



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**POSGRADO EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES**  
**CENTRO DE NANOCIENCIAS Y NANOTECNOLOGÍA**

“Fabricación de nanoalambres conductores de oro usando moldes por medio de ADN”

**TESIS**  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIA E INGENIERÍA DE MATERIALES

PRESENTA:  
**M.C. David Daniel Ruiz Arce**

TUTOR PRINCIPAL

Dr. Enrique C. Samano Tirado  
CENTRO DE NANOCIENCIAS Y NANOTECNOLOGÍA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR

Dr. Gerardo Soto Herrera  
CENTRO DE NANOCIENCIAS Y NANOTECNOLOGÍA

Dr. Armando Hernández García  
INSTITUTO DE QUÍMICA

Ensenada, Baja California, México; JUNIO 2022



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



©2022

David Daniel Ruiz Arce

Todos los derechos reservados

## Agradecimientos

Este proyecto de tesis no hubiera sido posible sin el apoyo, dedicación y esfuerzo de Karen Lizbeth Cardos Tisnado, gracias por siempre motivarme a dar siempre un poco más de mí, por siempre estar ahí en los momentos adecuados, por las horas de laboratorio, en casa y por todo lo que hemos pasado juntos para estar aquí. Tú y nuestra hija Jade han sido durante todo este tiempo mi mayor motivo. A ustedes les dedico esta tesis. A mi familia que pese a nuestras diferencias también han estado presente, a todos y cada uno de ustedes, gracias.

Quisiera agradecer al Dr. Enrique C. Samano Tirado por su guía y sobre todo por compartir su conocimiento durante todos estos años. También al Dr. Thom LaBean por el apoyo brindado en su laboratorio en North Carolina State University (NCSU). Quiero agradecer también al Dr. Tuby Tung de la misma universidad, por la obtención de las imágenes en TEM. Al Dr. Artur Erbe y Dr. Peter Zahan, Turkan Byrak y Shima Jazavandi-Ghamsari del centro de investigación Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR), por su aportación en la elaboración de contactos y medidas de transporte eléctrico de los nanoalambres y por permitirme colaborar con tan prestigioso grupo. A todos ustedes, ha sido un honor cruzar nuestros caminos.

Además, agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por la oportunidad de pertenecer al Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN), espero estar a la altura del grupo científico que me ha formado. Al proyecto de CONACYT, “Síntesis de nanoestructuras metálicas basadas en ADN y sus aplicaciones”, No. 176352, dentro de la Convocatoria de Investigación Científica Básica. También al proyecto PAPIIT-DGAPA-UNAM, Clave: IG100417, “Nanoestructuras plasmónicas basadas en origami de ADN”. En general quiero dar gracias al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por el apoyo económico que me permitió realizar mis estudios de posgrado.

## Resumen

A lo largo de la historia, el ser humano ha buscado la manera de imitar lo que observa en la naturaleza dando paso a lo que se conoce como materiales biomiméticos. Prueba de ello es la biomolécula de ADN con la peculiaridad de reconocimiento Watson-Crick. Esta característica inherente del ADN ha sido utilizada para la construcción de estructuras complejas con resolución nanométrica. Esto dio paso a la técnica de Origami de ADN en diferentes campos de aplicación, como la nanoelectrónica, al facilitar la síntesis de nanoalambres de oro con longitud controlada, tema central de este trabajo de investigación.

La fabricación de estos nanoalambres comienza con el diseño de un módulo de ADN, similar los contenedores para fundir metal. La longitud del nanoalambre depende del número de módulos que se ensamblen. La unión de módulos es programada al extender protuberancias de ADN para que se conecten unívocamente, siguiendo el código de color del espectro de la luz. De esta forma fue posible generar dímeros, trímeros, tetrámeros y pentámeros, e inclusive la síntesis de estructuras sin control. En el interior de cada contenedor de ADN se colocan nanopartículas que sirven como centros de nucleación para la fabricación de nanoalambres.

Esta tesis esta dividida en ocho secciones que corresponde a introducción, antecedentes, hipótesis, objetivos, metodología, resultados y discusión, proyecto adicional y referencias. La primera sección se introduce la técnica de origami de ADN, y el por qué de este tema central de tesis, así como la funcionalización de estructuras basadas en ADN y medidas de transporte de carga. En los antecedentes se presentan los estudios realizados hasta la actualidad sobre moldes que utilizan la técnica de origami de ADN para contener la metalización mediada por “semillas” de oro en su interior. La hipótesis y objetivos que dan lugar a la presente tesis, así como la metodología detallada que se llevó a cabo. Por último, en las siguientes secciones encontraremos los resultados y discusiones, donde se demuestra la formación exitosa de módulos, estructuras secundarias, usando un andamio de cadena sencilla tipo circular compuesto de 7560 nt. De igual forma, se presentan los resultados de bioconjugados, nanoalambres metálicos, la elaboración de contactos por EBL, y las medidas de transporte eléctrico.

## **Abstract**

Throughout the history of humankind, human beings have always tried to replicate natural biological objects to their benefit. Artificial materials are known as biomimetics materials. Proof of this is the DNA and its unique Watson-Crick base pairing. This inherent feature allows the use of DNA as a construction material and synthesizes complex structures with nanometric resolution. DNA Origami is the most popular technique used in different fields, like nanoelectronics. The DNA facilitates the build-up and control of the length of gold nanowires, which is the main object of this thesis.

The nanowire manufacturing starts with designing a module based on the DNA Origami technique. The module serves as a container like the ones used in metallurgic to melt metal. The preset of the nanowire length is by extending small bumps which connect uniquely following the light spectrum as code. This technique allows the generation of dimers, trimers, tetramers, pentamers, and even without control.

The conformation of the thesis is as follows. The first section describes the DNA Origami technique, the functionalizations of DNA structures, and electrical transport measurement. Next, the background presents the previous and current work related to DNA modules used to metalize gold seeds contained inside. Then, the hypothesis and objectives are the backbones of the research work. The methodology has the details of the processes done. Finally, the results and discussions demonstrated the successful creation of DNA modules secondary structures by a single circle strand of DNA of 7560 nucleotides. Additionally, the results show bioconjugates, metallic nanowires, contact fabrication by Electron Beam Lithography (EBL), and electrical transport measurements.

## CONTENIDO

I. INTRODUCCIÓN	12
I.1. Métodos “top-down” y “bottom-up”	12
I.2 ADN	14
I.3. Nanotecnología basada en ADN	15
I.4. Origami de ADN	16
I.5. Funcionalización y metalización de estructuras de Origami de ADN	20
I.6. Medidas de transporte eléctrico en nanoestructuras metálicas basadas en ADN.	23
II. ANTECEDENTES	26
II.1. Vaciado metálico en moldes de ADN	26
II.2. Nanoalambres basados en moldes de ADN	29
II.3. Caracterización eléctrica de nanoalambres basados en moldes de ADN	31
III. HIPÓTESIS	33
IV. OBJETIVOS	33
IV.1. Objetivo general	33
IV.2. Objetivos particulares	33
V. METODOLOGÍA	34
V.1. Diseño y simulación	34
V.2. Síntesis	40
V.2.1 Preparación de grapas (ssDNA) y andamio (ssDNA)	40
V.2.2. Diseño de “pools” de grapas	40
V.2.3. Annealing de módulos de origami de ADN	42
V.2.3.1. Cálculos de annealing módulo Morado	43
V.2.3.2. Cálculos de annealing módulo Azul	43
V.2.3.3. Cálculos de annealing módulo Verde	44
V.2.3.4. Cálculos de annealing módulo Amarillo	44
V.2.3.5. Cálculos de annealing módulo Naranja	45
V.2.4. Purificación de nanoestructuras	45
V.2.5. Preparación de grapas de enlace y “backfill”	46
V.2.6. Tratamiento de nanopartículas de oro	49
V.2.7. Funcionalización AuNP:ssADN	49
V.2.8. Purificación de AuNPs	50
V.2.9. Conjugados de estructuras modulares con AuNPs	52
V.2.10. Preparación de las estructuras para su visualización.	52

V.2.11. Metalización	54
V.2.12 Fabricación de contactos por EBL	55
V.3. Caracterización	56
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	59
VI.1. Electroforesis en gel de agarosa	59
VI.1.1 Gel de módulo Morado	60
VI.1.2. Gel de módulo Azul	61
VI.1.3. Gel de módulo Verde	62
VI.1.4. Gel de módulo Amarillo	63
VI.1.5. Gel de módulo Naranja	64
VI.2. Visualización de módulos y nanoalambres	65
VI.2.1. Módulos y nanoalambres	66
VI.2.2. Conjugados AuNP:Módulos	74
VI.2.3 Unión controlada de los módulos conjugados	78
VI.2.4 Nanoalambres metálicos	82
VI.3 Transporte de carga	84
VII. CONCLUSIONES	90
VIII. PROYECTO ADICIONAL	92
IX. REFERENCIAS	96
Material suplementario	101
A. Andamio	101
A.a. Secuencia	101
A.b. Imagen de andamio por AFM	102
B. Pools	103
B. a. Pool 1	103
B. b. Pool 2	107
B. c. Pool 3	107
B. d. Pool 4	107
B. e. Pool 5	107
B. f. Pool 6	108
B. g. Pool 7	108
B. h. Pool 8	108
B. i. Pool 9	108
B. j. Pool 10	109



B. k. Pool 11	109
B. l. Pool 12	109
B. m. Pool 13	109
C. Estudio del depósito sobre SiO <sub>2</sub> variando la concentración de Mg <sup>2+</sup>	110
D. Diseños en caDNAno	113
D. a. Morado	113
D. b. Azul	114
D.d. Verde	115
D.e. Amarillo	116
D.f. Naranja	117
E. Unión de módulos	118
E.a. Morado+Azul	118
E.b. Azul+Verde	119
E.c. Verde+Amarillo	120
E.d. Amarillo+Naranja	121
F. Variaciones de las muestras en geles de electroforesis	122
F.a. Módulos Morados	122
F.b. Módulos Azul	122
F.a. Módulos Verde	123
F.a. Módulos Amarillo	123
F.a. Módulos Naranja	124

## FIGURAS

Figura 1. Segmento de una estructura helicoidal del ADN (Alberts et al., 2014). .....	15
Figura 2. Esquematización de la formación de una estructura "Emoji" de Origami de ADN (Ruiz, et al., 2017). .....	17
Figura 3. Diseño de origami de ADN idealizado en cilindros (Rothmund, 2006). .....	18
Figura 4. Proceso de bioconjugación de nanoestructuras de origami circular con nanopartículas de oro de 5 nm (Ruiz, et al., 2017). .....	21
Figura 5. Imágenes de SEM de nanoestructuras metálicas fabricadas a partir de origami de ADN. a y d) forma H, b y e) barras paralelas, c y f) anillos. Barras de escala a 500 nm (Pilo-Pais et al., 2011). .....	23
Figura 6. a) Esquema de la síntesis de nanoestructuras metálicas, b) bocetos del molde de ADN exhibiendo las cadenas de captura e imágenes de TEM sin semillas y con semillas (barra de escala a 40 nm), c y d) caricatura e imágenes de TEM con semillas y estructuras metálicas de dímeros unidos lado a lado y cara a cara respectivamente (barra de escala a 50 nm) (Helmi et al., 2014). .....	27
Figura 7. Esquema de síntesis de nanoestructuras metálicas usando moldes de ADN como medio de construcción. La barra de escala en las imágenes en SEM es de 20 nm (Sun et al., 2014). ....	28
Figura 8. Nanoalambres de oro obtenidos por metalización volumétrica. Imágenes de TEM de diferentes nanoalambres con distintas cantidades de precursor de oro H[AuCl <sub>4</sub> ]: tiempo de metalización a) un minuto b) dos minutos y c) tres minutos. d) Imagen de SEM con nanoalambre después de a cuatro minutos de metalización. La barra de escala corresponde a 50 nm (Bayrak, Helmi, et al., 2018). .....	29
Figura 9. Imágenes de tSEM de la formación de multimeros y estructuras metálicas con longitud controlada. a) Dímeros, b) trímeros, c) tetrámeros y d) pentámeros (Ye et al., 2019). .....	30
Figura 10. Curvas de I-V de diferentes nanoalambres medidos a temperaturas de 4.2 K y 293 K (Bayrak, Helmi, et al., 2018). .....	31
Figura 11. Diseño original de módulo hexagonal obtenido por caDNAno. ....	35
Figura 12. Simulación en CanDo de la estructura circular de origami de ADN. a) Vista frontal, b) vista horizontal y c) vista lateral mostrando fluctuaciones térmicas. La región de mayor y menor estabilidad se representa en color azul y rojo, respectivamente. ....	35
Figura 13. Estructura molecular de módulos por Molecular Viewer de Autodesk. ....	36
Figura 14. Diseño de sitios de enlace y grapas extendidas de estructuras modulares en caDNAno. ....	37
Figura 15. Representación de los sitios de amarre. A) Vista anterior, b) vista posterior, c) simbología para identificar las grapas extendidas y los sitios de amarre; d) acoplamiento de cinco módulos hexagonales. ....	38
Figura 16. Posicionamiento de semillas, nanopartículas de oro, en la cavidad de una estructura modular. a) Selección de hélices para extender grapas. b y c) Posición y secuencia de para NP1 y NP2 respectivamente. ....	39
Figura 17. Gel de electroforesis de agarosa al 1% de estructuras modulares Moradas. Escalera de referencia de 10000 pares de bases ("bp" por su acrónimo en inglés). .....	61
Figura 18. Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Azules. Escalera de referencia de 10000 pares de bases ("bp" por su acrónimo en inglés). .....	62
Figura 19. Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Verdes. Escalera de referencia de 10000 pares de bases ("bp" por su acrónimo en inglés). .....	63

Figura 20. Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Amarillas. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés). .....	64
Figura 21. Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Naranjas. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés). .....	65
Figura 22. Micrografía de AFM 2.5 x 2.5 $\mu\text{m}$ de la estructura modular Morada. ....	67
Figura 23. Micrografía de AFM 2.5 x 2.5 $\mu\text{m}$ de la estructura modular Azul.....	68
Figura 24. Micrografía de AFM 2.5 x 2.5 $\mu\text{m}$ de la estructura modular Verde.....	69
Figura 25. Micrografía de AFM 2.5 x 2.5 $\mu\text{m}$ de la estructura modular Amarilla. ....	70
Figura 26. Micrografía de AFM 2.5 x 2.5 $\mu\text{m}$ de la estructura modular Naranja.....	71
Figura 27. Micrografía de AFM 2.5 x 2.5 $\mu\text{m}$ de Nanoalambre sin control.....	73
Figura 28. Micrografía por TEM de nanoalambre sin control.....	74
Figura 29. Micrografías de AFM de conjugados AuNPs:Módulos. a) módulo morado, b) módulo azul, c) módulo verde, d) módulo amarillo y e) módulo naranja. Barra de escala de 500 nm en sección inferior izquierda y corte seccional en parte superior izquierda en cada micrografía. ....	75
Figura 30. Micrografía de AFM de nanoestructuras sin control funcionalizados con AuNPs. ....	77
Figura 31. Micrografía por SEM de formación de conjugados sin control. Barra de escala de 200 nm. ....	78
Figura 32. Micrografías en AFM de dímeros funcionalizados con 2 AuNPs: a) Morado-Azul, b) Azul-Verde, c) Verde-Amarillo y d) Amarillo-Naranja. ....	79
Figura 33. Micrografías en AFM de trímeros funcionalizados con 2 AuNPs: a) Morado-Azul-Verde, b) Verde-Amarillo-Naranja. ....	80
Figura 34. Micrografías en AFM de tetrámeros funcionalizados con 2 AuNPs: a) Morado-Azul-Verde-Amarillo, b) Azul-Verde-Amarillo-Naranja. ....	81
Figura 35. Micrografía en AFM de pentámeros funcionalizados con 2 AuNPs, la nanoestructura básica formada por la unión de los módulos Morado-Azul-Verde-Amarillo-Naranja. ....	82
Figura 36. Dos nanoalambres de oro obtenidos por medio de metalización por reducción química de una nanoestructura modulan: a) nanoalambre de oro de 358.9 nm de longitud b) nanoalambre de oro de 404.8 nm de longitud. ....	83
Figura 37. Diseño del patrón HZDR con almohadillas de contacto de 90 $\mu\text{m}$ . a) Serie de chips escritos sobre $\text{SiO}_x$ , b) amplificación de un chip en donde se exhiben las marcas de alineación y almohadillas. ....	84
Figura 38. Micrografía de SEM de nanoalambres de oro con diseño y posición de contactos en nanoalambres sobre: a) Chip 2-5 y b) Chip 2-2.....	85
Figura 39. Nanoalambre NW-R1 ubicado en el Chip 2-3, NW2. a) Micrografía en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando T varía de -40 $^{\circ}\text{C}$ a temperatura ambiente.....	86
Figura 40. Nanoalambre NW-R2 ubicado en el Chip 1-5, NW3. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando T varía de -40 $^{\circ}\text{C}$ a temperatura ambiente.....	86
Figura 41. Nanoalambre NW-R3 ubicado en el Chip 1-5, NW2. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando T varía de -40 $^{\circ}\text{C}$ a temperatura ambiente.....	87
Figura 42. Nanoalambre NW-C1 ubicado en el Chip 2-5, NW1. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando T varía de -40 $^{\circ}\text{C}$ a temperatura ambiente.....	87

Figura 43. Nanoalambre NW-C2 ubicado en el Chip 2-5, NW2. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando T varía de -40 °C a temperatura ambiente.....	88
Figura 44. Nanoalambre NW-C3 ubicado en el Chip 2-5, NW3. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando T varía de -40 °C a temperatura ambiente.....	88
Figura 45. Diseño y simulación de dos círculos concéntricos. Barra de escala en nm. ....	92
Figura 46. Micrografías por AFM de estructuras de origami de ADN con forma de dos círculos concéntricos. ....	93
Figura 47. Diseño de “T-Bumpers” en la periferia de la estructura. Identificados en color rojo. ....	94
Figura 48. Micrografía de a) 5 x 5 $\mu\text{m}$ y b) 500 x 500 nm de estructuras de origami de ADN con forma de dos círculos concéntricos. Barra de escala nm. ....	95
Figura 49. Micrografía por AFM de andamio de cadena sencilla P7560 de la compañía tilibit nanosystems. ....	102
Figura 50. Micrografías de AFM de 5 x 5 $\mu\text{m}$ y 1 x 1 $\mu\text{m}$ (esquina superior derecha) en donde se exhiben los diferentes depósitos de modulo morado variando la concentración de $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM. ....	110
Figura 51. Micrografías de AFM de 5 x 5 $\mu\text{m}$ y 1 x 1 $\mu\text{m}$ (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de la modulo azul variando la concentración de $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM. ....	110
Figura 52. Micrografías de AFM de 5 x 5 $\mu\text{m}$ y 1 x 1 $\mu\text{m}$ (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de modulo verde variando la concentración de $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM. ....	111
Figura 53. Micrografías de AFM de 5 x 5 $\mu\text{m}$ y 1 x 1 $\mu\text{m}$ (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de modulo amarillo variando la concentración de $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM. ....	111
Figura 54. Micrografías de AFM de 5 x 5 $\mu\text{m}$ y 1 x 1 $\mu\text{m}$ (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de modulo naranja variando la concentración de $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM. ....	111
Figura 55. Micrografías de AFM de 5 x 5 $\mu\text{m}$ y 1 x 1 $\mu\text{m}$ (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de Nanoalambres sin control variando la concentración de $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.....	112
Figura 56. Diseño de modulo Morado con 6 grapas de enlace.....	113
Figura 57. Diseño de modulo Azul con 6 grapas de enlace.....	114
Figura 58. Diseño de modulo Verde con 6 grapas de bloqueo para estructura Morado y 6 grapas de bloqueo para estructura Naranja.....	115
Figura 59. Diseño de modulo Amarillo con 5 grapas de enlace. ....	116
Figura 60. Diseño de modulo Naranja con 6 grapas de enlace. ....	117
Figura 61. Mecanismo de unión de entre modulo Morado y Azul. ....	118
Figura 62. Mecanismo de unión de entre modulo Azul y Verde. ....	119
Figura 63. Mecanismo de unión de entre modulo Verde y Amarillo. ....	120
Figura 64. Mecanismo de unión de entre modulo Amarillo y Naranja. ....	121

# I. INTRODUCCIÓN

## I.1. Métodos “top-down” y “bottom-up”

La microelectrónica ha concentrado sus esfuerzos en el desarrollo de dispositivos cada vez más pequeños, rápidos, eficientes y económicos. En 1965, Gordon Moore publicó un artículo en la revista “Electronics” en donde predijo que cada dos años se duplicaría el número de transistores en un circuito integrado, esto se conoce como ley de Moore y esta tendencia se ha cumplido desde entonces (Moore, 1965). No obstante, el progreso en esta dirección tiene un límite físico por técnicas convencionales como fotolitografía. De ahí que la investigación de nuevos materiales que, más allá del silicio que ha sido el elemento semiconductor convencional, permite seguir con la integración de circuitos electrónicos con viabilidad económica.

Desde hace ya varias décadas, se ha desarrollado un creciente interés por la manipulación de la materia a escala molecular y atómica con un fin o aplicación específica por medio de los métodos de fabricación “top-down” (reducción) y “bottom-up” (amplificación) (Rojo et al., 2013). El método “top-down” consiste en esculpir o grabar material en bulto para generar nanoestructuras comúnmente usadas en el desarrollo de dispositivos electrónicos. Sin embargo, por este método no es posible obtener estructuras volumétricas (por ejemplo, una esfera) sino más bien estructuras planas con relieve (por ejemplo, un disco) cuando se fabrican por fotolitografía, por ejemplo.

En contraste, el método “bottom-up” se enfoca en la construcción de estructuras átomo por átomo o molécula por molécula; es decir, nanoestructuras que se ensamblan con agentes externos a partir de unidades básicas (Hornyak et al., 2009; Lindsay, 2010). En particular, el autoensamble tiene un lugar especial en el método de amplificación debido a que proporciona la capacidad de construir estructuras supramoleculares en grandes cantidades, por medio de interacciones van der Waals y puentes de hidrógeno. Estas unidades básicas se organizan entre sí con interacciones muy específicas hasta formar una estructura estable; por ejemplo, el ADN (Lindsay, 2010).

La miniaturización de los materiales está asociada a una gran cantidad de fenómenos nuevos e interesantes; además de su baja dimensionalidad. La nanofabricación involucra procesos

en los que se reúnen campos de investigación como la física, ciencia de materiales, química y biología que proporcionan los conocimientos necesarios para generar nuevas estrategias y fabricar dispositivos funcionales a escala nanométrica ( $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ ). Para ello la elección correcta de técnicas de caracterización como Microscopía de Fuerza Atómica (AFM, por sus siglas en inglés Atomic Force Microscopy), Microscopía Electrónica de Barrido (SEM, por sus siglas en inglés Scanning Electron Microscopy) y Microscopía Electrónica de Tansmisión (TEM, por sus siglas en inglés Transmission Electron Microscopy) son importantes para analizar las características topográficas de las nanoestructuras, ya que proporcionan imágenes directas que permiten extraer detalles morfológicos de las estructuras observadas (Martín-Palma & Lakhtakia, 2010; Miramontes & Volke, 2013).

En julio de 2010, el gobierno de Estados Unidos lanzó la iniciativa “The Nanoelectronics Nanotechnology Signature Initiative (NSI)”, con la finalidad de acelerar el descubrimiento y uso de procesos novedosos de fabricación a nanoescala. Así mismo propone conceptos innovadores para producir materiales, dispositivos y sistemas con arquitecturas revolucionarias para avanzar, entre otros, en el campo de la nanoelectrónica (NSTC Committee on Technology, Subcommittee of Nanoscale Science, Engineering, 2017). Esta iniciativa, entre otros propósitos, propone reducir el número de transistores por circuito integrado. Para lograr esta meta, el reto consiste en generar estructuras “más pequeñas” y que representen aumento de rendimiento, más componentes por chip, mayor capacidad de operación, menor poder de consumo y, sobre todo, menor costo. Actualmente existe una variedad de nanoestructuras que se han sintetizado, tales como los nanotubos de carbono, puntos cuánticos, fulerenos, películas delgadas y nanoalambres, solo por mencionar algunos (Hett, 2004).

