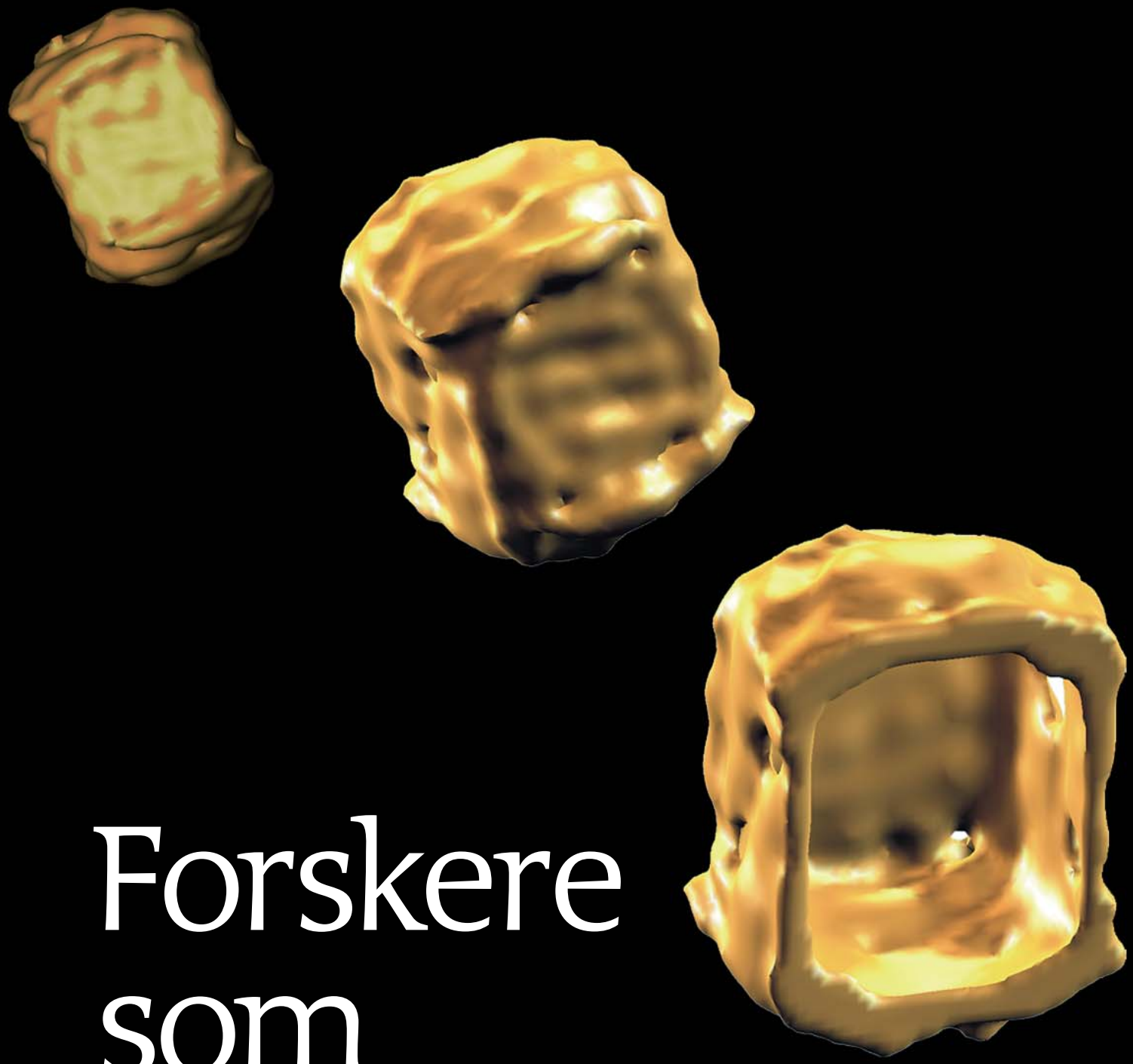


Forskere som nano-arkitekter

Dna er et fantastisk byggemateriale, som ud fra enkle principper kan samle sig selv til umådeligt komplicerede strukturer. Forskerne udnytter nu disse egenskaber til at lave deres egne, hjemmedesignede dna-strukturer, som kan tænkes anvendt i mange forskellige sammenhænge.

Af Morten Muhlig Nielsen
og Ebbe Sloth Andersen

■ Forestil dig et voldsomt uvejr i det amerikanske midtvesten. En gigantisk tornado ruller langsomt henover ørkenlandskabet. Det eneste menneskeskabte i miles omkreds er en skrotbunke med flydele. Tornadoen pløjer sig igennem skrotbunken, og de millioner af flydele hvirvles rundt i tornadoens indre – for derefter på nærmest magisk vis at samle sig til en fuldt funktionsdygtig jumbojet.

Sandsynligheden for en sådan mirakuløs selvsamling af et uhyre komplekst system er forsvindende tæt på nul. Men i naturen findes der masser af eksempler på selvsamlende systemer af langt mere kompleks karakter hvis sandsynlighed for succesfuld selvsamling er ganske tæt på 1.

