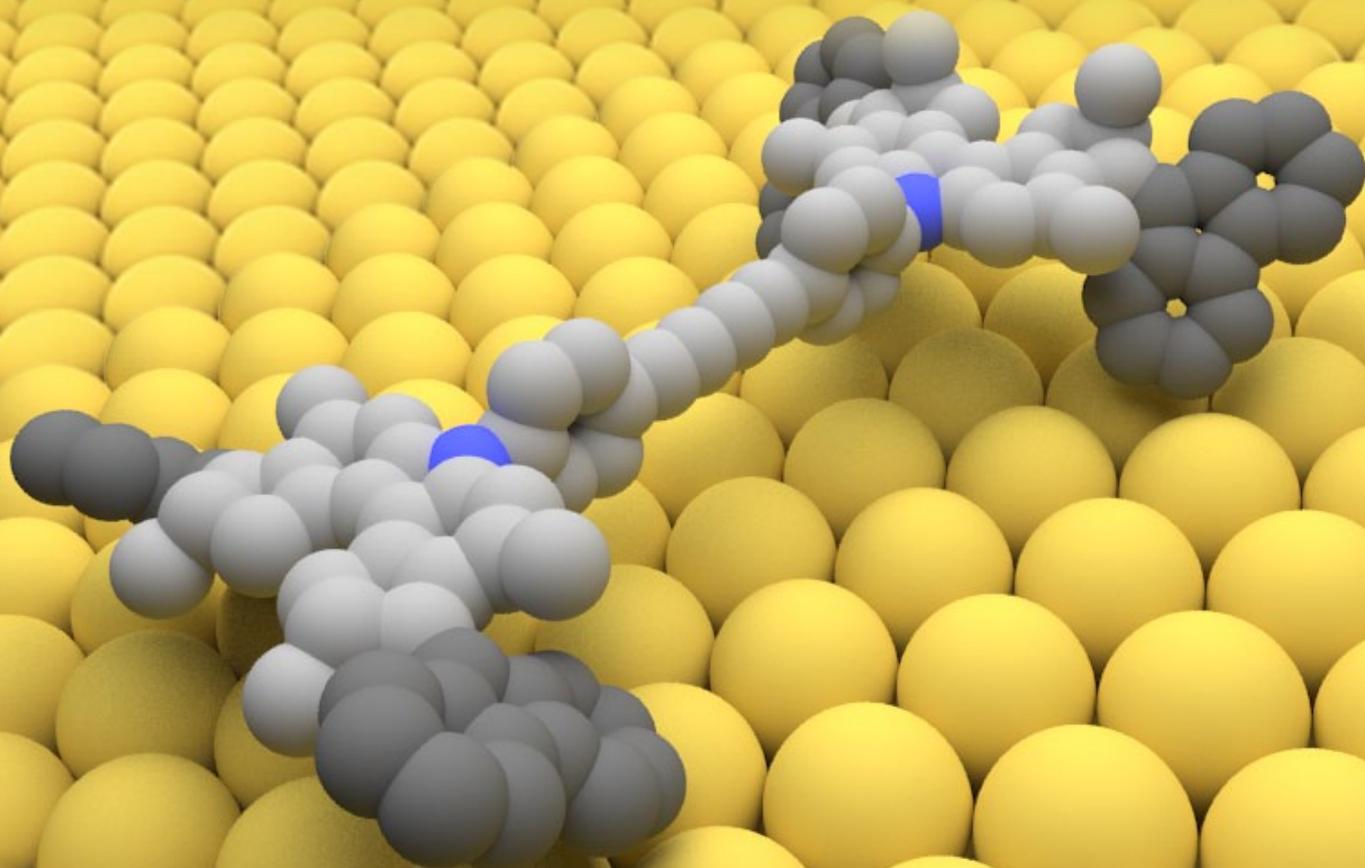


ESPECIAL



Máquinas moleculares

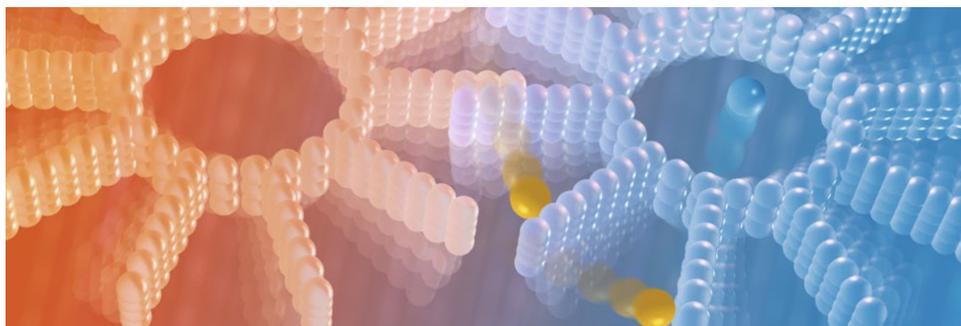
SCIENTIFIC
AMERICAN™

INVESTIGACIÓN
Y CIENCIA

ESPECIAL

Máquinas moleculares

CONTENIDO



Una selección de nuestros mejores artículos para ahondar en la ciencia de **las máquinas moleculares**.

Lego molecular

Ch. E. Schafmeister
Investigación y Ciencia, abril 2007

Rotaxanos.

Nanointerruptores orgánicos

Kristin Leutwyler
Investigación y Ciencia, noviembre 1994

Motores moleculares.

Diseño y síntesis

José Pérez Sestelo
Investigación y Ciencia, marzo 2000

Motores moleculares reversibles

José Vicente
Investigación y Ciencia, marzo 2007

Nanotecnología de doble hélice

Nadrian C. Seeman
Investigación y Ciencia, agosto 2004

Motores moleculares

R. Dean Astumian
Investigación y Ciencia, septiembre 2001

INCLUYE EL ARTÍCULO:

Musculación

Toshio Yanagida

Motores microscópicos

Jordan H. Horowitz y Juan M. R. Parrondo
Investigación y Ciencia, marzo 2013

Propulsión y conducción de nanorrobots

Thomas E. Mallouk y Ayusman Sen
Investigación y Ciencia, julio 2009

INCLUYE EL ARTÍCULO:

Micronadadores coloidales

Pietro Tierno y Francesc Sagués

Computación molecular

Mark A. Reed y James M. Tour
Investigación y Ciencia, agosto 2000

Nanocomputadores de barras cruzadas

Philip J. Kuekes, Gregory S. Snider y R. Stanley Williams
Investigación y Ciencia, enero 2006

EDITA

Prensa Científica, S.A.
Muntaner, 339 pral. 1ª, 08021 Barcelona (España)
precisa@investigacionyciencia.es
www.investigacionyciencia.es

Copyright © Prensa Científica, S.A. y Scientific American, una división de Nature America, Inc.

ESPECIAL n.º 24 ISSN: 2385-5657



Una colección sencilla de pequeños bloques de construcción se aplican al diseño y la fabricación de estructuras nanométricas, programadas para adoptar cualquier forma deseada