Por ejemplo, los nanoalambres (NW- del inglés “nanowires”) han despertado gran interés en la nanoelectrónica en los últimos años ya que tienen un diámetro menor o igual a los 100 nm y son considerados estructuras de *quasi* una dimensión (1D). Los alambres nanoestructurados se pueden fabricar a partir de una variedad de materiales y métodos (Xia et al., 2003). Los nanoalambres se pueden usar para el transporte eficiente de electrones, por lo que se espera que sean críticos para la función e integración de los dispositivos a nanoescala (Hu et al., 1999). Las aplicaciones actuales de estas estructuras se encuentran en dispositivos como puertas lógicas,

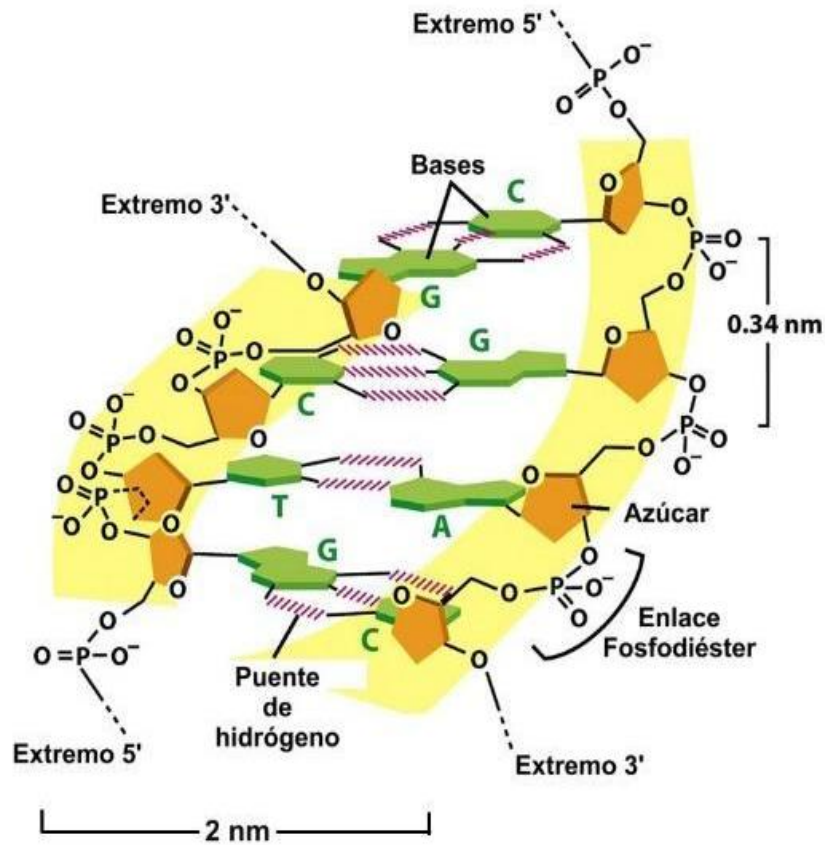
sensores y pantallas flexibles, entre otras (Rojo et al., 2013). Pero ¿cómo pueden los átomos u otros bloques de construcción ser ensamblados en estructuras metálicas de diámetro nanométrico y longitudes controladas? La presente tesis se enfoca en tratar de responder esta pregunta, proponiendo la combinación de los enfoques de miniaturización, específicamente la amplificación, ya que es un proceso espontáneo que la naturaleza utiliza para organizar sistemas de compuestos químicos en sistemas biológicos, como ocurre con los ácidos nucleicos.

## **I.2 ADN**

El descubrimiento del ADN, sin lugar a duda ha sido un parteaguas en la ciencia ya que además del papel de preservar y transmitir la información del código genético en los organismos vivos, la estructura del ácido desoxirribonucleico (ADN) posee propiedades únicas que lo hacen ser un material ideal de construcción. Para conocer su mecanismo de ensamble es necesario conocer algunas de sus propiedades estructurales.

Existen tres tipos de ADN, forma Z, forma A y forma B; nos enfocaremos en el último ya forma parte del tema central de la investigación. La estructura helicoidal tipo B tiene un diámetro de  $\sim 2$  nm y una longitud de  $\sim 3.4$  nm, que corresponde a 10.5 nucleótidos (nt), equivalente a una vuelta completa en sentido de las manecillas del reloj (dextrógiro) (Pedersen et al., 2014). Los ácidos nucleicos son cadenas largas constituidas por nucleótidos que están compuestos de la unión covalente de un azúcar a un grupo fosfato por un extremo y en el otro extremo una base nitrogenada, que pueden ser purinas o pirimidinas. La direccionalidad es otorgada por la posición en la que se unen las bases a los fosfatos, conocidos como extremos 5' o 3', véase figura 1.

Las purinas son adenina (A) y guanina (G), y las pirimidinas son la timina (T) y citosina (C). La complementariedad entre estos nucleótidos se rige única y específicamente de la siguiente forma: A se une a T (por dos puentes de hidrógeno) y G se une a C (por tres puentes de hidrógeno). De esta forma, una estructura de doble cadena consiste en dos secuencias complementarias antiparalelas de  $A = T$  y  $G \equiv C$  (Alberts et al., 2014; Li et al., 2009; Pedersen et al., 2014). En la siguiente sección se exhibirá el uso de las propiedades únicas de esta molécula.



**Figura 1.** Segmento de una estructura helicoidal del ADN (Alberts et al., 2014).

### I.3. Nanotecnología basada en ADN

Tradicionalmente, el ADN era considerado solo como un material que contiene y transmite todo el código genético de los organismos. Sin embargo, la nanotecnología basada en ADN aprovecha otros atributos como sus propiedades únicas de reconocimiento molecular, autoensamble, programabilidad y con ello la habilidad de generar estructuras de unos cuantos nanómetros de tamaño (Seeman, 2010). Aprovechando la unión de cuatro cadenas móviles de ADN con alta simetría llamada unión Holliday, la secuencia que se repite en las cadenas permite la isomerización conocida como migración Branch, proceso que ocurre en la recombinación genética (Holliday, 1964). Seeman ideó que la migración Branch podía ser eliminada, cambiando la secuencia de las cadenas con simetría nula, logrando así inmovilizarlas y tener una estructura semirrígida.



En un primer intento, fue capaz de lograr un entrecruzamiento de ADN inmóvil usando cuatro cadenas sencillas de ADN (csADN). Posteriormente, basado en estos resultados y para cumplir el propósito de una matriz periódica, agregó segmentos cortos de oligonucleótidos llamados extremos pegajosos, o “sticky ends”, de modo que estos extremos fuesen complementarios de manera tal que al autoensamblarse formarían redes (Kallenbach et al., 1983). Sin embargo, la movilidad no fue el único reto que Seeman y colaboradores enfrentaron. Estas uniones tipo Branch tenían dos limitantes al generar estas grandes redes, tendían a ser flexibles e inestables y con ello se invalidaba la periodicidad (Seeman & Sleiman, 2017).

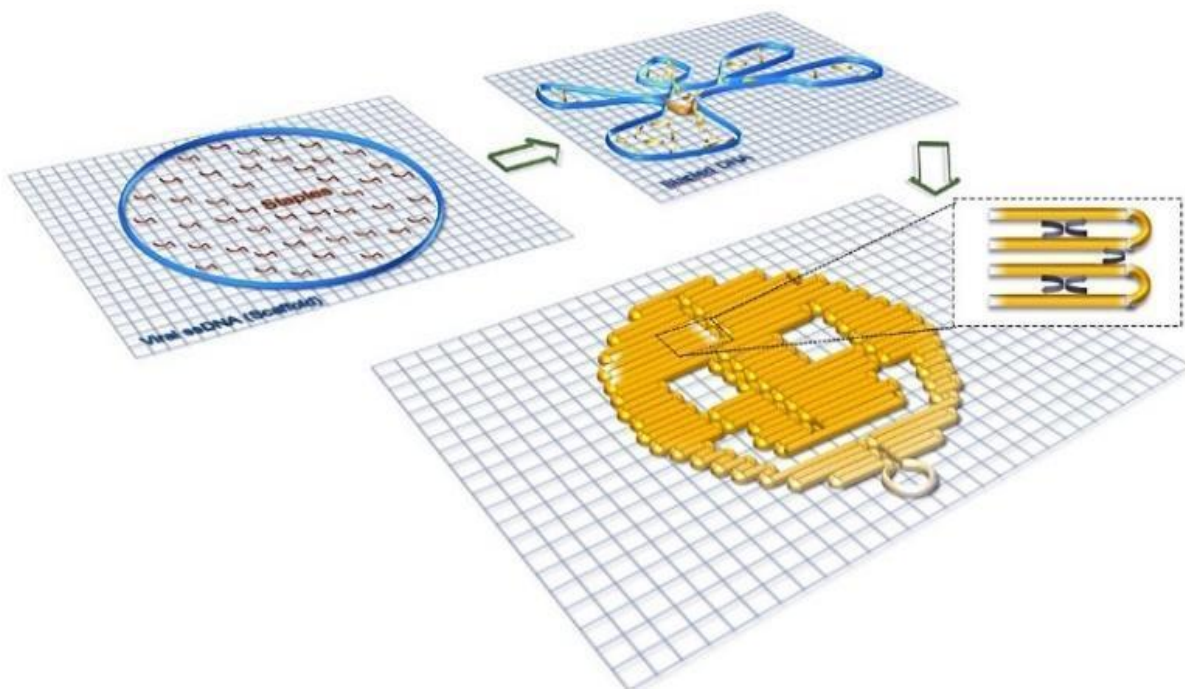
Fu y Seeman, crearon el concepto del doble entrecruzamiento (“doble-crossover”, DX) para aumentar el potencial de las estructuras de ADN en dos dimensiones (Fu & Seeman, 1993). Poco tiempo después, LaBean y colaboradores diseñaron el triple entrecruzamiento (“triple crossover” TX) que permitió mayor rigidez en estructuras de 2D, gracias a ello se abrieron alternativas para la construcción de estructuras en tres dimensiones (3D) (LaBean et al., 2000). Hoy en día el campo de la nanotecnología basada en ADN ha permitido la fabricación de arquitecturas autoensambladas bien definidas con dimensiones en el orden de nanómetros para una gran variedad de aplicaciones (Mathur & Medintz, 2017).

#### **I.4. Origami de ADN**

La emergente área de la nanotecnología basada en ADN permitió el desarrollo de diversos y multidisciplinarios campos. Sin embargo, era necesario tener una perfecta estequiometría molecular para las estructuras elaboradas bajo este principio y requería de procesos complicados de purificación, por lo que era propenso a errores. Además, las estructuras están limitadas a construir formas geométricas básicas y a raíz de ellas crear redes u otras formas (Nangreave et al., 2010).

Un extraordinario cambio ocurrió en el 2006 cuando Paul Rothemund, inspirado en la habilidad y complejidad de objetos en el arte japonés de doblar papel llamado origami, revolucionó la nanotecnología basada en ADN con una versátil técnica llamada origami de ADN (Rothemund, 2006). Del mismo modo en que la papiroflexia estudia y entiende la manera como se pliega,

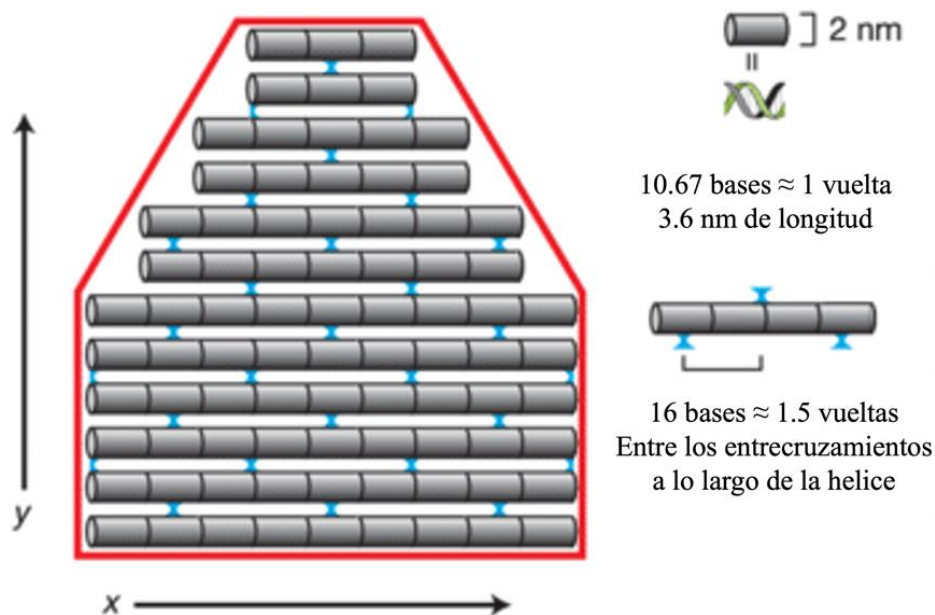
despliega y tuerce una hoja de papel para dar lugar a objetos con formas específicas, el Prof. Rothemund extrapoló este concepto al ADN. Esta técnica se basa en el uso del plásmido de un bacteriófago (p. eje. M13mp18 csADN) como andamio, o “scaffold”, con varias cadenas sencillas (csADN) de ADN complementarias a dos o más secciones específicas del andamio, llamadas grapas, o “staples” (Chandrasekaran et al., 2016). Mezclados el andamio y las grapas a una concentración determinada en una solución amortiguadora (“buffer”), específicamente  $\times$  TAE (Tris-acetate-EDTA), la mezcla permite la formación de una estructura prediseñada con la ayuda de un termociclador a través del proceso de hibridación cuando se calienta a una temperatura de  $95^\circ$  y luego se enfría a  $20^\circ$  C en aproximadamente 2 horas, ver figura 2 (Praetorius et al., 2017; Rothemund, 2006; Saccà & Niemeyer, 2012).



**Figura 2.** Esquematisación de la formación de una estructura "Emoji" de Origami de ADN (Ruiz, et al., 2017).

Desde el artículo seminal de Rothemund, la fabricación de nanoestructuras arbitrarias en 2D y 3D se ha desarrollado rápidamente (Rothemund, 2006). La factibilidad de la técnica de origami de ADN se debe a que es posible fabricar estructuras en un solo paso ya que no requieren de un control estricto de la estequiometría de los oligonucleótidos, purificación y tiempo de fabricación. En un inicio, el diseño de nanoestructuras de ADN tradicionalmente se realizaba a

mano de forma lineal; del mismo modo que lo hacían Seeman y colaboradores. Teniendo en cuenta que la geometría natural de la molécula del ADN es helicoidal, Rothemund idealizó a *grosso modo* esta estructura como un cilindro de  $\sim 2$  nm de diámetro y  $\sim 3.6$  nm de longitud que corresponde a una vuelta completa del ADN (10.67 bases). Para unir estos cilindros paralelamente en un arreglo periódico aprovechó el hecho de que cada 1.5 vueltas del ADN existe un posible entrecruzamiento, véase figura 3. Estos cilindros los utilizó para rellenar progresivamente la silueta de un diseño que se tuviera en mente considerando un espaciamiento entre sus hélices de aproximadamente 1 nm para cada vuelta y media, como el “pentágono” que se muestra en la figura 3 (Rothemund, 2006).



**Figura 3.** Diseño de origami de ADN idealizado en cilindros (Rothemund, 2006).

Es fundamental tener en cuenta que el tamaño de la nanoestructura resultante estará determinado por la longitud del andamio, además si es circular o lineal. En la actualidad existen estructuras formadas con geometría reconocible desde el uso de andamios de cadena sencilla de 704 nt (M1.3), 7249 nt (M13mp18) y hasta 51466 nt ( $\lambda$ /M13 hybrid virus), utilizando un número total de grapas complementarias de aproximadamente 24, 200 y 1600, respectivamente (Marchi et al., 2014; Rothemund, 2006; Said et al., 2013).

Una de las principales dificultades de la técnica de origami de ADN se presentó precisamente en que el uso de cientos de cadenas con diferentes secuencias en un diseño hecho a mano estaba propenso a errores y requería de mucho tiempo en su elaboración. Hoy en día, existen diversas herramientas computacionales *ad hoc* que se han desarrollado para hacer el diseño y simulación de estructuras basadas en Origami de ADN de manera más eficiente. El software de diseño por excelencia es caDNAno, “Computer-aided design for DNA Origami”. Este programa de computadora de libre acceso contiene reglas de diseño sencillas basadas en el doble y triple entrecruzamiento, en el cual se pueden diseñar estructuras en 2D usando su plataforma de dibujo de bocetos de red cuadrada, “square lattice”, y 3D por medio de la red tipo panal de abeja, “honey comb”. Dada la secuencia del andamio, el programa proporciona la longitud y secuencia de las grapas que darán lugar a la estructura diseñada (Douglas et al., 2009). Cabe mencionar que existen otros programas para diseñar estructuras en 2D y 3D. tales como como Tiamat (Williams et al., 2009), SARSE-DNA (Andersen et al., 2008), Nanoengineer-1, Hex-tiles (Matthies et al., 2019), GIDEON (Birac et al., 2006), vHelix (Benson et al., 2015a), DAEDALUS (Rémi et al., 2016), TALOS (Jun et al., 2019), MagicDNA (Huang et al., 2021), ATHENA (Jun et al., 2020), Adenita (de Llano et al., 2020) entre otros (Dey et al., 2021; Huang et al., 2021).

Parte esencial del éxito en el proceso de diseño y fabricación de estructuras de origami de ADN, es contar con un proceso de simulación que analice la estabilidad estructural de la nanoestructura ya esbozada para que por medio de una retroalimentación continua entre dos softwares se sintetice con el mejor resultado posible. El software CanDo, “Computer-Aided Design for DNA Nanostructures” por sus siglas en inglés, se ha convertido en una herramienta poderosa desde su aparición en el 2011 (Castro et al., 2011; Kim et al., 2012; Peters 3rd & Maher, 2010). Carlos Castro y colaboradores desarrollaron esta herramienta que predice la estabilidad estructural por medio del método de elementos finitos y utilizando los archivos generados por caDNAno en el diseño. CanDo asume que la hélice de ADN es una varilla elástica que puede estar sujeta a esfuerzos longitudinales y transversales, flexiones y torsiones que producen fluctuaciones térmicas en la nanoestructura al disiparse la energía. Sí el análisis térmico no es lo suficientemente

satisfactorio, es posible regresar al diseño para realizar modificaciones en caDNAo hasta minimizar las fluctuaciones creadas por CanDo.

En resumen, existen diferentes herramientas amigables al usuario de simulación y diseño para nanoestructuras basadas en origami de ADN. Sin embargo, existen interacciones que no son consideradas en ninguno de ellos, como pi-pi *stacking* (interacción entre anillos aromáticos), concentración de iones en *buffer*, pH, temperatura de *annealing*, tan solo por mencionar algunos. La integración de estas variables podría representar un avance sin precedentes para poder fabricar estructuras aún más perfeccionadas. Por lo pronto, para evaluar y optimizar las estructuras es necesario atravesar el tedioso proceso de prueba y error en base a lo recomendado por la literatura reciente. Existen diversos protocolos y metodologías que se utilizan para llegar a un objetivo o una finalidad específica. En la presente tesis se llevará a cabo la fabricación de estructuras modulares de ADN que den lugar a un nanoalambre que contengan en su interior dos nanopartículas de oro por módulo y que las paredes del origami moldeen y contengan el proceso de metalización en solución permitiendo así la coalescencia entre nanopartículas cuando estas funjan como centros de nucleación.

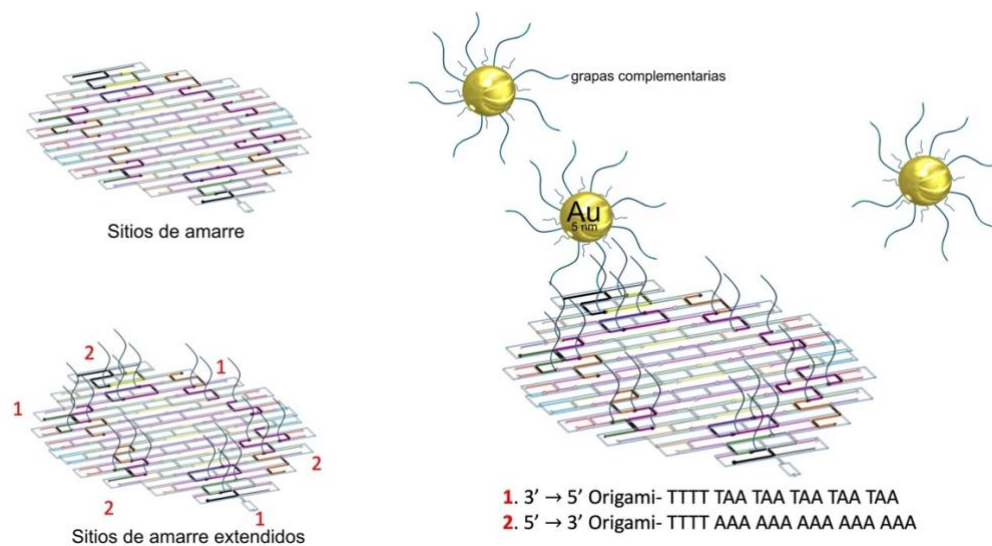
## **I.5. Funcionalización y metalización de estructuras de Origami de ADN**

En 1996 Paul Alivisatos y colaboradores, publicaron un artículo seminal donde demostraron por primera vez bioconjugados csADN/nanopartículas de oro usando como intermediario un grupo tiol (-SH), esto abrió la posibilidad de posicionar nanopartículas de oro en estructuras de origami de ADN (Alivisatos et al., 1996). El proceso de funcionalización es análogo a un tablero con incisiones, o “pegboard”, donde se desea insertar clavijas, o “pegs”, en sitios seleccionados en él. Es decir, se extienden csADN de una secuencia conocida en regiones deseadas a la estructura de ADN (pegboard) y por medio de bioconjugados (pegs), con secuencia complementaria a la extendida, son reconocidos por el apareamiento Watson-Crick entre bases para fijarlos en las regiones previamente elegidas (Pilo-Pais et al., 2011; Schreiber et al., 2011). El rápido desarrollo de este proceso se debe al avance en los protocolos para integrar diferentes

metales nobles y semiconductores al ADN mediados por grupos químicos como tioles, aminos, fluoróforos, estreptavidina, entre otros (Tapio & Bald, 2020).

La integración eficiente de heteroelementos permite que la técnica de origami de ADN se desarrolle rápidamente con una amplia variedad de aplicaciones como: entrega de fármacos (Zhang et al., 2014), biosensores (Ochmann et al., 2021), nanorobots (M et al., 2012), catálisis, nanoelectrónica (Bayrak et al., 2021), plasmónica (Shen et al., 2018), entre otros. Hasta la fecha se han reportado diversos artículos acerca de la fabricación de bioconjugados con nanopartículas de oro (AuNPs). Gracias a ello, existen métodos y consideraciones que se deben de tener en cuenta para optimizar los conjugados.

A continuación, se resumen los pasos básicos para la colocación de nanopartículas tal como se ejemplifica en la figura 4 para el caso particular de una estructura circular de origami de ADN. El primer paso consiste en seleccionar los sitios de enlace, los cuáles dependerán del arreglo que se desea obtener. En este caso, se quisieron colocar seis nanopartículas a lo largo del perímetro de la estructura. En el segundo paso se seleccionaron dos diferentes secuencias y colocadas en dirección opuesta para evitar efectos estéricos (Kuzyk et al., 2012). Por último, la integración de nanopartículas previamente conjugadas y purificadas con las cadenas ditioladas en solución, sobre una superficie donde se haya depositado previamente la estructura.



**Figura 4.** Proceso de bioconjugación de nanoestructuras de origami circular con nanopartículas de oro de 5 nm (Ruiz, et al., 2017).

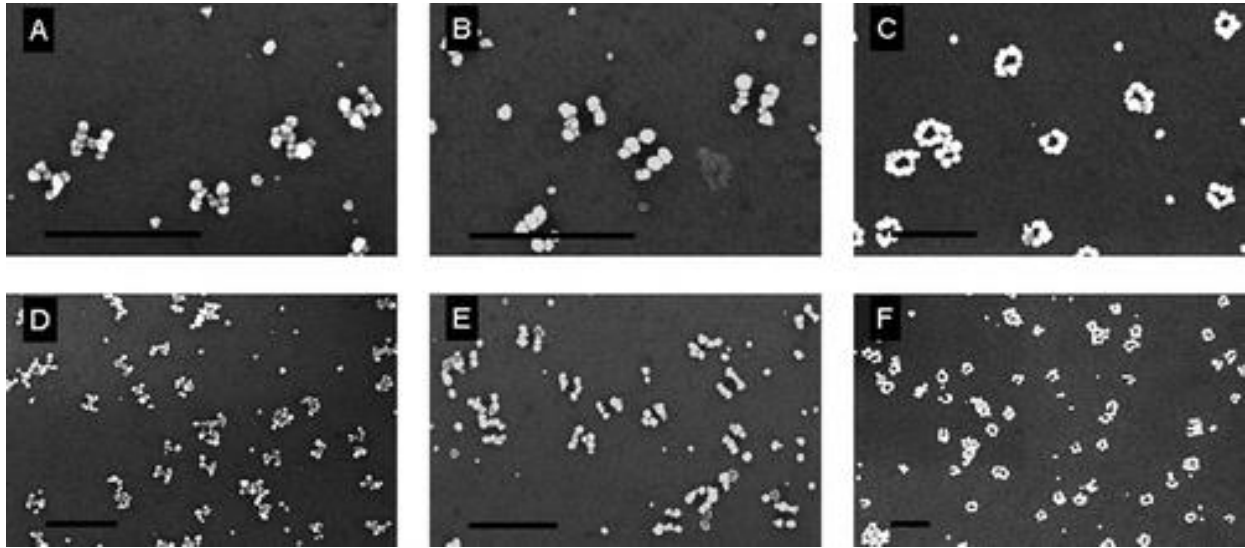
El oro al ser un metal noble posee propiedades como altas polarizabilidad y conductividad eléctrica. El proceso subsecuente a la funcionalización con nanopartículas metálicas es la metalización, en donde las nanopartículas de oro (también llamadas “semillas”) sirven como centros de nucleación para que, por medio de un proceso de reducción, oro en solución se deposite en su superficie. De esta manera, la nanopartícula crezca isotrópica, o anisotrópicamente mediado por un agente reductor, un precursor de oro y un catalizador (Schreiber et al., 2011).

Hoy en día existen diferentes métodos de metalización como reducción química, foto-reducción, reducción electroquímica, reducción específica de iones metálicos, mediada por semillas metálicas, solo por mencionar algunos, han sido empleados para este fin (Chen et al., 2018). A su vez, la metalización se puede clasificar en superficial y volumétrica. La metalización superficial consiste en exponer la estructura funcionalizada en el exterior a una solución metálica permitiendo el proceso de coalescencia sin control o forma específica. En contraste, la metalización volumétrica se refiere a confinar el crecimiento análogamente como en la industria metalúrgica al fundir un metal, vaciarlo en un molde y dejarlo solidificar para obtener una pieza sólida con forma y geometría específicas.

