

# Origami de DNA: uma nanotecnologia baseada em ácidos nucleicos




**Yasmin de Araújo Ribeiro<sup>1,2</sup>, Vitor Nolasco de Moraes<sup>1,2</sup>, Danyl Fernandes Contiliani<sup>1,2</sup>, Tiago Campos Pereira<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Depto de Biologia, FFCLRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP

<sup>2</sup> Programa de Pós-Graduação em Genética, FMRP, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP

Autor para correspondência - tiagocampospereira@ffclrp.usp.br

**Palavras-chave:** nanotecnologia, robô molecular, cristal, motor, engrenagem, dobradura



O material genético carrega informações fundamentais para o desenvolvimento de todos os organismos, dos mais simples aos mais complexos. Durante muito tempo, o DNA foi visto apenas como o elemento detentor de informações essenciais para a célula. Contudo, recentemente, pesquisas inovadoras têm usado o DNA como uma molécula estrutural, como um tijolo molecular muito versátil. Nesse sentido, a tradicional e secular arte japonesa de dobrar o papel, o *origami*, inspirou uma nova nanotecnologia denominada origami de DNA. Nesta abordagem, os cientistas propõem dobraduras de DNA, formando diversas estruturas moleculares e abrindo portas para aplicações terapêuticas, na indústria de nanomateriais, no desenvolvimento da ciência básica e em muitas outras áreas.

## NANOTECNOLOGIA E A CRIAÇÃO DE NANOESTRUTURAS

**Escala nanométrica:** grandeza referente à bilionésima parte de um metro ( $10^{-9}$  m).

**Nanômetro:** a bilionésima parte do metro.

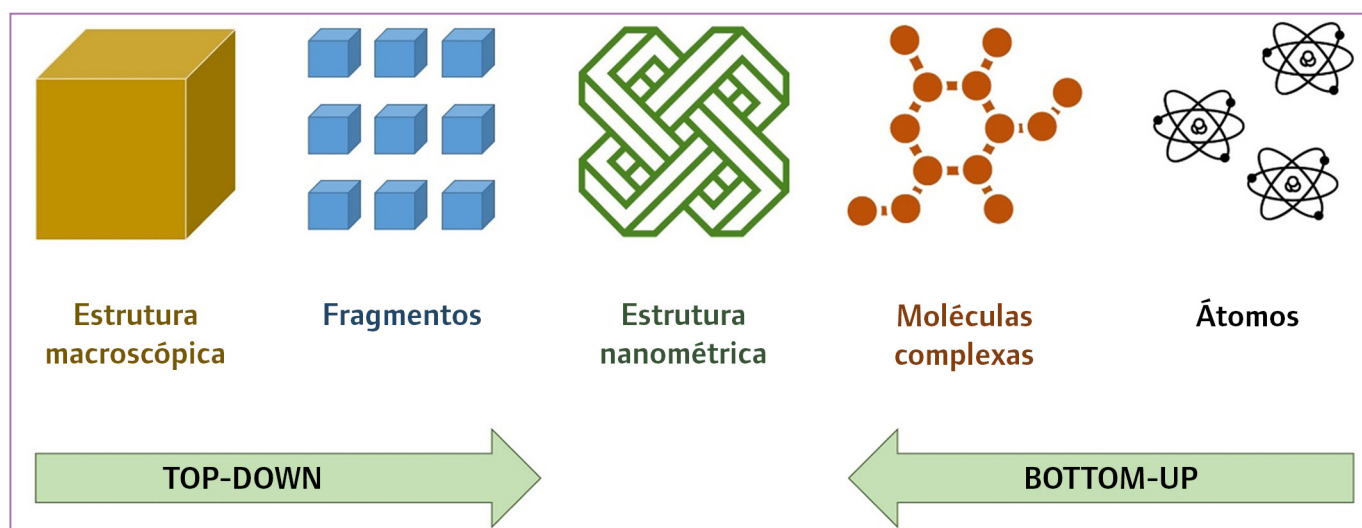
**Informação atômica e molecular:** aspecto físico-químico da interação entre átomos de uma molécula e/ou entre moléculas.

A nanotecnologia é uma área que busca compreender, controlar e utilizar as propriedades da matéria em **escalas nanométricas**, com potencial de aplicação em diversas áreas, como na física, química, biologia, ciências de materiais e engenharias, entre outras. Ela envolve manipulações de estruturas invisíveis a olho nu, de modo que os profissionais de nanotecnologia devem dominar habilidades para controlar átomos e moléculas com o auxílio de técnicas e equipamentos especiais, assim como a **microscopia de alta resolução**.

