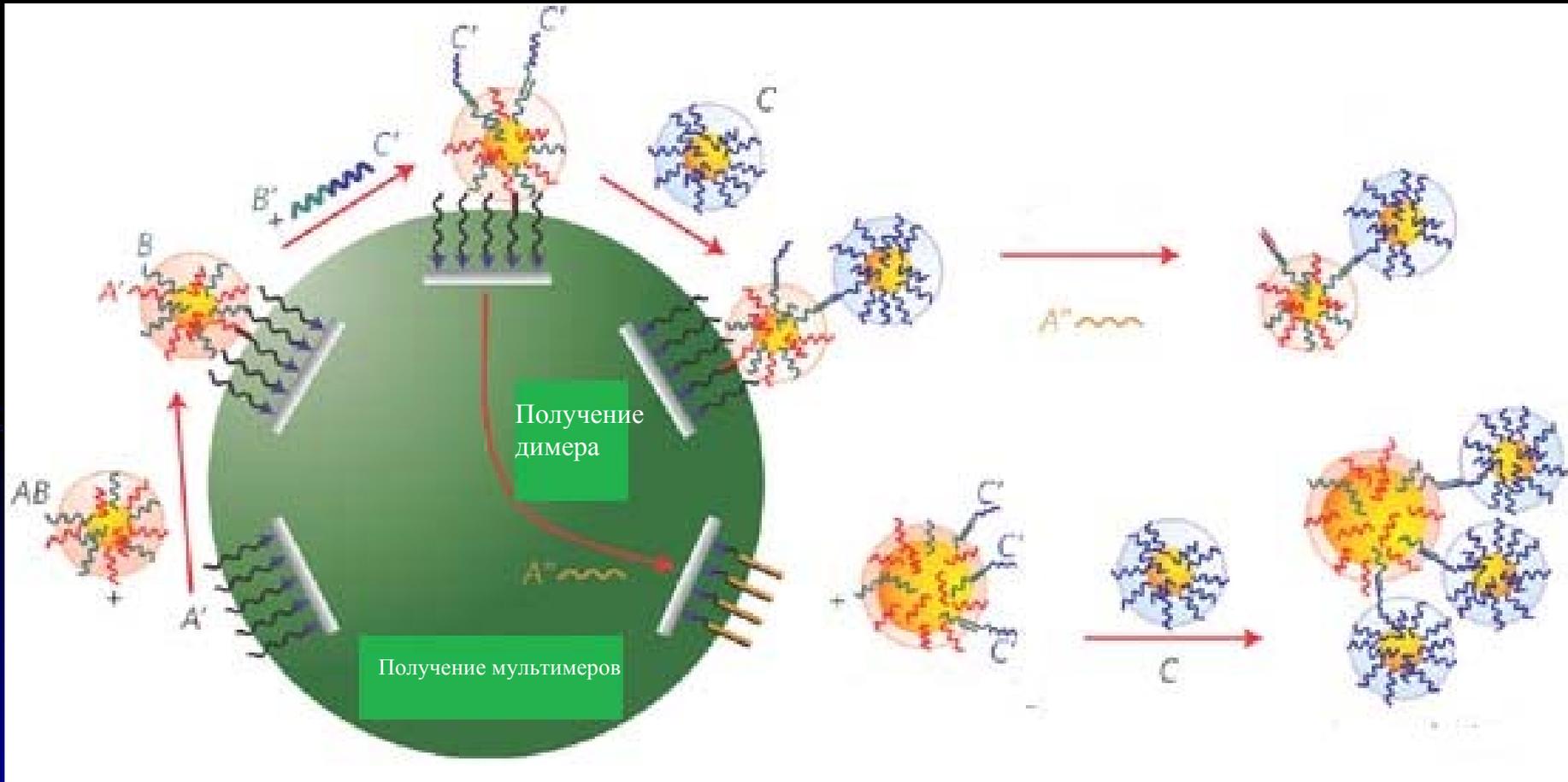




# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

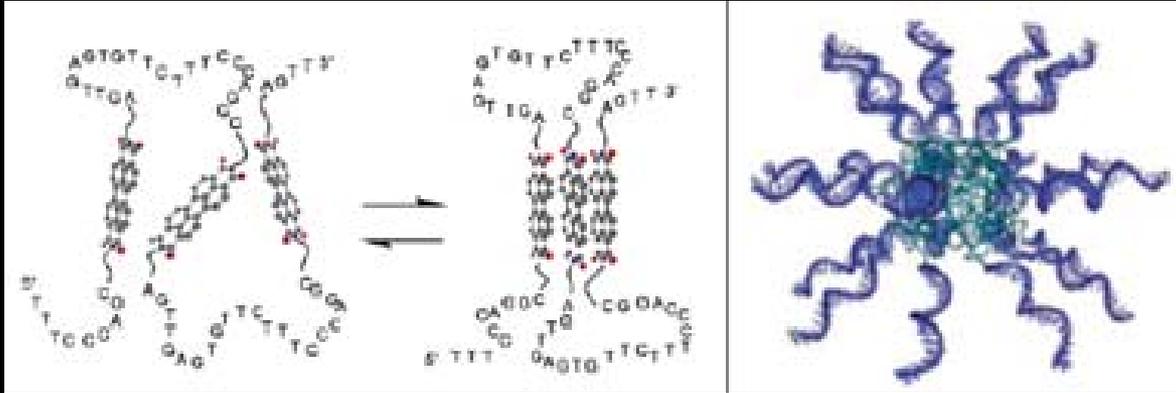
## 2.1.1. Конъюгация с наночастицами.

ДНК обеспечивает контроль сборки наночастиц

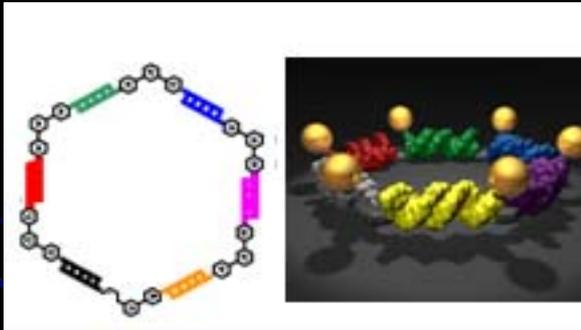


# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

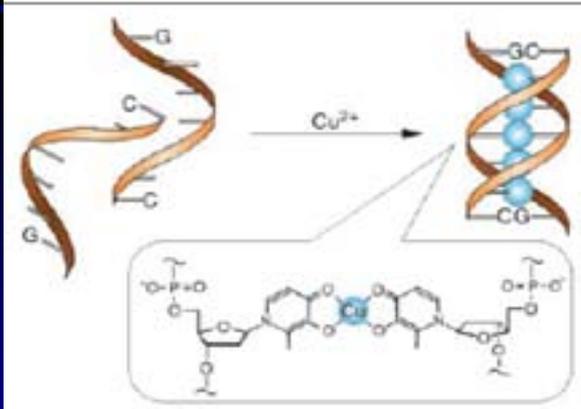
## Дополнительная химическая модификация ДНК



✓ химический синтез ДНК хорошо разработан



✓ МОЖНО ВВОДИТЬ различные модификации, изменяющие свойства

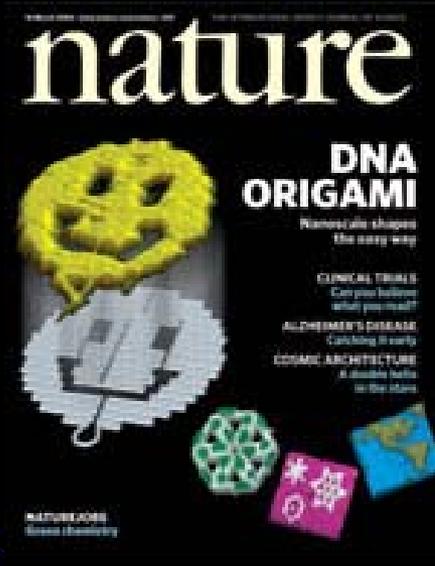


*F. A. Aldaye, A. Palmer, H. F. Sleiman  
Science, 2008, 321, 1795.*

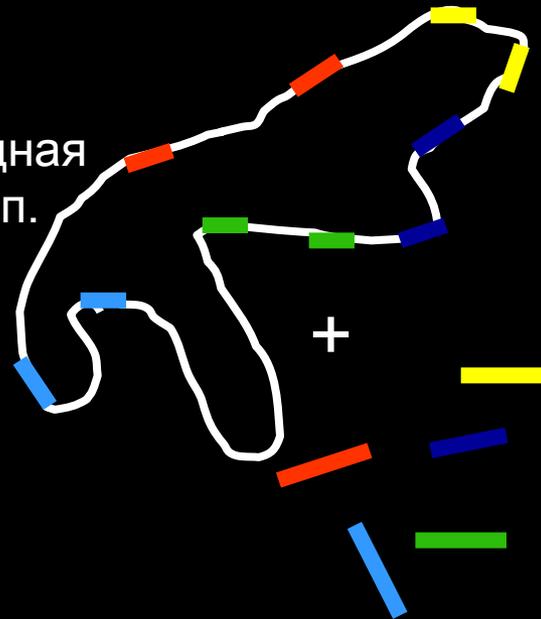
# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.2. ДНК-оригами (альтернатива блокам)

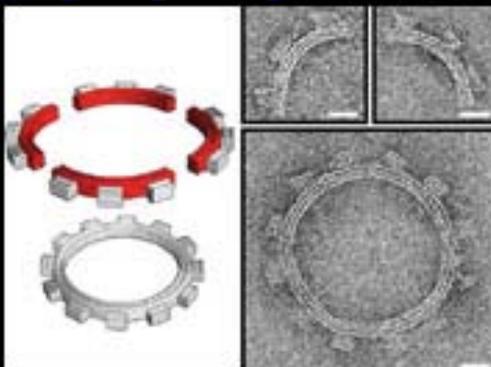
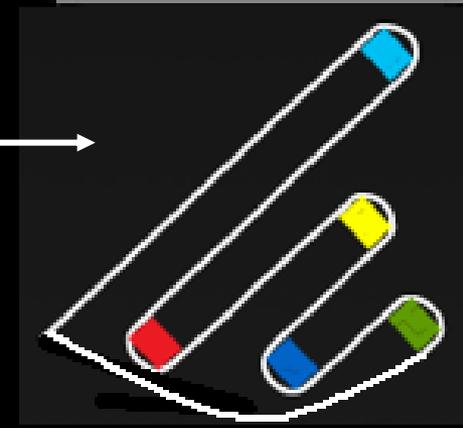
*Nature* 440: 297–302, (2006), Rothemund и др.



Природная  
одноцеп.  
ДНК



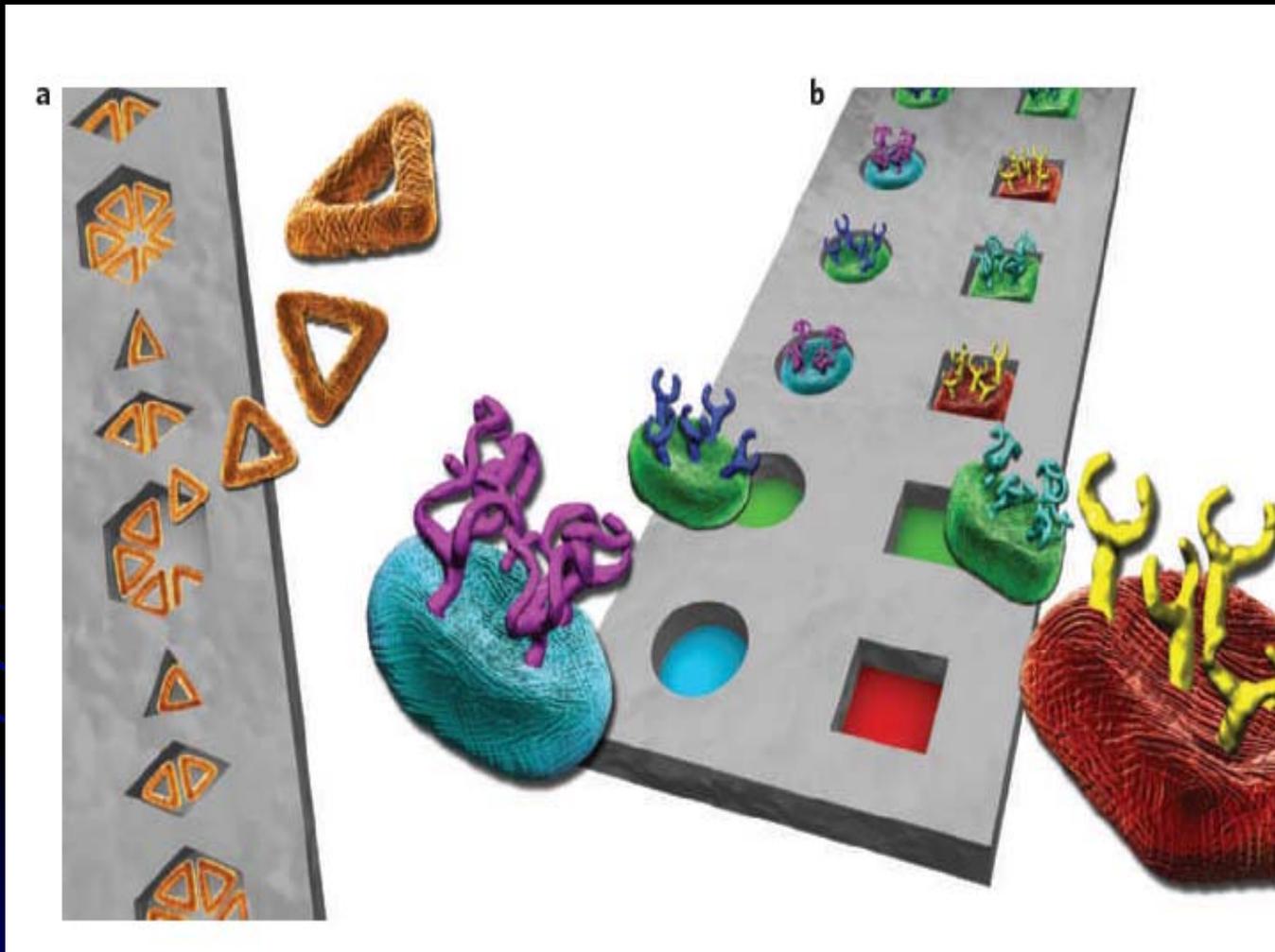
Синтетические  
короткие  
ДНК (скрепки)



*Science* 325, 725–730 (2009), Shih и др.

## ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

### 2.1.2. ДНК-оригами (альтернатива блокам). Основа для литографии или использование совместно с поверхностями для сортировки

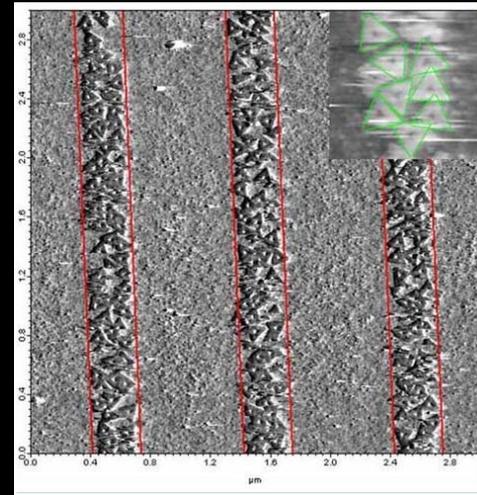
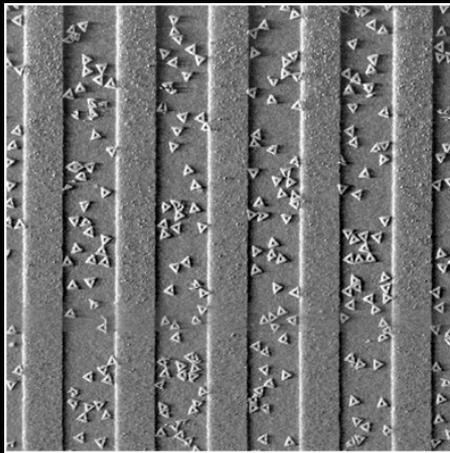


*Nature Nanotechnology* 4, 543 - 544 (2009) Graiger u др  
*Nature Nanotechnology* 4, 557 - 561 (2009), Wallraff u др.

## ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

### 2.1.1. ДНК-оригами. Основа для литографии.

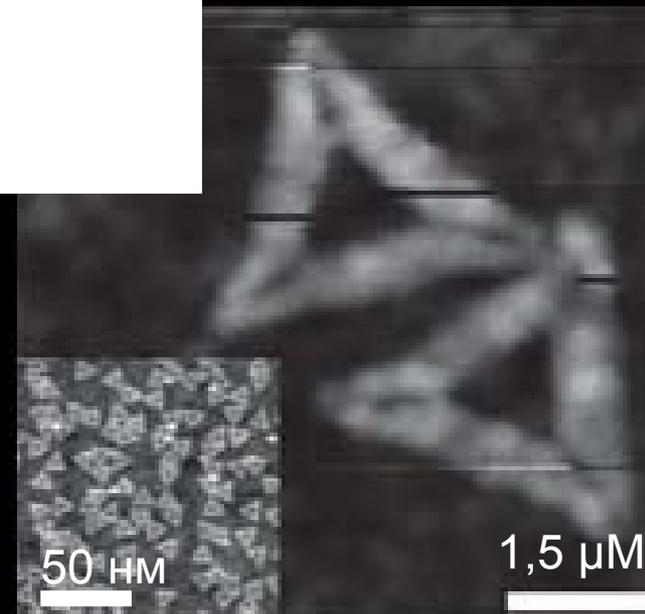
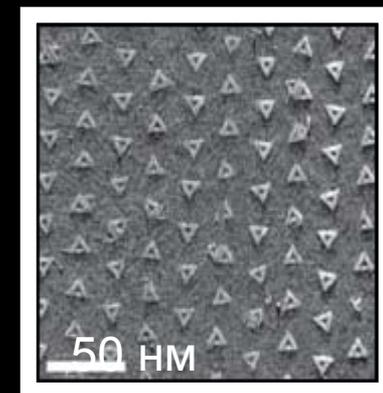
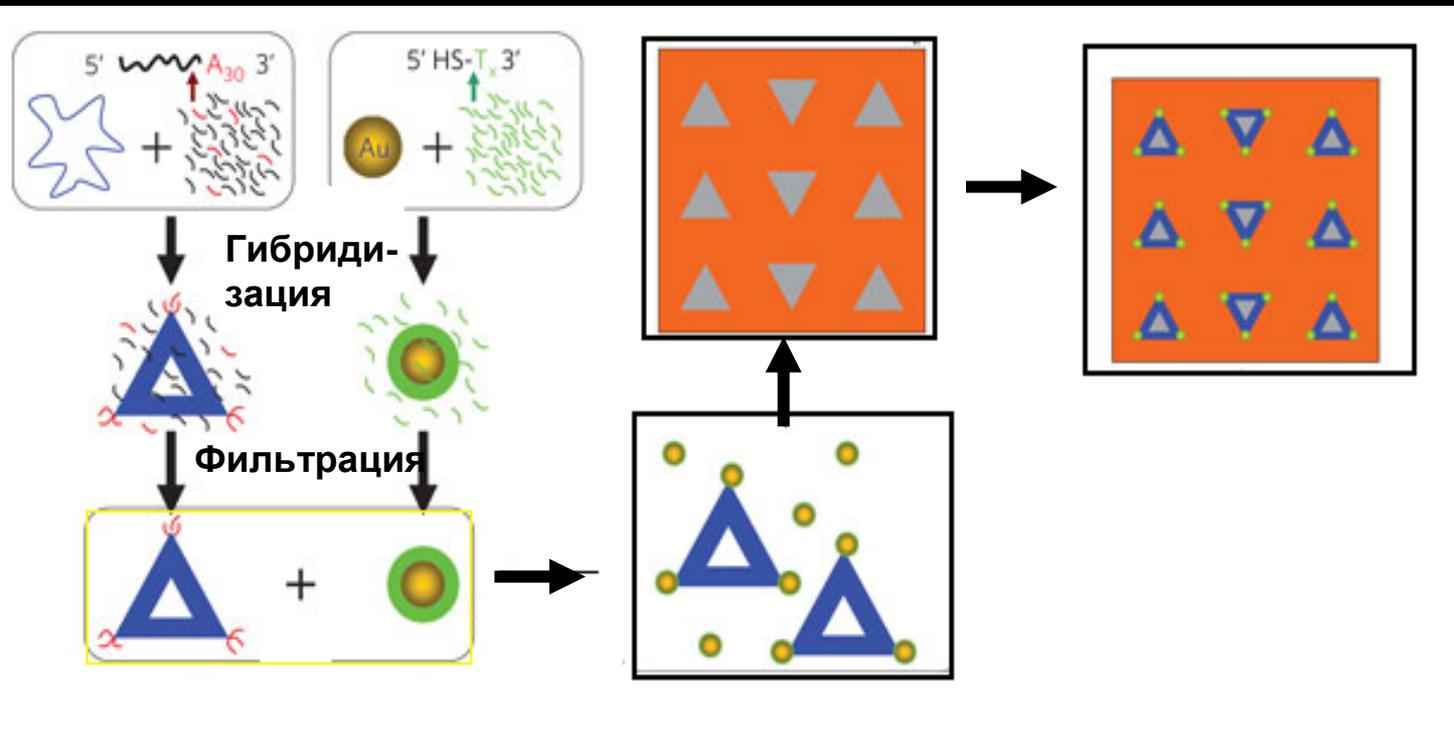
➤ Применение: ДНК-оригами (6нм) + литография (25нм) = метод создания чипов



Пресс-релиз компании IBM от августа, 2009:  
<http://www-03.ibm.com/press/us/en/pressrelease/28185.wss>

# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

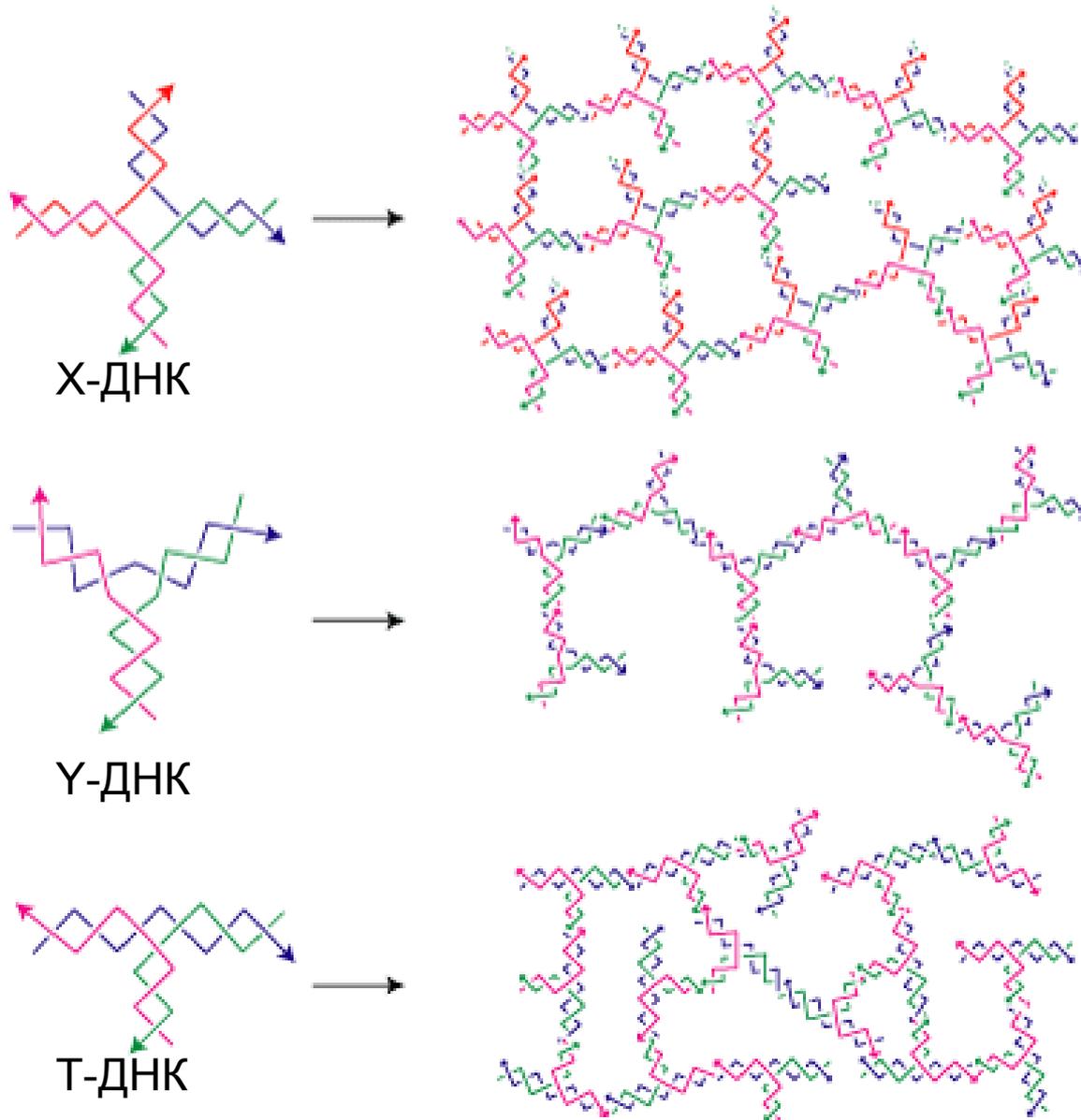
## 2.1.1. ДНК-оригами использовано совместно с поверхностью для сортировки



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

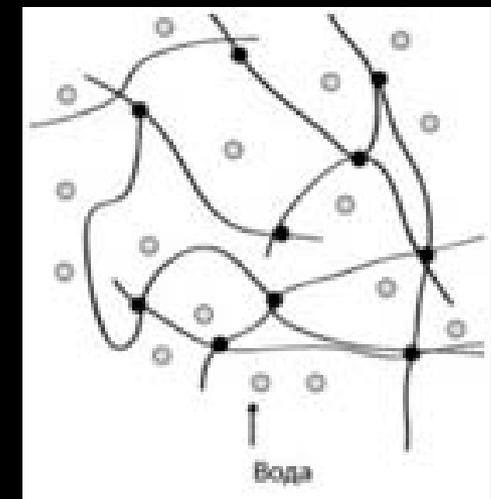
## 2.1.3. трехмерные материалы.

