

DISPOSITIVOS NANOMECÁNICOS: SENSORES ULTRASENSIBLES PARA RECONOCIMIENTO MOLECULAR Y ESTUDIO DE CAMBIOS CONFORMACIONALES

*Javier Tamayo, Johann Mertens, Daniel Ramos, María Arroyo and Montserrat Calleja
Instituto de Microelectronica de Madrid (IMM-CNM, CSIC), Isaac Newton 8 (PTM), Tres
Cantos, 28760 Madrid, Spain*

mcalleja@imm.cnm.csic.es

En los últimos años se han desarrollado diversos dispositivos sensores basados en transducción nanomecánica con diferentes aplicaciones que van desde dispositivos de radiofrecuencia a aplicaciones biosensoras. La aplicación de micro y nanopalanca como biosensores ha demostrado la capacidad de detección de biomoléculas en tiempo real y con elevada sensibilidad y especificidad, eliminando la necesidad de marcaje fluorescente y amplificación previa de las muestras. En este campo, las aplicaciones van del reconocimiento de ADN a la detección de patógenos. Esta tecnología es una prometedora herramienta para los campos de la biología molecular y la biomedicina. Sin embargo, para alcanzar todo su potencial, este campo de trabajo precisa de una convergencia multidisciplinar que incluya el desarrollo de técnicas de nanofabricación, transducción y detección en la nanoescala, desarrollos teóricos y la integración de nanodispositivos a gran escala junto con los componentes ópticos, eléctricos y de microfluídica capaces de proporcionar dispositivos “lab-on-a-chip”. Junto con este esfuerzo, el resultado final debe proporcionar una tecnología adecuada para la producción a gran escala, de manera que los avances tecnológicos puedan ser aplicables en Nanomedicina, es decir, accesibles a bajo coste.

Describimos aquí algunos resultados en varios de los frentes de batalla descritos anteriormente que hemos abordado en colaboración con socios científicos e industriales de diferentes disciplinas. Los resultados se pueden dividir según el modelo de detección en sensores en modo estático y sensores en modo dinámico. En el modo dinámico el sensor (una micro o nanopalanca) resuena a su frecuencia natural, la cual cambia cuando el resonador interacciona con las biomoléculas presentes en la muestra [1,2]. En el modo estático, es la deflexión de la palanca la que nos proporciona información sobre adsorción molecular a través de cambios en la tensión superficial.

Sensores nanomecánicos en modo dinámico

Con el objetivo de desarrollar dispositivos nanomecánicos para detección ultrasensible de patógenos, hemos medido el efecto que tiene en la frecuencia de resonancia de micropalanca la adsorción de bacterias en función de la posición del adsorbato y el modo de vibración [3,4]. Las frecuencias de resonancia se midieron a partir del movimiento browniano del extremo de la micropalanca. De esta forma encontramos que el signo y magnitud del cambio en frecuencia de resonancia viene determinado por la posición y extensión ocupada por el adsorbato en relación con la forma del modo de vibración [5,6]. Para explicar los resultados experimentales proponemos un modelo teórico en una dimensión con el cual obtenemos expresiones analíticas para la frecuencia de resonancia que se ajustan adecuadamente con los datos experimentales y con datos obtenidos mediante simulaciones por elementos finitos. Estos resultados indican que existen dos mecanismos opuestos que pueden producir cambios significativos de la frecuencia de resonancia: la rigidez y la masa del adsorbato. Comprobamos también que la combinación de los modos de vibración altos, junto con el confinamiento de la adsorción a regiones definidas de la micropalanca permiten la detección de bacterias individuales a partir de la

detección del movimiento browniano, es decir, sin necesidad de excitación externa de la vibración. Estos resultados son relevantes para la consecución de detección nanomecánica más sensible y reproducible. Los resultados de este estudio se han aplicado en el diseño de matrices de nanoresonadores con un volumen 10^4 veces menor que las micropalancas comerciales para la detección ultrasensible de ácidos nucleicos. Las matrices alternan nanoresonadores con sitios de adsorción localizados en diferentes regiones para obtener una doble lectura del analito: su masa y su rigidez. Con este método hemos sido capaces de detectar la hibridación de ADN de femtogramos de moléculas en aire y sin necesidad de excitación externa, lo cual es una de las sensibilidades más elevadas obtenidas en estas condiciones.

Biosensores nanomecánicos en modo estático

Mostramos aquí dos aplicaciones relevantes de los biosensores nanomecánicos: en genómica funcional y en bionanomecánica. En el primer caso, mostramos que la absorción de moléculas de agua en capas autoensambladas (SAMs) de ADN de cadena simple (ssADN) produce un efecto extraordinario en las interacciones intermoleculares. Hemos seguido este proceso midiendo la deflexión a escala nanométrica que sufre una micropalanca de silicio en la cual se ha inmovilizado una monocapa de ssADN cuando se varía la humedad relativa. La tensión inducida por las fuerzas de hidratación experimenta enormes cambios en función de que la monocapa inmovilizada interactúe con la cadena de ADN complementaria o bien con una cadena que presente un desajuste en una única base. Estos resultados sugieren que la tensión en capas de ácidos nucleicos esté gobernada por las fuerzas de hidratación originadas en los canales intermoleculares de la capa autoensamblada. El descubrimiento de este fenómeno abre el camino para el desarrollo de una nueva familia de biosensores de ácidos nucleicos sin necesidad de marcadores, capaces de detectar mutaciones en una única base y una sensibilidad al menos diez veces superior a los microarrays dependientes de marcadores utilizados en la actualidad [7]. La segunda aplicación estudia bionanomáquinas, como las chaperoninas, inmovilizadas sobre micropalancas. En este caso, los cambios conformacionales de las biomoléculas, inducidos por la hidrólisis de ATP, se transducen a una señal nanomecánica. Esta técnica proporciona información sobre la dinámica de los motores moleculares que no es accesible mediante otras técnicas.

D.R. agradece a la Comunidad de Madrid la financiación de su contrato predoctoral. Esta investigación ha sido financiada por el Ministerio de Educación y Ciencia (TEC2006-10316), la comunidad Autónoma de Madrid (200550M056) y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Proyectos Intramurales de Frontera).

Referencias:

- [1] J. Tamayo, *Nature Nanotechnology* **2** (2007) 342.
- [2] J. Tamayo, M. Calleja, D. Ramos and J. Mertens, *Physical Review B* **76** (2007) 180201(R).
- [3] D.Ramos, J.Tamayo, J. Mertens, M. Calleja and A. Zaballos, *Journal of Applied Physics* **100** (2006) 106105.
- [4] D. Ramos, J. Tamayo, J. Mertens, M. Calleja, L.G. Villanueva and A. Zaballos, *Nanotechnology* **19** (2008) 035503.
- [5] J. Tamayo, D. Ramos, J. Mertens and M. Calleja, *Applied Physics Letters* **89** (2006) 224104.
- [6] H. Craighead, *Nature Nanotechnology* **2** (2007) 18.
- [7] J. Mertens, C. Rogero, M. Calleja, D. Ramos, C. Briones, J.A. Martín-Gago and J. Tamayo, *Nature Nanotechnology* **3** (2008) 301.