La metalización mediada por semillas ha permitido la fabricación de fascinantes estructuras con diversas aplicaciones. Woolley y colaboradores reportaron la primera metalización de una estructura en forma de Y usando semillas de plata y crecimiento de oro (Liu et al., 2011). En 2011, Pilo-Pais *et al* reportaron la metalización superficial exitosa con plata en estructuras de origami de ADN usando nanopartículas de Au. En la figura 5 se observan diferentes nanoestructuras metalizadas en superficie, extendiendo grapas en diferentes sitios para dar diversas formas predeterminadas (Schreiber et al., 2011).

A pesar de que la metalización en superficie de estructuras de origami de ADN ha sido ampliamente estudiada, existe falta de continuidad, problemas de frontera de grano y granulosidad en las estructuras metálicas (Chen et al., 2018). De aquí que la forma, homogeneidad y continuidad del crecimiento del metal en estructuras de ADN obligan a seguir buscando alternativas que permitan controlar estos parámetros. Además, existen pocos reportes de medidas eléctricas de

transporte de carga a través de estructuras metálicas basadas en este método (Geng et al., 2013; Liu et al., 2011; Pearson et al., 2012a).



**Figura 5.** Imágenes de SEM de nanoestructuras metálicas fabricadas a partir de origami de ADN. a y d) forma H, b y e) barras paralelas, c y f) anillos. Barras de escala a 500 nm (Pilo-Pais et al., 2011).

## I.6. Medidas de transporte eléctrico en nanoestructuras metálicas basadas en ADN.

En la presente tesis se estudia el transporte eléctrico utilizando medidas de corriente ( $I$ ) contra voltaje ( $V$ ) a través de los nanoalambres de oro sintetizados. Una de las principales estrategias que brindan acceso a estas mediciones es el uso la técnica de litografía por haz de electrones (EBL) para generar áreas de contacto sobre nanoalambres usando un patrón prediseñado sobre sustratos de  $\text{SiO}_x/\text{Si}$  (Bayrak, Helmi, et al., 2018). Es aquí donde los métodos “top-down” y “bottom-up” convergen para poder realizar medidas de  $I$ - $V$  en nanoalambres de oro mediados por el autoensamble de ADN con contactos eléctricos sobre un patrón fabricado por EBL en función de la temperatura.

Para explicar las medidas de transporte eléctrico, además de la ley de Ohm, en alambres de oro amorfos a diferentes temperaturas es necesario identificar los posibles mecanismos de conducción como saltos o, en inglés “hopping”, emisión termiónica o, tunelaje, por mencionar algunos. El tunelaje directo es el mecanismo de conducción más común entre algunos metales y



semiconductores. El fenómeno de tunelaje se explica por medio de la mecánica cuántica ya que la función de onda asociada al electrón puede penetrar una barrera de potencial para trasladarlo de un lugar a otro. Además, tiene una fuerte dependencia al voltaje aplicado, pero no a la temperatura, tal que la densidad de corriente se determina por la expresión

$$J \sim V \exp\left(-\frac{2d}{\hbar} \sqrt{2mq\Phi}\right) \quad , \quad \text{Ecuación 1}$$

donde  $\Phi$  es la "altura" de la barrera de potencial,  $q$  es la carga del portador de carga,  $m$  la masa de este,  $\hbar$  es la constante de Planck sobre  $2\pi$ ,  $V$  es el voltaje aplicado y  $d$  es la anchura de la barrera de potencial. La densidad de corriente por tunelaje directo es proporcional al voltaje aplicado, tal como lo define la siguiente ecuación:

$$J \sim V \quad \text{Ecuación 2}$$

La emisión termiónica, como su nombre lo indica, depende de la temperatura. La promoción, o migración de los portadores de carga, sucede cuando la energía térmica transmitida supera la barrera de potencial o función de trabajo del material ( $\phi$ ). La expresión matemática que determina la densidad de corriente en este caso es la siguiente

$$J \sim T^2 \exp\left(-q \frac{\phi - \sqrt{\frac{qV}{4\pi\epsilon d}}}{kT}\right) \quad , \quad \text{Ecuación 3}$$

donde  $\epsilon$  es la constante dieléctrica del material,  $T$  la temperatura y  $k$  la constante de Boltzmann. La dependencia entre la densidad de corriente y la temperatura se expresa de la siguiente manera

$$\ln\left(\frac{J}{T^2}\right) \sim -\frac{1}{T} \quad \text{Ecuación 4}$$

Por último, la conducción por "saltos", llamada así ya que el movimiento de los electrones promovidos pasa de un estado aislado a otro, simula que los portadores de carga escapen de una

“trampa a otra”. Este mecanismo se genera por activación térmica, lo que significa que depende de la temperatura y el voltaje aplicado es bajo. A continuación, se expresa tal mecanismo por medio de

$$J \sim V \exp\left(\frac{\Delta E}{kT}\right) \quad \text{Ecuación 5}$$

$\Delta E$  es la energía de activación. La dependencia entre la corriente y la temperatura es

$$\ln\left(\frac{J}{V}\right) \sim \frac{1}{T} \quad \text{Ecuación 6}$$

Los nanoalambres pueden estar gobernados por estos u otros mecanismos de transporte dependiendo de las regiones y nanoalambres analizados (Bayrak, S. Jagtap, et al., 2018; Bellido et al., 2009; Rojo et al., 2013; S.M. Sze, 2006; Teschome et al., 2016).

## II. ANTECEDENTES

### II.1. Vaciado metálico en moldes de ADN

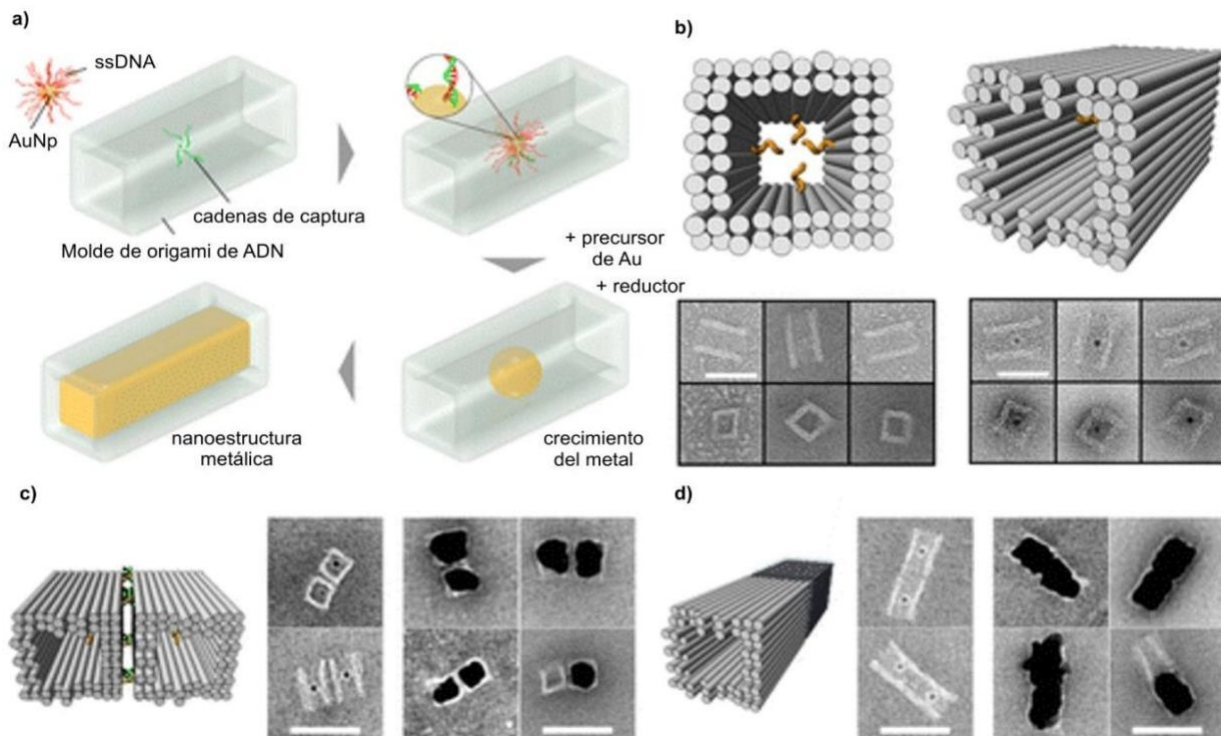
En el mundo macroscópico, los dispositivos y las máquinas son conjuntos de componentes diseñados para lograr una función específica. Cada componente del ensamble realiza una tarea simple pero esencial, mientras que todo el ensamble realiza una función compleja más útil que sea característica del propósito del dispositivo en cuestión (Balzini et al., 2008). La convergencia EBL, “top-down”, y origami de ADN, “bottom-up”, es una estrategia ideal para nanofabricación de dispositivos electrónicos y fotónicos, tal como se mencionó en secciones anteriores.

El vaciado metálico en moldes basados en origami de ADN es un método que consiste en posicionar una nanopartícula de oro de 5 nm (semilla) de tamaño en el interior de una estructura tridimensional de origami de ADN y posteriormente el uso del método de metalización para hacer crecer la nanopartícula hasta tomar la forma del molde (descrito en la sección I.5)(Shen et al., 2016). El concepto de vaciado metálico fue desarrollado por dos grupos, liderados por Pen Yin y Ralf Seidel en 2014 (ver tabla 1). Esta novedosa técnica ha permitido un abanico de posibilidades para minimizar la granulosis y fabricar nanoestructuras metálicas con dimensiones determinadas por la geometría y dimensiones de la estructura de origami de ADN.

Grupo	Pen Yin	Ralf Seidel
Andamio	8064 y 7560 nt	8064 y 7560 nt
Estructura	Estructura cúbica, triangular, circular, barra hexagonal y forma Y	Barra cuadrada y variantes
Rendimiento	40%	Hasta 90% en la unión de moldes
Metalización	AgNO <sub>3</sub>	H[AuCl <sub>4</sub> ]
Nanopartículas	Au, Ag y QD	Au
Rampa de temperatura	80°C a 24°C en 72 horas	80°C a 24°C en 15 horas
Referencia	(Sun et al., 2014)	(Bayrak, Helmi, et al., 2018; Helmi et al., 2014; Ye, Aftenieva, et al., 2021; Ye et al., 2019; Ye, Teske, et al., 2021)

**Tabla 1.** Comparativo sobre la fabricación de nanoestructuras metálicas usando moldes de ADN por dos grupos de investigación.

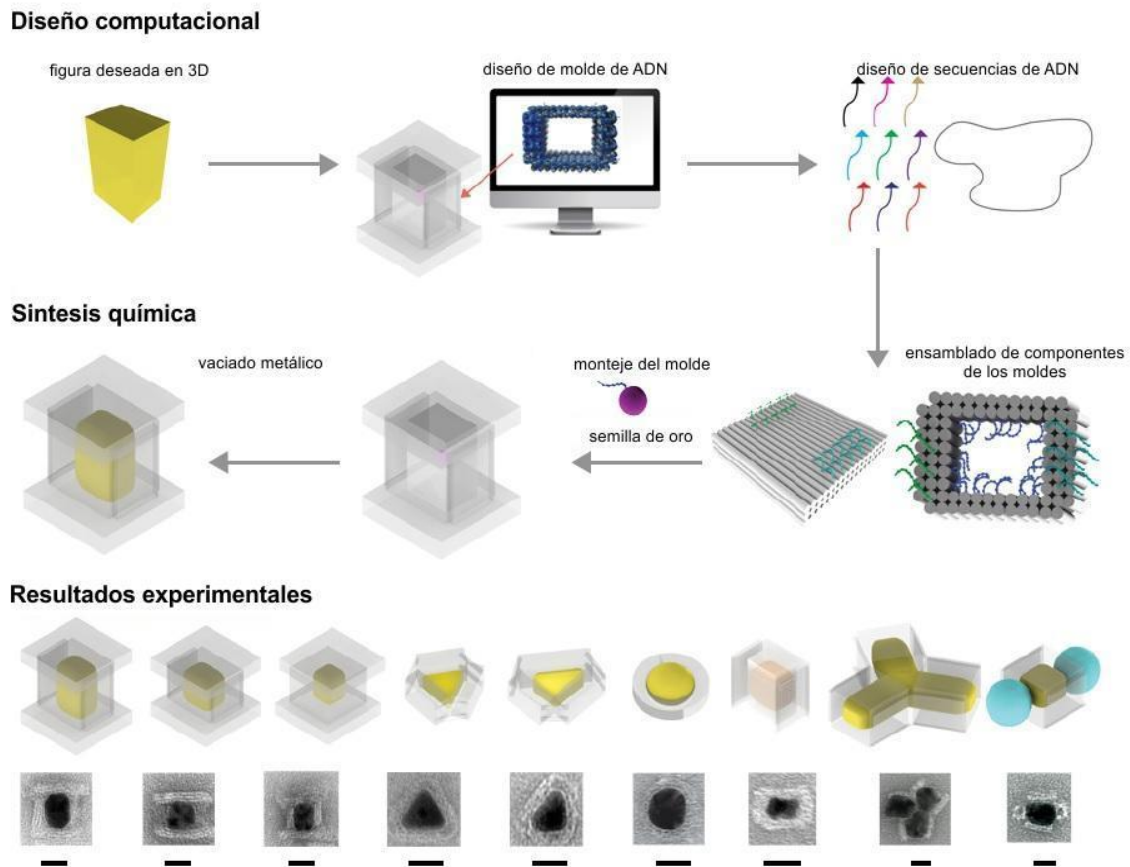
En particular, el grupo del Prof. Seidel fabricó moldes usando un andamio de cadena sencilla de 7560 nt de longitud, dando forma a una estructura con sección transversal cuadrada con 22 nm de lado a lado y 40 nm de longitud compuesta de 64 hélices de ADN (Helmi et al., 2014). En cada estructura se extendió una grapa como centro de amarre en cada una de las caras para precargar una semilla de oro de 5 nm, ver figura 6b. Posteriormente realizaron una metalización con la combinación de hidroxilamina como agente reductor y  $H[AuCl_4]$  como precursor metálico, ver figura 6 (Brown & Natan, 1998). Los autores exhiben control en la unión de dos módulos contiguos (figura 6c) lado a lado y cara a cara (figura 6d). El rendimiento obtenido para cada dímero fue de  $69\% \pm 8\%$  y  $94\% \pm 3\%$  respectivamente (Helmi et al., 2014)



**Figura 6.** a) Esquema de la síntesis de nanoestructuras metálicas, b) bocetos del molde de ADN exhibiendo las cadenas de captura e imágenes de TEM sin semillas y con semillas (barra de escala a 40 nm), c y d) caricatura e imágenes de TEM con semillas y estructuras metálicas de dímeros unidos lado a lado y cara a cara respectivamente (barra de escala a 50 nm) (Helmi et al., 2014).

Por otro lado, el grupo de Pen Ying demostró la formación de estructuras metalizadas volumétricamente con una amplia variedad de geometrías. Su estrategia se resume en la figura 7a. El diseño de los moldes y tapas se basa en un andamio de 8064 nt y 7560 para el caso de algunas

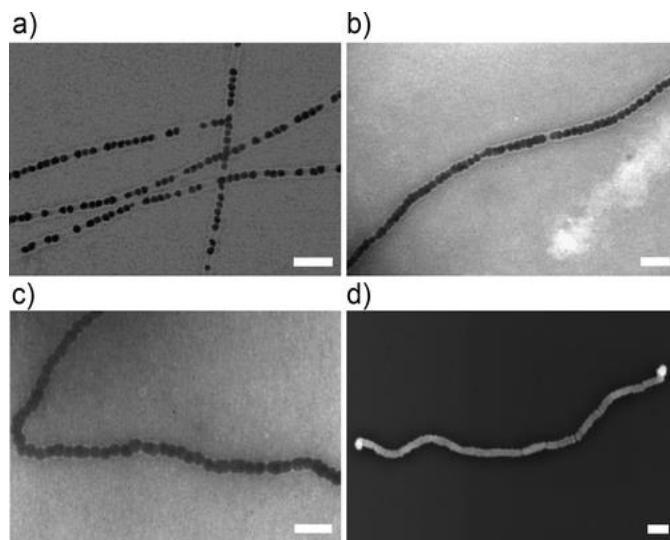
estructuras. Se diseñaron sitios de amarre de cadenas sencillas de 21 nt de longitud para ensamblar tapas. Además del posicionamiento de una nanopartícula de oro, el proceso de metalización se realizó usando  $\text{AgNO}_3$  con ácido ascórbico como agente reductor, la semilla crece confinada en el molde adoptando su forma. Con esta estrategia y sus variantes, se han fabricado diversas nanoestructuras metálicas con forma controlada con un rendimiento hasta del 40%, véase figura 7. En la presente tesis, se modificó uno de los diseños propuestos en el material suplementario, la estructura con sección transversal hexagonal nominal adopta una sección transversal cuasi-circular posterior a la metalización.



**Figura 7.** Esquema de síntesis de nanoestructuras metálicas usando moldes de ADN como medio de construcción. La barra de escala en las imágenes en SEM es de 20 nm (Sun et al., 2014).

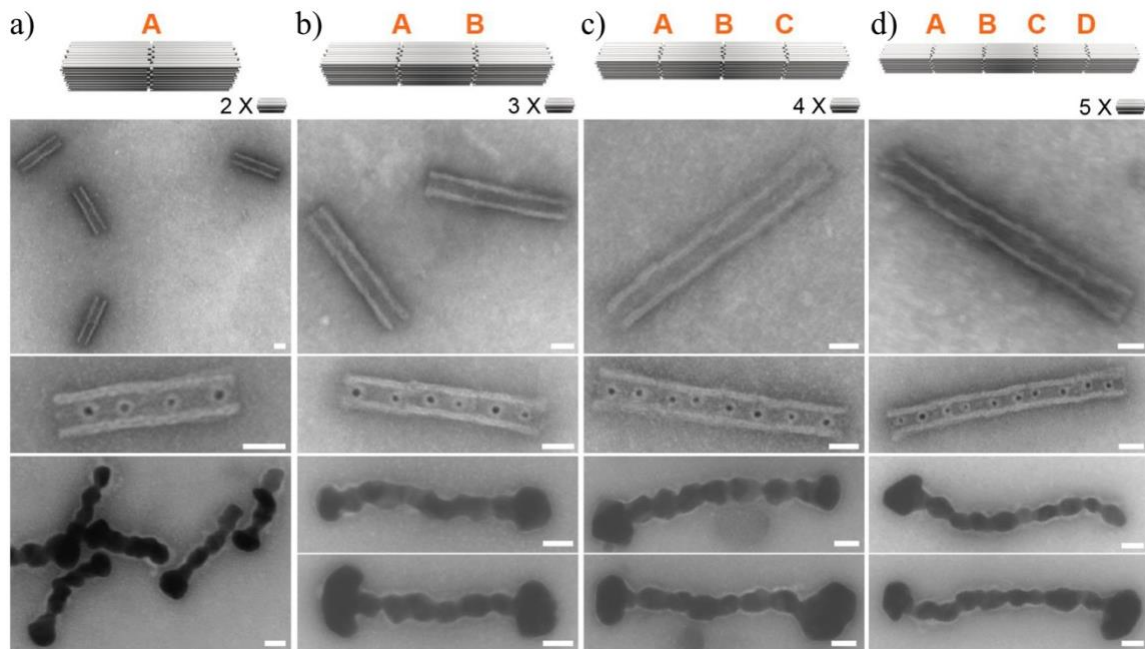
## II.2. Nanoalambres basados en moldes de ADN

El vaciado en moldes de ADN es una herramienta versátil para la fabricación de estructuras metálicas en 3D con forma predeterminada. En contraste con los métodos tradicionales de síntesis de alambres a escala nanométrica, el vaciado en moldes de ADN tiene ventajas significativas; por ejemplo, un crecimiento isotrópico delimitado por las dimensiones del molde, incluyendo existencia de cavidades, y que se puede realizar bajo condiciones ambientales. El grupo de Ralf Seidel continuó con la modificación de las estructuras modulares de ADN para unirlos de forma controlada para fabricar nanoestructuras con una longitud deseada (Bayrak, Helmi, et al., 2018). Usando la misma estrategia de unión de moldes como en el artículo publicado en 2014 (Helmi et al., 2014), este grupo fabricó estructuras metálicas con longitudes en el intervalo de 110 nm a 1000 nm, como se muestra en la figura 8. Se observa que con una baja cantidad de precursor de la solución de  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ , las partículas de oro no coalescen, ver figura 8a y 8b. Conforme va aumentando el tiempo de metalización con el precursor de  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ , las partículas contiguas se fusionan, ver figura 8c y 8d. Cada módulo de los nanoalambres resultantes tuvieron un diámetro de  $32 \pm 3$  nm; sin embargo, contienen huecos entre 13 nm y 15 nm, ocasionando que el alambre no sea realmente continuo (Bayrak, Helmi, et al., 2018).



**Figura 8.** Nanoalambres de oro obtenidos por metalización volumétrica. Imágenes de TEM de diferentes nanoalambres con distintas cantidades de precursor de oro  $\text{H}[\text{AuCl}_4]$ : tiempo de metalización a) un minuto b) dos minutos y c) tres minutos. d) Imagen de SEM con nanoalambre después de a cuatro minutos de metalización. La barra de escala corresponde a 50 nm (Bayrak, Helmi, et al., 2018).

Continuando con la optimización del trabajo realizado en 2018, el grupo de Ralf Seidel reportó el control en la longitud del nanoalambre, así como la metalización de sitios específicos generando patrones metálicos (Ye et al., 2019). La estructura con sección transversal cuadrada fue modificada para generar cuatro diferentes interfaces que consiste en 40 hélices y 24 sitios de amarre. Los moldes diseñados permitieron la formación de dímeros con una longitud de  $80 \pm 5.4$  nm, ver figura 9a, trímeros de  $118.5 \pm 10.7$  nm, ver figura 9b, tetrámeros de  $161 \pm 15$  nm, ver figura 9c y pentámeros de  $197.3 \pm 14$  nm, ver figura 9d. De aquí que si se preparan adecuadamente los diferentes moldes es posible controlar linealmente la estructura con una longitud deseada.

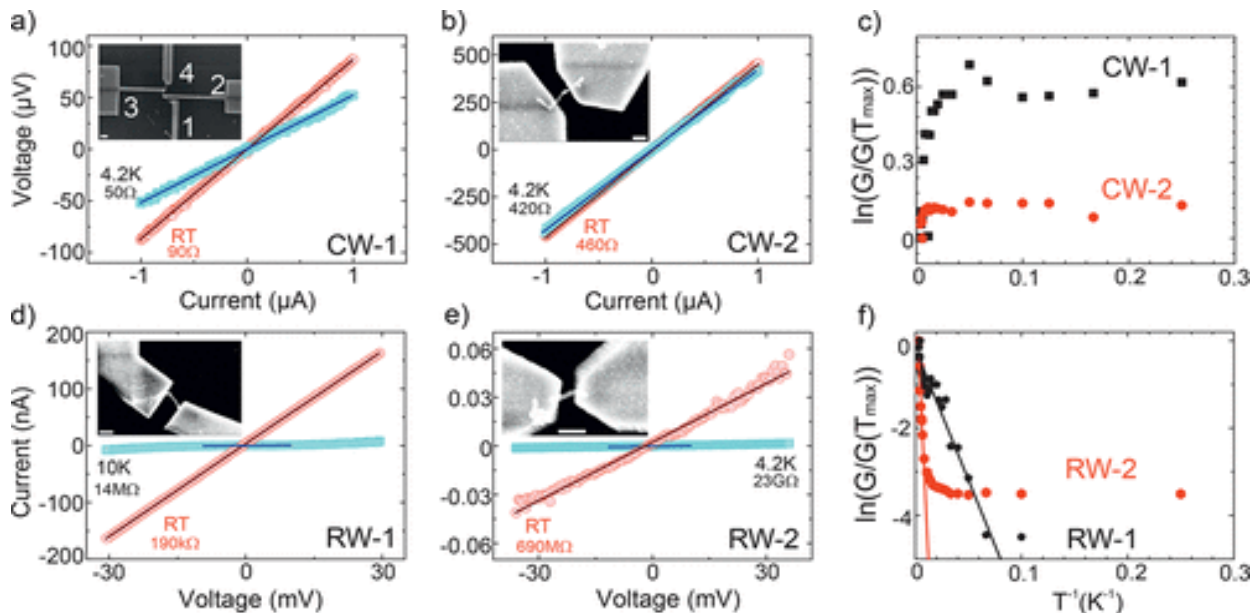


**Figura 9.** Imágenes de tSEM de la formación de multimeros y estructuras metálicas con longitud controlada. a) Dímeros, b) trímeros, c) tetrámeros y d) pentámeros (Ye et al., 2019).

Este avance provee una ruta novedosa y prometedora para ensamblar estructuras inorgánicas más complejas y su aplicación en nanoelectrónica (Ye et al., 2019). La fabricación de estructuras metálicas basadas en moldes de origami ADN ha permitido recientemente la producción de estructuras más complejas diseñando interfaces para unirse con un fin específico.