### Гидрогели



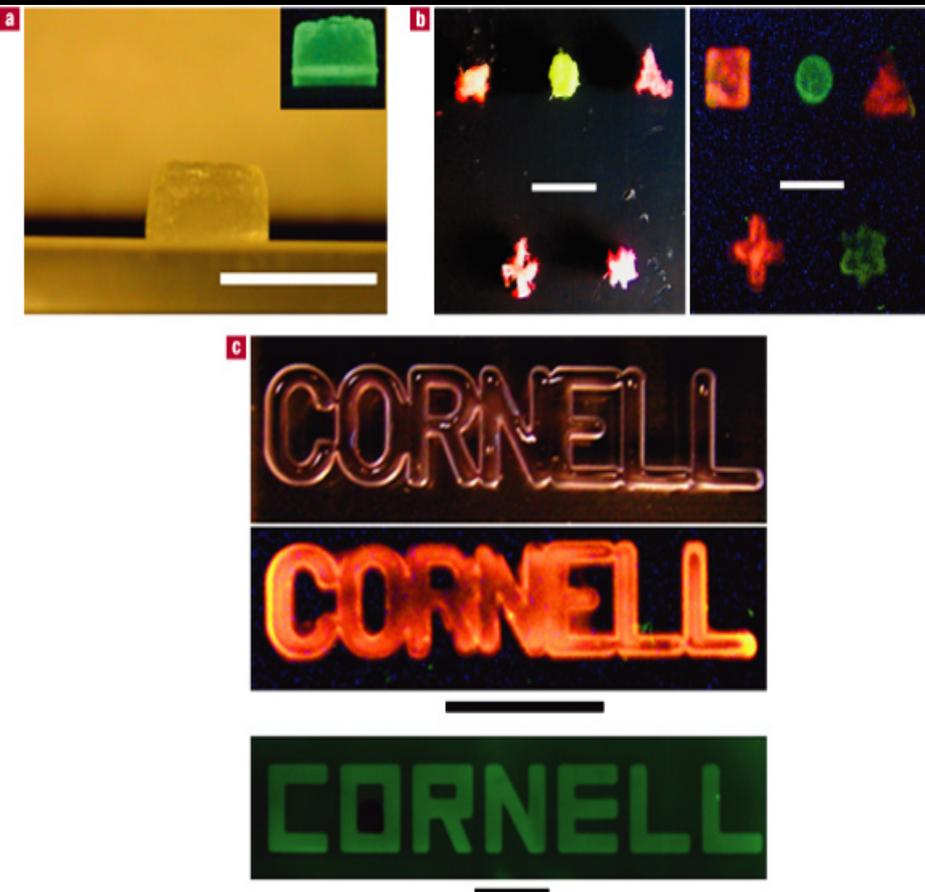
- ✓ нет выступающих концов
- ✓ все концы совместимы
- ✓ обработка ДНК-лигазой

Итог: гидрогели



# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. трехмерные материалы - гидрогели



✓ Контролируемый размер пор

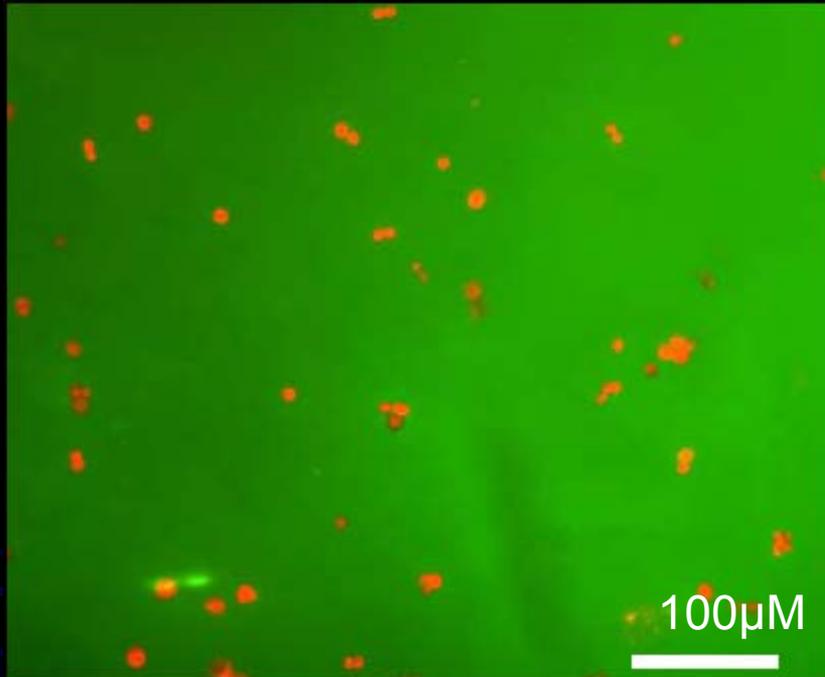
✓ Биodeградируемость

✓ Различная скорость биodeградации в зависимости от структуры

➤ **Применение:**  
**Контейнеры для лекарств**

# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. трехмерные материалы - гидрогели



CHO клетки (красный) и интеркалирующий в ДНК краситель (SYBR) (зеленый)

✓ Биосовместимость

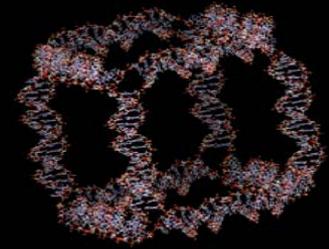
✓ включение клеток животных и их культивирование

➤ **Применение: трехмерное культивирование клеток для тканевой инженерии и клеточной терапии**

*Nature Materials* 5, 797 - 801 (2006), Dan Luo и др.

ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК  
2.1.1. трехмерные материалы

*Folding DNA into Twisted and Curved Nanoscale Shapes*  
*Science, 325:725–730, 7 (2009) Shih u др.*



*(Chen and Seeman, 91)*



<http://cadnano.org/>

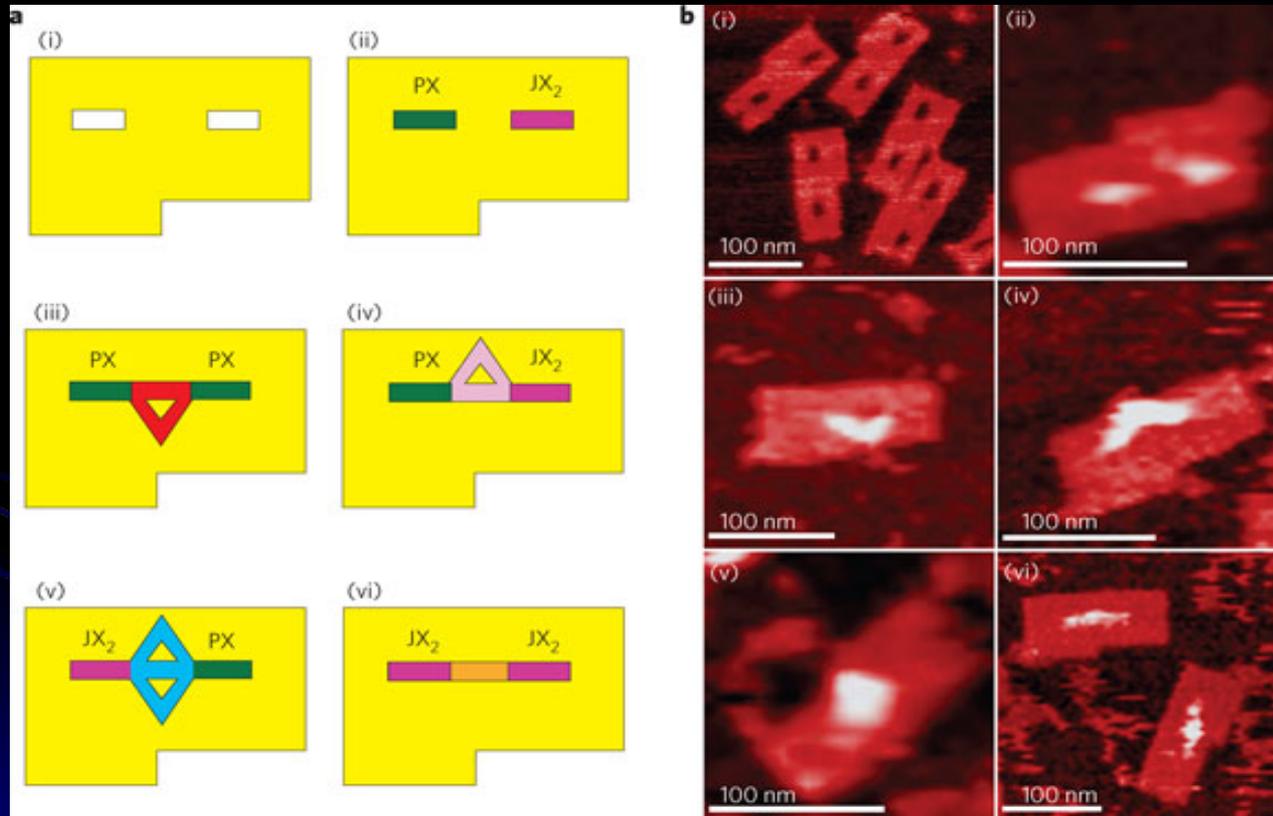


# ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК

## 2.1.1. трехмерные материалы : динамическая форма сборки.

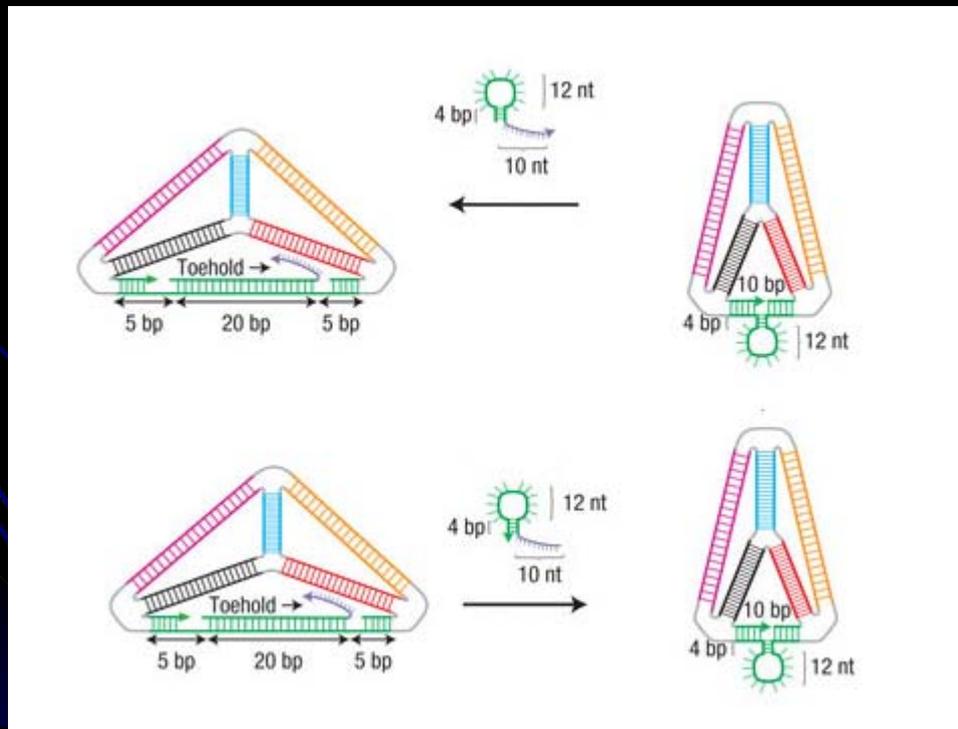
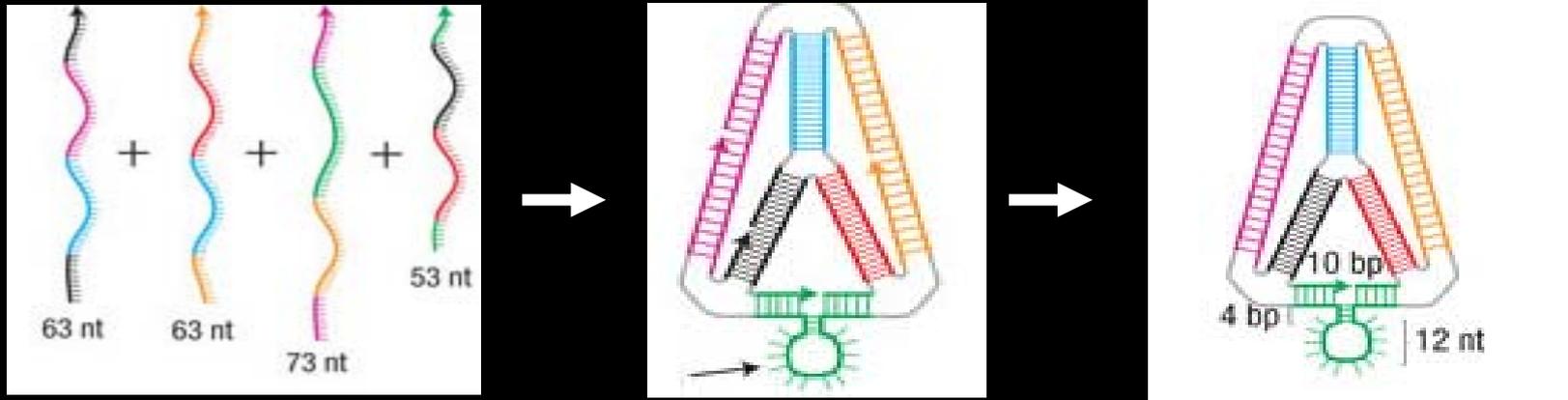
Новый компонент захвачен

между двумя независимо запрограммированными устройствами ДНК.