MOLECULAR

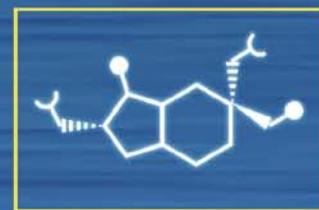
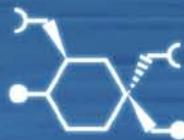
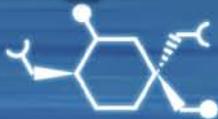
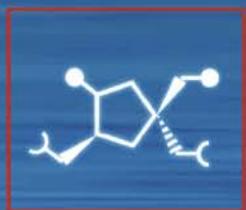
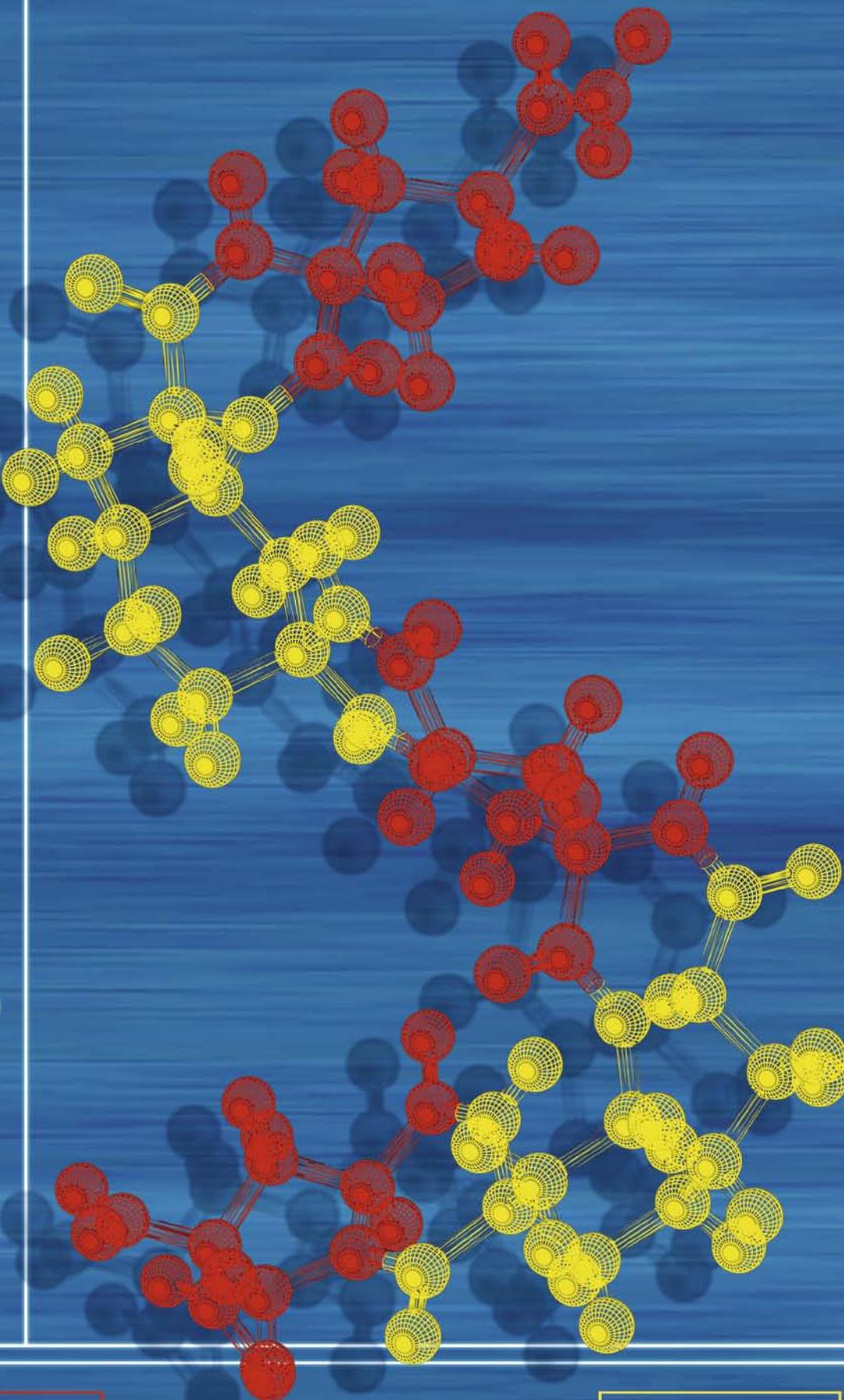
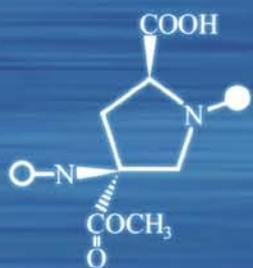
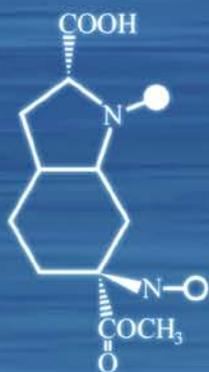
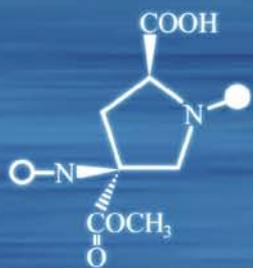
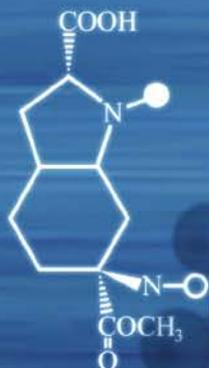
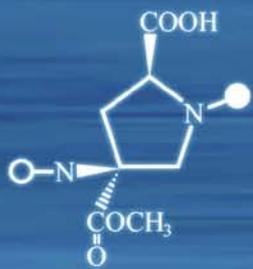
Christian E. Schafmeister