### II.3. Caracterización eléctrica de nanoalambres basados en moldes de ADN

Para estudiar las propiedades de transporte eléctrico en los nanoalambres de oro es necesario recurrir a un método “top-down” para generar contactos eléctricos en cada nanoalambre. Esto se llevó a cabo por la técnica de litografía por haz de electrones que se describirá en la sección V.2.12.. Para este fin, Bayrak *et. al.* desarrollaron un diseño apropiado sobre un sustrato de  $\text{SiO}_x/\text{Si}$  que contiene los nanoalambres. En la figura 10 se muestran varias mediciones de conductancia de diferentes nanoalambres (longitud y diámetro variable) en el rango de temperaturas de 4.2 a 293 K del grupo de Ralf Seidel (Bayrak, Helmi, et al., 2018). Las curvas de  $I$ - $V$  indican una alta conductividad para los nanoalambres etiquetados como CW-1 (200 nm de longitud y 40 nm de diámetro) y CW-2 (285 nm de longitud y 30 nm de diámetro). Además, se muestran nanoalambres más resistivos RW-1 (290 nm de longitud y 36 nm de diámetro) y RW-2 (115 nm de longitud y 39 nm de diámetro). Para explicar el comportamiento de los nanoalambres se grafica el logaritmo natural de la conductancia como función de la temperatura inversa ( $T^{-1}$ ) para CW-1, CW-2, RW-1 y RW-2



**Figura 10.** Curvas de  $I$ - $V$  de diferentes nanoalambres medidos a temperaturas de 4.2 K y 293 K (Bayrak, Helmi, et al., 2018).



Las variaciones en la resistencia obtenidas en los nanoalambres de oro se atribuyen principalmente a los huecos; además, no existe reproductibilidad en los resultados reportados. Un claro ejemplo se encuentra entre CW-2 y RW-1, que tienen aproximadamente la misma longitud y tamaño del lado de la sección transversal cuadrada pero sus resistencias difieren totalmente. Por lo tanto, es importante buscar alternativas de alambres con sección transversal distinta a la cuadrada que permitan eliminar los huecos existentes y controlar de forma modular a los nanoalambres de oro, ya que estos parecen ser factores que alteran la conducción eléctrica en nanoalambres. De aquí que la presente propuesta pretende controlar estos parámetros, geometría y dimensiones, desde el diseño hasta la síntesis de las nanoestructuras metálicas.

Dentro de los objetivos planteados en la presente tesis está diseñar y fabricar una nanoestructura modular con sección transversal hexagonal que al metalizarse sea muy semejante a una sección transversal cuasi-circular se propone lo siguiente: posicionamiento de dos nanopartículas, en lugar de una, en el interior de cada módulo permita reducir los huecos; control de la longitud esté restringido por una nanoestructura básica conformada por 5 módulos con diversas grapas que permitan la unión entre módulos de forma biunívoca y sin dejar espacio entre caras vecinas; la longitud total de los nanoalambres se pueda determinar por la repetición acoplada de estas nanoestructuras metálicas modulares. En los siguientes capítulos se describirá de forma detallada el procedimiento para cumplir la presente propuesta.

### III. HIPÓTESIS

Es posible fabricar un molde de ADN de diámetro uniforme y longitud controlada para construir alambres conductores de oro a escala nanométrica.

### IV. OBJETIVOS

#### IV.1. Objetivo general

Utilizar las capacidades y propiedades del autoensamble de estructuras de origami de ADN como herramienta de fabricación de nanoalambres conductores de oro.

#### IV.2. Objetivos particulares

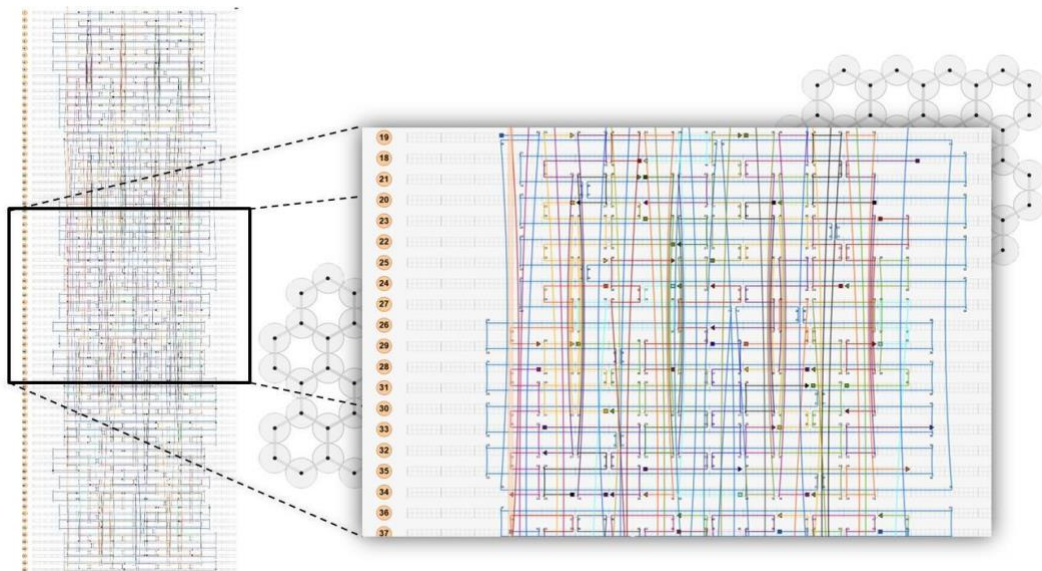
- Realizar el diseño y simulación de moldes de ADN en un software *ad hoc*.
- Determinar la ruta óptima para la síntesis de las nanoestructuras adecuadas que den lugar a los nanoalambres metálicos.
- Colocar semillas de oro de 5 nm de tamaño en el interior de la nanoestructura como centros de nucleación para la posterior metalización y formación del nanoalambre metálico.
- Diseñar “extremos pegajosos” para controlar la longitud del nanoalambre por medio de uniones entre las estructuras modulares básicas.
- Determinar la integridad, morfología y estabilidad de las nanoestructuras formadas por electroforesis, usando, microscopía de fuerza atómica y microscopías electrónicas de barrido y transmisión.
- Caracterización del transporte eléctrico mediante curvas de corriente vs voltaje como función de la temperatura, en el intervalo de -40 °C a temperatura ambiente, de los nanoalambres obtenidos.

## V. METODOLOGÍA

### V.1. Diseño y simulación

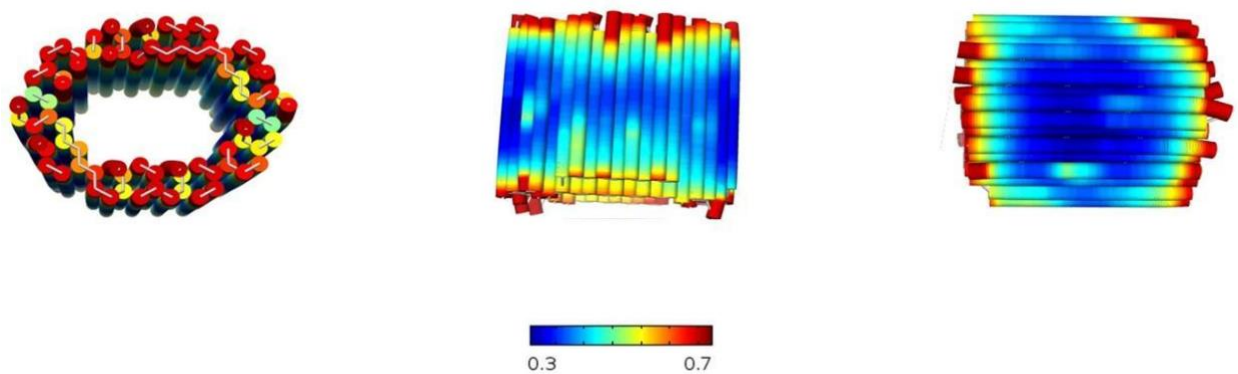
La producción en masa de nanoalambres desde el enfoque “bottom-up” permite que una técnica tan versátil como la de origami de ADN se convierta en una ruta óptima para obtener nanoalambres de oro. El presente proyecto propone una estructura modular básica que pueda unirse a otras para así formar nanoalambres, análogo a un monómero para formar un polímero. Basado en ello y con la finalidad de obtener una estructura que soporte esfuerzos mecánicos para mantener su forma en el vaciado metálico, el modelo utilizado es una modificación al diseñado por Wei Sun y colaboradores (Sun et al., 2014).

Cada módulo en la nanoestructura está formado por la hibridación de un andamio de cadena sencilla tipo circular la cual se deriva del plásmido M13mp18, compuesto de 7249 + 311 nt de la compañía Tilibit Nanosystems (ver material suplementario A) y cientos de grapas complementarias. El diseño cuenta con una sección transversal hexagonal tipo tubular de 80 hélices. En la figura 11 se observa una representación lineal de la estructura original obtenida por el software cADNano. En esta figura, el andamio se representa en color azul, las grapas con una variedad de colores; así mismo se muestra la posición de cada una de las hélices (Majikes & Liddle, 2021).



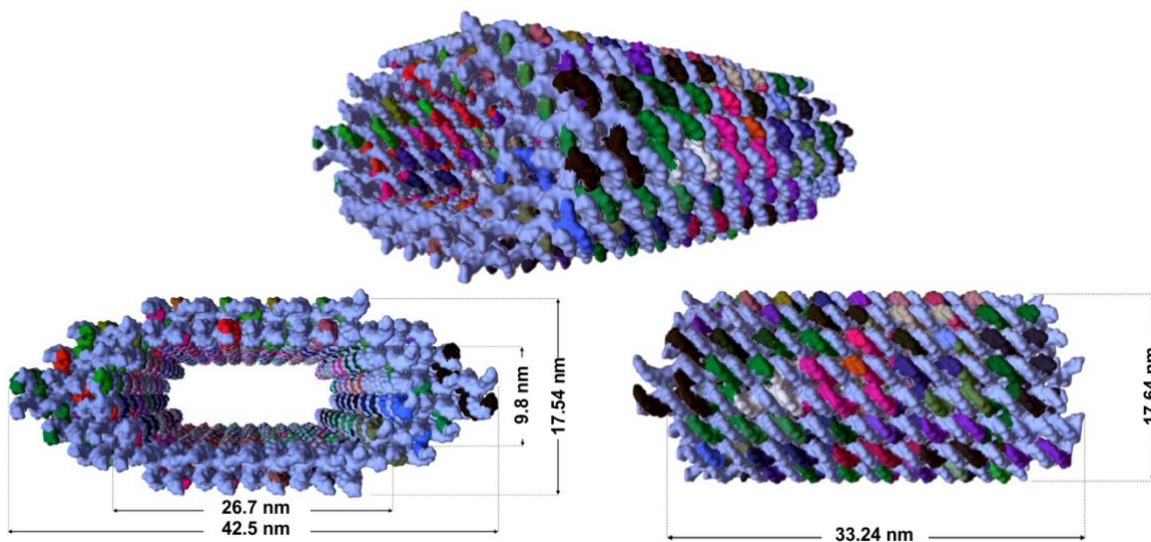
**Figura 11.** Diseño original de módulo hexagonal obtenido por caDNAno.

Posterior al diseño del módulo, se realizó un estudio de la estabilidad estructural del mismo por medio de la plataforma CanDo que requiere de los archivos originales \*.json de caDNAno para el estudio. CanDo genera un mapa de color de las fluctuaciones térmicas en la nanoestructura diseñada después de haberse disipado la energía. De esta forma, sí el análisis no es lo suficientemente satisfactorio, es posible regresar al diseño para realizar modificaciones en caDNAno hasta minimizar las fluctuaciones obtenidas por CanDo. En este caso, las fluctuaciones térmicas mínimas oscilan en el rango de 0.3 a 0.7nm, como se observa en la figura 12. Variaciones similares se encontraron para cada uno de los cinco módulos.



**Figura 12.** Simulación en CanDo de la estructura circular de origami de ADN. a) Vista frontal, b) vista horizontal y c) vista lateral mostrando fluctuaciones térmicas. La región de mayor y menor estabilidad se representa en color azul y rojo, respectivamente.

Además, para estimar las dimensiones de la estructura modular se usó una herramienta llamada Molecular Viewer, la cual completa el proceso de diseño y verificación para construir estructuras de origami de ADN. Con la ayuda de este software es posible generar una representación molecular en 3D a partir del archivo generado en caDNAno (.json). Las medidas finales del diseño del módulo resultaron ser las siguientes: diámetro exterior e interior de la estructura son ~42.5 nm y ~26.7 nm, respectivamente, mientras que la longitud es ~33.24 nm, como se muestra en la figura 13.

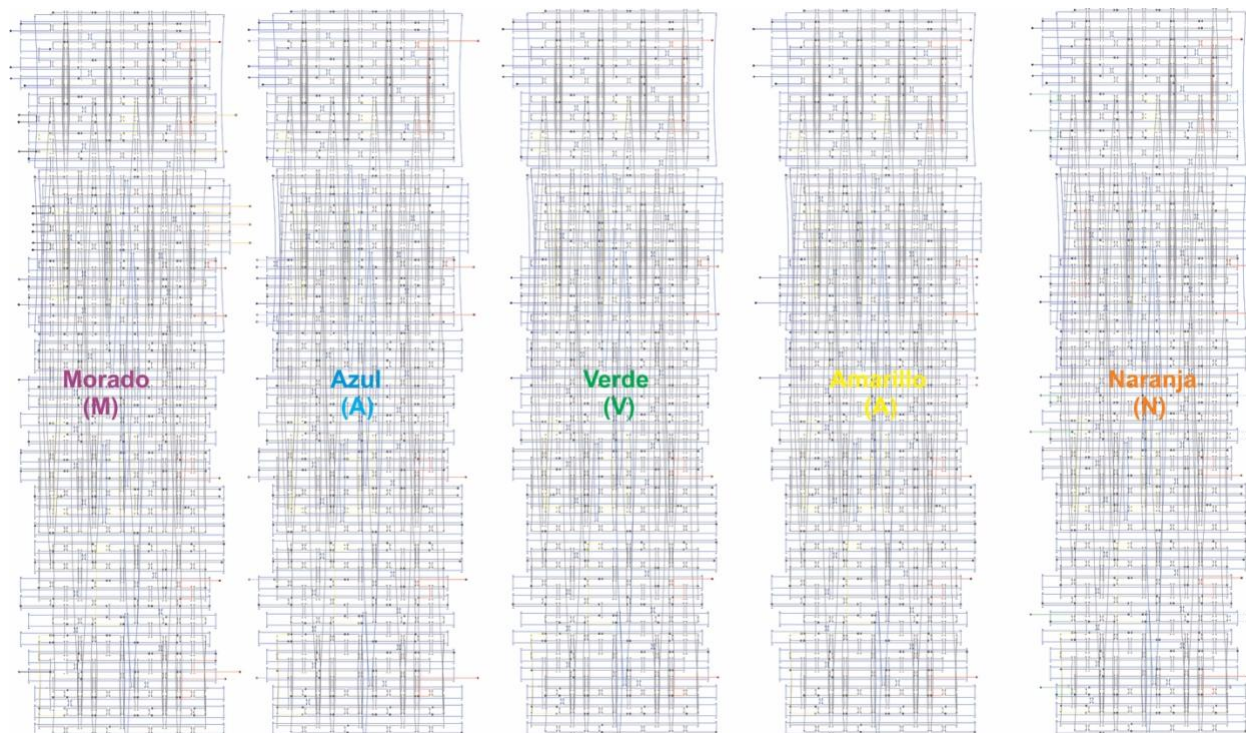


**Figura 13.** Estructura molecular de módulos por Molecular Viewer de Autodesk.

Para el logro de los objetivos planteados en la tesis, el diseño se modificó de tal forma que la longitud pudiera ser controlada, sin perder estabilidad estructural y generando un número considerable de posibles uniones. Con la asistencia del software caDNAno y utilizando la plantilla de red hexagonal, mejor conocida como panal de abeja o “honeycomb”, se diseñaron 5 módulos. Para formar nanoalambres, las uniones no deben interactuar sólo como extremos pegajosos, ya que estas podrían desplazarse, generar espacios entre nanoestructuras e incluso no acoplarse. Por ello, el diseño se realizó a través de sitios creados para enlazarse directamente al andamio, de esta forma la estructura final contará con mayor estabilidad.

Para facilitar el proceso de diseño, se mantuvo la secuencia y longitud de las grapas en la parte central de la estructura diseñada por Wei Sun y colaboradores. En la figura 14 se observa

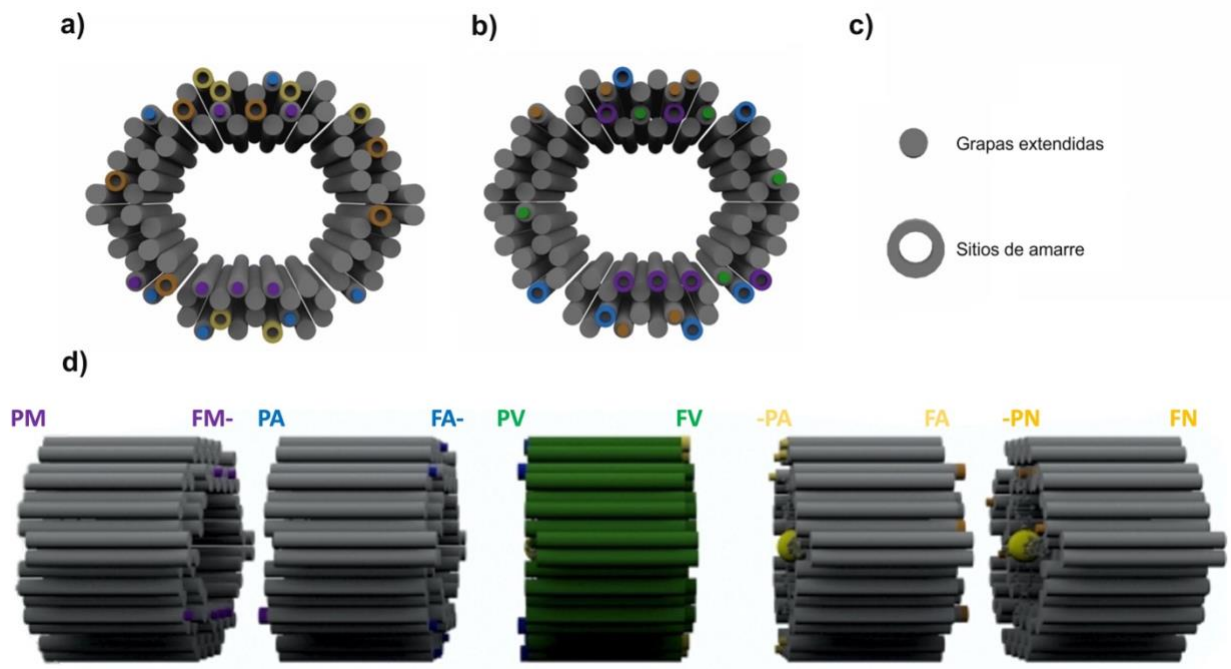
una representación general obtenida en caDNAo de cinco combinaciones posibles que se identificará con 5 distintos colores: morado (M), azul (A), verde (V), amarillo (A) y naranja (N), ver material suplementario D para mayor detalle en los diseños. Cada grapa programada se diseña y se extiende al menos 8 nt para unirse al andamio del módulo vecino. Además, a lo largo de cada una de las caras se agregaron grapas con una extensión de 5 timinas para sellar, obstruir, las secciones del módulo que no se acoplen con las del vecino.



**Figura 14.** Diseño de sitios de enlace y grapas extendidas de estructuras modulares en caDNAo.

La principal diferencia en el diseño de cada uno de los 5 módulos se concentra en la sección frontal (F) y posterior (P), ya que en esta región es donde se generaron de 6 a 5 grapas extendidas (“-“) para cada módulo, a excepción del módulo central que solo contiene muescas, sitios de amarre, para enlazarse con los módulos vecinos. Por ejemplo, para la estructura denominada M solo será posible interactuar con el módulo A, a través de unión FM-PA (parte frontal de M con la posterior de A), como se observa en la figura 15. A su vez, únicamente se podrán enlazar de manera sucesiva FA-PV, FV-PA, FA-PN. Por lo tanto, la nanoestructura básica para la construcción de los nanoalamabres estará conformada de forma biunívoca por el ensamble continuo de los cinco

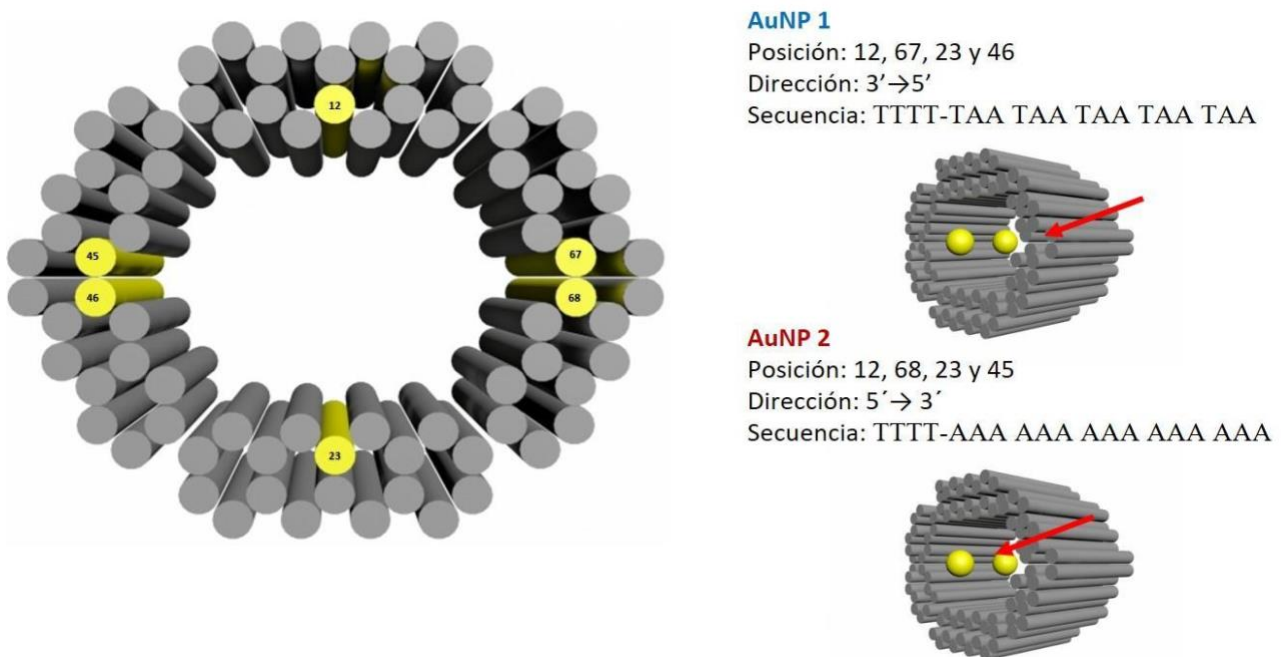
módulos en el siguiente orden: **M-A-V-A-N**, como se muestra en la figura 15. El éxito de este novedoso mecanismo de enlace para la fabricación de una nanoestructura básica utilizado en este trabajo se basa en la extensión de ciertas grapas de un módulo para solo unirse con las complementarias en regiones seleccionadas de antemano del andamio del módulo contiguo. Este acoplamiento único entre módulos a través de protuberancias, o clavijas, en un objeto que encajan en muescas, o huecos para clavijas, en otra es semejante a la construcción de cosas usando el juego de Lego ©.



**Figura 15.** Representación de los sitios de amarre. A) Vista anterior, b) vista posterior, c) simbología para identificar las grapas extendidas y los sitios de amarre; d) acoplamiento de cinco módulos hexagonales.

Por otro lado, y como paso previo al proceso de metalización, se posicionaron 2 nanopartículas de oro en el interior de cada módulo por medio de 4 sitios de amarre, una en la parte central y otra en la posterior como se muestran en la figura 16 (ver material suplementario E. **Unión de módulos**). Para la selección de las grapas a ser extendidas y posicionamiento de las nanopartículas se requirió del uso del software Autodesk Maya (Benson et al., 2015). Teniendo en cuenta que cada módulo es creado por el apareamiento Watson-Crick entre bases de cadenas sencillas, y considerando la helicidad intrínseca del ADN, es posible saber por medio de Autodesk

Maya si la región seleccionada en el módulo se encuentra en la posición adecuada para extenderla hacia el interior del módulo. Esta fue una de las claves al escoger las grapas a extender en el módulo, ya que de lo contrario las nanopartículas se encontrarían en la parte externa del módulo, lo cual no es deseable. De esta manera, se colocó una nanopartícula de oro en la parte central de cada módulo, denotada por AuNP1, y otra en la parte posterior, denotada AuNP2, por medio de cuatro sitios de amarre correspondientes a cuatro grapas extendidas en las direcciones  $3' \rightarrow 5'$  y  $5' \rightarrow 3'$ , respectivamente, con las secuencias mostradas en la figura 16. Las primeras cuatro T en las secuencias cumplen la función de “espaciador” entre el módulo y cada nanopartícula. El diseño de las extensiones se basa en la idea de Kuzyk, *et al* con la finalidad de lograr altas probabilidades de unión antiparalela de AuNPs a las estructuras de origami de ADN (Kuzyk et al., 2012). A su vez las nanopartículas de oro tienen una secuencia de ADN que sean complementarias a las extendidas; es decir, para AuNP1 la secuencia es  $5' \rightarrow 3'$ , ATT ATT ATT ATT ATT TTTT- SH y para AuNP2 la secuencia es  $3' \rightarrow 5'$ , TTT TTT TTT TTT TTT TTTT- SH.



**Figura 16.** Posicionamiento de semillas, nanopartículas de oro, en la cavidad de una estructura modular. a) Selección de hélices para extender grapas. b y c) Posición y secuencia de para NP1 y NP2 respectivamente.