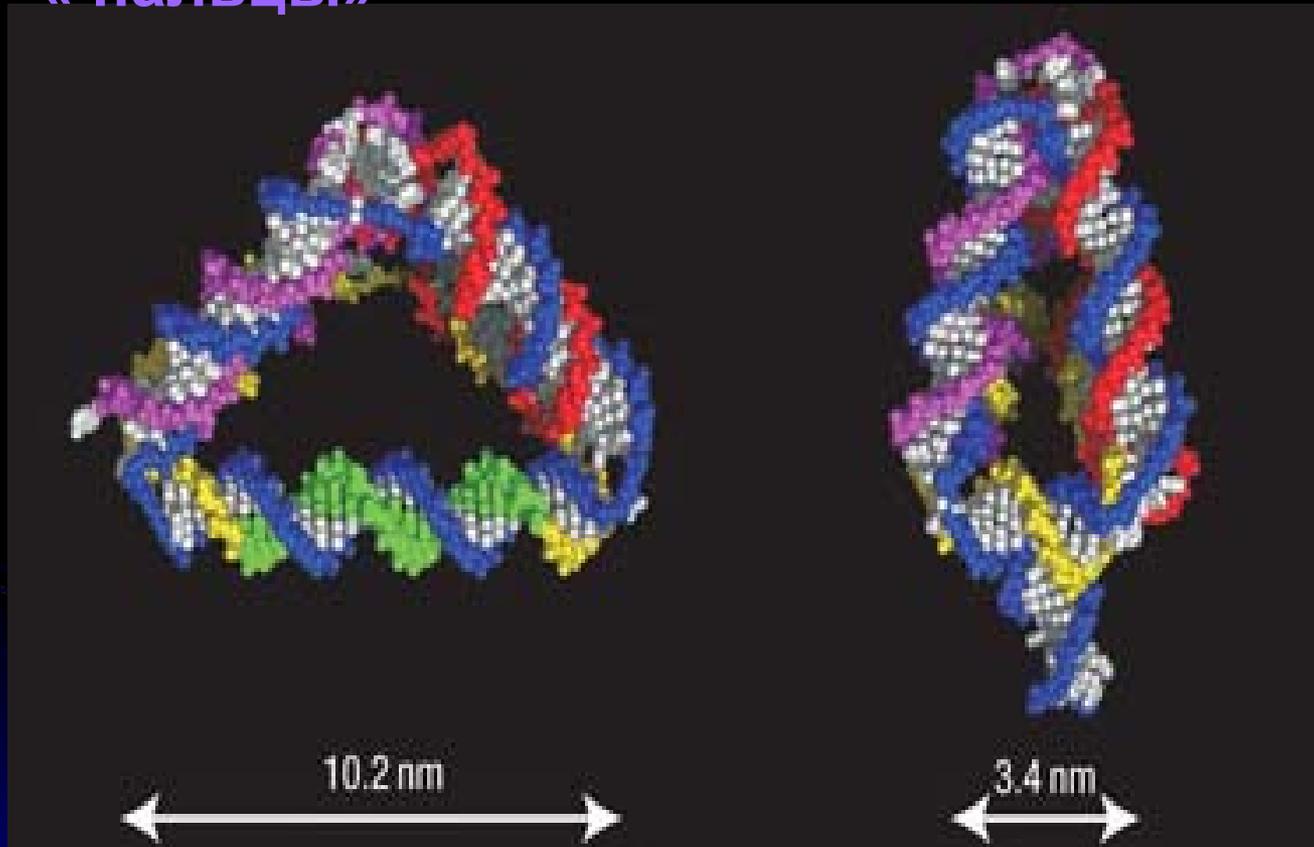


# ДНК нанотехнология:

## 2.2. Реализация направленного движения



ДНК нанотехнология: 2.1. Материалы на основе ДНК  
2.1.1. трехмерные материалы, реализация движения.  
« пальцы»

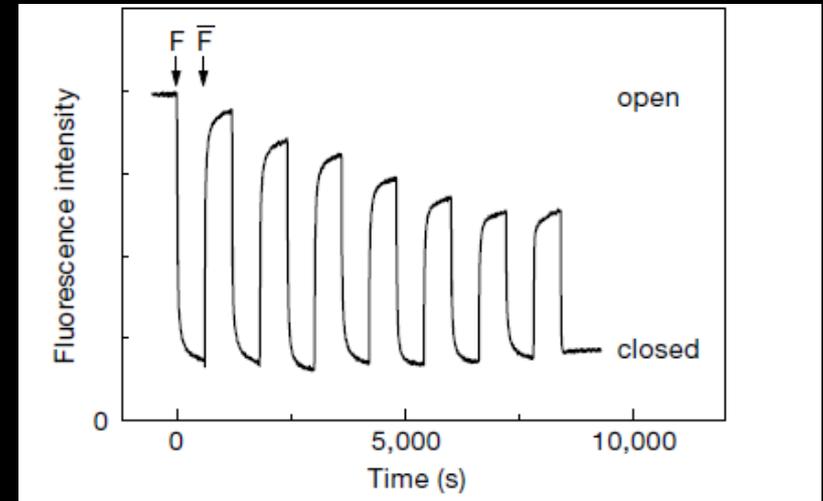
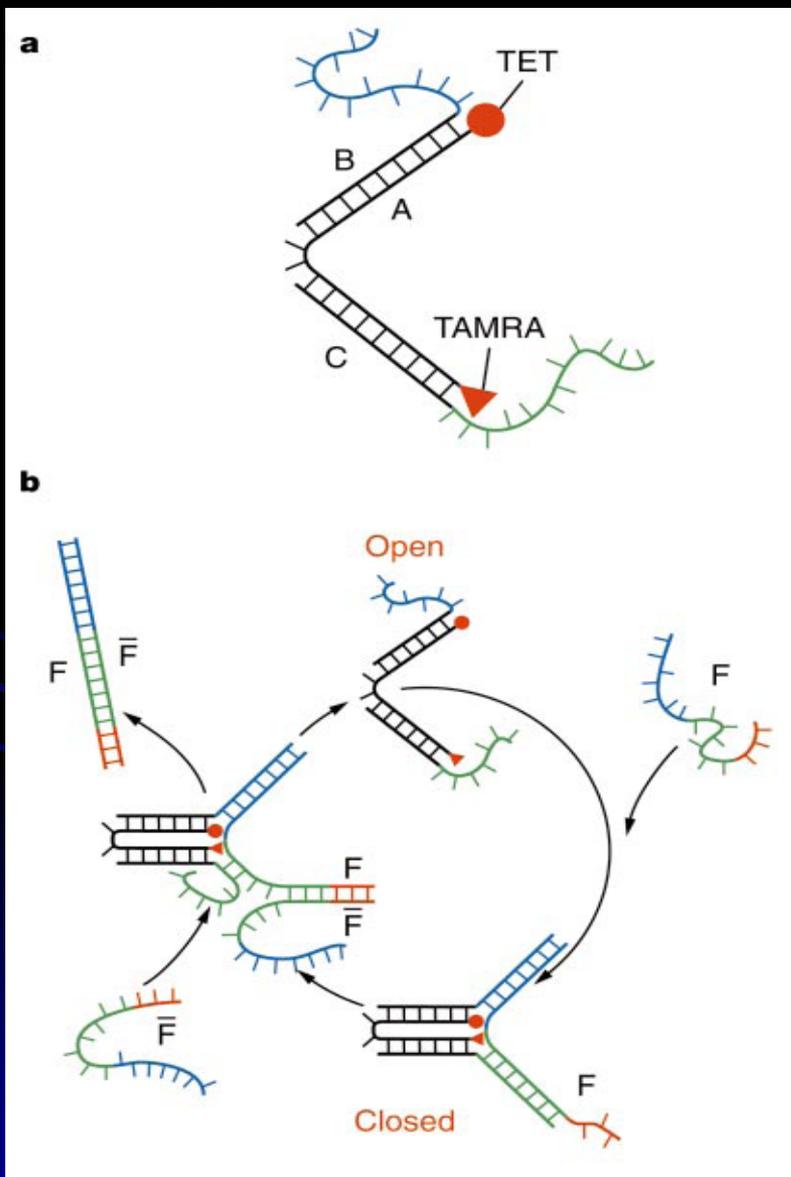


*Nature Nanotechnology* 3, 93 - 96 (2008)

# ДНК нанотехнология:

## 2.2. Реализация направленного движения.

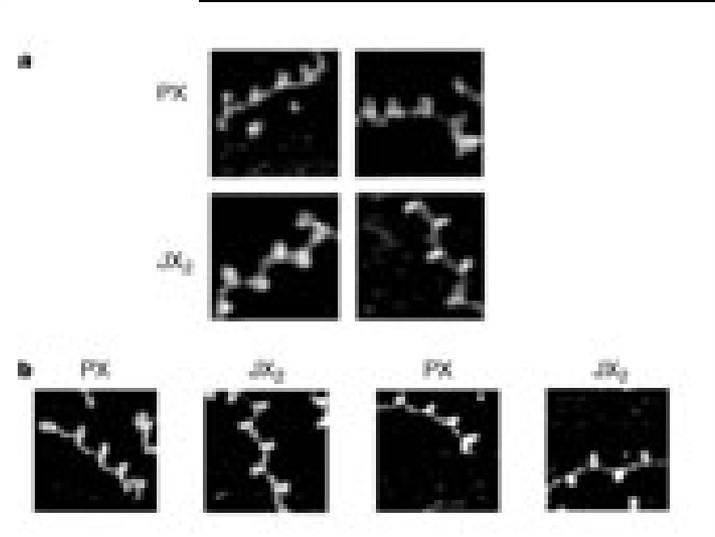
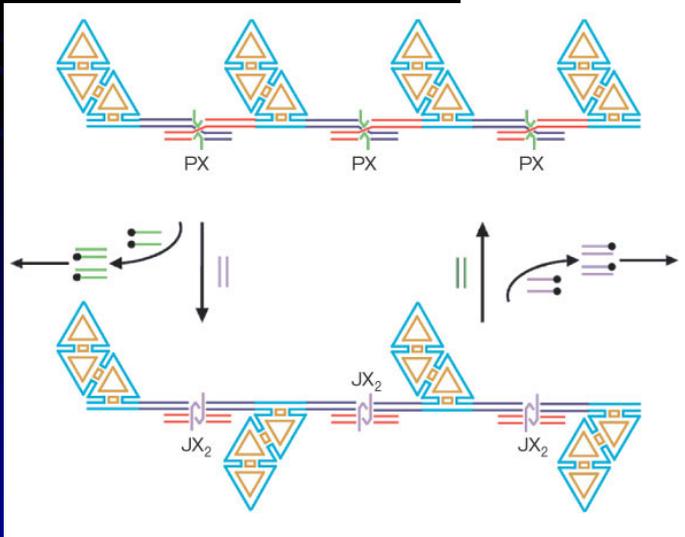
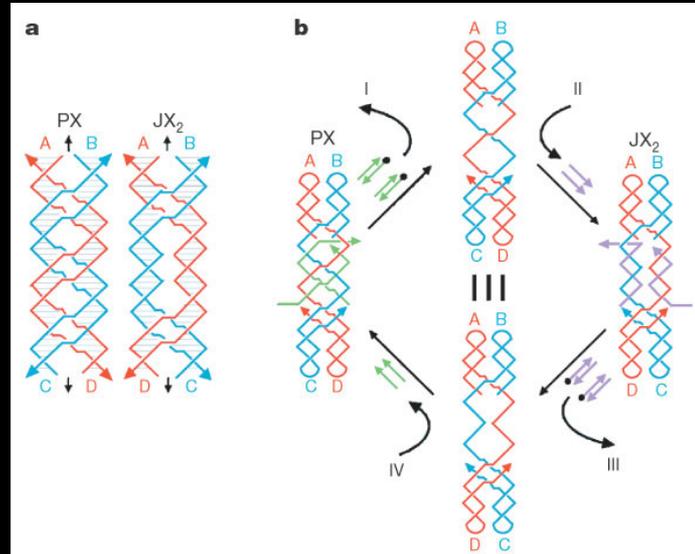
### «Пинцет»



# ДНК нанотехнология:

## 2.2. Реализация направленного движения.

### Механическое устройство, управляемое скрещиванием

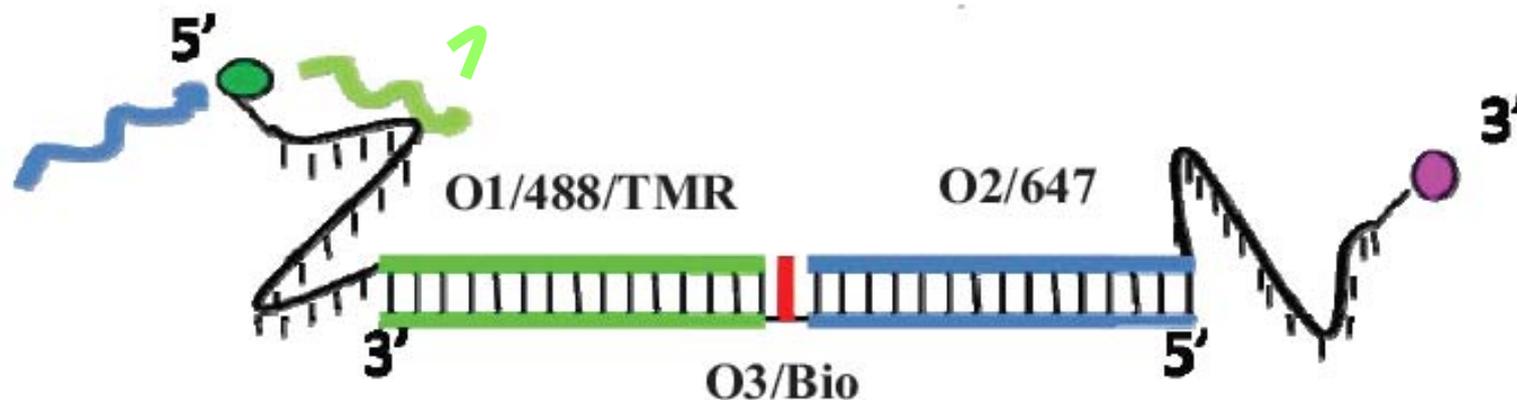


# ДНК нанотехнология:

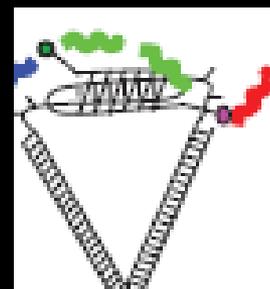
## 2.2. Реализация направленного движения: за счет изменения конформации под внешним воздействием (I-Switch )

Открытая конформация:

I-Switch



Закрытая конформация:

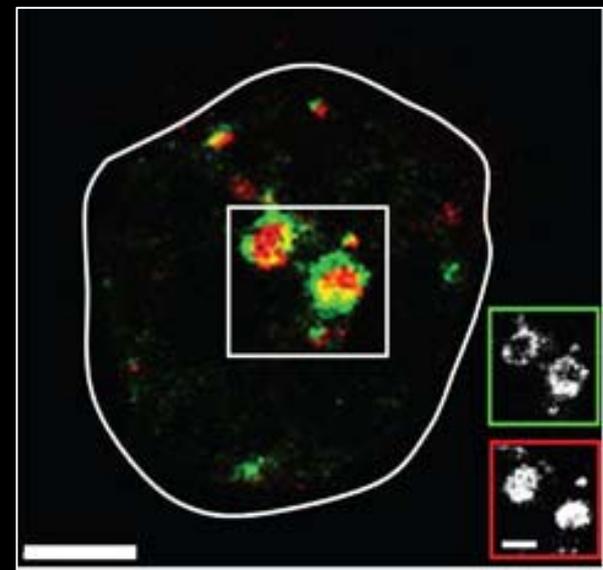
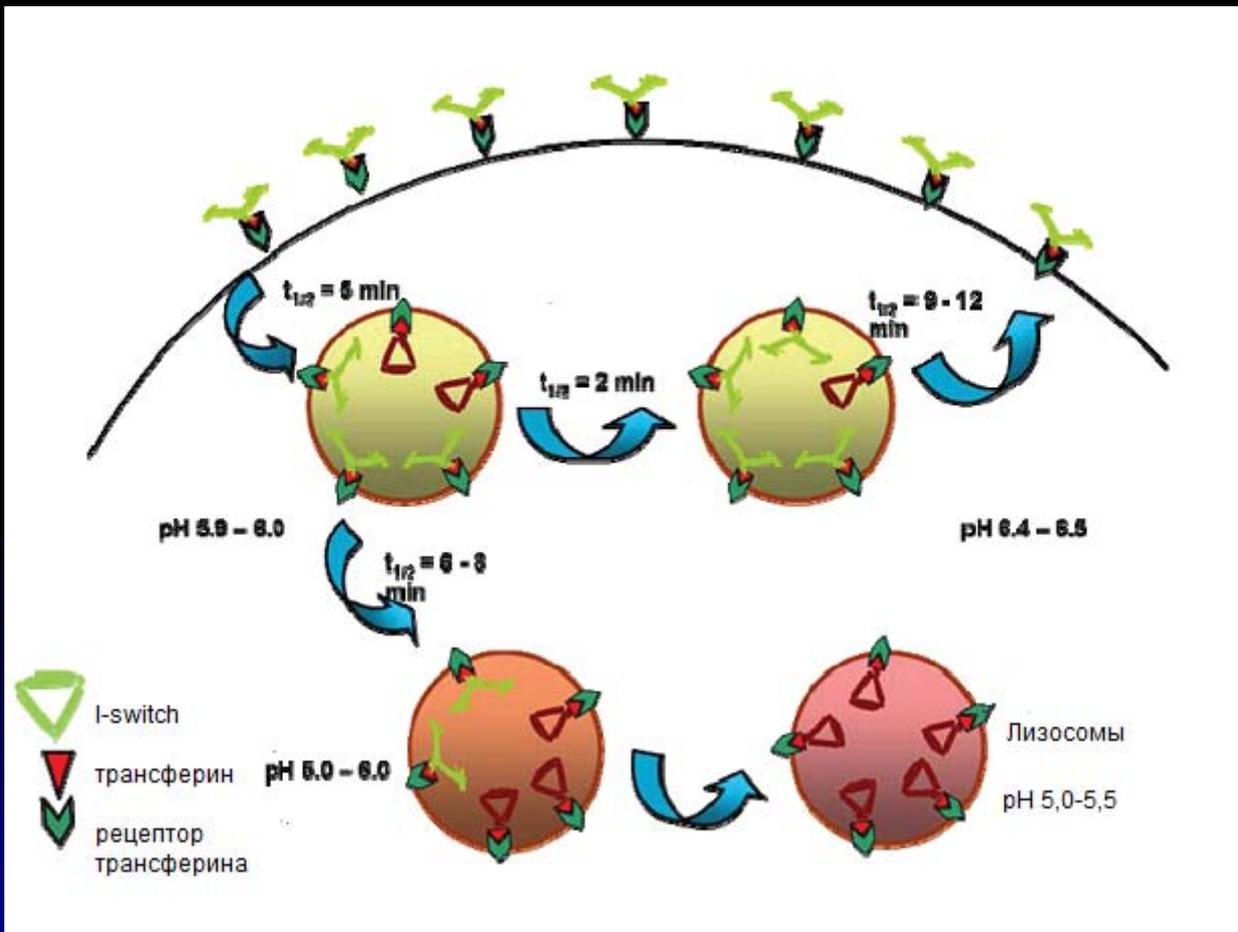


*Nature Nanotechnology* 4, 325 - 330 (2009)

# ДНК нанотехнология:

## 2.2. Реализация направленного движения:

за счет изменения конформации под внешним воздействием

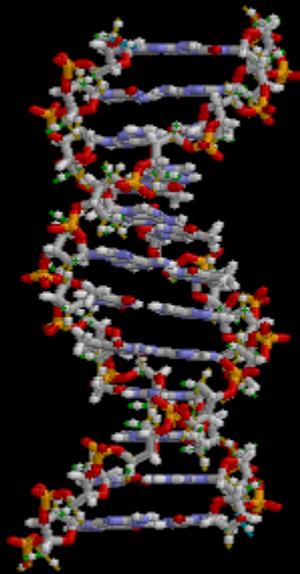


✓ Первый сенсор в живой клетке

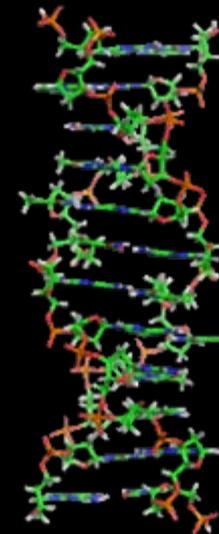
# ДНК нанотехнология:

## 2.2. Реализация направленного движения:

Движение за счет переключения между В и Z- формами ДНК



В- форма



Z- форма

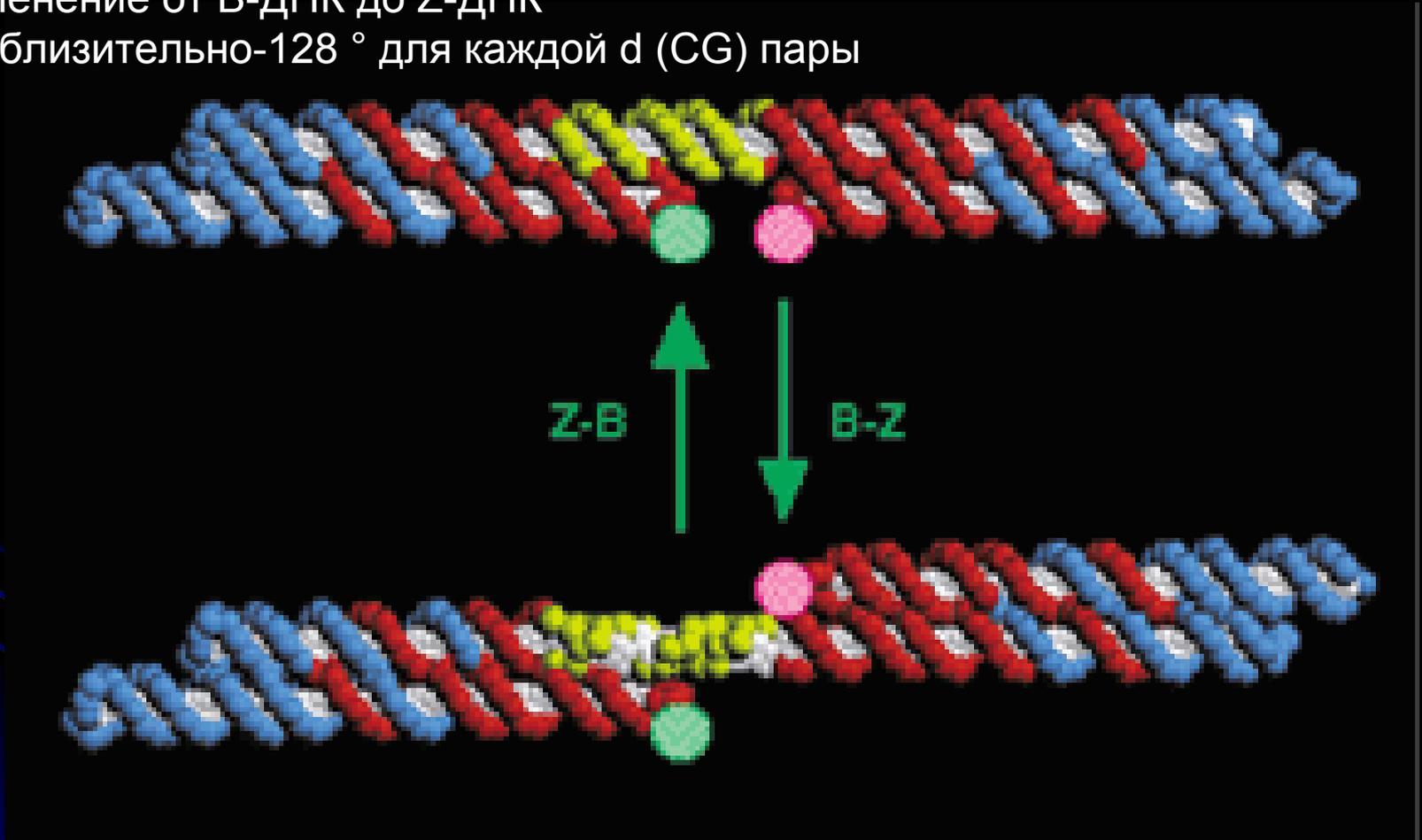
poly (dGC) 2  
37°C, и рН,  
низкая соль и  
5-CH3 cytosine

# ДНК нанотехнология:

## 2.2. Реализация направленного движения:

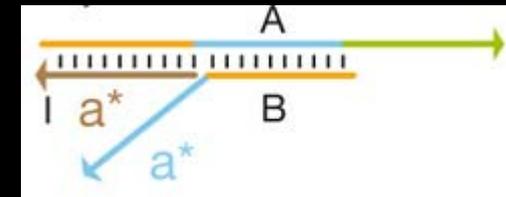
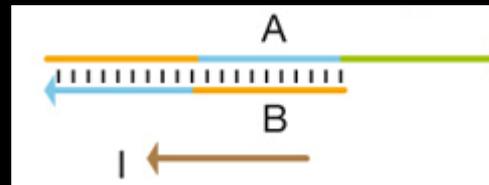
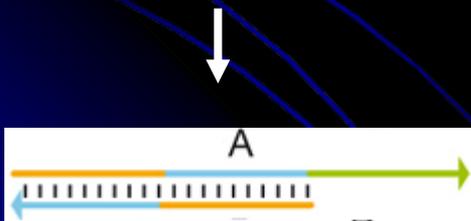
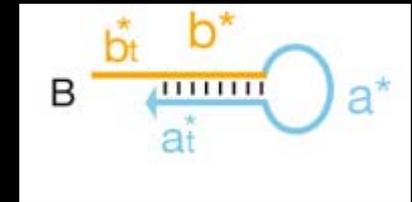
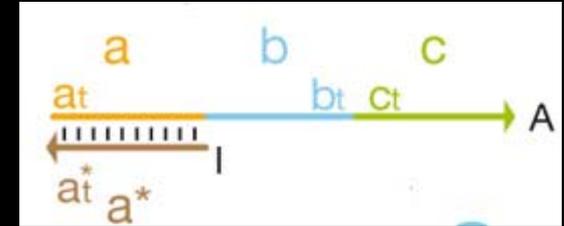
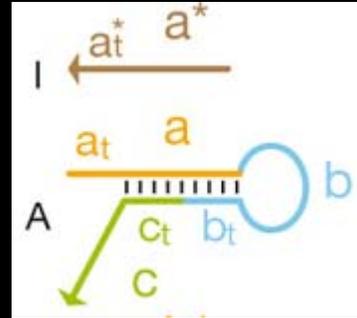
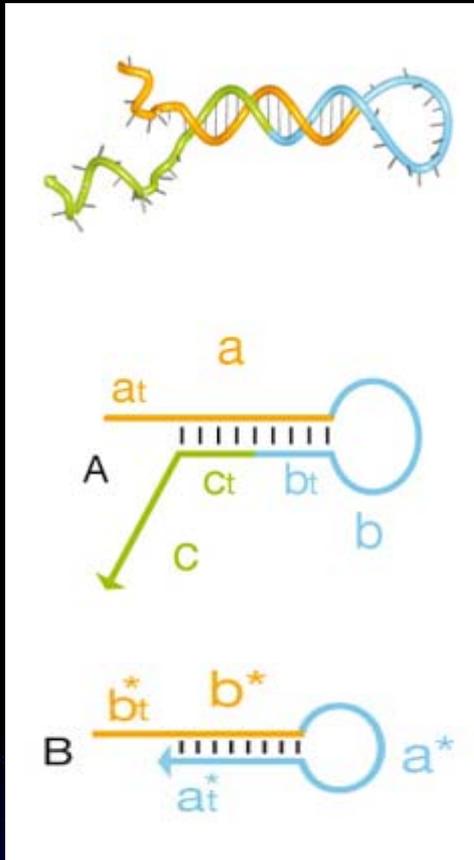
### Движение за счет переключения между В и Z- формами ДНК

Изменение от В-ДНК до Z-ДНК  
приблизительно- $128^\circ$  для каждой d (CG) пары



*Nature* 397, 144-146, 1999 «A nanomechanical device based on the B-Z transition of DNA», N C. Seeman & др.