Atualmente, as tecnologias envolvendo objetos em escalas nanométricas estão recebendo muita atenção, uma vez que instrumentos e equipamentos nanoscópicos demandariam muito menos energia e seriam mais eficientes do que seus equivalentes milimétricos ou centimétricos, pois estes últimos são maiores. Curiosamente, a fabricação de estruturas nanométricas pode ser baseada em dois métodos distintos: o *top-down* e o *bottom-up* (Figura 1). O método *top-down* (de cima para baixo) parte de estruturas macroscópicas (visíveis a olho nu), reduzindo-as a dimensões nanométricas e moldando-as em padrões de interesse. Por outro lado, o método *bottom-up* (de baixo para cima) parte de elementos subnanométricos, utilizando **informações atômicas e moleculares** para desenvolver a **automontagem de nanoestruturas**.

**Microscopia de alta resolução:** modo de aquisição de imagens do microscópio eletrônico de transmissão, permite a obtenção de imagem da estrutura cristalográfica de uma amostra em escala atômica.

**Automontagem de nanoestruturas:** fenômeno no qual os componentes de um sistema se agrupam espontânea, autônoma e ordenadamente, formando uma unidade funcional maior.



**Figura 1.** Principais métodos de fabricação de nanoestruturas: *top-down* e *bottom-up*. Figura: Tiago Campos Pereira, com elementos da *Noun Project* (nanoestrutura, Simon Martin; molécula, ProSymbols; átomo, Arif Fajar Yulianto).

Por meio da automontagem molecular já foram produzidas diversas estruturas simetricamente organizadas. Entretanto, o desafio de se construir estruturas que extrapolem os padrões de simetria, com formato livre, por exemplo, e que mantenham suas funcionalidades, ainda persiste. Desse modo, a utilização do DNA para a construção de estruturas mostrou-se uma boa alternativa para as nanociências, devido às suas seguin-

**Estabilidade química:** refere-se à **estabilidade termodinâmica** de um sistema químico. Um estado A é dito mais estável termodinamicamente do que o estado B se a energia de Gibbs (ou entalpia livre) da reação que transforma A em B é positiva.

**Estabilidade termodinâmica:** capacidade de manter a estrutura tridimensional ou função biológica, mesmo sob altas temperaturas.

tes características: (i) estrutura bem caracterizada; (ii) **alta especificidade das interações intermoleculares**; (iii) **estabilidade termodinâmica** e (iv) **estrutura maleável**.

Adicionalmente, a possibilidade de se sintetizar cadeias de DNA com quaisquer sequências nucleotídicas viabiliza a formação de uma grande variedade de padrões geométricos, uma vez que tais características permitem interações moleculares previsíveis, programáveis e aplicáveis em diversos processos, sob variadas condições, e têm entusiasmado os profissionais de várias áreas.

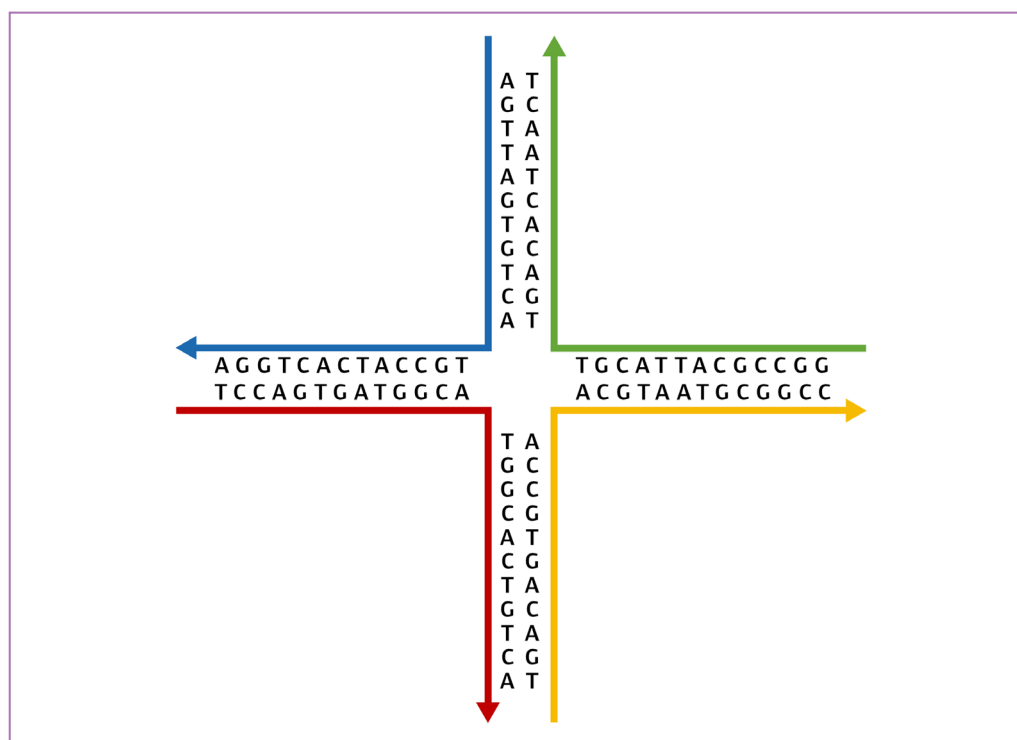
**Alta especificidade das interações intermoleculares:** por meio de ligações de hidrogênio, ocorre o emparelhamento preciso entre bases (adenina e timina; guanina e citosina).