## V.2. Síntesis

### V.2.1 Preparación de grapas (ssDNA) y andamio (ssDNA)

Después de obtener el diseño optimizado de cada uno de los módulos se procedió a la compra de las grapas y andamio. En nuestro caso, las grapas fueron ordenadas a la compañía IDT (Integrated DNA Technologies) hidratadas a una concentración de 200  $\mu\text{M}$  y el andamio de cadena sencilla a la compañía Tilibit Nanosystem, tipo p7560 a 100 nM. Debido a que el andamio y grapas están sujetos a sufrir cambios de temperatura por evaporación o sublimación durante el envío se verificó la concentración de cada una de las grapas y el andamio, bajo el siguiente procedimiento:

- Se tomaron las grapas y andamio del congelador (- 20 °C) y se dejaron a temperatura ambiente en un agitador TekTrator<sup>®</sup> V tipo shaker a 120 rpm hasta descongelar cada uno de los tubos.
- Para asegurar que todo el contenido de los tubos fuera considerado en la medición se centrifugó a 500 g por 2 minutos en una centrifuga Sorvall<sup>™</sup> Legend<sup>™</sup> XTR de Thermo Scientific, hasta que todo el líquido estuviera en el fondo de los microtubos.
- Posteriormente se midió el volumen de cada uno de los pozos que contienen las grapas y se transfirieron a tubos herméticos de 1.5 mL tipo Eppendorf.
- Después se calibró el equipo NanoDrop 2000 de Thermo Scientific con 1.5  $\mu\text{L}$  de DDI H<sub>2</sub>O como blanco, o referencia. Se midió la absorbancia usando 1.5  $\mu\text{L}$  de cada muestra a una longitud de onda de 260 nm. Posteriormente se exportaron los datos a una tabla Excel para posteriores cálculos.

### V.2.2. Diseño de “pools” de grapas

Los “pools” de grapas representan una de las estrategias de síntesis de origami de ADN más importantes ya que a partir de ella se optimizan los procesos posteriores. Para ello se forman grupos de grapas por secciones de los módulos cuyas grapas son extendidas para agilizar e identificar los elementos que se ensamblan para conformar la estructura deseada como se muestra

en la tabla 2. Además, se generaron dos clases de “pools” el primero “pool stock” proviene directamente de las grapas que están a una concentración de 200  $\mu\text{M}$ , y se conservó a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ . El segundo “pool” proviene del “pool stock” y este se conservó a  $4\text{ }^\circ\text{C}$  para uso continuo.

El procedimiento constó básicamente de lo siguiente:

- Se tomaron los microtubos de las grapas para someterlas a agitación en un Vortex (mezclador analógico de Fisher Scientific <sup>TM</sup>) y, posteriormente se centrifugaron.
- Se etiquetó cada “pool stock” y se agregó una cantidad adecuada de cada grapa para obtener 500  $\mu\text{L}$  de cada “pool stock”, posteriormente se mezclaron, por unos segundos, con la ayuda de un Vortex. Se midió la concentración final calibrando el NanoDrop 2000 de Thermo Scientific con 1.5  $\mu\text{L}$  de  $1 \times \text{TAE}$  y se tomó 1.5  $\mu\text{L}$  de cada “pool stock”
- Del “pool stock” se realizan los cálculos necesarios para hacer nuevos “pools” para uso continuo a una concentración homogénea de 0.5  $\mu\text{M}$  con un volumen de 500  $\mu\text{L}$ . A continuación, se muestran en la siguiente tabla:

Pool	# Grapas	Código	[ ]	Descripción
1	150	NM	0.5 $\mu\text{M}$	Nanomolde (grapas centrales)
2	6	Y	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas Amarillo
3	6	B	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas Azul
4	4	AuNP1	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas AuNP1 centro
5	4	AuNP2	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas AuNP2 posterior
6	5	TY	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas tapón Amarillo
7	6	TB	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas tapón Azul
8	6	BT	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas azules “T-Bumper”
9	6	YT	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas amarillo “T-Bumper”
10	6	TO	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas tapón Naranja
11	6	O	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas Naranja
12	6	TP	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas tapón Morado
13	6	P	0.5 $\mu\text{M}$	Grapas Morado

**Tabla 2.** Código y descripción de *pools* que conforman los diferentes módulos

### V.2.3. *Annealing* de módulos de origami de ADN

El método de origami de ADN es una técnica de un solo paso, nombre que se le atribuye debido a la simplicidad con la que se obtiene la nanoestructura deseada. La alta programabilidad del ADN permite que las cadenas sencillas se reconozcan y plieguen con el andamio, lo cual proporciona a la técnica de origami de ADN una manipulación precisa gracias al reconocimiento Watson-Crick. El *annealing* o alineamiento de las cadenas sencillas de ADN se realiza con la ayuda de un termociclador, la temperatura se eleva en el rango de 80 a 90 °C para asegurar que las cadenas sencillas se encuentren separadas. Posteriormente, usando una rampa de temperatura de temperatura gradual y adecuada, la temperatura disminuye hasta temperatura ambiente. De esta forma es posible conformar una estructura en dos o tres dimensiones, en este caso de 3D.

Para optimizar el tiempo del “*annealing*”, se realizaron pruebas de ~72 horas y ~16 horas, esto de acuerdo con los reportes en la literatura (Helmi et al., 2014; Sun et al., 2014). Sin embargo, los resultados obtenidos en geles de electroforesis e imágenes de AFM confirmaron que no existe una diferencia sustancial en el tiempo de “*annealing*” por lo que se elevó la temperatura del termociclador a 80 °C por 5 min, luego se disminuyó gradualmente en etapas en los siguientes rangos de 79 a 56 °C por 347.76 min, de 55 a 46 °C por 225 min y de 45 a 25 °C por 302.4 min, siendo 25 °C la temperatura ambiente.

De igual forma se analizó la concentración de magnesio adecuada en el buffer adecuado para estabilizar a las estructuras modulares esto se hizo a concentraciones de 200 mM y 125 mM, de  $10 \times$  TAE (40 mM Tris-acetate y 1 mM EDTA, pH 8.3). Las tablas muestran los cálculos necesarios para realizar cada uno de los módulos, con las grasas adecuadas en relación 1:5 y 1:10 para algunos casos:

### V.2.3.1. Cálculos de *annealing* módulo Morado

Muestra	[inicial]	[final]	Volumen
Scaffold	0.1 $\mu\text{M}$	0.01 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 1	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 4	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 5	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 8	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 9	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 12	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
Pool 13	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
10 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$		1 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$	10 $\mu\text{l}$
		<b>TOTAL</b>	100 $\mu\text{l}$

**Tabla 3.** Cálculos utilizados para el recocido del módulo morado.

### V.2.3.2. Cálculos de *annealing* módulo Azul

Muestra	[inicial]	[final]	Volumen
Scaffold	0.1 $\mu\text{M}$	0.01 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 1	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 3	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 4	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 5	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 7	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
Pool 9	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
10 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$		1 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$	10 $\mu\text{l}$
DDi $\text{H}_2\text{O}$			10 $\mu\text{l}$
		<b>TOTAL</b>	100 $\mu\text{l}$

**Tabla 4.** Cálculos utilizados para el recocido del módulo azul.

### V.2.3.3. Cálculos de *annealing* módulo Verde

Muestra	[inicial]	[final]	Volumen
Scaffold	0.1 $\mu\text{M}$	0.01 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 1	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 4	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 5	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 10	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
Pool 12	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
10 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$ (200 mM)		1 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$ (20 mM)	10 $\mu\text{l}$
DDi $\text{H}_2\text{O}$			10 $\mu\text{l}$
		<b>TOTAL</b>	100 $\mu\text{l}$

**Tabla 5.** Cálculos utilizados para el recocido del módulo verde.

### V.2.3.4. Cálculos de *annealing* módulo Amarillo

Muestra	[inicial]	[final]	Volumen
Scaffold	0.1 $\mu\text{M}$	0.01 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 1	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 2	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 4	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 5	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 6	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
Pool 8	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
10 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$ (200 mM)		1 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$ (20 mM)	10 $\mu\text{l}$
		<b>TOTAL</b>	100 $\mu\text{l}$

**Tabla 6.** Cálculos utilizados para el recocido del módulo amarillo.

### V.2.3.5. Cálculos de *annealing* módulo Naranja

Muestra	[inicial]	[final]	Volumen
Scaffold	0.1 $\mu\text{M}$	0.01 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 1	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 4	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 5	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
Pool 8	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
Pool 9	0.5 $\mu\text{M}$	0.1 $\mu\text{M}$	20 $\mu\text{l}$
Pool 11	0.5 $\mu\text{M}$	0.05 $\mu\text{M}$	10 $\mu\text{l}$
10 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$ (200 mM)		1 $\times$ TAE $\text{Mg}^{2+}$ (20 mM)	10 $\mu\text{l}$
		<b>TOTAL</b>	100 $\mu\text{l}$

**Tabla 7.** Cálculos utilizados para el recocido del módulo naranja.

### V.2.4. Purificación de nanoestructuras

Posterior al proceso de annealing, es necesario remover el exceso de cadenas sencillas que no fueron hibridizadas con el andamio. Para ello se utilizaron filtros Microcon DNA fast Flow, de Milipore, en una centrífuga XC-2000, de Premiere. El procedimiento constó de los siguientes pasos:

- Primero se tomó un filtro para cada módulo, se agregaron 300  $\mu\text{l}$  de 1  $\times$  TAE  $\text{Mg}^{2+}$  (20 mM) y se centrifugó a 4000 rpm durante dos minutos a temperatura ambiente. Se recuperan 200  $\mu\text{L}$  del buffer filtrado los cuales se desechan.
- En el filtro quedaron 100  $\mu\text{l}$  de buffer y se agregaron 100  $\mu\text{l}$  de buffer más 100  $\mu\text{l}$  de muestra. Se agitó ligeramente con la punta de la micropipeta y se centrifugó a 4000 rpm durante dos minutos a temperatura ambiente. Se recuperan 200  $\mu\text{l}$  de muestra filtrada en el fondo y 100  $\mu\text{l}$  quedaron en el filtro. Se voltea el filtro, se colocó en un nuevo tubo y se centrifugó a las mismas condiciones.

- El volumen recuperado en el paso anterior se colocó en un tubo etiquetado, posteriormente se midió la concentración usando el Nanodrop.

### V.2.5. Preparación de grapas de enlace y “backfill”

Este procedimiento permite activar las secuencias de los oligos en los extremos 5' y 3' enlazados a un grupo (-SH) ya que las secuencias contienen químicos que permiten mantenerlos estables. Para este protocolo fue necesario hidratar los tubos de tioles 5' y 3' considerando una concentración final de 200  $\mu\text{M}$ , los cálculos se realizaron considerando que la concentración molar del ADN es 200  $\mu\text{mol/L}$  y que la concentración de las nanopartículas de oro (AuNPs) es de  $5 \times 10^{13}$  partículas/mL para ello se tomaron 10 mL de las nanopartículas.

#### Cálculos:

- Concentración de AuNPs:

$$[AuNPs] = \left( \frac{5 \times 10^{13} AuNPs}{1 \times 10^{-3} L} \right) \left( \frac{1 mol}{6.022 \times 10^{23} AuNPs} \right) = 83.028 \times 10^{-9} moles = 83.028 nM/L$$

- Concentración de grapas tioladas:

$$1.- [5' Thiol] = 100 \mu M$$

$$2.- [3' Thiol] = 100 \mu M$$

- En una relación 1:5

#### 5' Tiol

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

$$V_1 5' Thiol = \frac{[83.028 \times 10^{-9} M][10 \times 10^{-3} L]}{[100 \times 10^{-6} M]} = 8.3028 \times 10^{-6} L = (8.3 \mu L) \times 5$$

$$= 41.5 \mu L$$

Tomando como referencia que se deben utilizar 15  $\mu\text{L}$  a partir de una concentración de 100  $\mu\text{M}$ , tenemos que para el agente reductor TCEP (Tris(2-carboxyethyl) phosphine hydrochloride):

$$n = (100 \times 10^{-6} \frac{\text{moles}}{\text{L}})(15 \times 10^{-6} \text{ L}) = 1.5 \times 10^{-9} \text{ moles}$$

Relación de TCEP:

$$\begin{aligned} 5 \mu\text{L} &\rightarrow [15 \mu\text{L}] \\ x &\rightarrow [47 \mu\text{L}] \\ x &= 15.7 \mu\text{L TCEP} \end{aligned}$$

Relación de 10  $\times$  TE (10 mM Tris-HCl (pH 8.0) 0.1 mM EDTA):

$$\begin{aligned} 1.66 \mu\text{L} &\rightarrow [15 \mu\text{L}] \\ x &\rightarrow [41.5 \mu\text{L}] \\ x &= 4.6 \mu\text{L } 10 \times \text{TE} \end{aligned}$$

### 3' Tiol

$$\begin{aligned} C_1 V_1 &= C_2 V_2 \\ V_1 \text{ 3' Tiol} &= \frac{[83.028 \times 10^{-9} \text{ M}][10 \times 10^{-3} \text{ L}]}{[100 \times 10^{-6} \text{ M}]} = 8.3028 \times 10^{-6} \text{ L} = (8.3 \mu\text{L}) \times 5 \\ &= 41.5 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Tomando como referencia que se deben utilizar 15  $\mu\text{L}$  a partir de una concentración de 100  $\mu\text{M}$ , tenemos que para TCEP

$$n = (100 \times 10^{-6} \frac{\text{moles}}{\text{L}})(15 \times 10^{-6} \text{ L}) = 1.5 \times 10^{-9} \text{ moles}$$

Relación de TCEP:

$$\begin{aligned} 5 \mu\text{L} &\rightarrow [15 \mu\text{L}] \\ x &\rightarrow [47 \mu\text{L}] \\ x &= 15.7 \mu\text{L TCEP} \end{aligned}$$



Relación de 10 × TE:

$$\begin{aligned}1.66 \mu L &\rightarrow [15 \mu L] \\x &\rightarrow [41.5 \mu L] \\x &= 4.6 \mu L \ 10 \times TE\end{aligned}$$

### Backfill (T<sub>5</sub>)

- El cálculo realizado es para cada una de las secuencias; es decir, 5' y 3'. En una relación 1:60.

$$\begin{aligned}C_1 V_1 &= C_2 V_2 \\V_1 T_5 &= \frac{[83.028 \times 10^{-9} M][10 \times 10^{-3} L]}{[927.83 \times 10^{-6} M]} = 8.948 \times 10^{-7} L = (0.89 \mu L) \times 60 \\&= 53.7 \mu L\end{aligned}$$

$$\text{Vol de referencia} = \frac{[1.5 \times 10^{-9} \text{ moles}]}{[927.83 \times 10^{-6} \frac{\text{moles}}{L}]} = 1.616 \times 10^{-6} L = 1.616 \mu L$$

Relación de TCEP:

$$\begin{aligned}5 \mu L &\rightarrow [1.62 \mu L] \\x &\rightarrow [53.7 \mu L] \\x &= 165.74 \mu L \ TCEP\end{aligned}$$

Relación de 10 × TE:

$$\begin{aligned}1.66 \mu L &\rightarrow [1.62 \mu L] \\x &\rightarrow [53.7 \mu L] \\x &= 55.02 \mu L \ 10 \times TE\end{aligned}$$

Ya obtenidos los cálculos se agregaron los volúmenes necesarios de TCEP, ssDNA de las grapas y 10 × TE en un tubo de PCR. Se agregaron en el orden mencionado anteriormente debido

a que el TCEP es una solución muy viscosa. Finalizando este procedimiento, se tomó cada uno de los tubos preparados y se colocaron en un agitador rotatorio (360°) durante 24 horas.

### **V.2.6. Tratamiento de nanopartículas de oro**

A la par del tratamiento anterior, se tomaron dos tubos de 10 mL de AuNP ( $5 \times 10^{13}$  partículas/mL) de la compañía Ted Pella, Inc. A cada uno se agregaron 3 mg de Bis (p-sulfonatophenyl) phenylphosphine dihydrate dipotassium salt (BSPP) al 97% de la compañía Sigma-Aldrich. Se mezcló la solución y se colocó en un agitador rotatorio a 75 rpm durante 24 horas.

### **V.2.7. Funcionalización AuNP:ssADN**

El método de “*salt-aging*”, que consiste en agregar NaCl gradualmente durante aproximadamente 48 h, se utilizó en la funcionalización para evitar la repulsión electrostática entre las nanopartículas de oro y las cadenas de ADN tioladas ya que ambas están cargadas negativamente. Este procedimiento permite remover la solución de agua con pequeñas cantidades de ácido tánico y carbonato de potasio que contienen las AuNPs suministradas por la compañía Ted Pella, Inc. Esta solución estabiliza a las nanopartículas de oro de 5 nm de tamaño con una carga neta superficial negativa. La preparación consistió en lo siguiente:

:

- Se pesaron 130 mg de NaCl<sub>2</sub> de Sigma Aldrich y se mezcló en un Vortex-1 de Scientific Industries hasta diluir la sal y la solución se centrifugó a 4000 rpm durante 30 min en una centrífuga Centurion de Scientific Limited.
- De acuerdo con el cambio de coloración en la solución de color vino a marrón, se agregaron aproximadamente 130 mg de NaCl<sub>2</sub>, se mezclaron y se centrifugó a las mismas condiciones que el paso anterior. Ya obtenida la coloración marrón, se desechó el sobrenadante con una pipeta cuidando de no tocar el “*pellet*”.

- Después de remover el sobrenadante de cada uno de los tubos, se retiraron las grapas tratadas en la sección V.2.5.1 y se centrifugaron en una microcentrífuga de Corning durante 10 min para precipitar el TCEP.
- Durante la espera de este procedimiento se re-suspendió el pellet de AuNPs en 200  $\mu$ L de sal Bis(p-sulfonatophenyl)phenylphosphine dihydrate dipotassium salt BSPP y 200  $\mu$ L de metanol.
- Posteriormente, se mezcló y colocó la solución de AuNPs en un tubo de 1.5 mL y se centrifugó a 4000 rpm durante 30 min en un equipo Centurion de Scientific Limited.
- Se retiró el sobrenadante sin tocar el pellet y se agregaron 50  $\mu$ L de la solución de BSPP.
- Posteriormente, se agregó a cada microtubo preparado previamente y etiquetado con 5', 3' ssDNA con sus respectivo "*backfill*" y se mezclaron en un Vortex por 10 segundos.
- Por último, se colocó la solución resultante en un agitador TekTrator<sup>®</sup> V tipo shaker a 120 rpm durante dos días.

### V.2.8. Purificación de AuNPs

El presente protocolo tiene la finalidad de eliminar el exceso de grapas de las AuNPs con las grapas extendidas (T5, 3' y 5'). Para ello fue necesario esperar al término de la incubación ya que es un factor crítico en la relación AuNPs- grapas. El procedimiento consistió en lo siguiente:

- Se prepararon 1000 mL de buffer de carga  $1 \times$  TAE en una probeta.
- Se prepararon 150 mL de buffer  $1 \times$  TAE  $Mg^{2+}$  (12.5 mM) para preparar los geles.
- Se pesaron 1.5 g de agarosa y se depositó en un matraz Erlenmeyer de 50 mL para preparar el gel de agarosa al 3% para dos geles. Uno correspondiente para la secuencia 3' y otro para el 5'.
- Se agregaron 50 mL de buffer  $1 \times$  TAE  $Mg^{2+}$  (12.5 mM), la mezcla obtenida se llevó a un microondas para calentarlo hasta punto de ebullición. Durante el proceso de calentamiento la solución fue retirada en repetidas ocasiones para evitar que se derramara debido al proceso de ebullición.
- El procedimiento anterior se repitió hasta que la agarosa se disolviera por completo.

- Ya obtenida la agarosa con la característica deseada, que fuera translúcida, se vertió en un molde adecuado de electroforesis con 8 pozos y evitando la formación de burbujas.
- Se dejó gelificar por 40 minutos a temperatura ambiente, se retiró con precaución y se colocó en la cámara de electroforesis Mini-Sub<sup>®</sup> Cell GT Systems de BIO-RAD, la cámara se encontraba dentro de un refrigerador a 4 °C para evitar sobrecalentamiento en la muestra.
- Se llenó hasta el borde indicado en la cámara de electroforesis con el buffer preparado anteriormente.
- Cuidadosamente se colocó un volumen de 40 µL de la muestra en cada pozo obtenida en el protocolo ya descrito y mezclada con glicerol al 50% del tratamiento de nanopartículas de oro. Esto se determinó a una relación AuNPs-ssDNA 1:5, para asegurar que la muestra se mantenga en la superficie.
- Se corrió el gel durante 15 minutos a 100 V.
- Una vez finalizado el corrimiento se retiró el gel para colocarlo en un visualizador de geles.
- Se cortó con una navaja esterilizada el área que se observó que tuviera la mayor concentración de nanopartículas.
- Se colocó en una caja Petri la sección extraída del gel y se desmenuzó por completo con la tapa de un microtubo.
- Posteriormente, se extrajo la sección desmenuzada y se colocó en el filtro del kit de purificación Freeze 'N Squeeze<sup>™</sup> de BIO-RAD.
- Se colocó en el congelador la solución anterior a una temperatura de -20°C durante 5 minutos.
- Subsiguientemente, se colocó en una centrifuga dentro de un refrigerador a 4°C y se centrifugó a 6200 g durante 2 minutos.
- Finalizado el ciclo, se revolvió el gel y se centrifugó bajo las mismas condiciones.
- Se agregaron 20 µL de 1 × TAE al tubo de purificación para obtener la mayor concentración de AuNPs, se mezcló y se centrifugó por otros 2 minutos a 6200 g.
- Por último, se midió la concentración de las nanopartículas con las grapas tioladas, usando el NanoDrop, y se guardaron en refrigeración a -6°C. Además, se separó una fracción del volumen para prepararlo a una concentración final de 200 nM para cada una de las nanopartículas.

### V.2.9. Conjugados de estructuras modulares con AuNPs

Para este fin se utilizaron las nanopartículas de oro preparadas y filtradas como se describió en la sección anterior. El procedimiento se realizó siguiendo en la metodología propuesta por Bayrak y colaboradores (Bayrak, Helmi, et al., 2018). Este proceso se llevó a cabo en solución en condiciones ambientales. Sin embargo, para asegurar que las AuNPs se trasladen hacia el interior de cada módulo en una relación 6:1, es necesaria una rampa de temperatura de 40°C a 23°C durante 17.64 min por cada grado centígrado en un agitador sideral, ThermoMixer Eppendorf, a 300 rpm. El procedimiento para la generación de los bioconjugados consistió en lo siguiente: conocida la concentración inicial de nanopartículas (200 nM) y de cada uno de los módulos (10 nM), se tomaron los siguientes volúmenes para una concentración final de 1 nM de Origami y 6 nM de AuNPs. Es decir, tomando los siguientes volúmenes:

Molde	AuNP1	AuNP2	1 × TAE	Volumen total
2 µL	0.6 µL	0.6 µL	16.8 µL	20 µL

para así obtener una concentración final de 1 nM de Origami y 6 nM de AuNPs.

### V.2.10. Preparación de las estructuras para su visualización.

Para poder visualizar las estructuras con y sin nanopartículas en AFM, SEM, o TEM, es necesario depositar las nanoestructuras en una plataforma adecuada. Para los propósitos efectuados en la presente tesis, se realizaron depósitos de las muestras sobre una sección de una oblea de silicio oxidada SiO<sub>x</sub>/Si, con un grosor de 300 nm de la región oxidada, y rejillas del tipo “Lacey carbon grids”, Ted Pella para TEM.

Para confirmar la formación de los módulos y nanoalambres con las características esperadas, primero se visualizaron por medio de TEM con los siguientes volúmenes por muestra:

$$\text{Molde o nanoalambre: } V_1 = \frac{(2nM)(100\mu\text{L})}{(10nM)} = 20 \mu\text{L de muestra}$$

- Se busca la parte superior de la rejilla (aspecto más brillante) y se colocaron 2.5  $\mu\text{L}$  de cada muestra.
- Se espera durante 3 minutos para que la muestra se disperse sobre toda la rejilla y posteriormente se agregaron 2.5  $\mu\text{L}$  de acetato de uranil al 2%
- Se dejó reposar por 5 minutos y después se lleva al TEM para su observación.

En general, el sustrato para la fabricación de nanoalambres de oro y caracterización eléctrica es el depósito de la muestra sobre una sección de  $1 \times 1$  cm de oblea de Si/SiO<sub>x</sub> con una capa de 300 nm de óxido. El proceso de colocación de la muestra en SEM y AFM consta de los siguientes pasos:

- Se lava el sustrato de Si/SiO<sub>x</sub> con etanol y se seca con toallas libres de celulosa.
- Se volvió a lavar el sustrato y se secó abundantemente en un flujo de N<sub>2</sub>.
- Se realiza un tratamiento en plasma de O<sub>2</sub> a 5 sccm durante 5 min a una potencia de 240 W. Este procedimiento permite que la superficie tenga mayor hidrofiliidad al eliminar lo más posible compuestos orgánicos.
- En seguida se lavó con etanol y se secó en un flujo de N<sub>2</sub>.
- Se depositaron 20  $\mu\text{L}$  de muestra sobre la superficie del sustrato ya preparada a una concentración final de 1 o 0.5 nM agregando  $10 \times \text{TAE Mg}^{2+}$ .
- Se deja incubar durante una hora, después se lavó con agua de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC, del inglés High-performance liquid chromatography) y se secó con mucho cuidado con un flujo de N<sub>2</sub>.