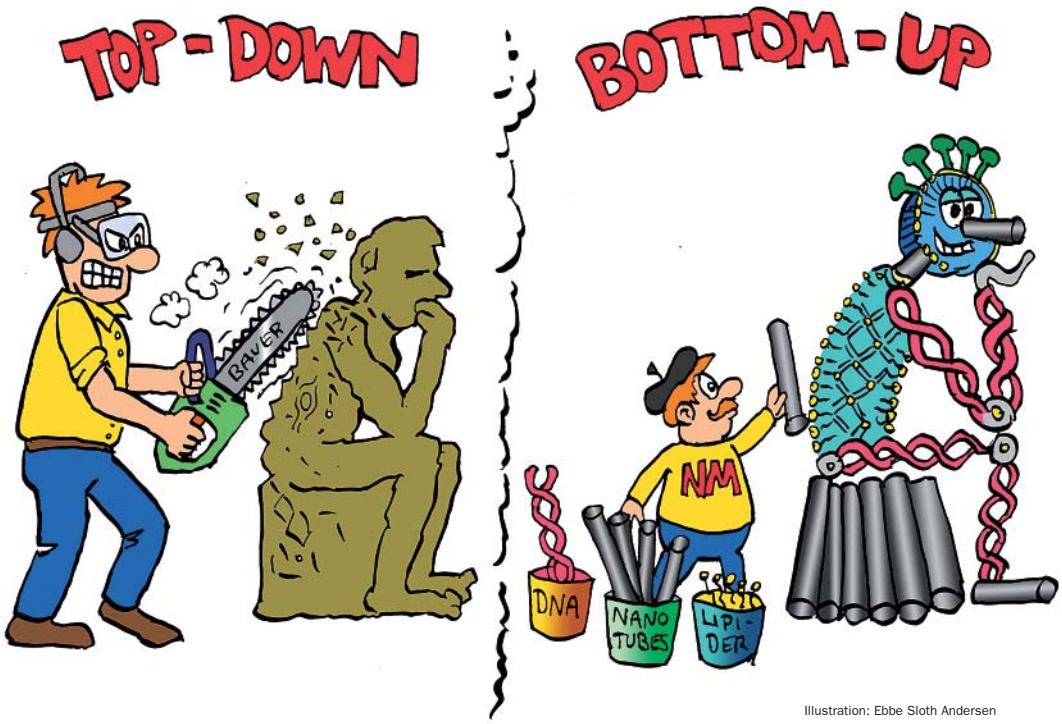


Illustration: Ebbe Sloth Andersen

Med "top-down-design" bruger man makroskopiske apparater og materialer til at fabrikere nanostrukturer. I "bottom-up-tilgangen" bruger man eksisterende byggestens evner til at samle sig i veldefinerede former.

Misundelige nanoteknologer

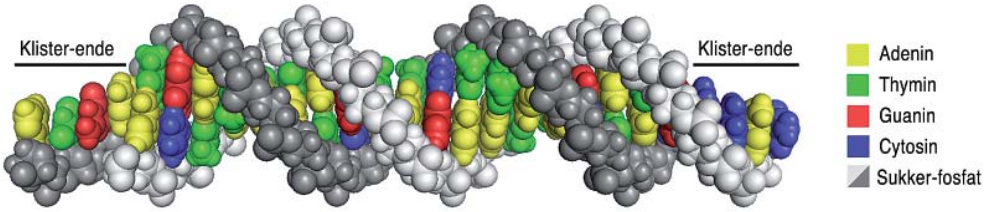
Naturens avancerede selvsamling finder vi hos de millioner af forskellige proteiner, metabolitter, rna- og dna-molekyler, der danner det komplekse molekylære maskineri, der er forudsætningen for de basale livsprocesser og udviklingen af levende organismer.

Biologiens molekylære arkitektur, der er udviklet og optimeret igennem milliarder af års evolution, bliver i dag studeret med biofysiske teknikker for at forstå, hvordan deres struktur relaterer sig til deres funktion. Håbet er, at vi kan aflure naturen sine designprincipper, så vi kan blive molekylære arkitekter, der kan designe nye funktionelle strukturer.

Nanoteknologerne har i lang tid kigget misundeligt på selvsamlingen af de biologiske molekyler, for her findes et væld af eksempler på funktionelt nanomaskineri. Hidtil har nanoteknologien gjort det muligt at bygge f.eks. integrerede kredsløb på nanoskala, baseret på "top-down" procedurer, hvor man benytter makroskopiske elementer til at danne nanoskala-objekter. Takket være landvindinger på selvsamlingsområdet er vi i øjeblikket vidne til en revolutionerende udvikling inden for "bottom-up" procedurer, som udnytter mindre byggestens evne til at samle sig til større nano-skala strukturer.

Hemmeligheden bag denne udvikling har netop været at bruge naturens egne molekyler som det selvsamlende byggemateriale. Her har dna vist sig at være det bedste byggemateriale at starte med. Det skyldes dels dna's relativt simple struktur, og dels at det kan fremstilles billigt.