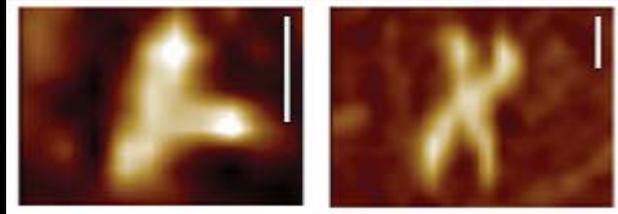
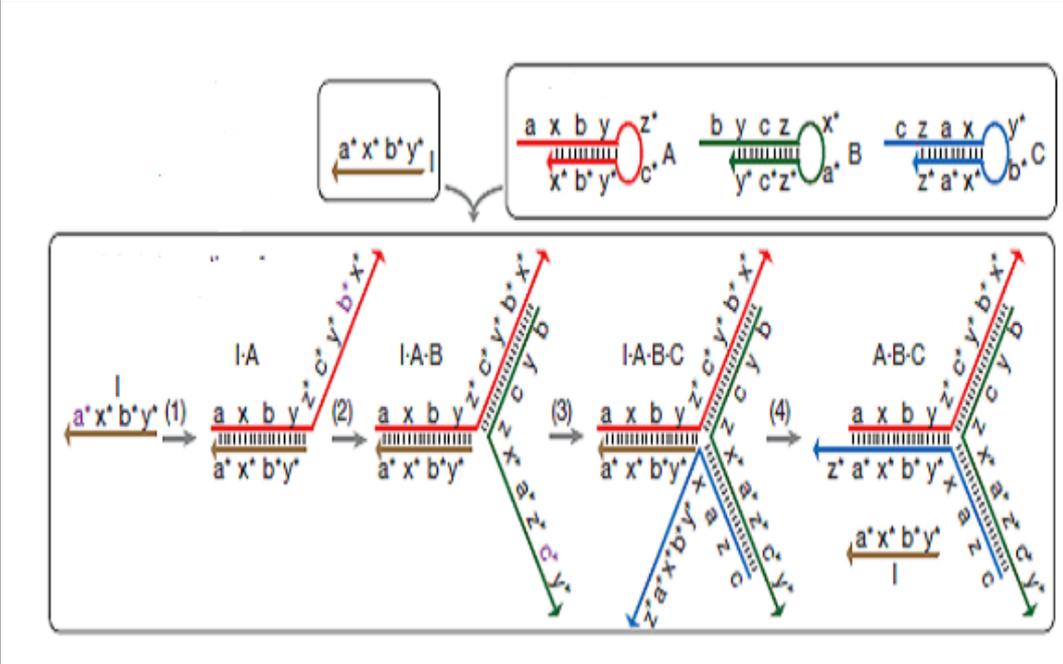
## 2.2. Реализация направленного движения: Программирование путей самосборки



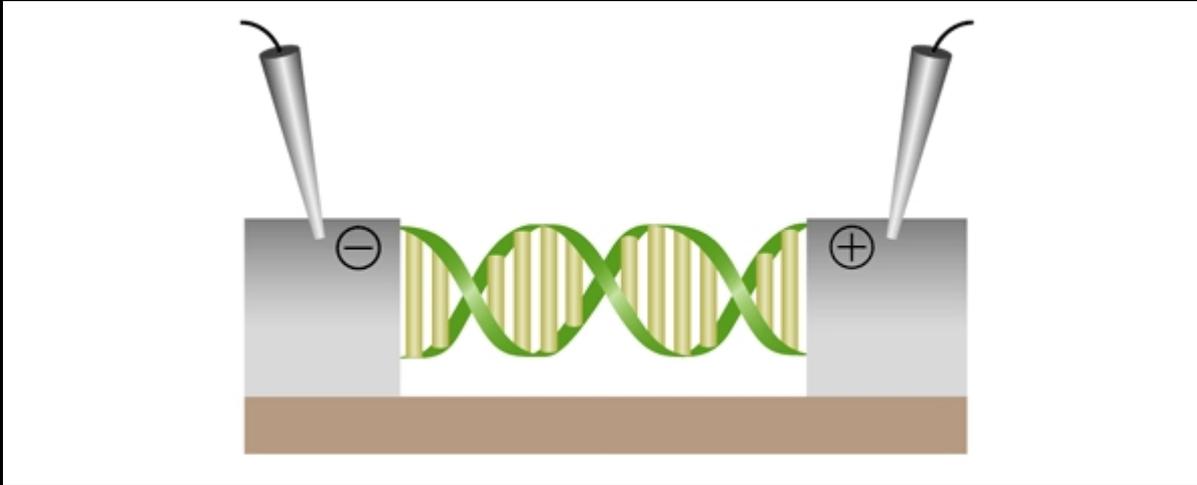
# Программирование геометрии: каталитическая самосборка разветвленных соединений с четырьмя руками и с тремя руками

➤ **Возможность проектировать системы, которые выполняют различные функции в разный момент времени без человеческого вмешательства!**

➤ **Возможность упорядочивать направления самосборки.**



## 2.3. ДНК электроника

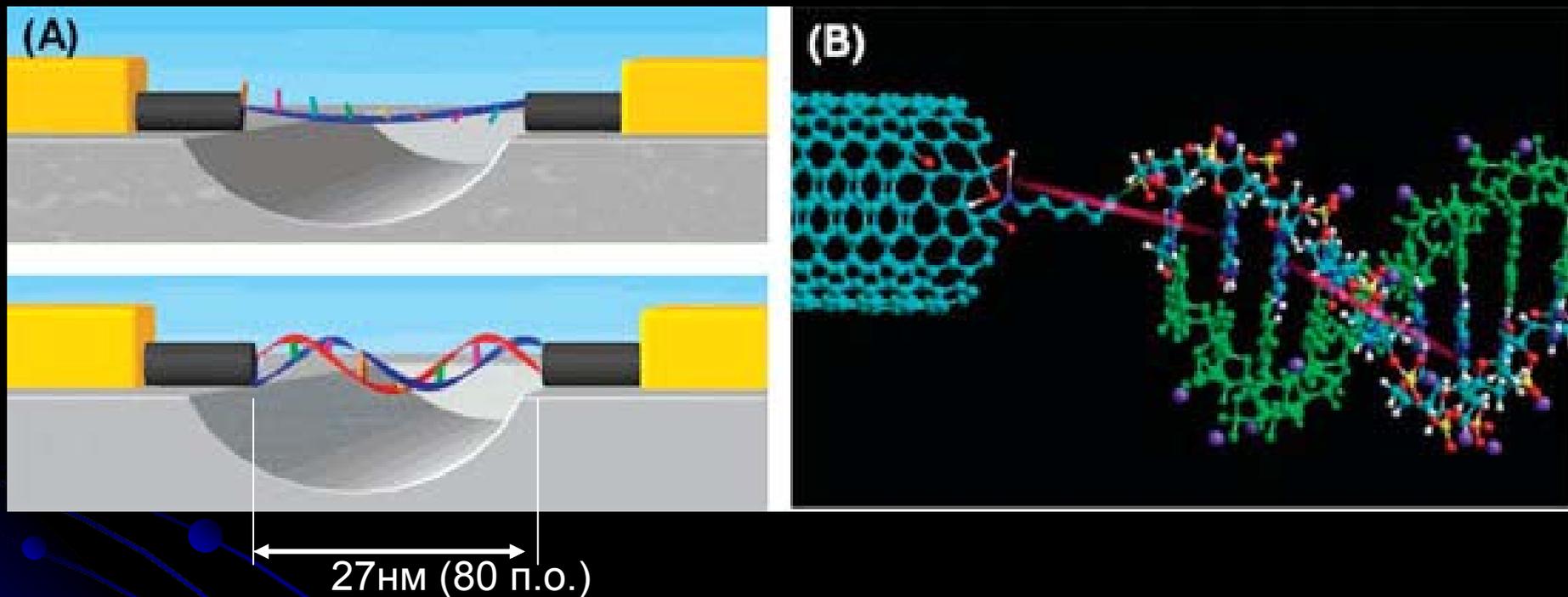


«Мир направляется к гибридной технологии, в которой транзистор будет сделан из молекул ДНК, которые связаны с углеродом нанотрубок, а другие части будут сделаны из кремния»

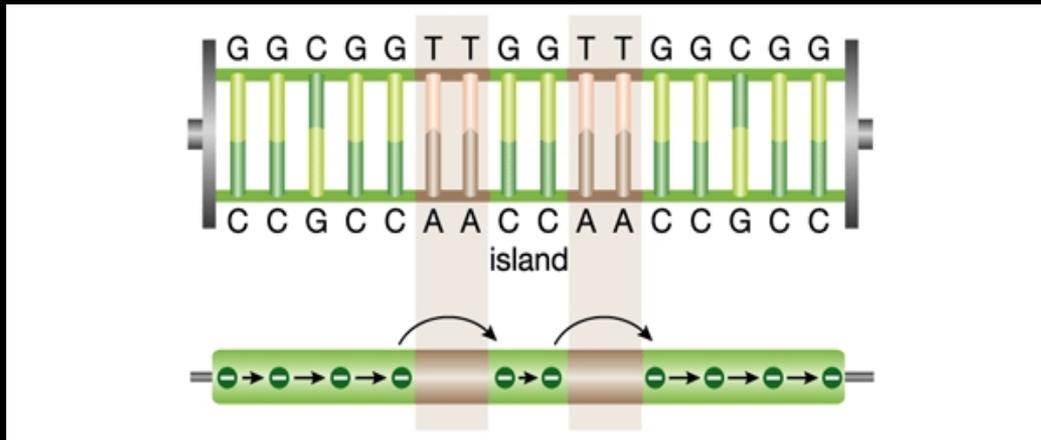
*EMBO Rep.* 2003 May; 4(5): 442–445.

*Книга: В.А. Карасев и В. В. Лучинин (каф. микроэлектроники СПбГЭТУ)  
"Введение в конструирование бионических наносистем",*

# Измерения проводимости индивидуальной ДНК



*Nano Lett.*, 2008, 8 (1), pp 26–30



ДНК действовала как изолятор,  
полупроводник,  
проводник

В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ, ДЛИНЫ И ОРИЕНТАЦИИ

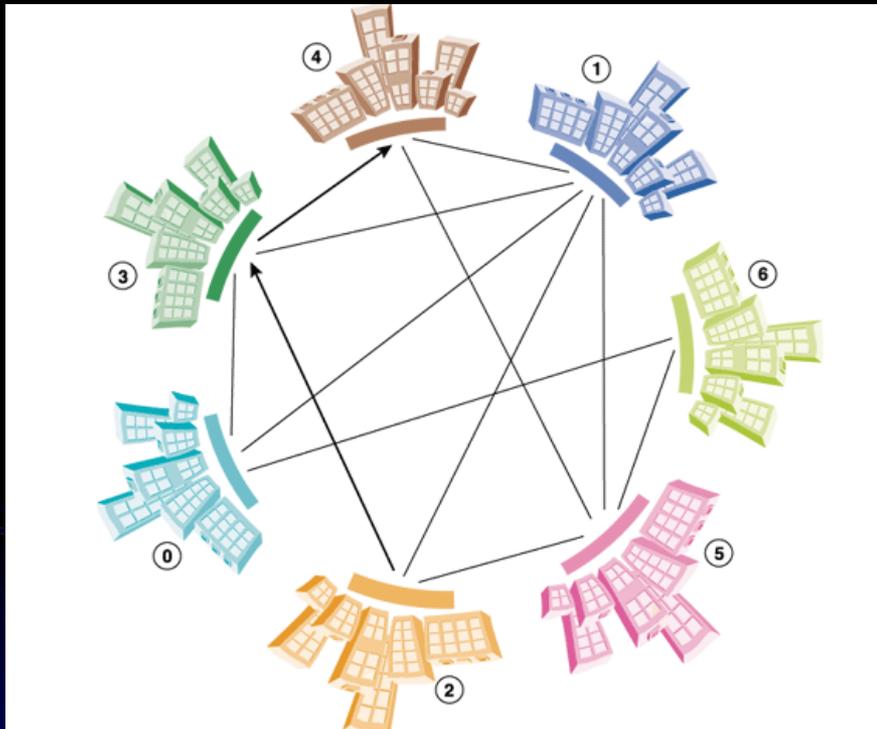
## 2.4. Вычисления на основе ДНК



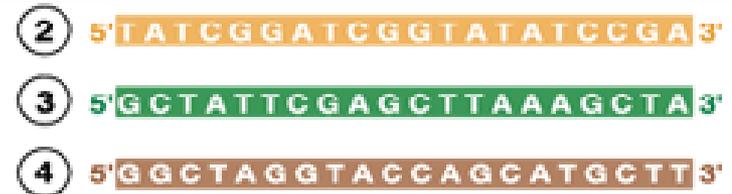
## 2.3. Вычисления на основе ДНК .

### Задача коммивояжера (Adleman (1994), Science 266 (11)) .

Нужно выбрать самый короткий путь и побывать в каждом городе только один раз.



1. Каждому городу присвоим уникальную последовательность ДНК



2. Каждому пути присвоим свою уникальную последовательность, объединяя последовательности городов:



3. Мгновенная генерация всех решений добавлением последовательностей комплементарных последовательностям городов