**Estrutura maleável:** estrutura facilmente deformável; flexível.

## HISTÓRICO DA NANOTECNOLOGIA DE DNA

Nos anos 1980, iniciou-se a produção sintética de estruturas formadas pelo emparelhamento de bases complementares (Watson-Crick) entre cadeias de DNA, permitindo a criação de estruturas imóveis chamadas **junções de Holliday** (Figura 2). A partir deste avanço, foram criados diversos desenhos de estruturas complexas de DNA.

**Junções de Holliday:** arranjo envolvendo quatro cadeias de DNA, similar a uma cruz, de modo que estas são móveis.



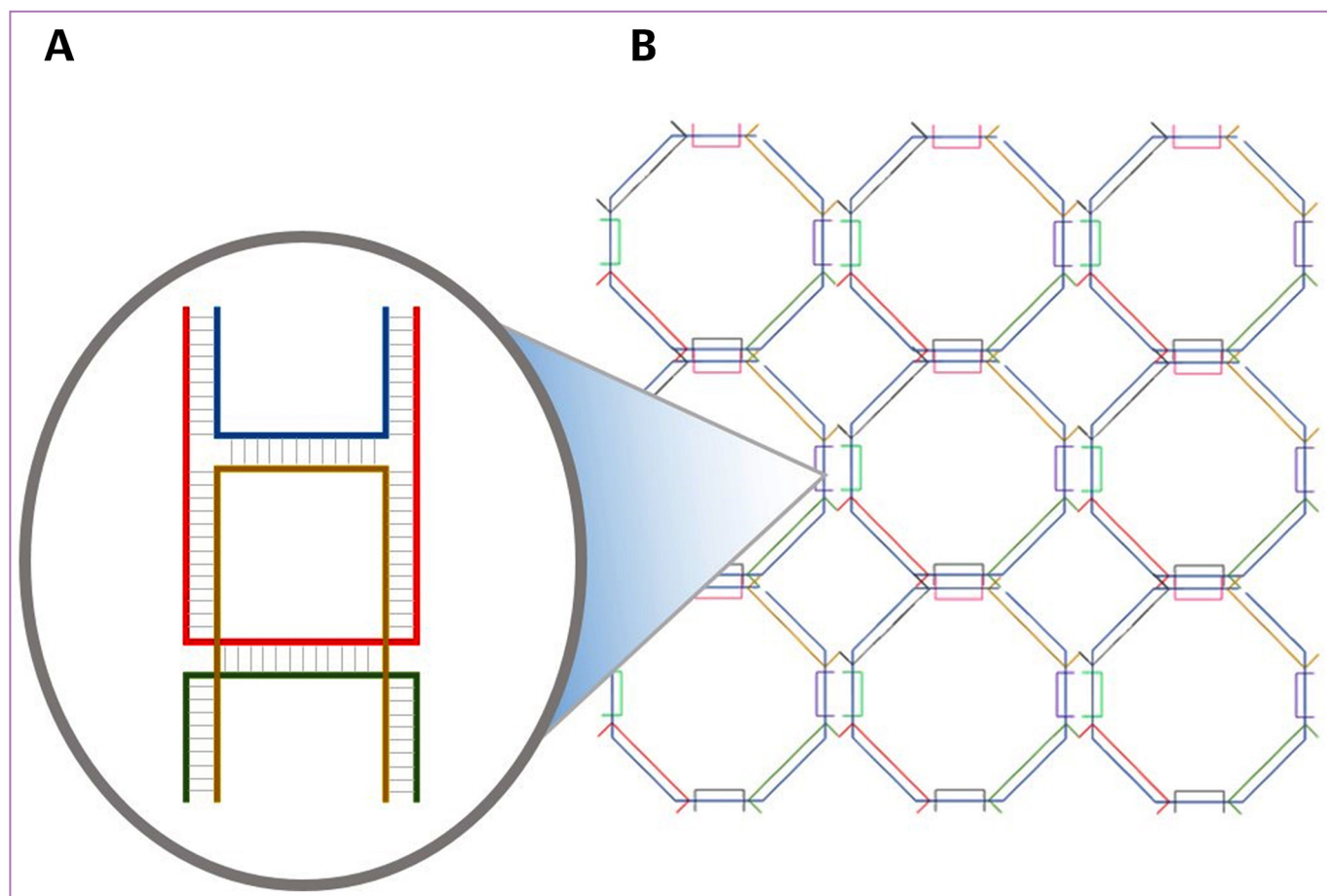
**Figura 2.** Junções de Holliday representadas por braços de DNA (setas coloridas), interligados por meio do emparelhamento de bases nucleotídicas. Legenda: A – Adenina; T – Timina; C – Citosina; G – Guanina.