Dna-programmering (boks 1)



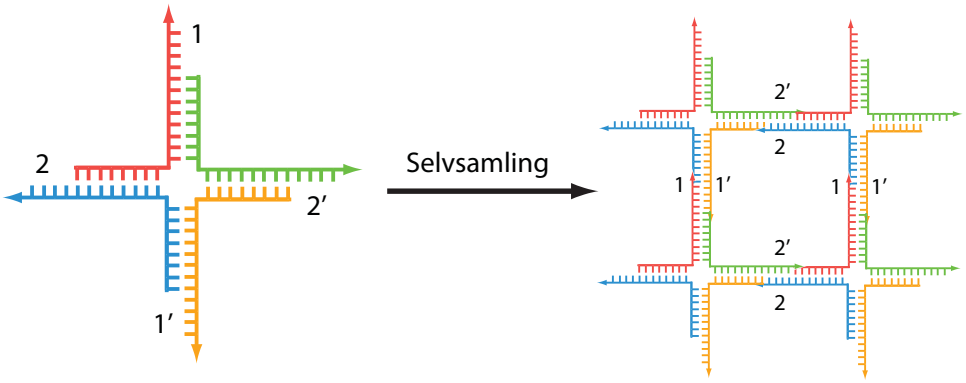
Den klassiske dobbeltspiral blev opdaget af Watson og Crick i 1953. Den består af to dna-strenge, som vikler sig omkring hinanden. Hver af disse strenge består af en kæde af byggesten, der kendes som nukleotider. Disse nukleotider har to komponenter: En sukker-komponent med fosfat, som udgør dna-strengens rygrad og dermed holder de enkelte strenge sammen, samt en base-komponent, der leverer de bindinger, som holder de to dna-strenge sammen. Baserne findes i fire forskellige udgaver, Adenin (A), Thymin (T), Guanin (G) og Cytosin (C). I dobbeltspiral-molekylet organiserer baserne sig i "Watson-Crick basepar", sådan at A i den ene streng danner par med T i den anden og C danner par med G. Denne egenskab betyder, at en dna-streng kun binder sig til en anden streng, som har de "modsatte" (komplementære) baser af den selv, og i den korrekte rækkefølge. Det er derfor muligt at kontrollere, hvilke dna-molekyler, der skal sætte sig sammen ved baseparring, hvis man kan kontrollere dna-strengens sekvens af baser. Sekvensen kan dannes ved moderne kemisk syntese. Konceptet kan udvides så en dna-streng baseparrer med to eller flere andre dna-strenge på forskellige positioner i dens sekvens, og dette giver mulighed for at lave andre strukturer end lange dobbeltspiraler. Ovenfor er vist to strenge med hver 23 baser, de 19 af dem er organiseret i basepar mellem de to strenge mens de sidste 4 baser på hver streng ikke er involveret i basepar, og derfor udgør to "klister-ender", som har potentiale til at binde sig til en anden streng med den rette sekvens.

Dna som byggemateriale

Ideen til at bruge dna som byggemateriale opstod tilbage i 80'erne, da krystallografen Ned Seeman gik og bandede over, at han ikke kunne gro krystaller af proteiner og dna. I et øjebliks

Artiklen kommer fra tidsskriftet Aktuel Naturvidenskab. Se mere på www.aktuelnaturvidenskab.dk

Eksempel på en dna-byggeklods (boks 2)



En af dna-nanoteknologiens milepæle var, da Ned Seeman udviklede dna-byggeklodser, som kunne samle sig selv til mere komplicerede strukturer.

En sådan byggeklods kan laves ved en overkrydsning mellem fire dna-strenge. Hver arm har en "klister-ende", idet der er et stykke dna-streng med frie baser, hvor en anden dna-streng med en komplementær sekvens af baser kan binde sig. På figuren markerer 1 og 2 sådanne "klister-ender" og 1′ og 2′ markerer "klister-ender" med komplementær sekvens. En stor mængde af sådanne dna-byggeklodser vil samle sig selv i et dna-gitter.

Sådan laver man dna-origami (boks 3)

Dna-origami er en process, hvor man bruger mindre dna-strenge fremstillet ved kemisk syntese til at guide foldningen af en større dna-streng til en forudbestemt struktur. Fremstillingen er yderst simpel, idet man blot blander komponenterne sammen i et reagensglas, varmer det op og lader det køle af til stuetemperatur. I denne proces samler komponenterne sig selv til den ønskede struktur.

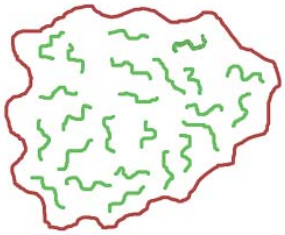
Hvordan denne selvsamlingsproces forløber i detaljer er ikke fuldt forstået, men man kan godt forklare, hvilke designkoncepter der er vigtige for en succesfuld foldning.