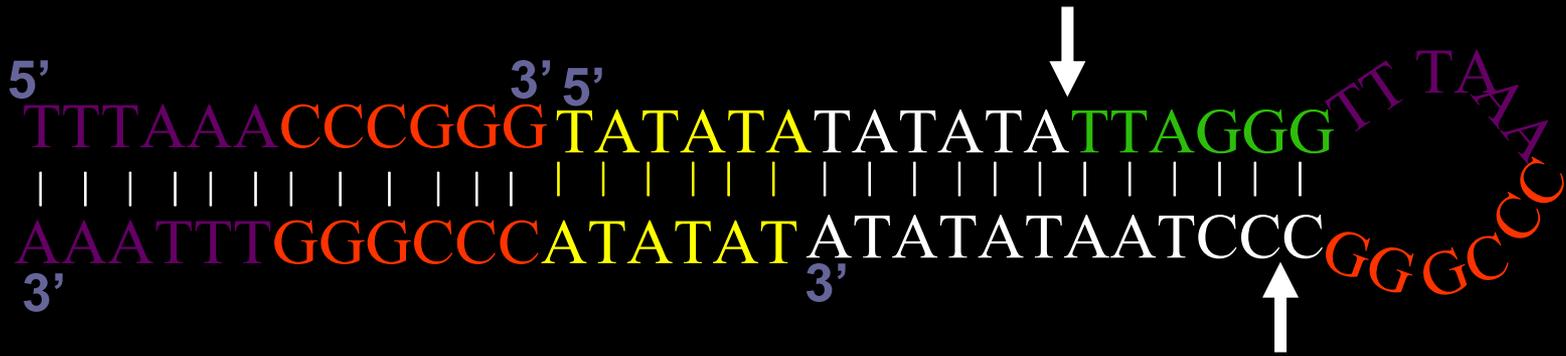


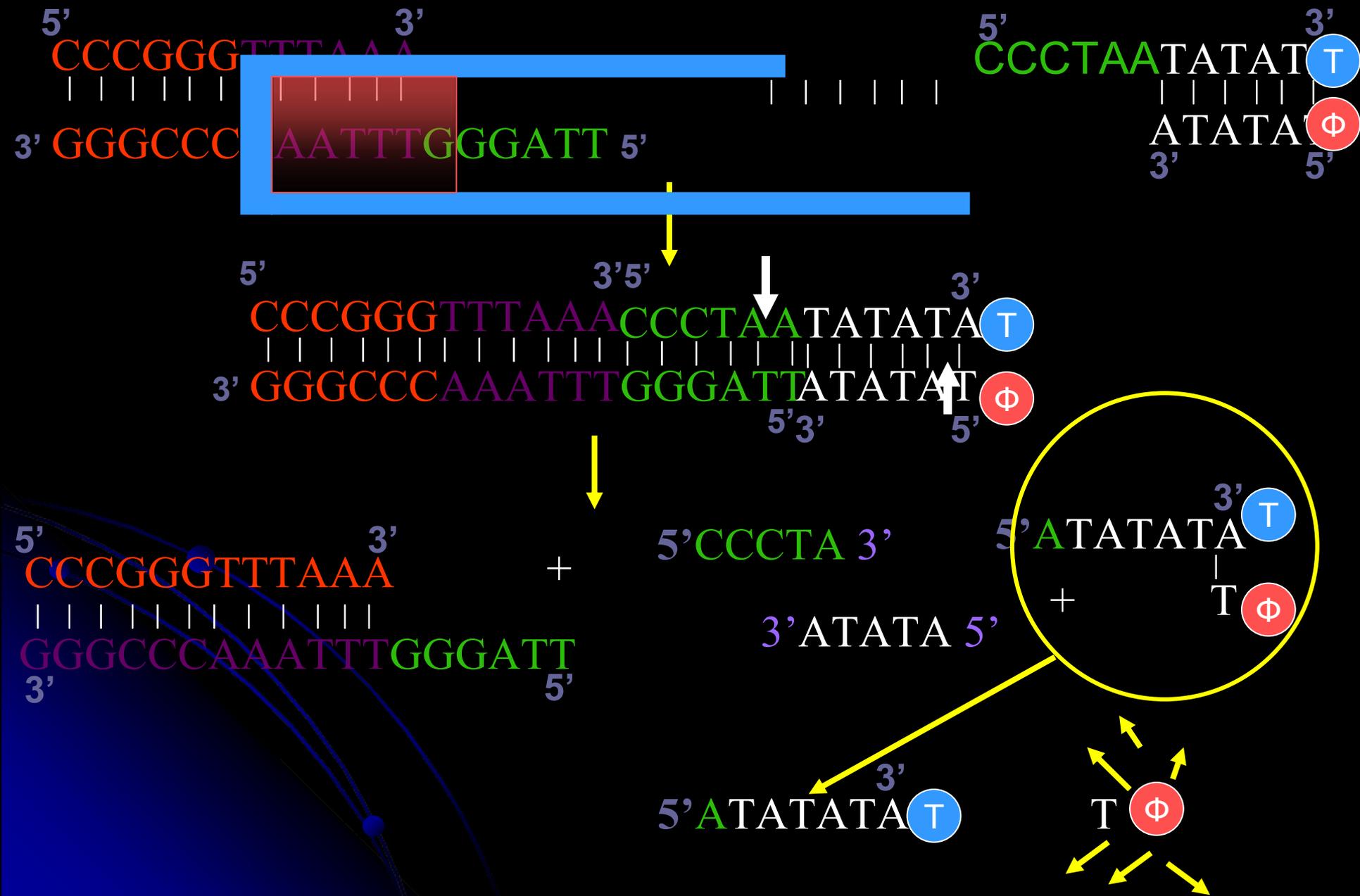
4. Отбор правильного решения (минимальная длина и содержит все последовательности городов) (физическими методами)

“Эти компьютеры не будут конкурировать с вычислением на основе кремния с точки зрения скорости. Их преимущество состоит в том, что они могут использоваться в жидкостях, таких как образец крови или в теле, и принимать решения на уровне единственной клетки.”



1. Сократ человек? Проверка:



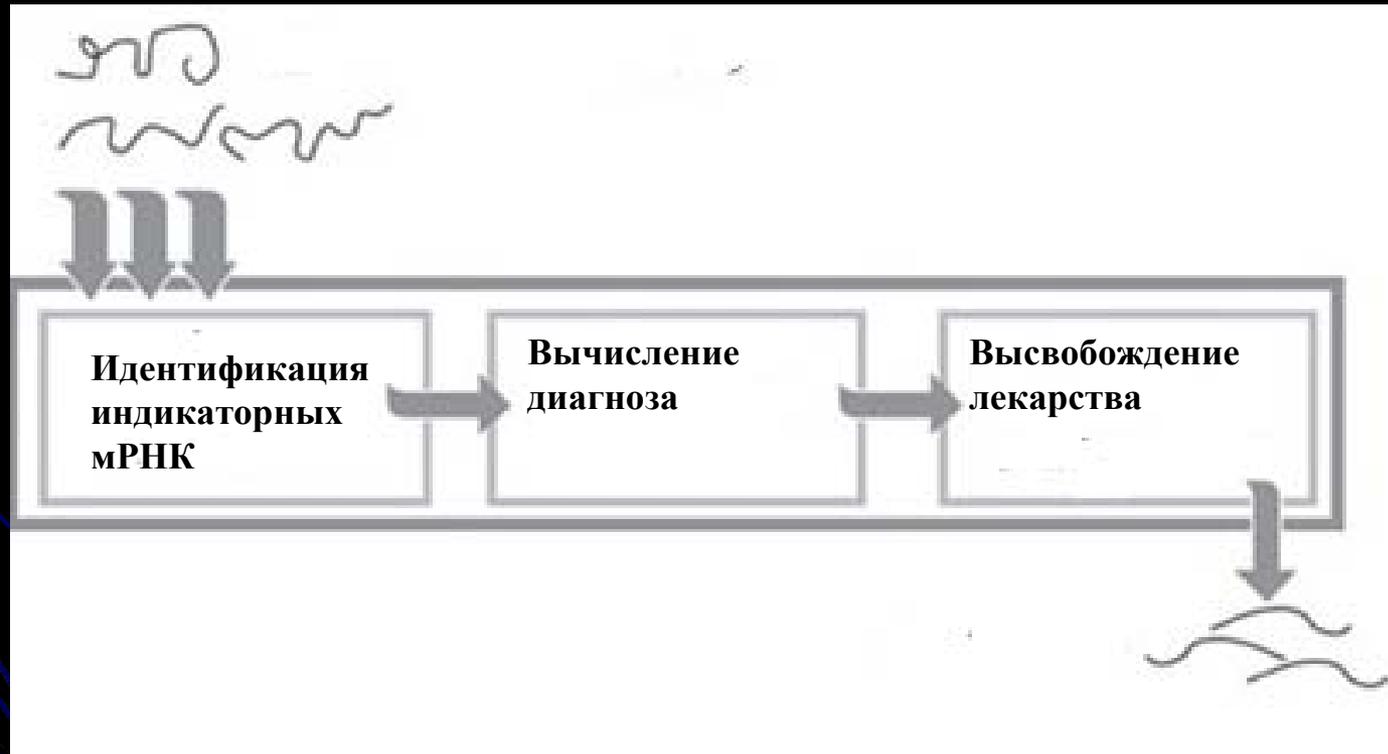


## 2.3. Вычисления на основе ДНК

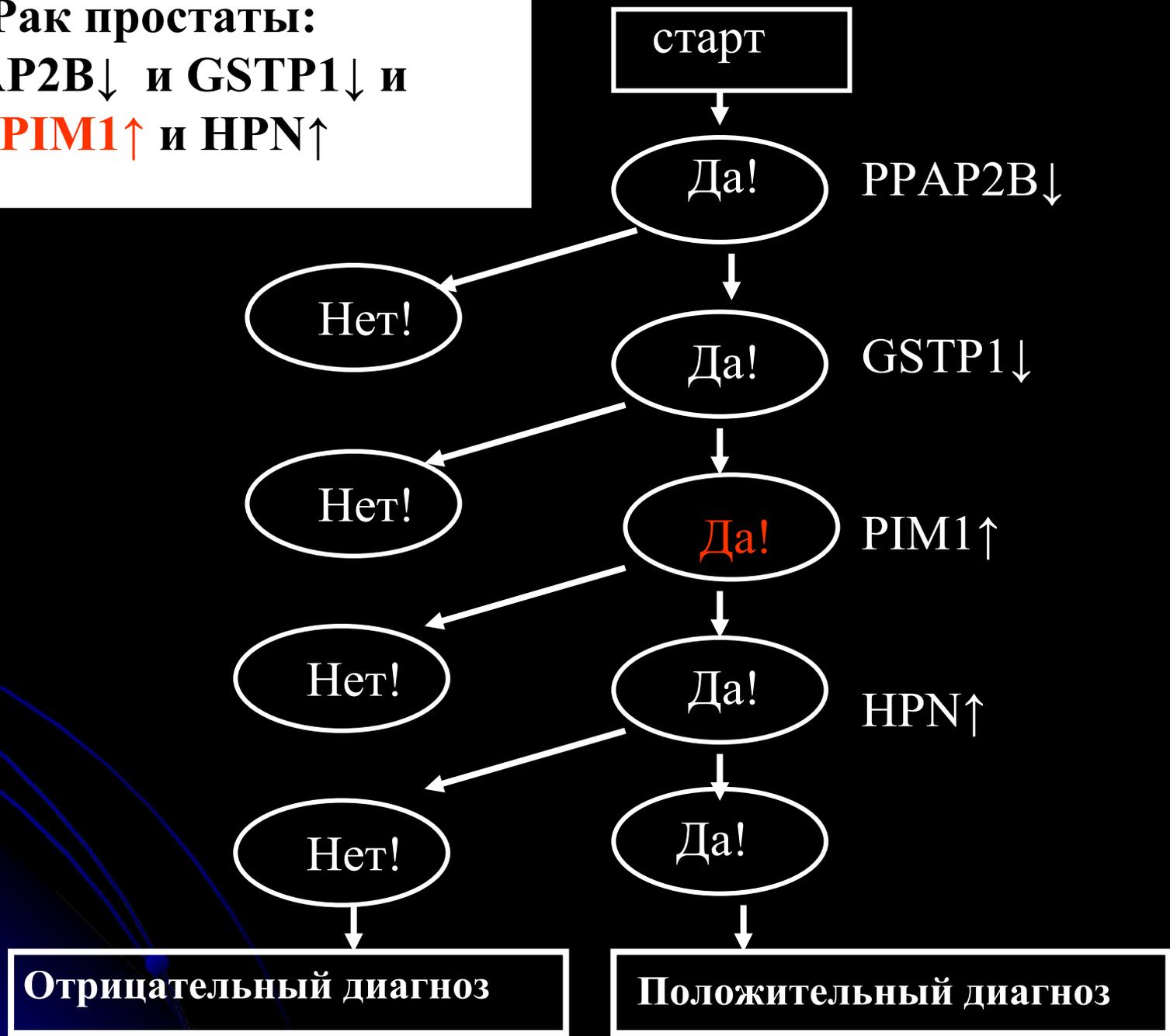
### Пример применения:

Автономный молекулярный компьютер  
для логического контроля экспрессии генов

мРНК,  
изменяющиеся при  
болезни

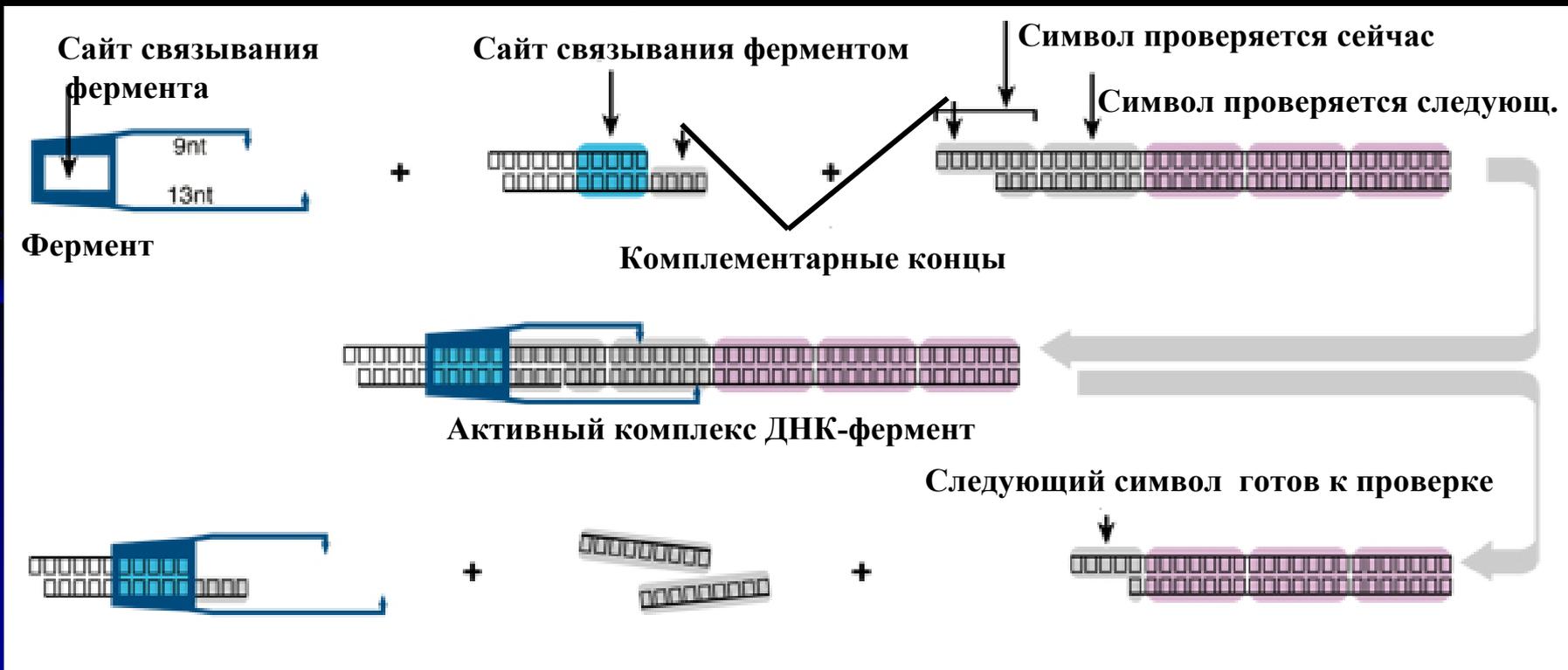
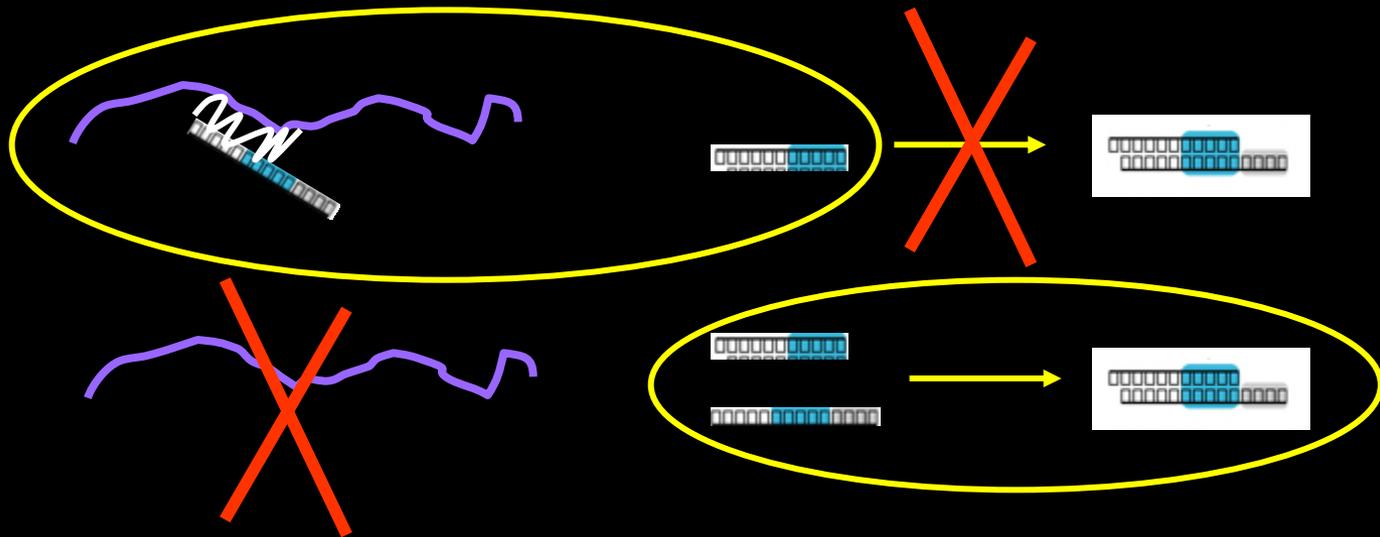