### V.2.11. Metalización

El procedimiento de metalización se llevó a cabo en condiciones ambientales en un cuarto oscuro. Se utilizó un kit de metalización comercial Goldenhence™ EM Plus, Nanoprobes. El kit consta de 4 soluciones realzador (A), activador (B), iniciador (C) y solución amortiguadora (D).. El procedimiento que se siguió fue el siguiente:

- Se tomaron 5 mL de cada solución y se transportaron a tubos negros debidamente etiquetados para evitar que químicamente se descompongan químicamente por efecto de la luz.
- En un tubo de 1.5 mL se colocó las siguientes cantidades en estricto orden de cada solución:

10 µL	A
10 µL	B
Después de haber colado los volúmenes anteriores hay una se espera 5 min y posteriormente se agrega lo siguiente	
40 µL	1 × TAE Mg <sup>2+</sup>
10 µL	C
10 µL	D

- La mezcla mostrada en la tabla anterior suma un total de 80 µL, De esta solución final, se tomaron 20 µl y se pipetearon sobre el sustrato donde se encuentra la muestra. Lugo se agregaron 20 µl cada 2.5 min hasta lograr un total de 80 µl durante 10 min.
- Después de 10 min del proceso de metalización, se inhibe la reacción enjuagando la muestra en HPLC y secándola en un flujo de N<sub>2</sub>. El secado de la muestra se verifica visualmente usando un microscopio óptico. Después de que la muestra está totalmente seca, la muestra finalmente está lista para su caracterización en SEM o AFM.

### V.2.12 Fabricación de contactos por EBL

- Se seleccionó el diseño del patrón que mejor se ajustaba a la conexión eléctrica de los nanoalambres en el sustrato, pedazo de oblea de SiO<sub>x</sub>/Si de 1 × 1 cm.
- Se colocó el sustrato con las estructuras de origami de ADN metalizadas, nanoalmbres, sobre una abertura que lo mantenía firme en su posición horizontal (“chuck”) de un sistema de recubrimiento por rotación (“spin coating”) para cubrir su superficie con un polímero protector de 300 nm de grosor (“positive resist”) tipo ZEP520 tal que la porción que se exponga a un haz de electrones sea soluble a una sustancia reveladora (“developer”). Es decir, la parte recubierta por el polímero expuesta se disuelva, pero insoluble a aquella que no fue expuesta.
- Luego, se llevó la muestra a una parrilla eléctrica para calentarla a 150 °C durante 10 minutos.
- Posteriormente, se expuso la muestra en el sistema de EBL al haz de electrones a una energía de 10 keV y dosis de 35 μC/cm<sup>2</sup> en aquellas regiones dónde se desean “escribir” los contactos eléctricos de tamaño micrométrico, ~ 100 × 100 μm, (“contact pads”) y marcas de alineación en el patrón.
- Finalizado el proceso de escritura, se sacó la muestra del sistema de EBL y se sumergió en un vaso de precipitados conteniendo acetato n-Amyl, sustancia reveladora, durante 90 segundos y luego en isopropanol (IPA) por 30 segundos (“development”). Se secó la muestra en un flujo de nitrógeno y se observó en un microscopio óptico para una rápida inspección de la calidad del proceso de revelado.
- Ahora la muestra está lista para realizar la evaporación metálica por medio de un haz de electrones. Para ello primero se llevó a un plasma de oxígeno para remover cualquier residuo de material orgánico y así mejorar la adherencia del depósito. Después se llevó a la evaporadora (sistema de UHV Bestec) para recubrir los huecos dejados en el recubrimiento polimérico después del proceso de revelado, escritura del patrón. Este consistió en una capa de 5 nm de grosor de Ti seguido de un depósito de 80 nm de oro a una tasa de 0.2Å/s y 2Å/s, respectivamente.



- Posteriormente, la muestra se sumerge en un vaso de precipitados conteniendo ZDMAC (dimetilacetamida), un removedor químico (“chemical etcher”), para retirar la capa polimérica protectora restante (“lift-off”), incluyendo el excedente del metal en la muestra, para luego lavarse con IPA y por último secarse con un flujo de nitrógeno. De esta manera, se deja el sustrato solo con los nanoalambres en el patrón metálico deseado listos para ser localizados usando los marcadores y conectados a los contactos eléctricos de tamaño micrométrico (“contact pads”).
- Para la conexión individual de cada nanoalambre, estas estructuras metalizadas de oro se buscaron inicialmente usando el SEM del sistema de EBL. Estas después fueron localizadas en el chip correspondiente usando el sistema de coordenadas generado por las marcas de alineación en el patrón. Usando un software de dibujo, tipo Paint o AutoCAD, se trazaron las extensiones respectivas sobre la imagen de la micrografía de cada nanoalambre para su posterior conexión con los contactos eléctricos de tamaño micrométrico (“contact pads”). Creados los diseños de las extensiones para cada nanoalambre, estas fueron transferidas sobre el sustrato por medio de EBL siguiendo los pasos anteriormente descritos para la escritura del patrón completo. Finalmente, se inspecciona la morfología, calidad y continuidad de las diversas conexiones y nanoalambres por medio de SEM.

### **V.3. Caracterización**

La caracterización es uno de los pilares más importantes en este proyecto de tesis, dado que con ello se corroboró la formación y caracterización eléctrica de los nanoalambres. Para la medición de la concentración en solución de las grapas, andamio y nanopartículas de oro, se hizo uso del espectrofotómetro UV-Vis, específicamente el equipo comercial NanoDrop, Thermo Scientific.

Para verificar la formación, separación, purificación y preparación de los módulos, nanoestructuras de ADN y AuNPs se empleó la técnica de electroforesis de agarosa usando una cámara de electroforesis Mini-Sub Cell GT, BIO-RAD. Debido a que cada biomolécula posee una

carga eléctrica específica, la velocidad de migración de cada muestra varía de acuerdo con su peso molecular, a su vez se relaciona con el número de bases, cuando se aplica un campo eléctrico durante un tiempo determinado en un tamiz de agarosa. Finalmente, esta migración se observará como un conjunto de bandas que corresponderá a las distintas muestras que se visualizan con un transiluminador. Para cada experimento se dispusieron de dos geles de agarosa al 1%; preparando 0.5 g de agarosa ultrapura (No. 16500500 de Thermo Fisher Scientific) en 50 mL de solución amortiguadora de  $1 \times$  TAE. El polvo de agarosa se disolvió en un microondas durante 2 min hasta obtener una sustancia homogénea. Posteriormente, se agregaron 2.5  $\mu$ L de bromuro de etidio (EtBr) para poder observar las bandas por luz ultravioleta (UV) ya que tiene propiedades fluorescentes a esa longitud de onda. El gel de agarosa se vertió en la base de una charola con el peine para gelificar y formar los pozos. Se continuó con el proceso utilizando como “buffer” la solución  $1 \times$  TAE sin magnesio. Se realizó el corrimiento del gel al aplicar un potencial eléctrico de 100 V por 1 hora, ambos geles se corren en paralelo. Después de haber realizado el proceso de electroforesis, se observaron los geles con luz UV y blanca en un fotodocumentador SmartView Pro-1100 de la compañía Major Science.

Para estudiar la topografía de las muestras se hizo uso de dos microscopios de fuerza atómica, Bruker MultiMode 8 y Bruker Multimode 3, en modo contacto intermitente (“tapping”). Se siguió el protocolo descrito en la sección V.2.10 después de haber depositado la muestra en el sustrato. La punta del AFM vibra sinusoidalmente en el modo de contacto intermitente para reducir el daño a la muestra al ser analizada ya que el ADN es un material blando. Se hizo uso de una punta TAP 150 Al-G de la compañía Nanoandmore con un radio de curvatura menor a 10 nm para obtener una mejor resolución en las imágenes. Además del AFM, otra técnica que nos permitió obtener mayor detalle estructural de las muestras es el microscopio electrónico de transmisión JEOL JEM 2000 FX, siguiendo el protocolo descrito en la sección V.2.10 para su visualización. El estudio e inspección de los módulos y nanoalambres funcionalizados, se realizó usando un microscopio electrónico de barrido RAITH e-line Plus. Además, en este mismo equipo se llevó a cabo el patrón de EBL que contiene las marcas de alineación y almohadillas para conectarlos a una fuente de poder.

El estudio del transporte de electrones en los nanoalambres de oro, fabricados usando la técnica de origami de ADN, se realizó en un equipo que tiene componentes tanto comerciales como otras hechas “en casa”. El arreglo está localizado en la zona aledaña a la de un “cuarto limpio”, llamado cuarto gris (“gray room”), por lo que es un área relativamente libre de partículas contaminantes, como polvo. La muestra se sujeta a un porta-sustrato por medio de clips para que un par de agujas conductoras, muy delgadas pero resistentes, presione cada una sobre un contacto eléctrico de tamaño micrométrico,  $\sim 100 \times 100 \mu\text{m}$ , (“contact pads”), ver Figura 37. La localización de los contactos en un chip de la muestra se realizó por medio de un microscopio óptico. A su vez los extremos de uno de los nanoalambres en la muestra previamente habían sido conectados por EBL como se detalla en la sección anterior, ver diagrama de conexión, a los contactos de tamaño micrométrico. Por otro lado, las agujas conductoras están conectadas a una fuente de poder de corriente regulada, Keithley Interactive Test Environment, para aplicar un voltaje entre  $-20$  a  $+20$  mV para llevar a cabo las mediciones de  $I$  vs  $V$ . Dependiendo de las corrientes medidas, existe la posibilidad de variar el rango de voltaje aplicado. Todo este arreglo experimental se encuentra en la vecindad de un refrigerador de flujo continuo que permite hacer el estudio de transporte eléctrico en el rango de temperaturas de  $-40^\circ\text{C}$  a temperatura ambiente.

## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### VI.1. Electroforesis en gel de agarosa

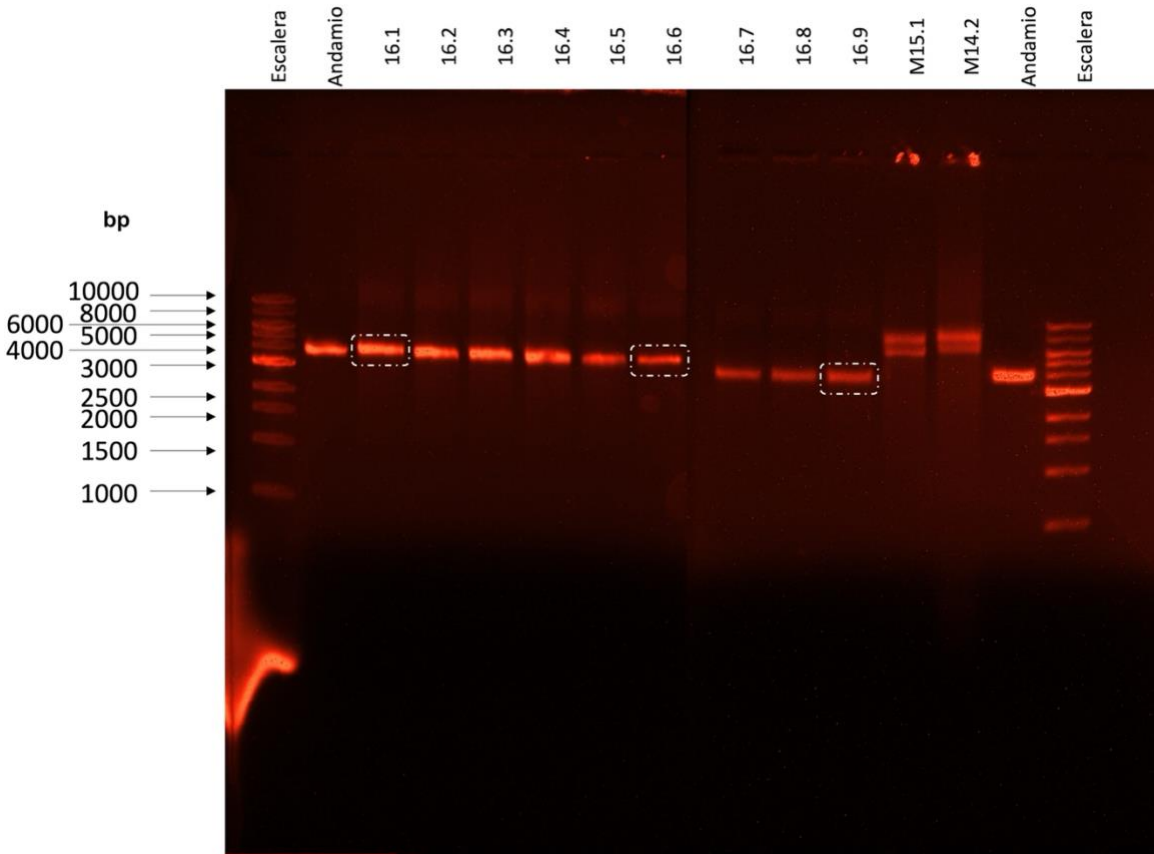
Se llevó a cabo una serie de geles de electroforesis horizontal para evaluar el “annealing” realizado de los diferentes módulos y combinaciones posibles entre ellos, la preparación de los geles se detalla en la sección V.3 Las muestras por analizar se colocaron en dos geles que se corrieron en paralelo. Como se muestra en el lado izquierdo de la imagen en la Figura 17 para un gel típico, en el primero de ellos, llamado gel 1, se depositó en la primera columna una escalera de 1 kb de Sigma-Aldrich, posteriormente el andamio, y en los siguientes pozos se colocaron los módulos. En el segundo de ellos, llamado gel 2, se depositaron los módulos restantes seguido del andamio y escalera de 1 kb, como se observa en el lado derecho mostrando en la Figura 17. Esta forma de mostrar los resultados obtenidos en los dos geles se hizo para contar con marcadores en cada extremo y poder unir los geles para evaluar su corrimiento. Se observa que los marcadores para los distintos números de bases (por ejemplo, el de 3000 bp) en la primera y última columnas correspondientes no coinciden. Por esta razón el corrimiento de la muestra del gel 1 se refiere a la escalera en la columna 1 y la muestra del gel 2 se refiere a la escalera de la última columna. La tabla 8 exhibe los diferentes volúmenes manejados para las diversas muestras, “buffer”, y del marcador utilizado para así obtener las concentraciones mostradas. La concentración de la escalera no se conoce; sin embargo, no es necesario. Este procedimiento se llevó a cabo para corroborar la formación de los cinco módulos, que a continuación se describen.

NOMBRE	6 × DYE	MUESTRA	1 × TAE	V total	CONCENTRACIÓN
Escalera	1 µL	1.6 µL	1.6 µL	3.6 µL	-
Andamio	1.6 µL	0.5 µL	7.9 µL	10 µL	5 nM
Estructuras	1.6 µL	8.4 µL	-	10 µL	8.4 nM

**Tabla 8.** Valores de sustancias usadas para el estudio de muestras en gel de agarosa.

### VI.1.1 Gel de módulo Morado

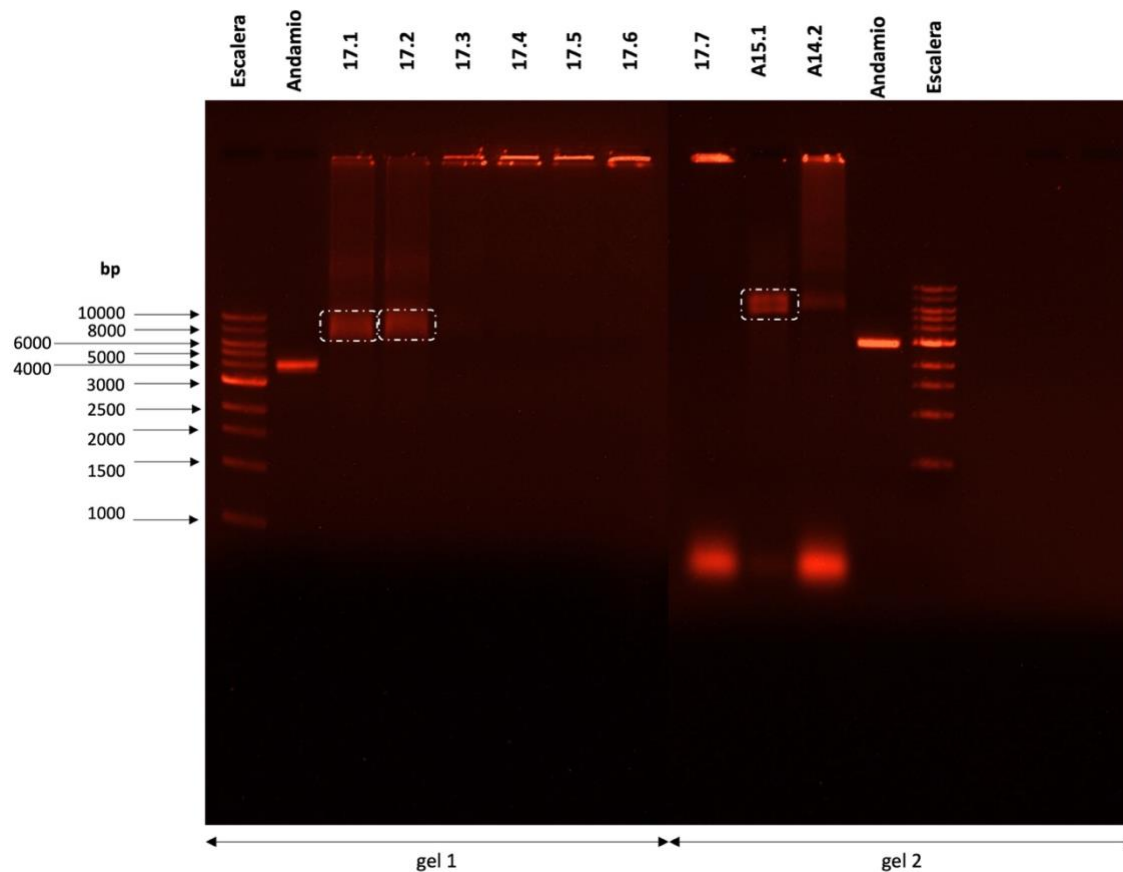
La movilidad electroforética de las variaciones en la síntesis del módulo Morado, etiquetadas como 16.1, ...,16.9, M15.1 y M14.2 y definidas en el apéndice F, se muestran en la figura 17. Las bandas correspondientes a estas variaciones exhiben corrimientos electroforéticos similares entre sí, por lo que los cambios realizados en la síntesis no modifican la formación de estructuras secundarias. En cualquiera de las columnas de los andamios en el gel se aprecia la banda correspondiente a 7540 nt, al compararla con el indicador de la escalera, banda marcada con el valor 4 000, como se observa en la figura 17. Por otro lado, se observan dos bandas intensas y una muy tenue en cada una de las muestras M15.1 y M14.2. Estas dos bandas contiguas corresponden a la formación de dímeros, la unión de dos módulos, lo cual fue corroborado posteriormente por AFM. Es probable que sea causado por la relación 1:5 entre el número de las grapas de unión y bloqueo o “tapones” generando la formación de dímeros. La banda tenue en la parte superior del gel correspondería a la formación de una estructura con un gran número de bases, mucho mayor a 20000 nt, llamada superestructura. En la parte inferior izquierda del gel es posible observar una mancha difusa, esto se debe a un error durante el proceso del corrimiento en la cámara de electroforesis, aunque no afecta los resultados. Gracias a la homogeneidad del corrimiento se seleccionaron tres muestras del gel para filtrarlas y visualizarlas por microscopía de fuerza atómica y corroborar la formación de las estructuras. Las muestras seleccionadas fueron de las columnas 16.1, 16.6 y 16.9, enmarcadas con un rectángulo de líneas sesgadas.



**Figura 17.** Gel de electroforesis de agarosa al 1% de estructuras modulares Moradas. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés).

### VI.1.2. Gel de módulo Azul

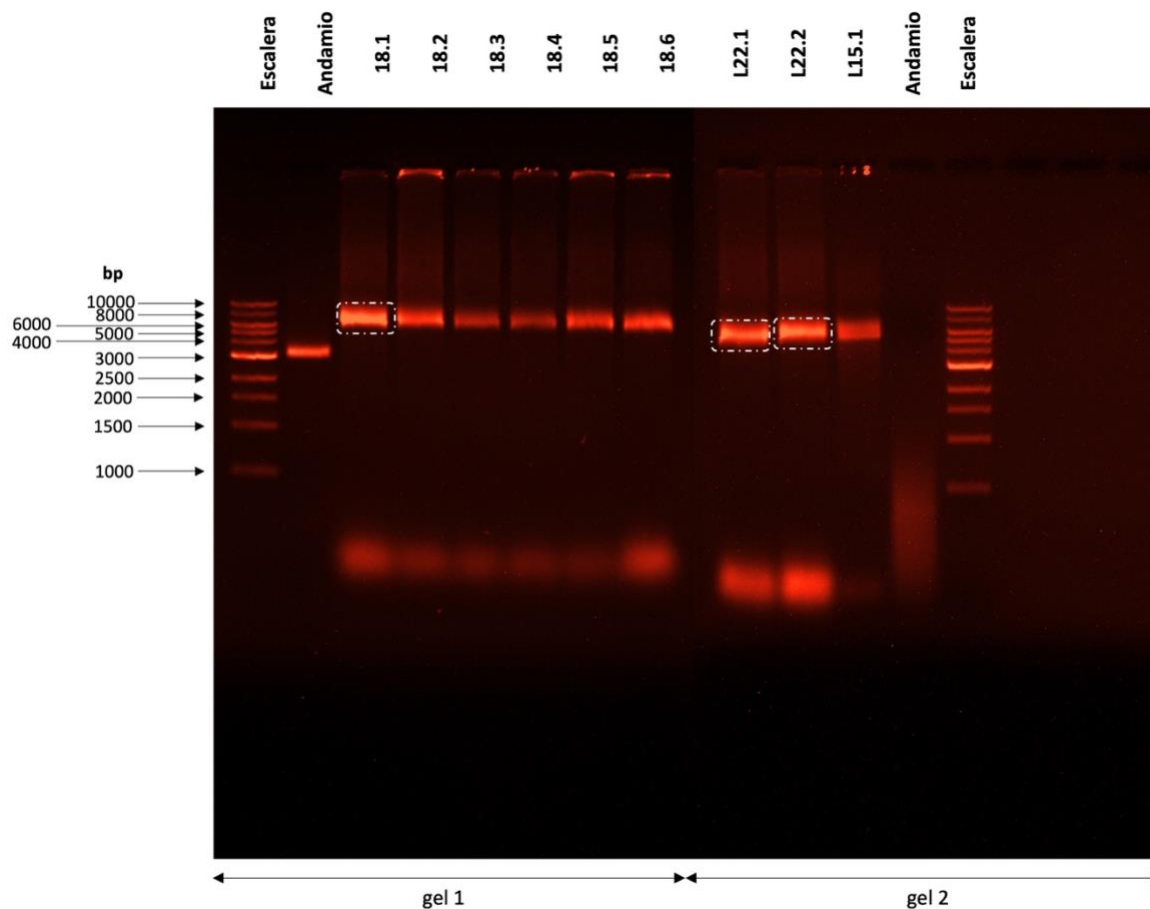
En el caso de variaciones en la síntesis del módulo Azul el corrimiento exhibe una diferencia importante en relación con la movilidad electroforética de las muestras, ver material suplementario F.b, como se observa en la figura 18. Las bandas ubicadas en las columnas 17.1, 17.2, A15.1 y A14.2 tuvieron una movilidad semejante a la del andamio. Sin embargo, las muestras 17.3 al 17.7 no presentan movilidad electroforética. Esto se debe tal vez a que el número de grapas y tapones promueven la formación de superestructuras evitando así que exista una migración dado el enorme tamaño y peso molecular. Es por ello que las estructuras 17.1, 17.2 y A15.1 fueron seleccionadas, enmarcadas con un rectángulo de líneas sesgadas, para su posterior visualización por microscopia de fuerza atómica.



**Figura 18.** Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Azules. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés).

### VI.1.3. Gel de módulo Verde

Para el estudio de la movilidad electroforética de la síntesis del módulo verde, estructura central, fue ideal para todas las variaciones de grapas y “tapones”, ver figura 19. De las muestras depositadas en las columnas 18.1 a L15.1 es posible observar bandas bien definidas que corresponden a la formación del módulo deseado. Sin embargo, también existe un porcentaje considerable de muestra que no migró, banda tenue larga en cada uno de los pozos, así como la formación de múltiples estructuras secundarias a lo largo del corrimiento. Es necesario verificar por microscopia de fuerza atómica la formación de las estructuras para demostrar claramente la integridad de las estructuras, por lo cual se seleccionaron y filtraron las bandas en las columnas 18.1, L22.1y L22.2, enmarcadas con un rectángulo de líneas sesgadas en color blanco.