De mindre dna-strenge fungerer som en form for hæfteklammer, og består typisk af ca. 30 baser. Hæfteklammestrengene er kendetegnet ved, at de kan binde til den lange dna-streng på forskellige positioner. Det er vigtigt, at de er designet med en lang region og to korte regioner, idet dette giver en hierarkisk selvsamling, hvor først den lange region binder til den lange dna-streng, og efterfølgende de korte regioner. Dette er styret af temperaturen, idet den lange region bliver stabil ved højere temperaturer end de korte.

Det er også vigtigt, at hæfteklammestrengene er designet med en god længde, der introducerer brud i strengene med jævne mellemrum. Det forhindrer, at dna-strengen blot danner en stor knudestruktur.

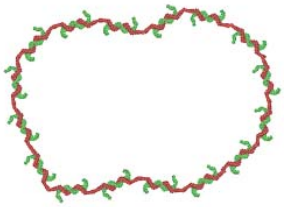
Endelig spiller en mekanisme, der er kendt som streng-fortrængning, også en væsentlig rolle. Hvis en dna-streng har sat sig på et forkert sted, kan den rigtige streng med flere basepar skubbe den af.

~100 ° C



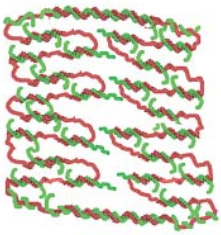
En lang dna-streng og en masse korte hæfteklammestrenge blandes sammen og varmes op.

~60 ° C



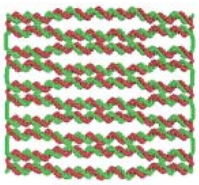
Under nedkølingen vil hæfteklammestrengene i første omgang hæfte sig til den lange streng i et jævnt mønster.

~40 ° C



Ved yderligere nedkøling vil hæfteklammernes korte regioner hæfte sig til andre steder på den lange streng som derved foldes.

~20 ° C



Dette tvinger dna-strengen ind i sin endelige struktur.

inspiration kom han i tanke om kunstneren M.C. Eschers kunstfærdige gitter af flyvende fisk. Han tænkte, at dna måtte kunne "programmeres" til at danne lignende 3D-gitre, hvori proteiner kunne arrangeres og danne en kunstig krystal – og dermed løse krystallografernes problem en gang for alle.

Det lykkedes Ned Seeman at udvikle designprincipper, der omdannede en mobil struktur mellem fire dna-strenge til en stabil byggeklods. Og han fandt dernæst på at koble disse sammen ved at lade byggeklodsernes ender passe ind i hinanden ved baseparring (se boks 2).

Den mest simple struktur, der kunne illustrere Ned Seemans eftertragtede dna-gitter, var en kube, og han gik sammen med en student i gang med at lave en model af forhåndenværende materialer i laboratoriet: plastikslanger, ståltråd og tape. Derefter blev sekvenserne designet med et hjemmeskrevet computerprogram, hvorefter de blev syntetiseret på en maskine med håndsving, som man brugte tilbage i 80'erne. Der blev lavet 24 sekvenser, som det lykkedes Seeman at sætte sammen til den første menneskeskabte dna-kube.