Las proteínas, las “nanomáquinas” fundamentales para la vida, han ilustrado a un gran número de científicos que, como yo, se dedican al desarrollo de nanomaquinaria. Constituyen moléculas de gran tamaño: contienen entre cientos y miles de átomos; oscilan entre unos pocos nanómetros (milmillonésima parte de un metro) y unos diez nanómetros de ancho. Nuestro organismo cuenta con al menos 20.000 proteínas. Entre otras funciones, son responsables de la contracción muscular, la digestión de la comida, la construcción de los huesos, la detección del entorno y el reciclaje permanente de cientos de pequeñas moléculas en nuestras células.

En 1986, siendo estudiante universitario de química, soñaba con la posibilidad de diseñar y sintetizar macromoléculas (moléculas con más de 100 átomos) que realizaran las asombrosas tareas que llevan a cabo las proteínas y otras más. Mi experiencia con la programación de ordenadores empezó con la aparición de los primeros TRS-80, a finales de los años setenta. Pensaba que sería maravilloso si la construcción de máquinas moleculares complejas fuera tan fácil como el desarrollo de programas informáticos. Me proponía crear un “lenguaje de programación para la materia”: una combinación de *software* y química que describiera la forma de una nanomáquina y determinara luego la secuencia de procesos que debería realizar un químico o un robot para la construcción del nanodispositivo.

Sin embargo, la construcción de nanomáquinas a partir de proteínas de diseño tropieza con un obstáculo importante. Una proteína consta de una cadena lineal simple, formada por una secuencia específica de aminoácidos extraídos de un repertorio de tan sólo 20. Hasta aquí bien. Pero las características de una proteína y las funciones que desempeña dependen de su forma. Al poco de constituirse, la cadena aminoacídica colapsa en una maraña de hélices y otras estructuras, a través de un complejo proceso de plegamiento proteico. La secuencia de aminoácidos determina la forma final, pero predecir qué forma proteica corresponde a una secuencia aminoacídica concreta constituye uno de los mayores retos científicos por resolver.

OBTENCION DE NANOESTRUCTURAS de inspiración proteica: a partir de una colección de bloques de construcción moleculares (*abajo*) diseñados para unirse entre sí se fabrican macromoléculas rígidas cuya forma final está predeterminada. El proceso guarda semejanza con la construcción de estructuras a partir de piezas de lego.



Unos 20 años después de empezar a soñar con la construcción de nanomáquinas, mi laboratorio ha desarrollado un método de producción de macromoléculas con formas predecibles, así como los programas informáticos necesarios para el diseño de las mismas. Nuestro trabajo se inspira en la modularidad de las proteínas naturales. No remeda, en cambio, el colapso espontáneo de las cadenas aminoacídicas; evitamos así el problema del plegamiento.

Con el desarrollo de esa técnica nos proponemos crear moléculas que lleven a cabo funciones específicas. Por botón de muestra: sensores, macromoléculas que cambian de forma y color cuando se unen a moléculas diana concretas, como la glucosa, toxinas o armas químicas. La formación del nuevo enlace desencadena en el sensor el movimiento conjunto de dos grupos fluorescentes; ello provoca un cambio de color que indica la presencia de la molécula diana en la muestra. Se aplica el mismo método a la creación de moléculas bisagra que se abren y cierran en respuesta a una señal externa, lo que constituye un paso hacia la construcción de accionadores, válvulas moleculares y memorias de ordenador.

En última instancia, nuestra técnica conducirá a un método más refinado de construcción de nanomáquinas. Se

utilizaría para la fabricación de nanoherramientas complejas; por ejemplo, un ensamblador que, al igual que el ribosoma responsable de la síntesis proteica en las células, montaría nanomáquinas bajo control externo del programador. Por ahora, esta segunda fase del proyecto pertenece al dominio de los sueños.

Lecciones de la naturaleza

Cuando acabé mis estudios universitarios en 1990, pensaba que el camino para la construcción de nanomáquinas dependía de la deducción de las reglas que rigen el plegamiento proteico y de su aplicación a la obtención de nuevas proteínas. Entré, por esas fechas, en el grupo de cristalografía de proteínas de Robert M. Stroud, de la Universidad de California en San Francisco. Los cristalógrafos obtienen cristales de las proteínas y determinan luego, mediante rayos X, la disposición tridimensional exacta de sus átomos. Esa herramienta me permitió valorar con detalle la complejidad y belleza de la estructura proteica.