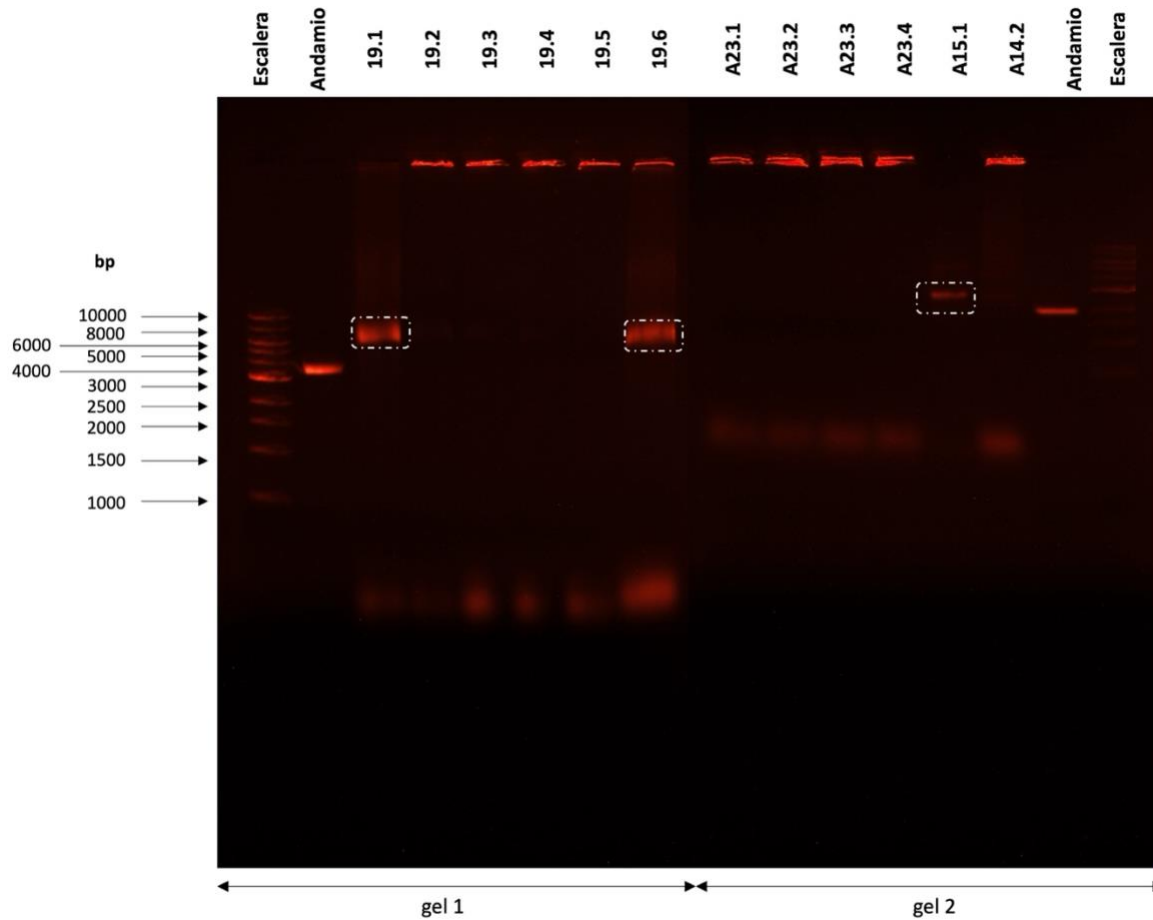
**Figura 19.** Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Verdes. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés).

#### VI.1.4. Gel de módulo Amarillo

El estudio de la movilidad electroforética en las variaciones de la síntesis del módulo amarillo no fue el esperado, como sí ocurrió con el estudio del módulo anterior. Esto probablemente se debe a la mala colocación de las muestras, además de la interacción de las grapas de bloqueo, “tapón”, y unión. En la primera columna es posible ver que la escalera no fue distribuida correctamente durante la carga de las muestras, otra posible razón se debe a que la solución de la muestra se haya encapsulado en una burbuja de aire imposibilitando un corrimiento adecuado de las bandas en el gel. Sin embargo, la migración hacia la banda del andamio fue favorable para 3 muestras que corresponden a los módulos 19.1, 19.6 y A15.1, enmarcados con un



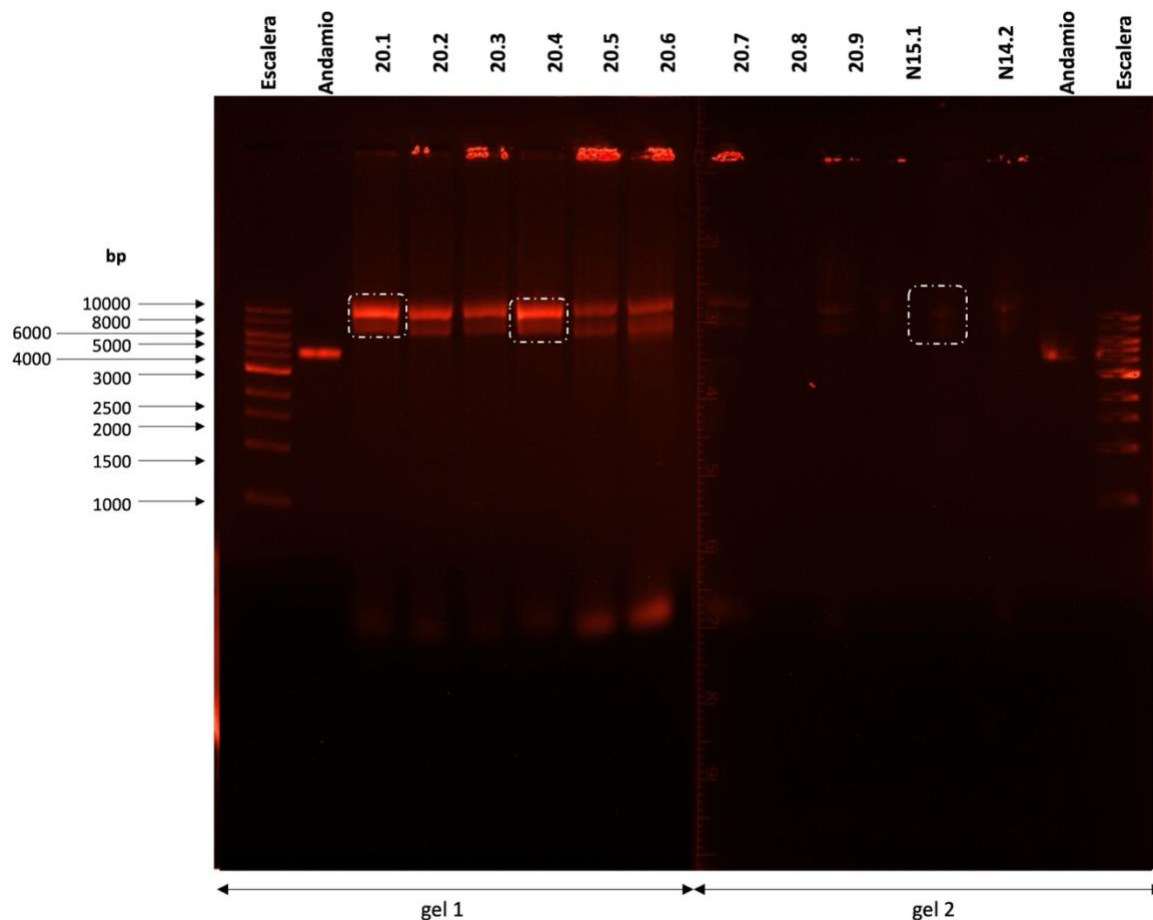
rectángulo de líneas sesgadas. Estas se usaron para la verificación de la formación del módulo amarillo por microscopia de fuerza atómica.



**Figura 20.** Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Amarillas. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés).

### VI.1.5. Gel de módulo Naranja

Por último, el estudio de la movilidad electroforética de la síntesis del módulo naranja exhibe una doble banda en cada una de las muestras, además de contener múltiples estructuras secundarias no deseadas, ver figura 21. Así mismo, pareciera que el gel 2 del lado derecho en la figura 21 se contaminó lo que causó pérdida total y/o parcial de las muestras 20.7 hasta la N14.2. Por lo que no se puede realizar una evaluación fidedigna con el gel 2, solo es posible predecir la tendencia basado en las otras muestras. Por ello, y para corroborar su formación por microscopia de fuerza atómica, se seleccionaron las muestras 20.1, 20.4 y N15.1., enmarcadas con un rectángulo de líneas sesgadas.



**Figura 21.** Gel de electroforesis de agarosa de estructuras modulares Naranjas. Escalera de referencia de 10000 pares de bases (“bp” por su acrónimo en inglés).

## VI.2. Visualización de módulos y nanoalambres

Después del estudio por electroforesis y haber seleccionado las bandas ideales, se realizó una inspección en AFM, y en algunos casos en TEM para corroborar la formación de los diversos módulos. Así mismo, se realizó un estudio de la variación en la concentración de magnesio a 125, 200 y 350 mM para el depósito sobre secciones de  $\text{SiO}_x/\text{Si}$  para cada una de las estructuras. La variación de la concentración de magnesio evita la agregación de los módulos y modifica su adhesión al sustrato. Los resultados en el material suplementario C. **Estudio del depósito sobre  $\text{SiO}_2$  variando la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$**  indican que existe un menor número de estructuras dañadas, deformadas, o secundarias utilizando una concentración de 200 mM de  $\text{Mg}^{2+}$ .

### VI.2.1. Módulos y nanoalambres

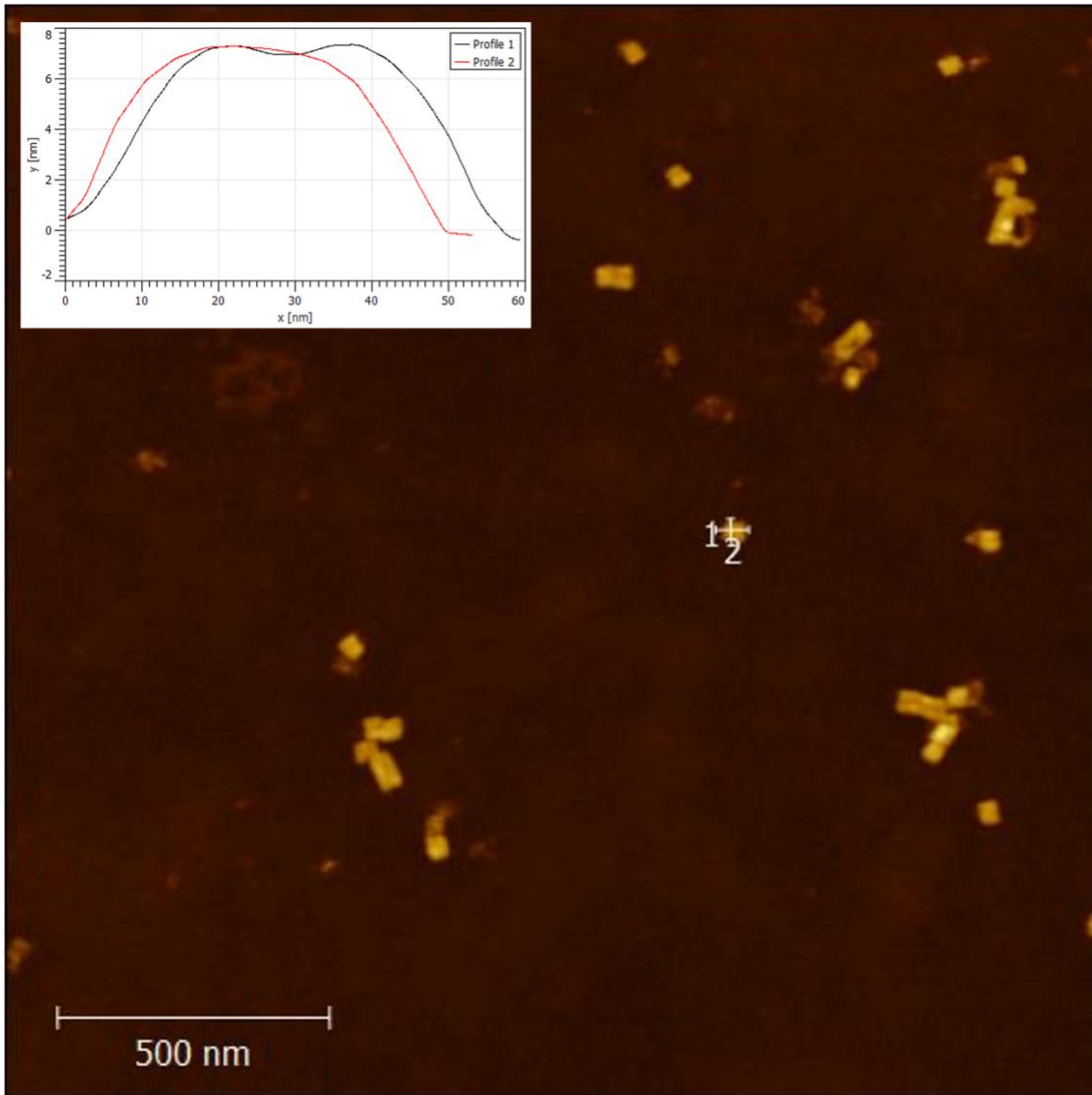
Las siguientes imágenes de AFM se realizaron en aire en el modo de contacto intermitente para corroborar la formación de cada una de las estructuras modulares basadas en los resultados de la movilidad electroforética de las muestras. Cabe mencionar que las imágenes presentan algunas diferencias inherentes debido al radio de curvatura de la punta, la presencia de agua o solución amortiguadora que no logró secarse, etc. Además, que al secarse las muestras depositadas usualmente se deforman por la acción del flujo de aire. Para fines prácticos de entre las muestras elegidas, se seleccionaron las imágenes que contenían el mayor número de módulos bien formados para continuar con los siguientes objetivos del proceso de síntesis de estructuras, conjugados, metalización, y medidas de transporte de carga.

La tabla 9 resume los datos estadísticos relevantes correspondientes a las dimensiones, como la longitud y ancho, y la densidad de los diferentes módulos bien formados. Estos valores fueron extraídos de las micrográficas de AFM de  $2.5 \times 2.5 \mu\text{m}$  mostrados en las figuras 22 a Figura 26. Además, es importante mencionar que los resultados también corroboran la formación de estructuras secundarias observadas en los geles de electroforesis. En general es posible observar módulos bien formados con geometría reconocible.

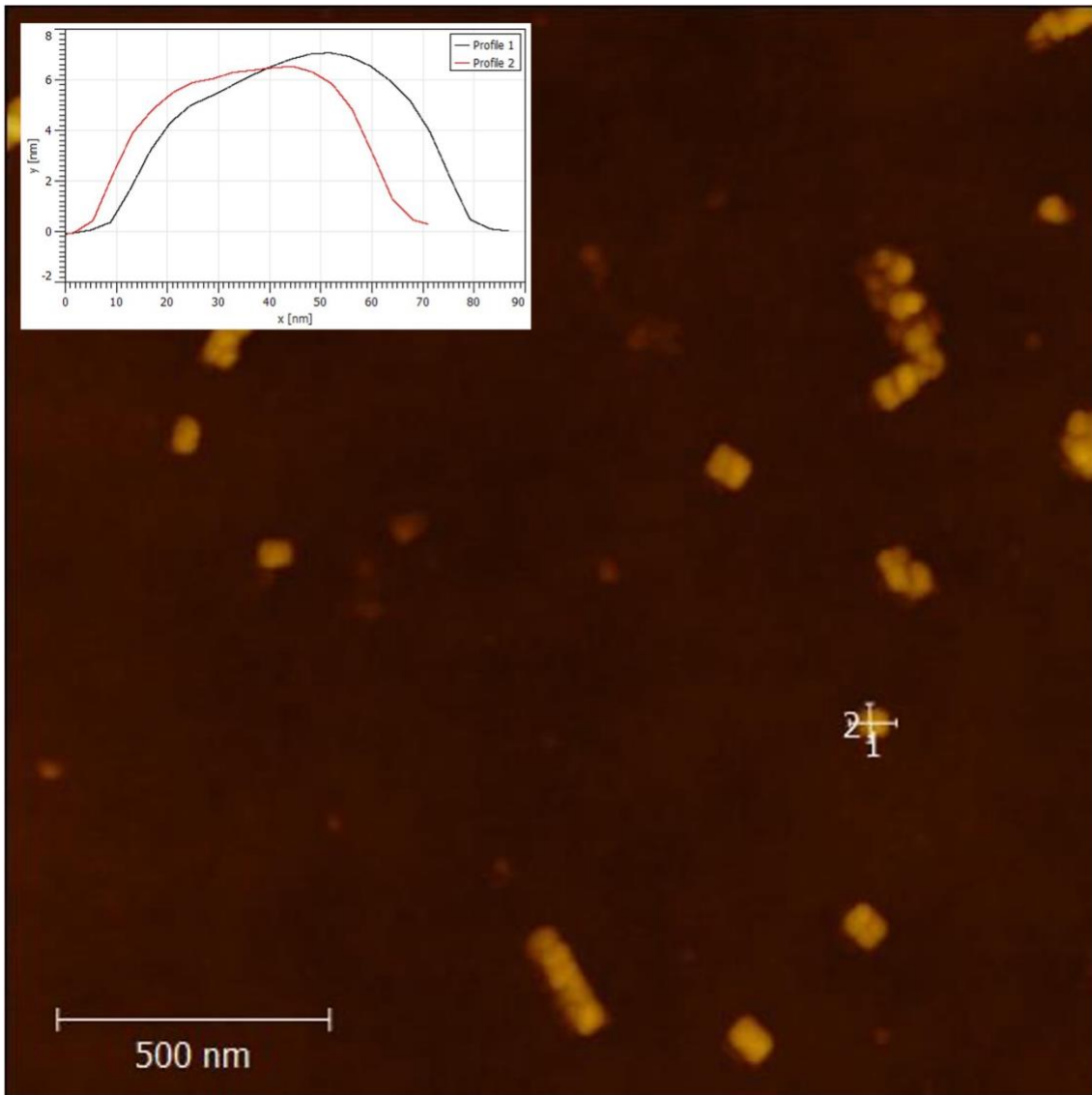
<b>Módulo</b>	<b>Ancho</b>	<b>Largo</b>	<b>Densidad de módulos bien formados</b>	<b>Figura</b>
Morado	$34 \pm 8 \text{ nm}$	$33 \pm 8 \text{ nm}$	media	22
Azul	$36 \pm 8 \text{ nm}$	$30 \pm 8 \text{ nm}$	media	23
Verde	$32 \pm 8 \text{ nm}$	$32 \pm 8 \text{ nm}$	alta	24
Amarillo	$38 \pm 8 \text{ nm}$	$30 \pm 8 \text{ nm}$	media	25
Naranja	$40 \pm 8 \text{ nm}$	$35 \pm 8 \text{ nm}$	media	26

**Tabla 9.** Valores obtenidos por cortes seccionales por AFM de los módulos.

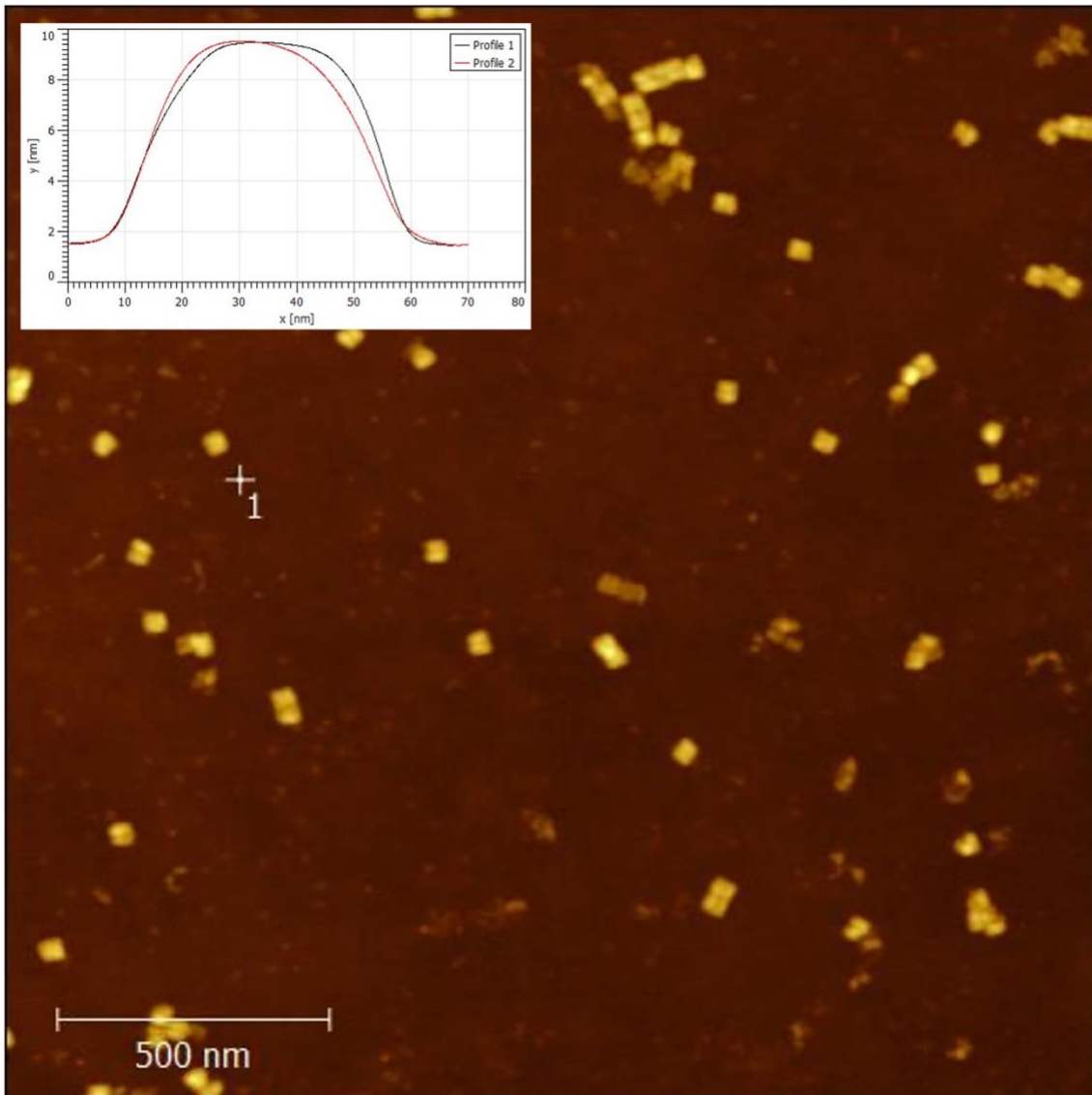
A continuación, se presentan las micrográficas correspondientes a cada módulo:



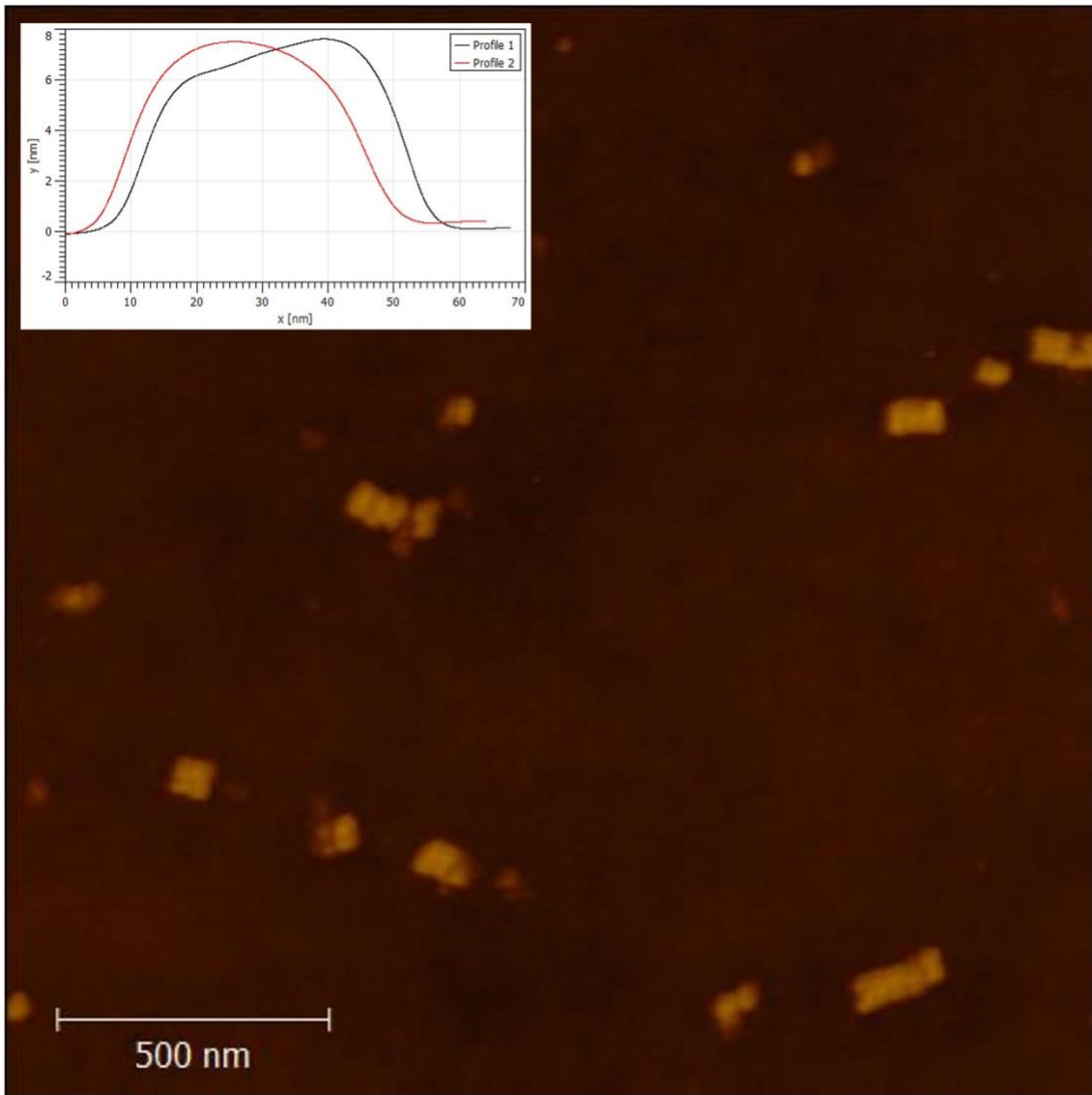
**Figura 22.** Micrografía de AFM 2.5 x 2.5  $\mu\text{m}$  de la estructura modular Morada.