**Рак простаты:**  
**PPAP2B↓ и GSTP1↓ и**  
**PIM1↑ и HPN↑**

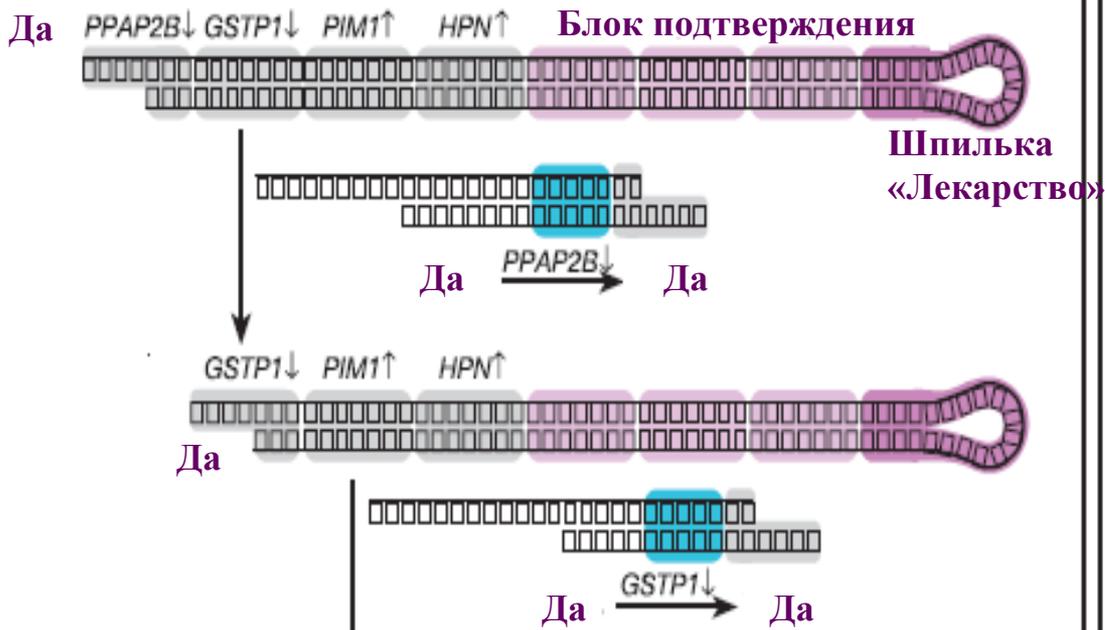


PPAP2B

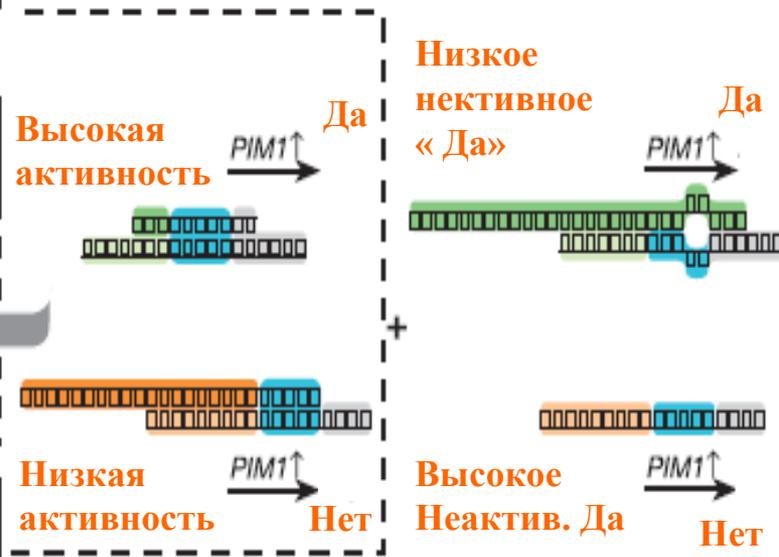
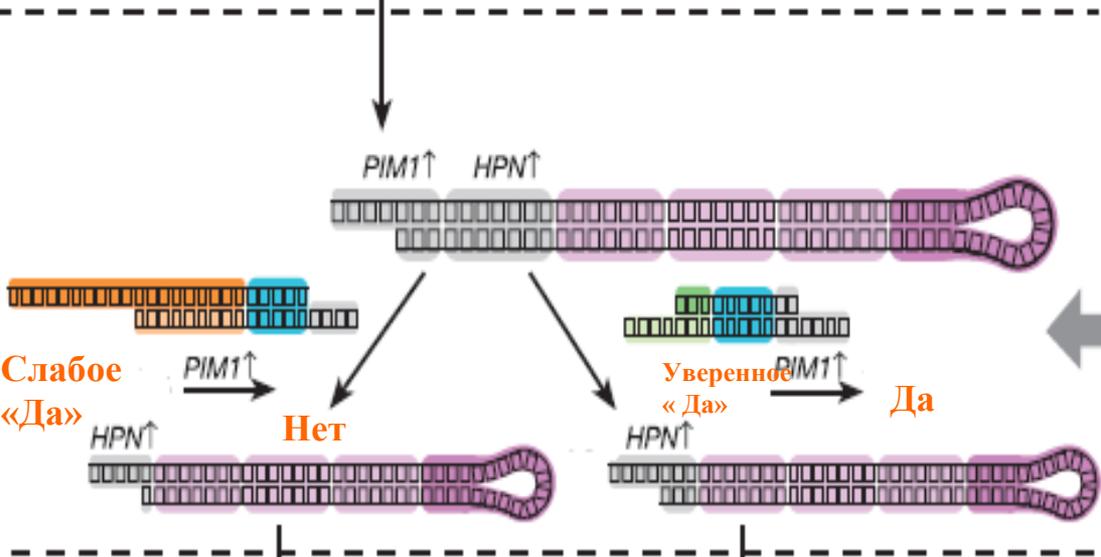
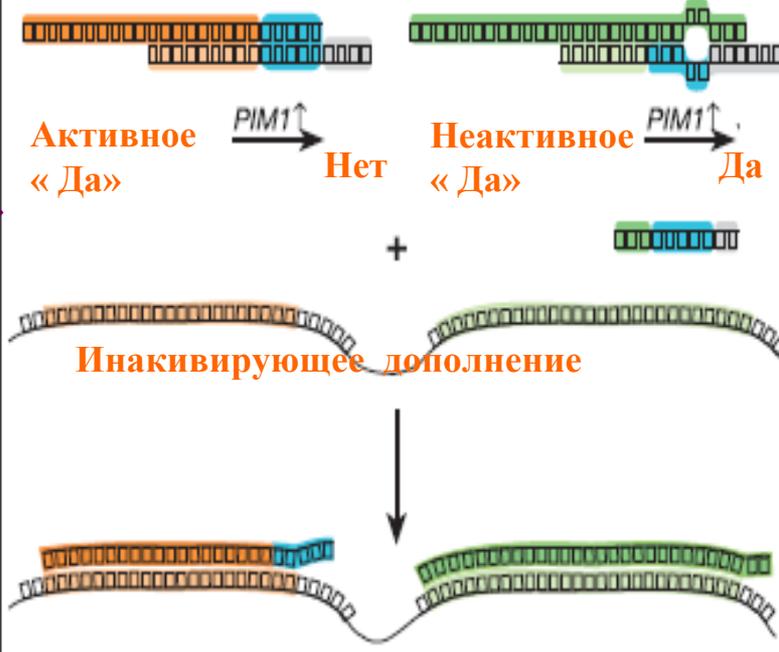
PPAP2B↓

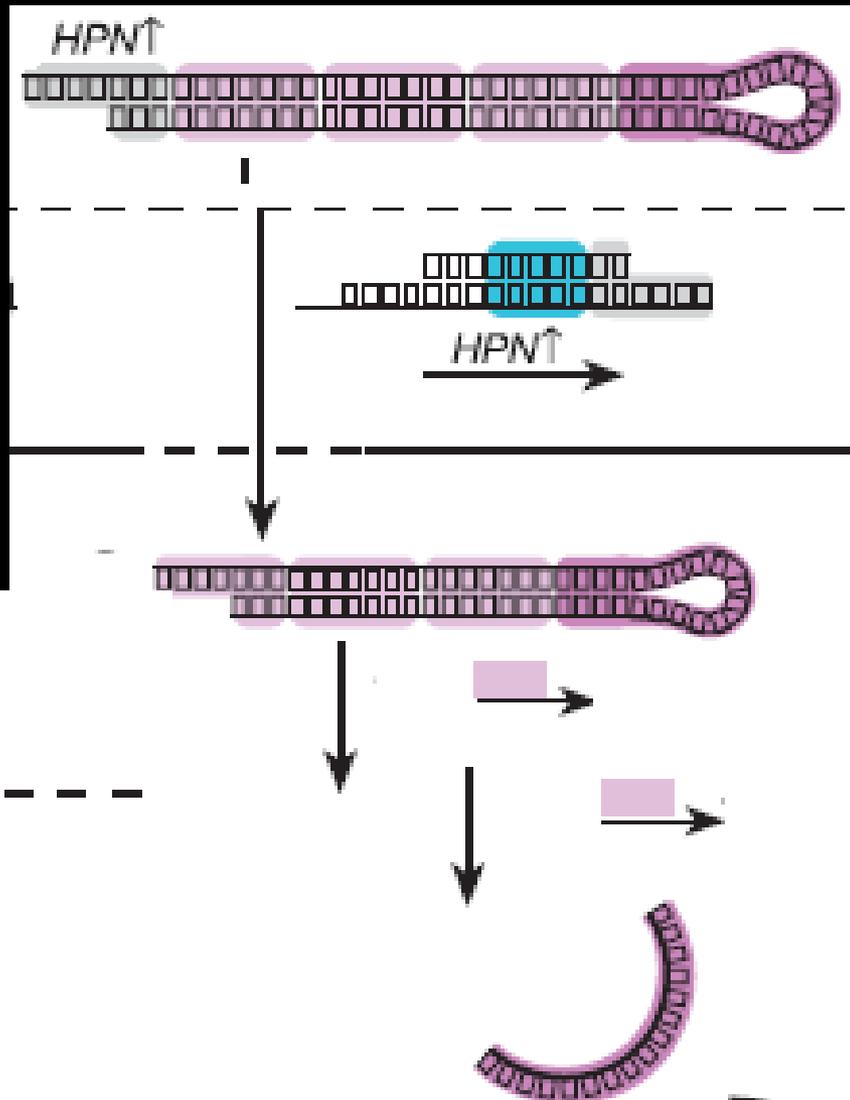


# Блок логического анализа индикаторов болезни

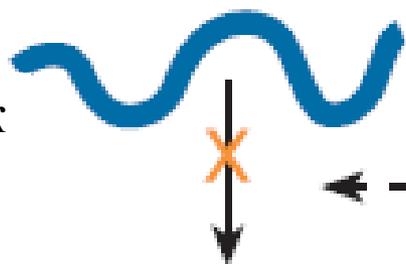


# Блок ввода внешних данных: регулируется количеством мРНК





MDM2 мРНК



MDM2 белок



## Подведение итогов: Что можно сделать и как использовать?

- **основа новых материалов и механизмов наноразмеров**
  - **Направленно создать любую трехмерную структуру или поверхность**
  - **Реализовать движение**
  - **Использовать как маршрутизатор: для программируемого направления самосборки наноструктур**
  - **Использовать сортировщиком : для загрузки и разгрузки транспортируемых наночастиц**
  
- **основа вычислений и диагностикумов:**
  - **Параллельные вычисления**
  - **Тестирование одновременно нескольких параметров в биологических жидкостях на основе сборки участка узнавания эндонуклеазы рестрикции или ДНК с каталитической функцией**
  - **Лекарства : может быть запрограммировано высвобождение, как ответ на суперэкспрессию различных мРНК**

Спасибо!