Invertí cuatro años en la consecución de 4HB1, una proteína sintética. Comencé por ensamblar un gen artificial y lo inserté en bacterias, que llevaron a cabo la expresión del mismo: es decir, fabricaron la proteína codificada por el ADN. Cristaliqué luego la proteína resultante. Por fin, determiné su estructura cristalina. Resultó excitante comprobar que 4HB1 adoptaba la conformación proyectada.

Pero 4HB1 no nos llevó a ninguna parte. Se comportaba sólo como una proteína artificial perfectamente plegada. El experimento no desveló las reglas sencillas que necesitábamos para crear otras proteínas con la forma deseada, lo que nos llenó de frustración. Sucedió lo contrario: la complejidad del plegamiento proteico sugería que tales reglas podían no existir. En 1997, mientras terminaba el doctorado, llegué a la conclusión de que una forma mejor de fabricar nanomáquinas a medida consistiría en obtenerlas a partir de un número limitado de bloques de construcción que no adoptaran la forma final mediante el sistema de plegamiento proteico.

La idea no era nueva. En 1995, Brent Iverson, de la Universidad de

Texas en Austin, había desarrollado bloques de construcción que se unían entre sí para generar polímeros cortos. Los oligómeros conseguidos se autoensamblaban luego para generar estructuras plegadas conforme los grupos dadores ricos en electrones atraían a los grupos aceptores deficientes en electrones.

Al propio tiempo, Sam Gellman, de la Universidad de Wisconsin en Madison, y Dieter Seebach, del Instituto Politécnico Federal Suizo en Zúrich, estaban desarrollando otros polímeros sintéticos: beta-péptidos, cadenas flexibles de beta-aminoácidos (moléculas en su mayoría no naturales cuya estructura difiere ligeramente de la de los aminoácidos habituales, los alfa-aminoácidos) que se pliegan en hélices retorcidas.

Esos nuevos métodos de construcción de macromoléculas que adoptaban una forma específica parecían arrojar nueva luz a la cuestión. Sin embargo, no hacían más que sustituir un problema de plegamiento por otro. La dificultad estribaba en que las proteínas naturales y esas moléculas sintéticas poseen cadenas de moléculas conectadas mediante enlaces sencillos que confieren a la estructura un alto grado de libertad para retorcerse en cualquier posición a lo largo de toda su longitud. El modo en que uno de estos monómeros se orienta para adquirir la forma final depende de la compleja interacción entre las fuerzas de atracción y fuerzas de repulsión que operan entre los distintos bloques de construcción a lo largo de la cadena.

Yo tenía en mente un método más radical: se trataba de ganar control sobre la forma del producto final mediante la eliminación del sistema habitual de plegamiento. Para ello se requerían bloques de construcción rígidos, que se unieran a través de *pares* de enlaces: se obtendrían así macromoléculas rígidas en escalera. Esa idea se había ensayado con anterioridad. En 1987, Fraser Stoddart, entonces en la Universidad de Sheffield, introdujo el concepto de "lego molecular": la formación de cintas y collares moleculares a partir de bloques de construcción.

Me agregué al grupo de Gregory Verdine, de la Universidad de Harvard, con el propósito de aprender química orgánica sintética. Tras dedi-