Na década seguinte, a partir das junções de Holliday, as pesquisas deram um passo à frente ao possibilitar a construção de cubos de DNA (elementos tridimensionais – 3D) e de moléculas de cruzamento

duplo (moléculas DX) (*double-crossover molecules*) (Figura 3a). As moléculas DX são o resultado de interações estáveis entre duas dupla-hélices de DNA com trocas de cadeias – um processo em que uma cadeia

é iniciada em uma dupla-hélice e, em seguida, direcionada para outra. Devido à rigidez e estabilidade geométricas conferidas pelas moléculas DX, estruturas extensas de

DNA podem ser geradas, as quais servem como elementos básicos da construção – conhecidos como azulejos de DNA (*DNA tiles*) (Figura 3b).



**Extremidade coesiva:**

refere-se à região final de um DNA de dupla-fita, a qual apresenta um pequeno número de nucleotídeos em cadeia simples, sem pareamento. Estes, por sua vez, são capazes de se associar, por ligações de hidrogênio, a outra fita simples cuja sequência de bases seja complementar.

**Cristal bidimensional:**

estrutura com altura e largura, sem profundidade. É a base da tecnologia do origami de DNA.

**Síntese de DNA**

**automatizada:** produção, em laboratório, de fragmentos de ácidos nucleicos por meio de equipamentos especiais (sintetizadores de DNA).

Curiosamente, os azulejos de DNA possuem estruturas que resultam em **extremidades coesivas** (Figura 4a). Devido à natureza molecular dessas extremidades, e considerando o emparelhamento de Watson-Crick, outras moléculas complementares podem ser incorporadas nessas regiões, permitindo a montagem autônoma dessas estruturas em **cristais bidimensionais** (2D) – estrutura base para criação de outras. Adicionalmente, a ancoragem de estruturas em **grampos** (*DNA hairpin*) (Figura 4b) ao plano de montagem de azulejos de DNA permite o desenho de estruturas com formas geométricas ainda mais diversificadas.

Quase vinte anos depois, em 1999, foi construído o primeiro protótipo de um dispositivo nanomecânico de DNA, totalmente composto por moléculas DX. Tal avanço, junto a outros modelos criados na década de 1990 e à **síntese de DNA automatizada**, mostraram que estruturas de DNA podem ser

**Figura 3.**

**Moléculas de cruzamento duplo (moléculas DX).**

**A)** Estruturas padrão utilizadas na nanotecnologia de DNA (molécula DX). Observe que cada uma das cadeias de DNA (linhas coloridas) se inicia em uma dupla-hélice e em seguida passa a fazer parte de outra dupla-hélice. Os traços entre as cadeias representam ligações de hidrogênio. **B)** Azulejos de DNA. Cada linha colorida representa uma cadeia de DNA, que, ao ser “entrelaçada”, forma uma estrutura rígida e estável – os azulejos de DNA. Imagem: Danyel Fernandes Contiliani e Yasmin de Araújo Ribeiro.

**Grampo:** cadeia nucleotídica cuja sequência se complementa parcialmente, de modo a formar uma estrutura similar à de um grampo de cabelo.