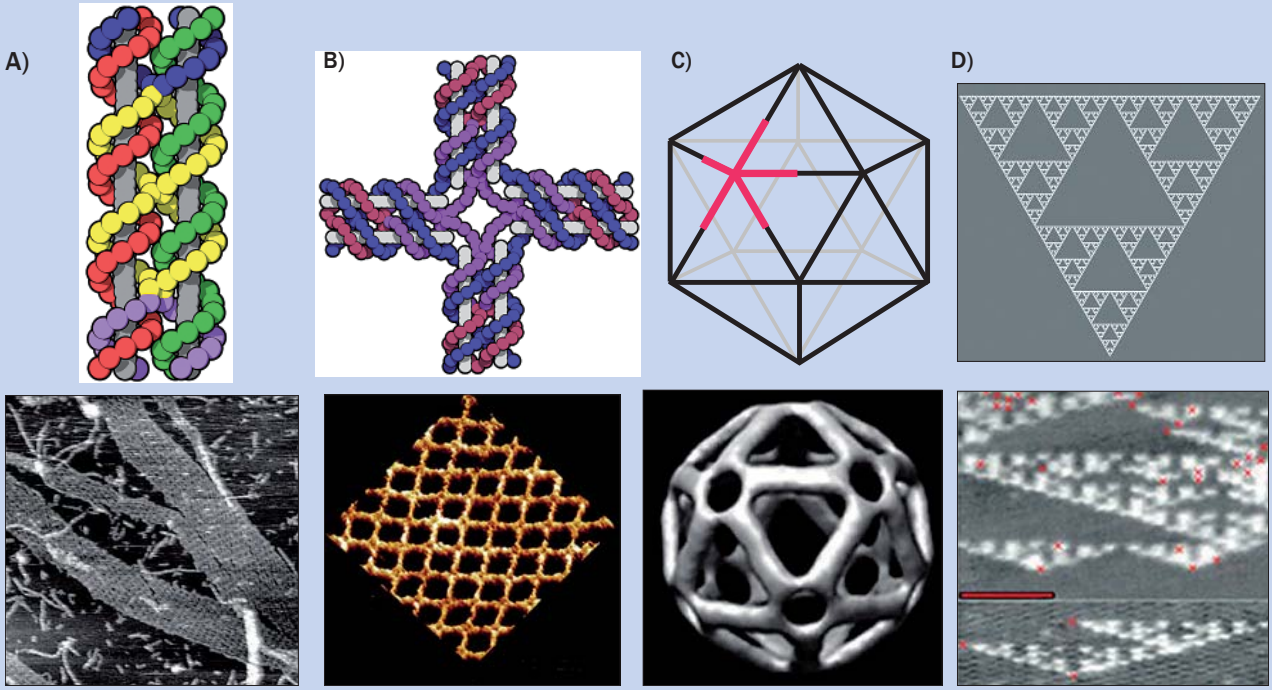
Dna-tegl

Med dna-kuben var det første vigtige skridt taget, men det viste sig desværre vanskeligt at lave større dna-gitre med Seemans metode, hvilket højst sandsynligt skyldes byggestenenes fleksibilitet. Et vigtigt videre skridt var derfor at designe mere stabile og veldefinerede dna-byggeklodser, hvilket blev gjort ved at hæfte dna-dobbeltspiraler sammen med overkrydsninger i geometrisk favorable afstande. Disse veldefinerede dna-byggeklodser er blevet kendt som dna-tegl (på engelsk *DNA tiles*) og blev udviklet til at konstruere to- og tre-dimensionelle gitre, der kan bruges til at kontrollere positionen af f.eks. nanometerstore guldpartikler og proteiner.

En spændende udvikling, der viser styrken i denne form for selvsamling, har været demonstrationen af, at man kan pro-

Artiklen kommer fra tidsskriftet Aktuel Naturvidenskab. Se mere på www.aktuelnaturvidenskab.dk

Dna-byggeklodser: dna-tegl



Boks 4. Dna-tegl er stabile, veldefinerede dna-byggeklodser, der kan bruges til at lave større strukturer i både 2D og 3D. De laves ved at hæfte dna-dobbeltspiraler sammen. Figurerne viser eksempler på strukturer, der kan dannes med sådanne dna-tegl.
(A) Et simpelt dna-tegl, hvor to dna-dobbeltspiraler er hæftet sammen med to overkrydsninger i geometrisk optimal afstand. Nederst er vist et billede optaget med atomar kraft-mikroskop (AFM), hvor teglene har dannet plader.
(B) Et kryds-formet tegl med fire arme, der kan samles i 2D-gitre, som det ses nederst i et AFM-billede. (C) Et dna-tegl med fem arme (rød) kan samles til en icosaheder-struktur. Nederst ses strukturen, der er baseret på eksperimentelle data fra cryo-elektronmikroskopi. (D) Dna-tegl kan programmeres til at danne matematiske mønstre, som den fraktale Sierpinski trekant. Ved at lave to typer af simple tegl med programmerede klister-ender kan man danne Sierpinski-lignende mønstre, der kan observeres i AFM-mikroskopet.

grammere et sæt af dna-tegl, så de samler sig i matematisk definerede strukturer, som f.eks. den fraktale Sierpinski trekant (boks 4).

Fra tegl til dna-origami

I 2006 skete der en mindre revolution inden for dna-nanoteknologien, da Caltech-forskeren Paul Rothemund demonstrede en ny effektiv metode til at designe og fremstille dna-strukturer. Metoden blev døbt dna-origami efter den japanske papirfoldekunst. Med denne metode folder man en lang dna-streng fra en bakterievirus i en given form vha. mange små syntetiske strenge, der fungerer som hæfteklammer. Paul Rothemund viste, at man kan designe vilkårlige former, og at man på ca. 200 unikke positioner på overfladen af dna-strukturerne kan placere elementer som en slags digitale pixels. Denne egenskab er siden blevet brugt i flere studier til at placere guld-nanopartikler, proteiner og rna-sekvenser på veldefinerede steder.

Selve foldningsprocessen er uhyre enkel at udføre i praksis: Man blander komponenterne sammen, varmer op til kogepunktet og nedkøler i løbet af en time prøverne til stuetemperatur og – voila – ca. 100 milliarder velformede dna-strukturer er dannet i dit reagensglas. Selvsamlingen af dna-origami-strukturer minder lidt om jumbojet-eksemplet i indledningen, da ca. 250 forskellige komponenter skal finde sammen på en helt præcis måde for at danne den designede struktur.

Vi er endnu et godt stykke fra at have forstået, hvordan denne omfattende selvsamlingsproces foregår i detaljen. Til gengæld kan vi godt forklare, hvilke designkoncepter der er vigtige for en succesfuld foldning. Her er f.eks. designet af hæfteklamme-strengene meget vigtig (se boks 3).