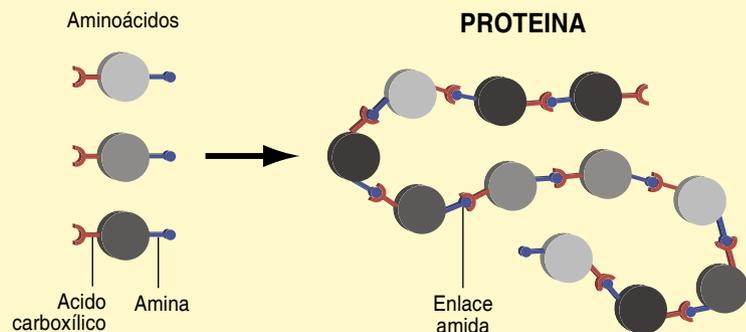
Resumen/Nanolego

- Las proteínas corresponden a nanomáquinas naturales que cumplen múltiples funciones biológicas. Constan de cadenas aminoacídicas flexibles que adoptan conformaciones complejas; por esa razón no resulta tarea fácil la predicción de la forma, ni de la función de nuevas proteínas.
- Se han desarrollado bloques de construcción moleculares, los bis-aminoácidos, que se unen entre sí para formar estructuras de tipo proteico que poseen formas rígidas, altamente predecibles y programables.
- Las aplicaciones potenciales de estos bis-péptidos incluyen fármacos, enzimas, sensores químicos, nanoválvulas y dispositivos de almacenamiento de memoria para ordenadores.

DIFERENCIAS ENTRE BIS-PEPTIDOS Y PROTEINAS NATURALES

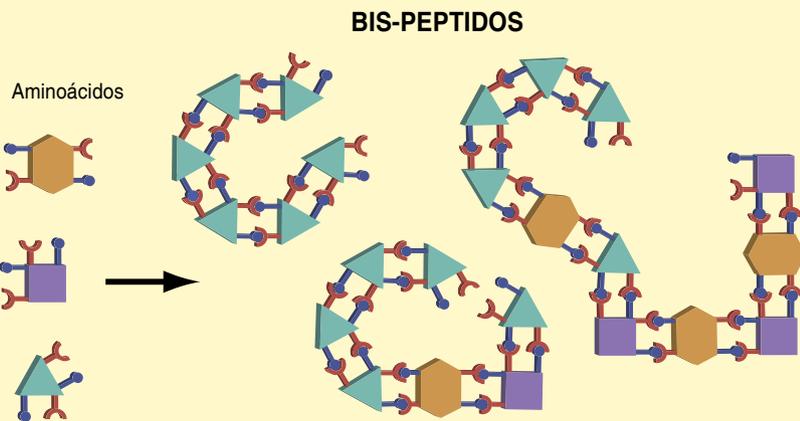
PROTEINAS NATURALES

A partir de un repertorio de 20 aminoácidos que se enlazan entre sí, los organismos fabrican cadenas flexibles: se denominan péptidos cuando constan de pocos aminoácidos y proteínas cuando son de mayor tamaño. Los aminoácidos se unen mediante enlaces amida entre los grupos amina y ácido carboxílico. La forma final de la proteína depende del complejo juego de interacciones que tienen lugar entre los aminoácidos a lo largo de la cadena. Esta complejidad hace que resulte extremadamente difícil predecir qué forma adoptará una secuencia de aminoácidos determinada.



BIS-PEPTIDOS SINTETICOS

Los químicos han sintetizado una biblioteca de bloques de construcción, los bis-aminoácidos, que cuentan con dos pares de aminas y ácidos carboxílicos. Cuando se unen entre sí, estos monómeros forman una cadena rígida, o bis-péptido, que posee una forma predecible, predeterminada por la secuencia de bis-aminoácidos. Por tanto, se pueden diseñar y construir nanoestructuras simplemente mediante la combinación de bis-aminoácidos en un orden específico.



car dos años a la síntesis de aminoácidos y a la búsqueda de un camino para mi ambicioso proyecto, encontré un artículo sobre la dicetopiperazina: un anillo de seis átomos que contiene dos grupos amida. Los enlaces amida mantienen unidos los aminoácidos que constituyen una cadena proteica, igual que una fila de personas tomadas de la mano. En una dicetopiperazina, dos aminoácidos se unen como dos personas frente a frente y con las manos enlazadas, cerrando un anillo con los brazos.

Los químicos han desarrollado numerosas reacciones para la formación de enlaces amida entre aminoácidos.

La estructura de la dicetopiperazina es sobradamente conocida, pues ésta constituye uno de los subproductos indeseados que interfieren en la síntesis de proteínas. Utilizaría la formación de la dicetopiperazina para unir mis bloques de construcción.

El resto de la idea cuajó enseguida. De acuerdo con la imagen anterior, los dos “brazos” de un aminoácido corresponden a una amina y un ácido carboxílico (a diferencia de los brazos de las personas, sin embargo, estos grupos químicos apenas sobresalen del cuerpo). Un enlace amida vendría a ser, pues, una mano izquierda que sujeta una mano derecha. Un bloque

de construcción, o monómero, equivaldría a un grupo de dos personas atadas fuertemente (por ejemplo, espalda con espalda), cada una con los brazos enfrente de ella. Para conectar un monómero con el siguiente, una de las dos “personas” del primer monómero sostendría ambas manos de una de las dos personas del segundo monómero: se formaría así el anillo de dicetopiperazina.