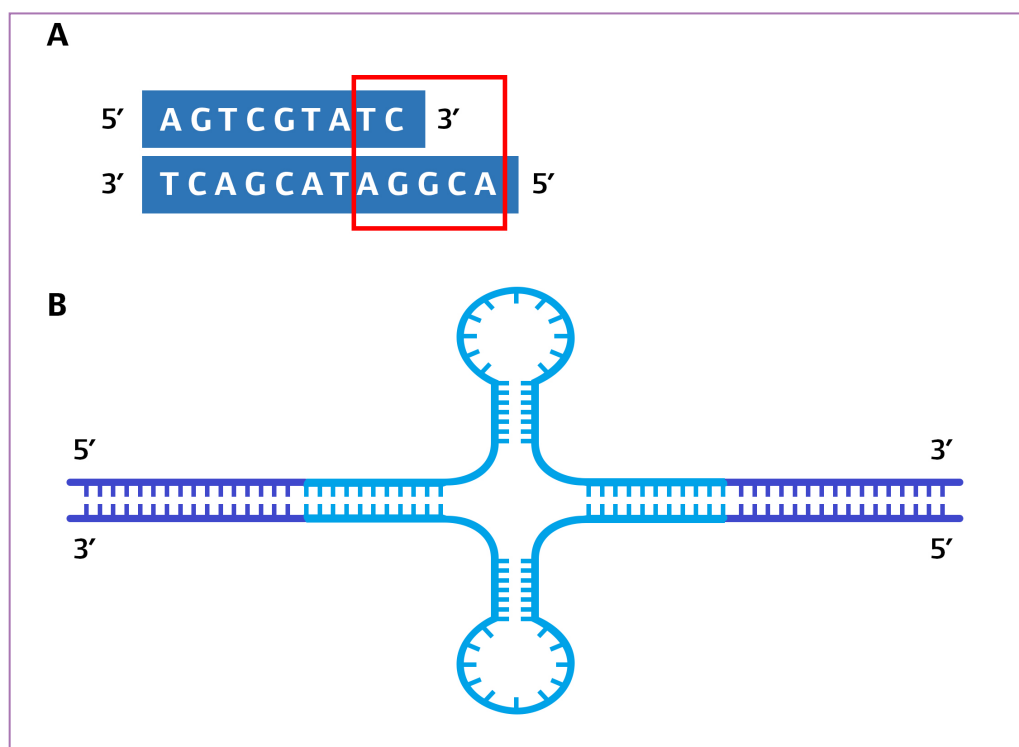
**Cristal aperiódico:** um tipo de arranjo molecular cuja estrutura tridimensional não é perfeitamente repetitiva, resultando em padrões geométricos não simétricos, que tendem a ser mais complexos.

**Algoritmo:** um caminho lógico que consiste em sequências de ações executáveis para a obtenção de uma solução para um determinado problema. Um algoritmo é análogo a uma ‘receita de bolo’, isto é, uma sequência de passos para um objetivo final (no caso, o bolo).

funcionalmente válidas para a construção de componentes dinâmicos de nanomáquinas, com possíveis aplicações em diversas áreas como saúde, robótica, mecânica. Além disso, com o desenvolvimento das tecnologias computacionais, **algoritmos** de automontagem molecular e outras estratégias da ciência da

computação estão sendo incorporados para a modelagem de **cristais aperiódicos** de DNA, que embora não sejam essenciais para formação de estruturas simples, auxiliam na construção de estruturas complexas, que possuem diversos formatos, ampliando a aplicação dessa tecnologia.

**Figura 4.** Características e aspectos especiais envolvendo moléculas de DNA. A) Representações de extremidades coesivas. B) Estrutura de DNA em grampo. Imagem: Danyel Contiliani.



**Anelamento:** emparelhamento entre as fitas complementares de DNA (ou RNA).

### O ORIGAMI DE DNA

A área de nanotecnologia do DNA evoluiu com o passar dos anos, mas em 2006 deu um incrível salto, com a ideia proposta por Paul Rothermund - o **origami de DNA**.

O conceito subjacente dessa nova abordagem é o origami japonês - a partir de dobraduras feitas com papel, diversas representações de seres e objetos são criadas. A diferença da nova tecnologia reside na matéria-prima utilizada, o DNA, que é maleável e apresenta a possibilidade de manter as dobraduras por meio de ligações de hidrogênio. Neste sistema, uma longa cadeia de DNA denominado de **andaime** é moldado ao padrão desejado, com o auxílio de pequenas sequências de oligonucleotídeos, os grampos (Figuras 5a e 5b).