Dna-kasse vækker opsigt

Arbejdet i dna-origami ligger i forarbejdet med at designe dna-strengene korrekt, så den ønskede struktur bliver indkodet i sekvensen af byggesten. Foldningen af den lange streng og designet af de mere end 200 små dna-strenge er et besværligt og tidskrævende arbejde. For at undgå menneskelige design-fejl er det nødvendigt at bruge computer-assisteret design (CAD). På Center for DNA-nanoteknologi har vi udviklet det første automatiske og frit tilgængelige CAD-program til dna-origami, og vi har vist dets anvendelighed ved at konstruere en dna-delfin fra Aarhus Universitets tidligere logo (se boks 5, næste side).

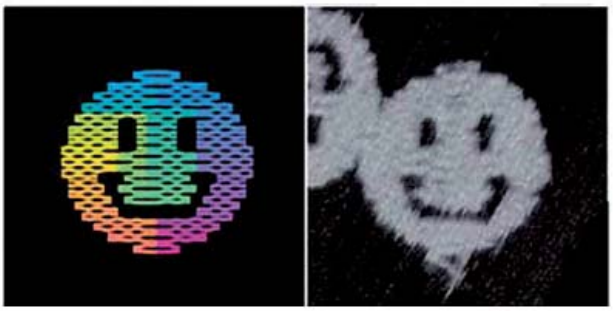
Man kan importere en vilkårlig grafik-fil i programmet, som så automatisk folder dna-strengen gennem formen, danner en 3D-model, og spytter de nødvendige sekvenser ud, som skal bestilles for at kunne lave strukturen i laboratoriet.

Efter at have vist, at vores CAD-program kunne designe todimensionale delfiner, var næste skridt at lave et mere funktionelt objekt, og her faldt valget på en dna-kasse.

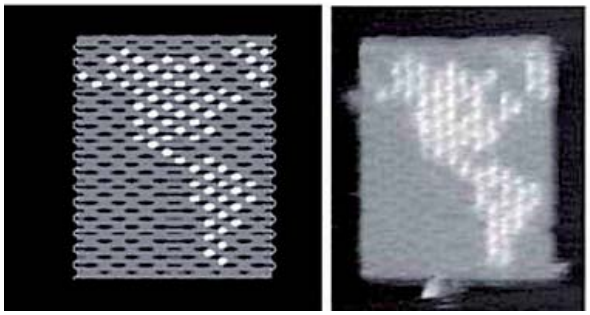
Dna-kassen blev designet med en størrelse på 42x36x36 nanometer. Ved hjælp af en række avancerede biofysiske metoder kunne vi vise, at dna-kasserne vitterligt samledes effektivt. Vores dna-kasser var det første eksempel på dna-origami i 3D, og da vi tilmed kunne vise en funktionel åbning af kassen blev dette studie publiceret i tids-

Artiklen kommer fra tidsskriftet Aktuel Naturvidenskab. Se mere på www.aktuelnaturvidenskab.dk

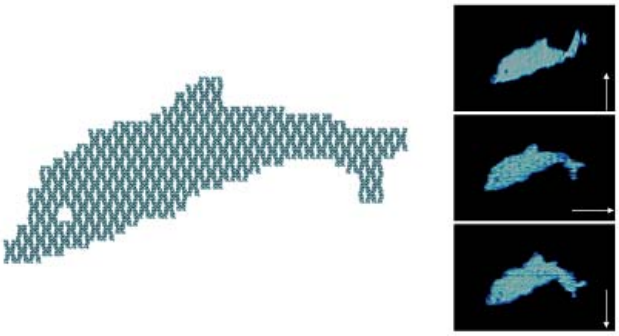
Dna-origami-strukturer (boks 5)



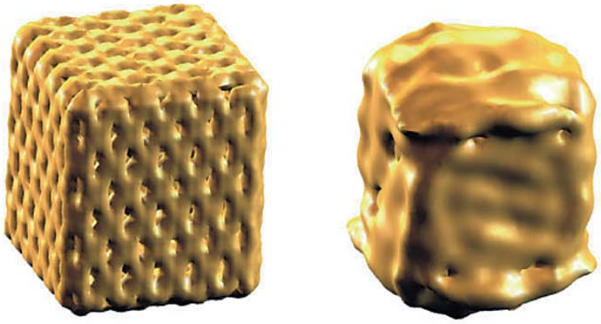
Dna-origami med tre huller, der demonstrerer, hvordan den lange dna-streng kan foldes frem og tilbage i strukturen. Farveskalaen angiver foldningsvejen gennem strukturen. Til højre ses strukturen optaget med et AFM-mikroskop.