En términos químicos, cada monómero constaría de una molécula rígida compuesta, en su mayor parte, por átomos de carbono. En ella se alojarían dos aminoácidos, cuyas aminas y ácidos carboxílicos habrían de situarse de suerte tal, que pudieran enlazarse con otros monómeros. Dos monómeros se unirían mediante un aminoácido de cada uno, que reaccionarían para formar un anillo de dicetopiperazina. Denominamos a estos monómeros “bis-aminoácidos”, ya que cada uno contiene dos aminoácidos. Y dado que las cadenas de aminoácidos se llaman péptidos, una cadena de bis-aminoácidos sería un “bis-péptido”.

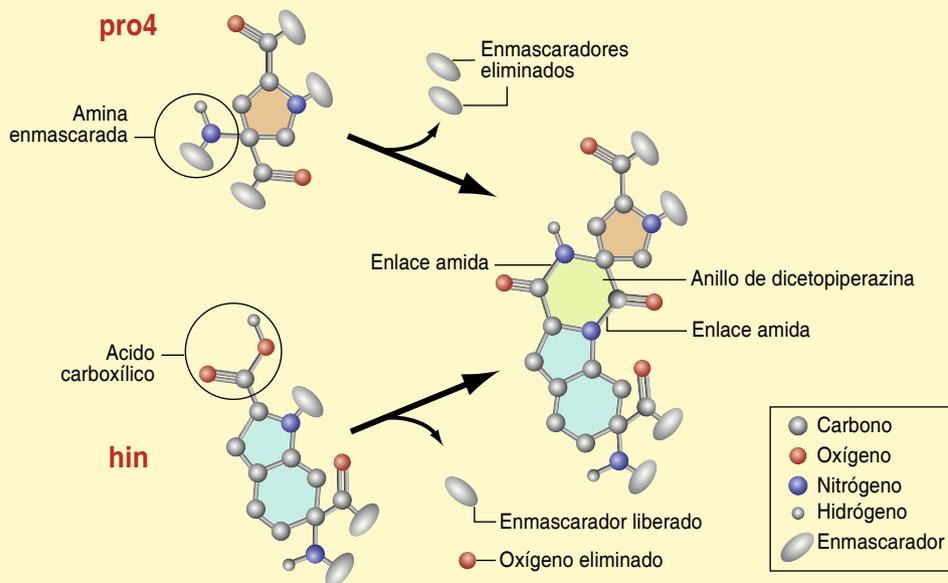
Bis-aminoácidos y bis-péptidos

Con los “planos” de una serie de bloques de construcción en la mano, puse en marcha un nuevo laboratorio en la Universidad de Pittsburgh. Allí, mis colaboradores y yo desarrollaríamos la química sintética necesaria para hacer realidad nuestro sueño. En dos años, Christopher Levins, uno de mis primeros doctorandos, había sintetizado los primeros bis-aminoácidos. Empezó con la hidroxiprolina, un componente (disponible comercialmente) del colágeno, la proteína que fortalece el cartílago, los ligamentos y tendones. (Otro grupo había utilizado con anterioridad esa molécula para la obtención de estructuras semejantes a nuestros diseños monoméricos.)

Mediante una ruta sintética de nueve etapas, Levins transformó la hidroxiprolina en cuatro tipos de bloques de construcción: pro4(2S4S), pro4(2S4R), pro4(2R4S) y pro4(2R4R). Los llamamos “pro4” ya que todos guardan semejanza con el aminoácido prolina y cuentan con un aminoácido adicional sobre el carbono 4. Las etiquetas “S” y “R” indican la orientación de los grupos unidos al carbono 2 y al carbono 4.

LA QUIMICA

En la práctica, los bis-aminoácidos se sintetizan con grupos protectores, o enmascaradores, para evitar la formación indiscriminada de enlaces entre ellos. Mediante una serie de etapas (*no ilustradas aquí*), se unen dos monómeros (por ejemplo "pro4" y "hin"): se induce la formación entre ellos de un anillo de dicetopiperazina (*verde*). La rigidez de éste y los otros anillos resta flexibilidad a la estructura y asegura la predictibilidad de la forma resultante.