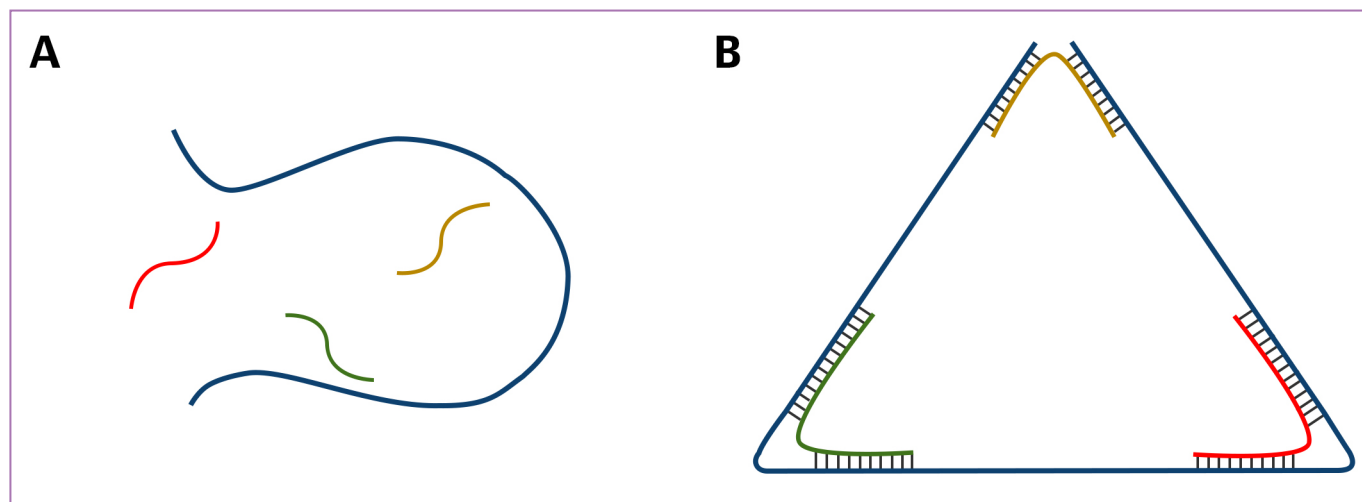
Para o desenvolvimento do origami molecular, Rothermund utilizou um longo DNA genômico circular do vírus M13mp18 (aproximadamente 7.250 pares de bases) como molde, sendo “dobrado” em diferentes estruturas com o auxílio de pequenas sequências de oligonucleotídeos (emparelhados em estruturas semelhantes a grampos), em uma matriz antiparalela com cruzamentos periódicos (a estrutura pode ser visualizada em: <https://www.youtube.com/watch?v=T'ZpqbZqQrhM>). O processo de automontagem ocorre misturando-se o DNA molde com 200-250 grampos, por menos de duas horas, com temperatura de **anelamento** de 95 °C e 20 °C, obtendo-se estruturas precisamente semelhantes às de interesse, como por exemplo, estrutura de uma rede (visualize

o processo de montagem de um origami de DNA em: <https://www.youtube.com/watch?v=5yH5LTXxFzk>).

O sucesso atribuído à síntese de nanoestruturas de origami, em relação a outras técnicas de modelagem de DNA, é devido ao uso de

uma longa fita de DNA como molde para a síntese de nanoestruturas (o andaime), evitando-se, assim, o mal emparelhamento entre pequenas sequências e problemas de **estequiometria**, os quais resultam na deformação da estrutura.

**Estequiometria:** cálculo de quantidade das substâncias envolvidas numa reação química.



## DESENHO DO ANDAIME DE ORIGAMI DE DNA

1. Inicialmente, desenha-se o origami, planejando-se toda a sua estrutura com o auxílio de softwares (alguns disponíveis na internet). Para o desenho do origami, é necessário criar um modelo geométrico semelhante à estrutura que se deseja obter. Em geral, cada cadeia na estrutura é conectada a outras duas cadeias adjacentes, o que é determinado por cruzamentos com espaços de 1,5 de volta helicoidal entre elas - aproximadamente 16 pares de bases (pb) para DNA com **conformação B** (visualize a formação da estrutura em: [https://www.youtube.com/watch?v=p4C\\_aFlyhfl](https://www.youtube.com/watch?v=p4C_aFlyhfl)). Esse padrão de cruzamentos gera uma rotação de 180°, montando uma estrutura plana.
2. Em seguida, dobra-se o molde (andaime) de modo a preencher o modelo geométrico - incorporando mais cruzamentos de andaime. A distância entre os cruzamentos de andaime deve ser específica e, de acordo com parâmetros pré-determina-

dos, para que o DNA se dobre de modo contínuo de uma hélice para outra.

3. Uma vez que o modelo geométrico e o “caminho” de dobras do DNA estão estabelecidos, o próximo passo se refere ao desenho dos grampos, que deve considerar as propriedades de emparelhamento de bases de Watson-Crick, e a direção inversa aos cruzamentos, gerando, assim, uma configuração estável das nanoestruturas de DNA (visualize em: <https://www.youtube.com/watch?v=MySLpdcDcU0>).
4. A estrutura linear dos origamis de DNA permitiu a criação de uma variedade de estruturas em 2D. O mesmo princípio pode ser aplicado para gerar estruturas em 3D, já que a partir da criação de estruturas planas é possível, por meio da incorporação de moléculas de cruzamento nas extremidades, conectar e combinar outras estruturas planas, permitindo a criação de uma ampla variedade de estruturas (visualize as diferentes estruturas tridimensionais de origamis de DNA em: <https://www.youtube.com/watch?v=UzNnQY0H1Hk>; <https://www.youtube.com/watch?v=TekF4rAFDck>).