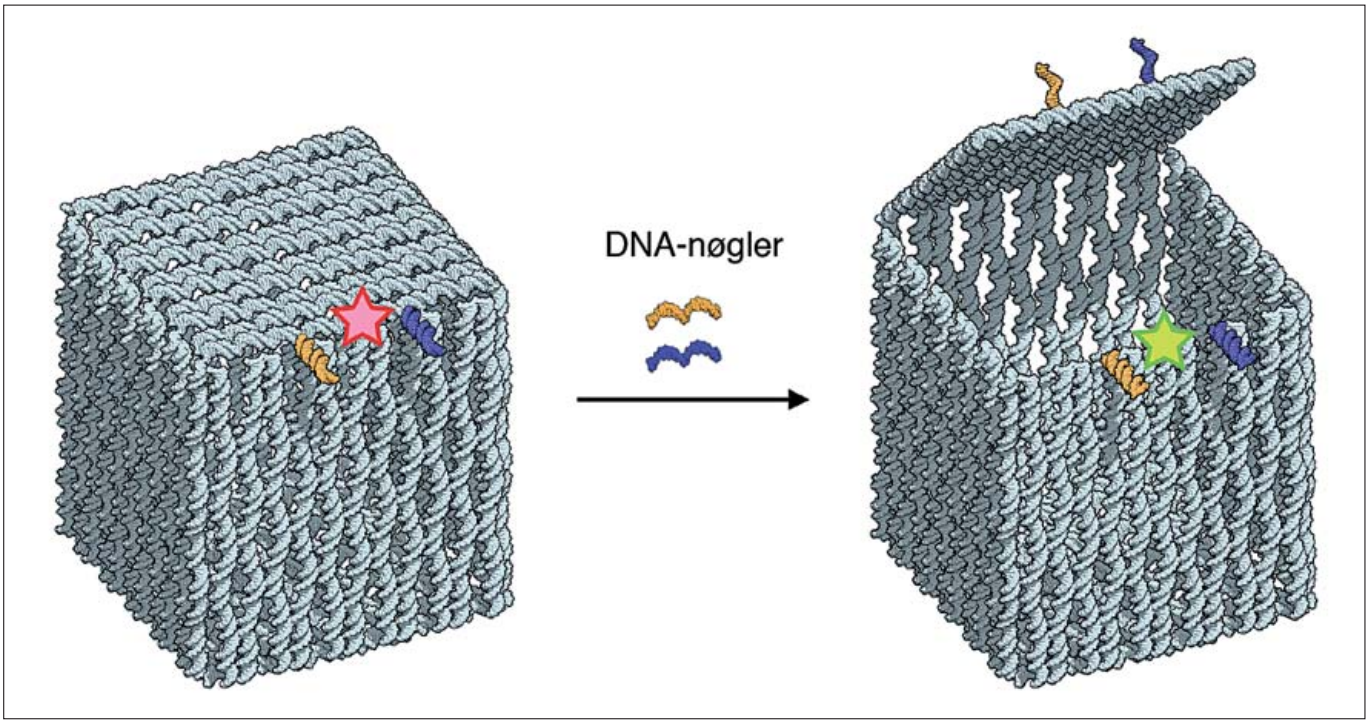
En firkantet dna-origami, der kan bruges som nanoopslagstavle. Herpå kan der sættes ca. 200 "nåle" – i dette tilfælde sat, så de danner et kort over den vestlige hæmisfære. Kortet har en størrelse på 70x100 nm, hvilket svarer til en skala 1:2x10^{14}.



Delfin fra Aarhus Universitets tidligere logo lavet med dna-origami.



Dna-origami kasse, hvor seks dna-plader er orienteret kant-til-kant. Til højre vises en model, der er baseret på cryo-elektronmikroskopiske billeder.



Dynamiske dna-strukturer: *Dna-kasse med dobbelt låsesystem, der åbnes specifikt ved tilsættelse af to dna-nøgler. Åbningen detekteres vha. to fluorescerende molekyler, der er placeret mellem de to låse. Når dna-kassen er lukket er de to farvestoffer tæt på hinanden, og der sker overførsel af energi fra den ene til den anden, hvorved der udstråles rødt lys. Når kassen åbnes kan der ikke ske overførsel mellem farvestofferne og farvestoffet, der belyses, stråler tilbage med grønt lys.*

Artiklen kommer fra tidsskriftet Aktuel Naturvidenskab. Se mere på www.aktuelnaturvidenskab.dk

skriftet Nature. En del andre 3D origami-strukturer er blevet publiceret næsten samtidig.

Kasse med lås og nøgler

Med udvikling af dna-origami i 2D og 3D er der opnået en ny form for kontrol på nano-skala, hvormed man kan placere og arrangere nanomaterialer og biomolekyler efter ønske.

Udfordringen er nu at designe dna-origamierne til at være dynamiske og funktionelle objekter, der i sig selv kan udføre specifikke opgaver. Denne forskningsretning bliver tit benævnt "nano-robotik", da man her konstruerer bevægelige maskiner, der kan kontrolleres og potentielt reagere på deres miljø. Også her er der mange sofistikerede eksempler i biologiens molekylære verden.

I vores studier har vi designet dna-origamier med dynamiske egenskaber. Første eksempel var dna-delfinen, der har en fleksibel hale, hvor fleksibiliteten kan styres ved at lave forskelligt design af haleregionen. Det andet eksempel var dna-kassen, som er lavet med et dynamisk låg, der kan åbnes på kommando.