Los cuatro productos se mantienen estables (en forma de polvo seco) tras meses de almacenamiento a temperatura ambiente.

Sintetizamos esos bloques de construcción monoméricos con grupos protectores unidos a las aminas (para evitar la formación de enlaces amida hasta el momento deseado) y con uno de los ácidos carboxílicos en forma de éster (una versión modificada, menos reactiva). Para sintetizar un bis-peptido, ensamblamos los bloques de construcción en la secuencia de interés mediante enlaces sencillos; los unimos luego mediante un segundo enlace para aumentar la rigidez. A través de esas dos fases, Levins obtuvo las primeras estructuras sencillas hechas de monómeros de pro4.

Se acomete la primera fase con la técnica de síntesis en fase sólida. Para ello se utilizan bolitas de resina polimérica que incorporan un grupo amina. El ácido carboxílico del primer bloque de construcción forma un enlace amida con una de las aminas; de ese modo, el bloque de construcción queda fijado sobre la bolita de resina. Trabajar con un exceso de bloques de construcción asegura que

todas las aminas de la resina posean un bloque de construcción unido a ella. Un lavado rápido con un disolvente arrastra los productos secundarios y los bloques de construcción sobrantes. A continuación, se elimina, mediante un lavado con una base, el grupo protector de una de las dos aminas del nuevo bloque de construcción añadido (las dos aminas poseen grupos protectores distintos, de manera que se produce la remoción de sólo uno de ellos). Se añade un segundo bloque de construcción, que se une al primero mediante su ácido carboxílico y la amina libre. Se elimina, entonces, la protección de una de sus aminas, se añade un tercer monómero, y así sucesivamente.

Este proceso de construcción avanza con lentitud. La adición de un monómero tarda alrededor de una hora, pues debe esperarse a que casi todas las aminas libres incorporen su bloque de construcción. Para nuestra fortuna, el trabajo se automatiza con robots empleados para la síntesis de péptidos; construyen en paralelo y sin dificultad un número notable de secuencias.

Cuando se termina una cadena, se elimina, mediante un ácido fuerte, la

bolita de resina polimérica; se quita luego el grupo protector de la segunda amina de cada bloque de construcción. Se acomete entonces la segunda fase de la síntesis bis-peptídica: mediante la adición de una disolución básica se logra que la amina libre de cada bloque ataque al éster del bloque precedente para formar un segundo enlace amida. Con dos enlaces amida conectando cada par de bloques de construcción adyacentes, la molécula gana rigidez y adopta una forma predecible y bien definida.

Pronto descubrimos que los bis-peptidos eran solubles en agua y otros disolventes orgánicos polares (disolventes que se mezclan con el agua). La hidrosolubilidad de los bis-peptidos facilita su estudio; asimismo, sugiere que podríamos utilizarlos para el desarrollo de nuevos medicamentos, pues éstos deben disolverse y dispersarse a través del torrente sanguíneo.

Programación de formas

Los bis-aminoácidos que componen nuestros bis-peptidos se unen de modo similar a como lo hacen las piezas del lego. En concreto, guardan semejanza con los ladrillos cuyo relieve superior se adapta a los huecos de su cara inferior. Mediante el apilamiento de varios ladrillos del mismo tipo se obtiene una superficie curva; la forma depende de qué aminoácido se escoja. A partir de sólo dos tipos de ladrillos se construyen 2^N formas distintas (N corresponde al número de ladrillos en la pila). Un bis-peptido de 10 bloques de longitud, hecho a partir de nuestros cuatro bis-aminoácidos tipo pro4, podría adoptar cualquiera de un millón (4^{10}) de formas. Cuanto más amplio sea el abanico de bloques de construcción, mayor será nuestra capacidad de controlar la forma final de la macromolécula. El desafío se centra, pues, en el diseño y síntesis de secuencias "bis-aminoacídicas" útiles.

La clave para el diseño de bis-peptidos con formas determinadas reside en el conocimiento de la forma que nuestros bis-aminoácidos adoptan cuando se unen entre sí. Esta información —que vendría a ser el tamaño de cada ladrillo y la curvatura de sus relieves— constituiría la base para nuestro "lenguaje de programación de la materia". Una