**Figura 5.** Representação esquemática do origami de DNA. A)

Uma longa cadeia de DNA (fita azul – o andaime) e pequenas sequências de oligonucleotídeos de DNA (fitas coloridas, que se emparelham dando origem a estruturas semelhantes a grampos), antes da automontagem. B) Após o aquecimento e resfriamento, as cadeias de DNA se anelam, formando a estrutura desejada, com o auxílio dos grampos. Imagem: Vitor Nolasco de Moraes.

**Conformação B:** tipo de configuração da estrutura do DNA de dupla-fita na qual a hélice gira para a direita, com cerca de 10,5 pares de bases para completar uma volta, apresentando-se mais longa e fina do que a conformação do tipo A. Ocorre geralmente em condições fisiológicas.

**Biocompatíveis:** materiais que são compatíveis com tecidos vivos, em especial, o corpo humano.

**Potencial elétrico:** capacidade de um corpo energizado tem para realizar trabalho, ou seja, a capacidade de atrair ou repelir outras cargas elétricas.

**Sinais ópticos:** qualquer tipo de comunicação na qual a luz é usada para transportar o sinal até o destino.

O desenvolvimento da área de nanotecnologia do DNA, juntamente com a criação de novas estruturas, permite que os origamis de DNA tenham grande potencial de aplicação em outras áreas da ciência, na indústria e até mesmo nas áreas da saúde.

## APLICAÇÃO NA INDÚSTRIA

Um dos pilares da ciência dos materiais e da nanotecnologia refere-se ao controle do formato, composição e tamanho das estruturas em nanoescala. Mesmo na produção industrial, determinadas peças, como os circuitos eletrônicos integrados, mais conhecidos como chips, possuem esquemas complexos que atingem dimensões nanométricas. Essas nanoestruturas, feitas de metal nobre como o ouro, têm formas específicas e apresentam propriedades fundamentais, amplamente exploradas pela indústria por serem importantes em aplicações diversas (e.g., sensoria-mento, captação de luz, catálises químicas e dobramento de proteínas).

Assim, o origami de DNA surge como uma estratégia para construir estruturas em nanoescalas. Por exemplo, pesquisadores utilizaram um origami com uma cavidade in-

terna como molde. Dentro dessa cavidade, depositaram nanopartículas de ouro, levando ao preenchimento do molde, e tendo por fim, partículas de ouro nanométricas moldadas pelo origami, o que pode ser utilizado, por exemplo, como ferramenta para produzir estruturas eletrônicas em formatos específicos desejados.

Outro exemplo refere-se à criação de sensores **biocompatíveis**. A utilização de sensores popularizou-se no campo da pesquisa nos últimos anos devido à utilização dos mesmos na detecção de moléculas únicas para diagnóstico de doenças e para auxiliar na compreensão de funcionalidades biológicas complexas, como as das células neurais. De acordo com essa perspectiva, pesquisadores utilizaram origami de DNA como ferramenta para criar um sensor de voltagem. Tal ferramenta converte uma mudança do **potencial elétrico** em **sinais ópticos** a partir de mudanças na sua estrutura – o que permite a visualização de imagens em células viva se assim, a melhor compreensão do funcionamento destas células (visualize o origami de DNA atuando como sensor óptico em <https://www.youtube.com/watch?v=vW-c1BkQIeaE>).





Além da possibilidade de criar estruturas em escala nanométrica - o que por si já é complexo, o origami de DNA permite ainda que tal criação seja feita de forma programável e eficiente, uma vez que é possível produzir um grande número de estruturas a partir de um único processo de montagem. Desse modo, tais vantagens permitem explorar novas aplicações e contribuir para o desenvolvimento da indústria de nanotecnologias.

### APLICAÇÃO NA CIÊNCIA BÁSICA

A tecnologia em questão também possibilitou a compreensão de diversos processos e interações biológicas, com impacto na produção de fármacos, desenvolvimento de novos produtos tecnológicos e estudo de doenças. Considerando o tamanho do origami, a possibilidade de programá-lo, de automontagem e de atuação como **nanorobôs**, torna-se possível explorar o universo celular. Assim, pesquisadores utilizaram origamis de DNA para compreender melhor como ocorrem as **interações proteína-proteína**. Tais interações são relevantes em vários aspectos da biologia, e estão associadas a **condições neurodegenerativas**, como as que ocorrem na doença de Alzheimer. Para estudar e compreender melhor essas interações, é necessário reproduzi-las, reunindo proteínas, controlando o arranjo físico e criando situações para que as proteínas atuem. Assim, os pesquisadores podem observar e criar novas estratégias para interferir nessas interações ou reorganizá-las, caso seja necessário, o que só é possível utilizando-se pequenas moléculas, como origamis, que intervêm como nanorobôs e coordenam essa simulação.