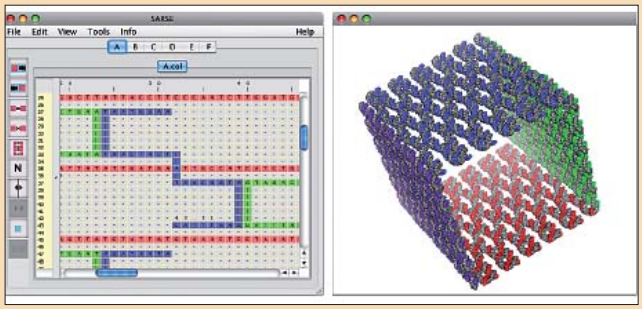
Dna-kassen blev designet med to låse og tilhørende "nøgler" (se figur). Låsene består af en dna-streng på låget og en dna-streng på selve kassen, der ved baseparring danner en dobbeltspiral og dermed holder låget lukket. Låsene er forsynet med en af de førnævnte klister-ender, der passer til en dna-nøgle-sekvens. Når nøglen tilsættes baseparrer den med klister-enden og fortrænger den anden streng, hvorved låget åbnes. Vi har vist, at den fulde åbning af dna-kassen afhænger af tilsætning af begge nøgler, hvilket svarer til den logiske port AND. Ved at sætte mange låse på låget kan man lave en meget sofistikeret programmering med kombinationer af AND, NOT og OR porte. Perspektivet i dette er, at man på denne måde kan opnå kontrol over frigivelse af de nanopartikler, man vælger at pakke i dna-kassen. Dna-kassen er nemlig så stor, at den kan indeholde biologiske enzymer, og vi har dermed foreslået en hel generel metode til at kontrollere enzymers aktivitet.

En interessant mulighed er at bruge dna-kassen som en diagnostisk sensor ved at programmere den til kun at åbnes, når den møder et helt specielt sæt af gen-sekvenser, der f.eks. definerer kræftceller. Når dna-kassen åbner kan den frigøre en cellegift, som dermed bliver afleveret på helt rette sted.

En fremtid med dna

At man i dag kan designe og fremstille nanostrukturer og komplekse nanomaskiner er lidt af en drøm, der er blevet til virkelighed. Vi tror, at kunstige dna-nanostrukturer i fremtiden vil finde bred anvendelse inden for f.eks. medicin og elektronik. Samtidig spiller dna-nanostrukturerne en vigtig tværfaglig rolle inden for nano-videnskaberne, hvor dna-strukturer kan bruges som en platform for nanokomponenter fra både kemi, molekylærbiologi og fysik.

Hvad mon fremtiden vil byde af anvendelser? Hvad med en kaffe med nano-kasser, der frigør koffein i rette hastighed? Eller måske en nano-delfin, der med en motoriseret hale fragter en nano-kasse gennem blodbanen til en kræftcelle, der bliver tilintetgjort? Det er selvfølgelig ren science fiction, men det er alligevel vigtigt at gøre sig tanker om, hvad der kan lade sig gøre, og hvad vi har lyst til at gøre. ■



Automatisk dna-origami

Ved Center for dna-teknologi har vi udviklet et computerprogram, som automatiserer store dele af processen med at lave dna-origami. Her ses screendumps fra programmet, hvor der som eksempel er vist foldningen af en dna-streng til en kasse. Til venstre ses de enkelte hæfteklammestrenge samt den lange dna-streng indikeret. Til højre et overblik over hele origami-strukturen. Computerprogrammet er tilgængeligt på hjemmesiden: www.cdna.dk/origami

Center for dna-nanoteknologi

Center for dna-nanoteknologi (CDNA) er et "Centre of Excellence" støttet af Danmarks Grundforskningsfond og involverer tre forskningsgrupper fra kemi, fysik og molekylærbiologi, der alle er tilknyttet Interdisciplinært Nanoscience Center (iNANO) ved Aarhus Universitet. Desuden er der tilknyttet to amerikanske forskningsgrupper fra Duke University og Arizona State University. Formålet med centeret er at udføre grundforskning indenfor forskningsfeltet dna-nanoteknologi. Se også hjemmesiden: www.cdna.dk

Om forfatterne

Morten Muhlig Nielsen er postdoc ved CDNA, Molekylærbiologisk Institut, Aarhus Universitet.
Email: mmn@mb.au.dk
Tlf.: 8924 2679

Ebbe Sloth Andersen er postdoc ved CDNA, Molekylærbiologisk Institut, Aarhus Universitet.
Email: esa@mb.au.dk
Tlf.: 8942 2634

Videre læsning

Seeman. Structural DNA nanotechnology: an overview. Methods Mol Biol (2005) vol. 303 pp. 143-66

Rothemund. Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. Nature (2006) vol. 440 (7082) pp. 297-302

Andersen et al. DNA origami design of dolphin-shaped structures with flexible tails. ACS nano (2008) vol. 2 (6) pp. 1213-8

Andersen et al. Self-assembly of a nanoscale DNA box with a controllable lid. Nature (2009) vol. 459 (7243) pp. 73-6

Douglas et al. Self-assembly of DNA into nanoscale three-dimensional shapes, Nature (2009) vol. 459 pp. 414-418

Artiklen kommer fra tidsskriftet Aktuel Naturvidenskab. Se mere på www.aktuelnaturvidenskab.dk