Nesse sentido, pesquisadores empregaram a nanotecnologia de DNA para promover a montagem de proteínas. Assim, nanotubos foram utilizados para possibilitarem o crescimento de **fibrilas amiloides** e, posteriormente, origamis de DNA atuaram como nanorobôs, organizando as fibrilas amiloides em uma superfície. O experimento mostrou que é possível utilizar origamis para organizar, controlar e estudar interações entre proteínas, demonstrando ser um grande passo para a compreensão da biologia dessas ma-

cromoléculas e contribuindo para a evolução da ciência básica no seu sentido mais amplo, uma vez que os frutos dessas descobertas podem interferir e provocar outras.

### APLICAÇÃO NA SAÚDE

Embora diversos medicamentos contra o câncer tenham sido desenvolvidos nos últimos anos, a entrega ou “chegada” efetiva destes compostos nas células tumorais continua problemática. O tratamento de doenças como o câncer apresenta desafios como, por exemplo, a atuação do fármaco que frequentemente atinge não apenas as células tumorais, mas também as saudáveis. Ou ainda, as células cancerígenas apresentam resistência aos medicamentos. Tais problemáticas podem resultar em efeitos colaterais indesejados ao longo do tratamento.

Uma das grandes promessas das nanotecnologias se refere à entrega direcionada de fármacos, assim, a tecnologia do origami de DNA propõe, por meio de interações e propriedades físico-químicas específicas, o carregamento e o direcionamento de fármacos apenas às células-alvo, além de ser capaz de contornar a resistência celular a drogas. Dessa forma, seria possível amenizar danos colaterais, e tornar os tratamentos terapêuticos mais eficientes.

### ENGRENAGENS MOLECULARES

O avanço da tecnologia de origami de DNA tem permitido o desenvolvimento de diversas estruturas. Nesse contexto, um grupo de pesquisadores se empenhou em demonstrar que é possível projetar origamis de DNA em formas complexas, que se torcem e se curvam, resultando em verdadeiras engrenagens moleculares (observe as engrenagens moleculares na figura 4: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2737683/figure/F4/>) (DIETZ, et al. 2009).

A criação de engrenagens moleculares pode ser útil como sonda que permite estudar a dinâmica que ocorre entre proteínas e DNA, e também, avaliar a propensão de diferentes sequências de DNA para adotar conformações especificamente dobradas. Tais aspectos

**Nanorobô:** robô em escala manométrica, isto é, que mede até  $1 \times 10^{-9}$  metro.

**Interação proteína-proteína:** contato entre dois ou mais polipeptídeos, como resultado de atração de natureza físico-química (forças eletrostáticas), originando um complexo macromolecular.

**Condições neurodegenerativas:** termo genérico para se referir a doenças que afetam os neurônios, levando à degeneração do sistema nervoso.

**Fibrila amiloide:** agregado proteico insolúvel e ordenado, relacionado a diversas doenças neurodegenerativas.



são fundamentais quando pensamos em desenvolvimento biotecnológico, farmacêutico e compreensão biológica da atuação de proteínas.

## PERSPECTIVA

A nanotecnologia, em especial o origami de DNA, tornou viável a construção de estruturas nanométricas complexas via automontagem. Anteriormente, era um processo difícil e limitado, uma vez que fazia uso de materiais muito específicos e era direcionado para aplicações também bastante particulares. Ao combinar o DNA, matéria principal, com as técnicas atuais bastante desenvolvidas, relacionadas à química desse material, nos deparamos com uma tecnologia versátil, que pode ser empregada em diversas áreas.

Por ser um campo recente, alguns desafios ainda precisam ser enfrentados, como: a caracterização mais detalhada sobre a estabilidade; o funcionamento e a interação dessas moléculas com outras, sendo necessário abordar quimicamente esses assuntos; alcançar melhorias no processo de síntese, para que seja viável em larga escala. Os desafios referidos vêm sendo abordados e estudados por pesquisadores e profissionais de diferentes áreas e países - incluindo o Brasil, através do Sistema Nacional de Laboratórios em Nanotecnologias (SisNANO), que futuramente poderá tornar possível explorar, de modo mais abrangente e aplicado, as infinitas possibilidades que o origami de DNA propõe.

## REFERÊNCIAS

DIETZ, H.; DOUGLAS, S.M.; SHIH, W. M. Folding DNA into twisted and curved nanoscale shapes. *Science*, v. 325, n. 5941, p. 725-730, 2009.

## PARA SABER MAIS

ROTHERMUND, P. W. K. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, v. 440, n. 7082, p. 297, 2006.

SEEMAN, N. C., & SLEIMAN, H. F. (2018). DNA nanotechnology. *Nature Reviews Materials*, v.3, n.1, 17068.

SUN, W. et al. Casting inorganic structures with DNA molds. *Science*, v. 346, n. 6210, p. 717-725, 2014.