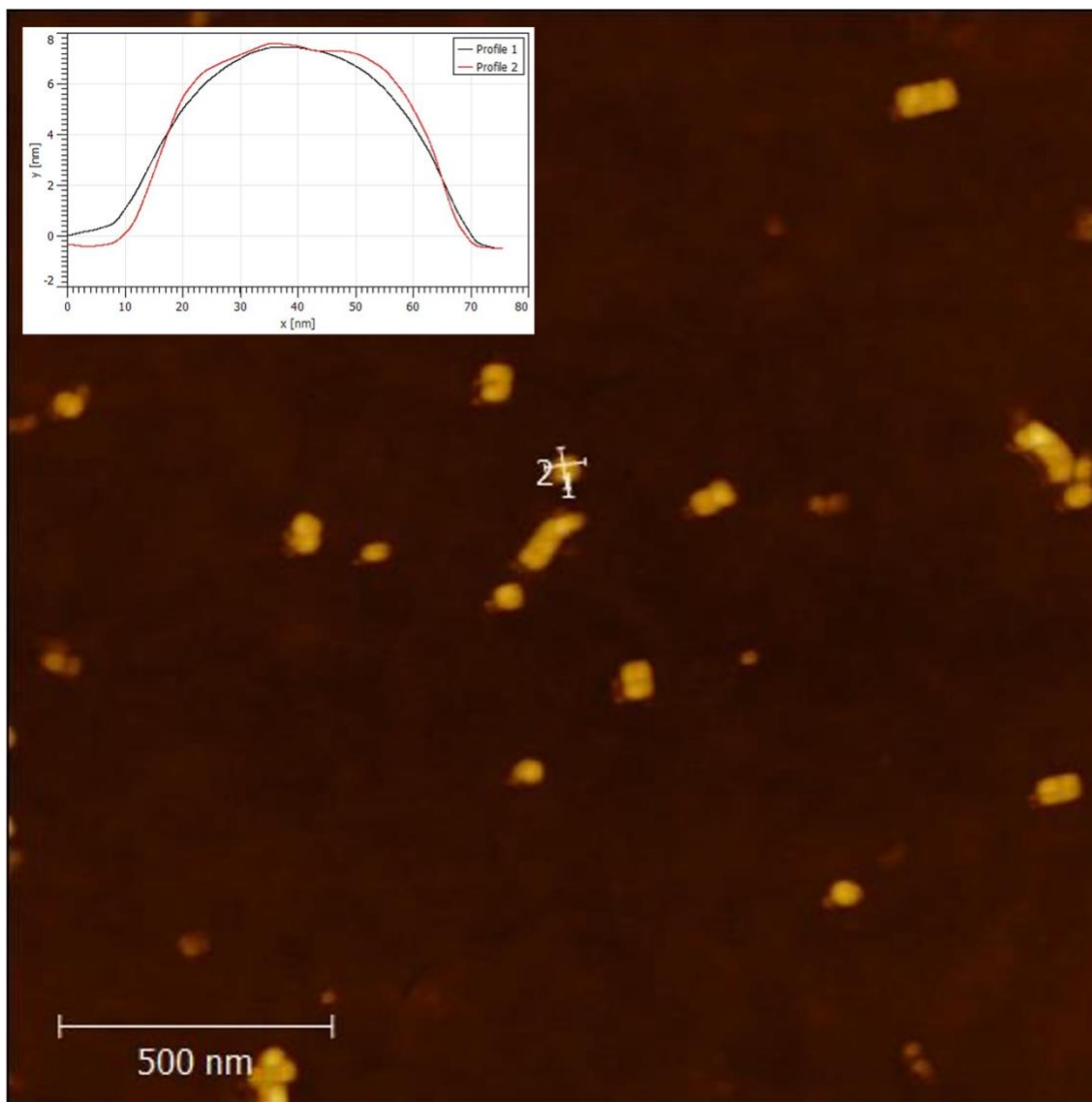
**Figura 23.** Micrografía de AFM 2.5 x 2.5  $\mu\text{m}$  de la estructura modular Azul



**Figura 24.** Micrografía de AFM 2.5 x 2.5  $\mu\text{m}$  de la estructura modular Verde.



**Figura 25.** Micrografía de AFM 2.5 x 2.5  $\mu\text{m}$  de la estructura modular Amarilla.

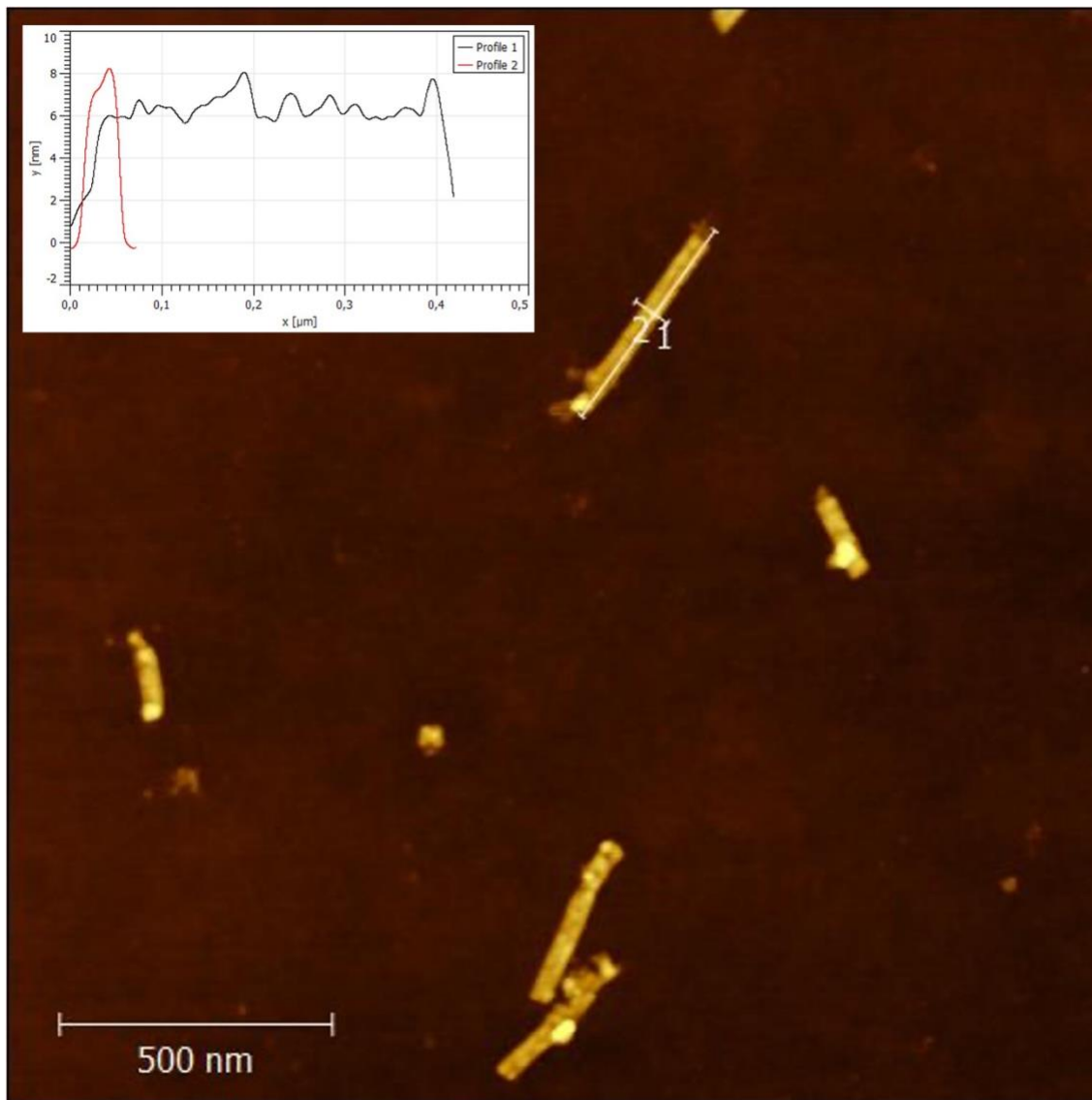


**Figura 26.** Micrografía de AFM 2.5 x 2.5  $\mu\text{m}$  de la estructura modular Naranja.

La tabla 9, en conjunto con las figuras 22 a Figura 26, resume también los cortes seccionales en los distintos módulos en cada figura, parte superior derecha, en los que se midió la longitud y ancho de cada uno con una incertidumbre de  $\pm 8$  nm. Estos valores coinciden claramente con los resultados obtenidos por la simulación de Molecular Viewer en la Figura 13, longitud de 33.24 nm y el ancho de 42.8 nm. De acuerdo con los cortes seccionales en las figuras 22 a 26, cada módulo tiene en promedio una longitud de 34.6 nm y un ancho de 36 nm.

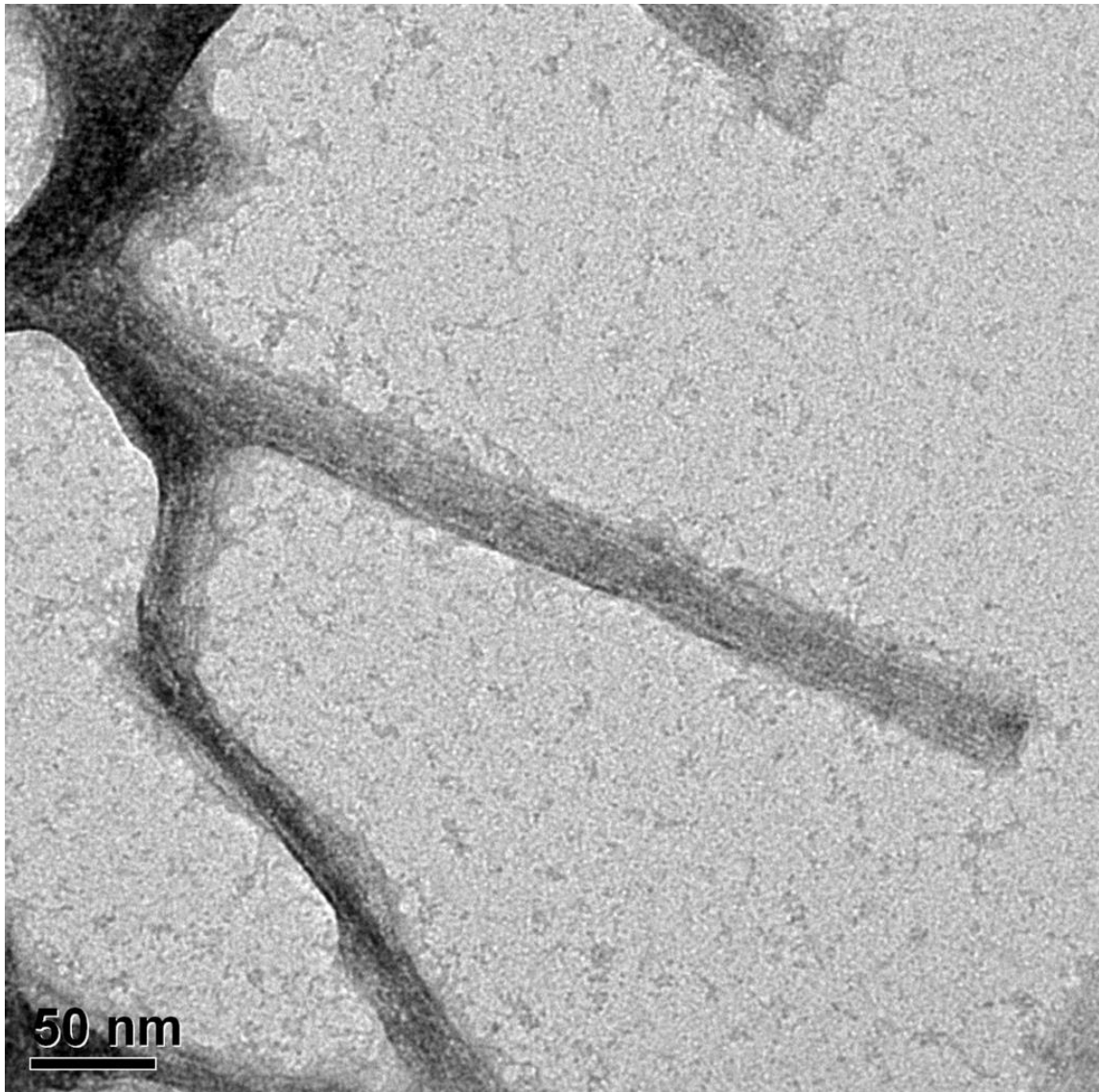


Usando la información obtenida de los geles de electroforesis y micrografías de AFM, se realizó la síntesis de una nanoestructura sin límite en la unión del número de módulos, a esto se le llama un experimento sin control. Para ello se seleccionó el gel que contaba con mayor número de estructuras formadas, módulo verde. Se hizo un nuevo “annealing” de la estructura quitando las grapas tapón y agregando grapas para permitir la hibridación entre los módulos y generar un nanoalambre sin control. En la parte superior izquierda de la figura 27 se puede observar un corte seccional de una de las estructuras con mayor longitud. Sus dimensiones son  $360 \pm 8$  nm de longitud y  $40 \pm 8$  nm de ancho. También es posible observar que algunas estructuras se encuentran seccionadas o rasgadas, esto puede deberse al proceso de secado de la muestra o inclusive la punta del AFM pudo haber rasgado al barrer la punta sobre la muestra.



**Figura 27.** Micrografía de AFM 2.5 x 2.5  $\mu\text{m}$  de Nanoalambre sin control.

Para explorar a mayor detalle la unión sin control de los módulos en el nanoalambre de ADN, se caracterizó con el uso de un microscopio electrónico de transmisión. Los resultados se observan en la figura 28 y se muestra un nanoalambre continuo de ADN sin espacios entre módulos. La longitud aproximada de la nanoestructura sin control es de 326.22 nm y un ancho de 26 nm, dimensiones semejantes a las de la figura 27. Cabe recalcar que, debido a la concentración, las estructuras formaron ramificaciones como se observa en el lado izquierdo de la micrografía en la figura 28.

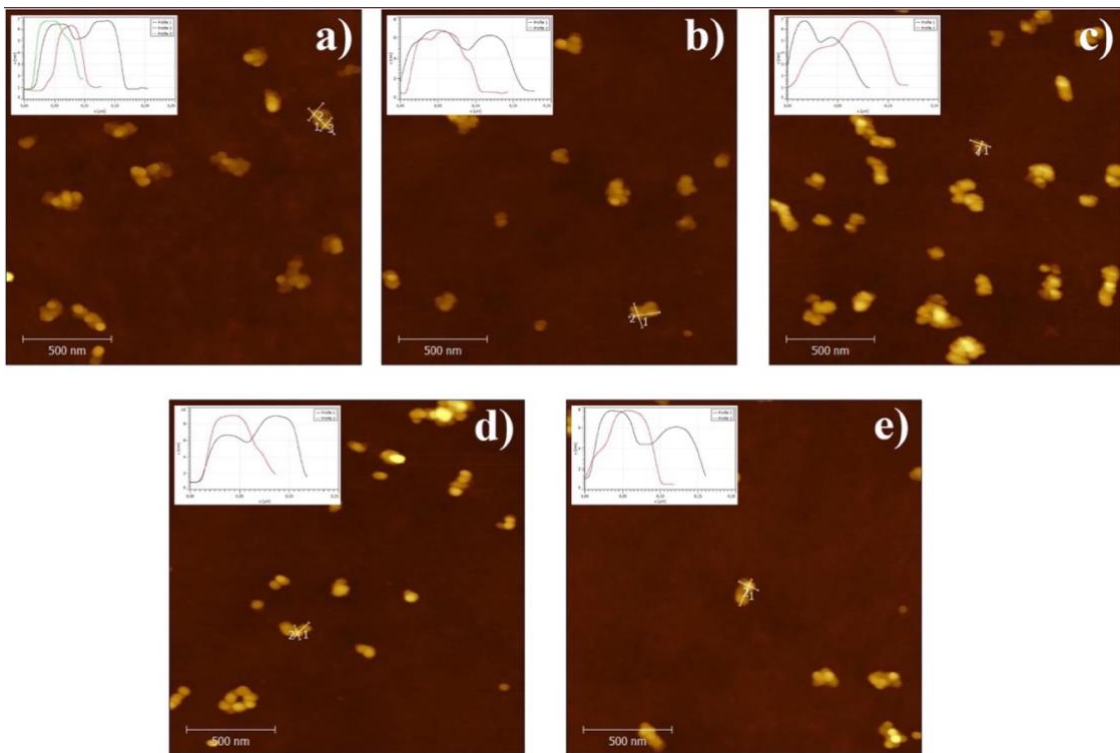


**Figura 28.** Micrografía por TEM de nanoalambre sin control.

### **VI.2.2. Conjugados AuNP:Módulos**

Como ya se ha dicho, la técnica de origami de ADN ofrece la posibilidad de posicionar objetos con precisión nanométrica, tales como nanopartículas de oro. Para el presente proyecto de investigación se adoptó el método aplicado por Bayrak *et al*, descrito en la sección V.2.9. En este caso, se han colocado 2 nanopartículas de 5 nm de tamaño espaciadas aproximadamente 16 nm entre centro y centro por cada módulo. Su principal función es que funjan como centros de

nucleación para la coalescencia de oro en solución durante el proceso de metalización y formar así un nanoalambre continuo que se espera tenga menor resistividad. En la figura 30 se observan imágenes de AFM de los conjugados AuNP:Módulos disueltos en  $10 \times \text{TAE Mg}^{2+}$  200 mM. El análisis seccional de las estructuras nos permite inferir que existe gran número de AuNPs adheridas a sus sitios de amarre. Sin embargo, no es posible concluir con certeza el posicionamiento ni la distancia entre nanopartículas. Una de las principales razones es que el método de visualización, AFM, es superficial y hay que recordar que las nanopartículas se encuentran en el interior de los módulos, como se desea. Por lo tanto, se deduce que el cambio de altura en el análisis al barrer la punta de AFM sobre los módulos se debe a la presencia de NP's.

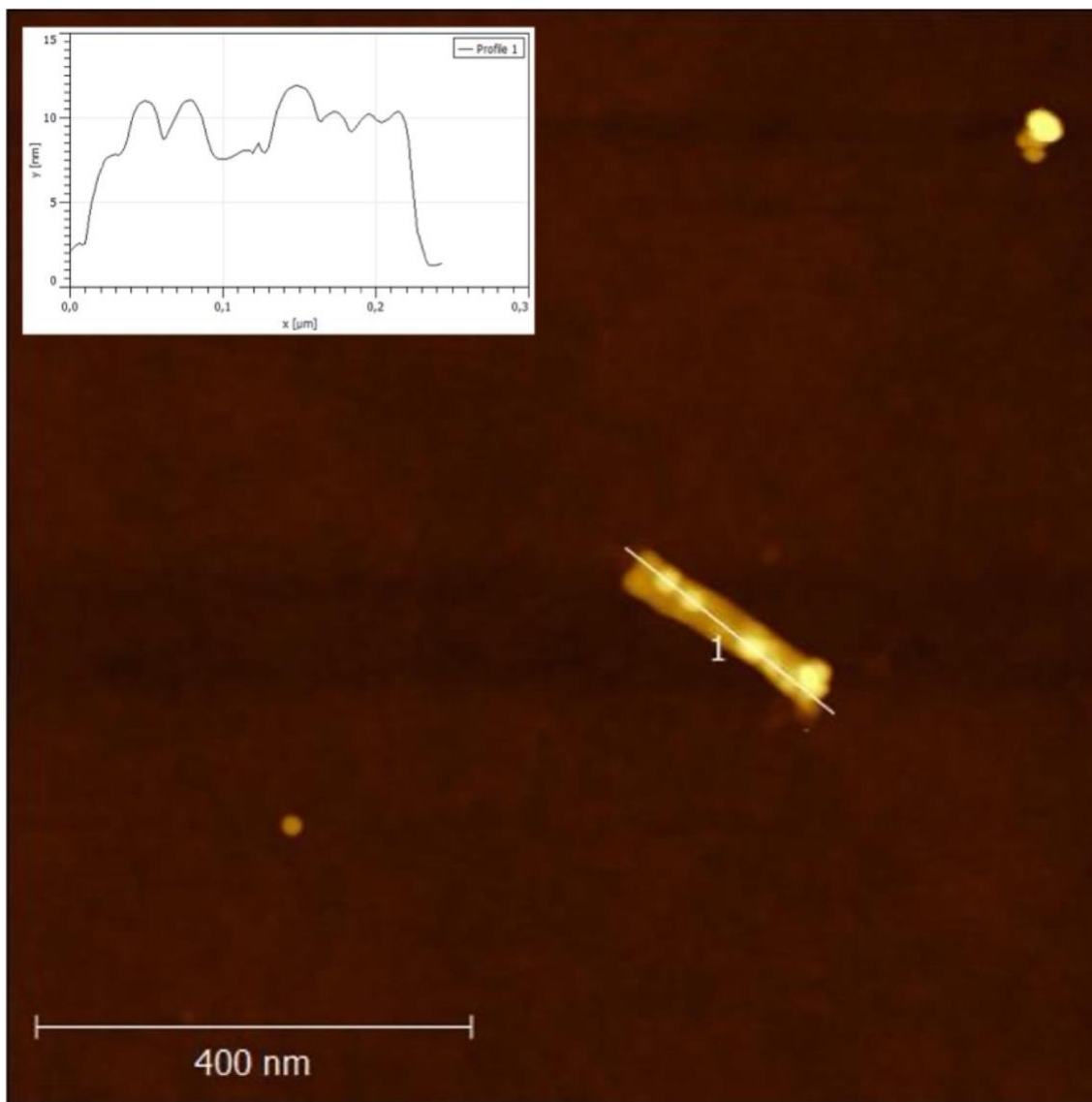


**Figura 29.** Micrografías de AFM de conjugados AuNPs:Módulos. a) módulo morado, b) módulo azul, c) módulo verde, d) módulo amarillo y e) módulo naranja. Barra de escala de 500 nm en sección inferior izquierda y corte seccional en parte superior izquierda en cada micrografía.

Para mejorar la densidad de conjugados es conveniente optimizar el proceso de funcionalización; tal como mayor tiempo, aumentar la agitación o inclusive aumentar la concentración del “buffer”. Otra razón aparente es que durante el proceso de funcionalización

puedan existir residuos de citrato o BSPP que inhiban la interacción de las grapas tioladas e incluso afecten el proceso de metalización (Pearson et al., 2012b). Para ello se procedió a utilizar una concentración de 0.5 nM, para obtener un menor número de estructuras sin control por unidad de área y así facilitar el posterior proceso de alambreado por EBL de las nanoestructuras metalizadas.

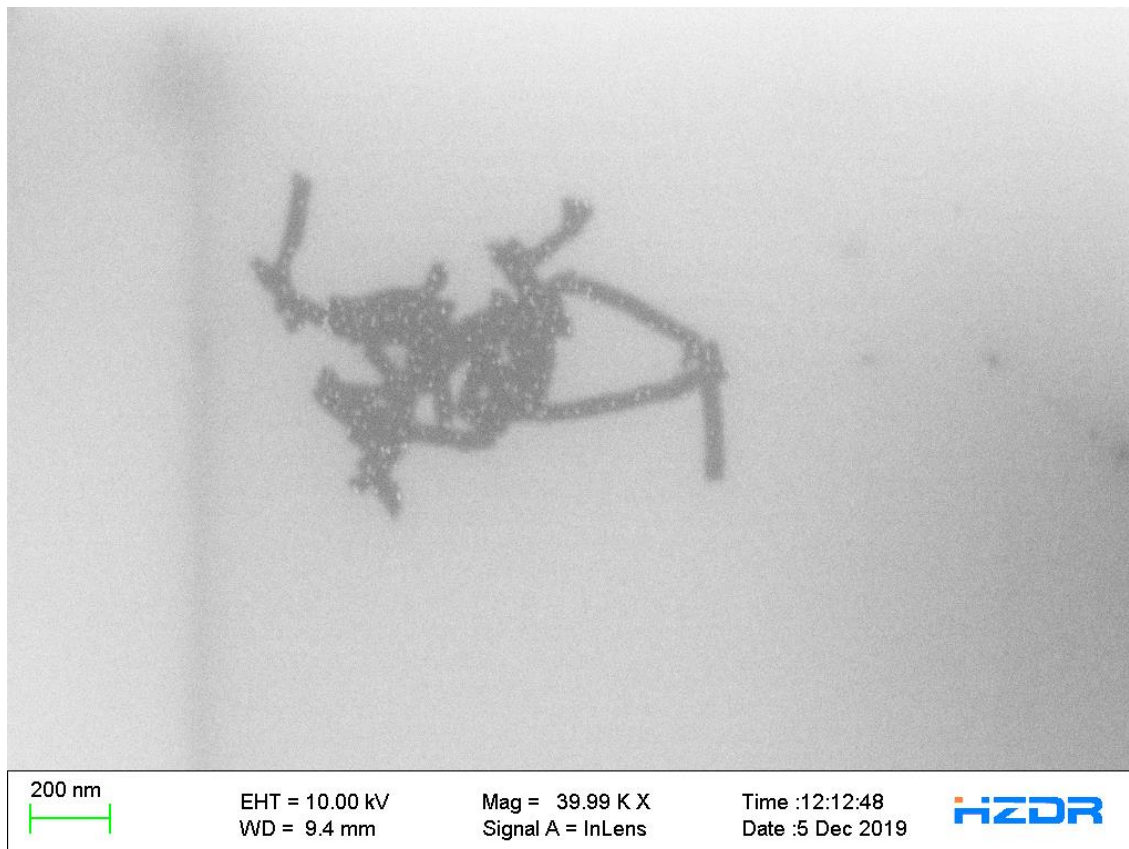
En la figura 30 se observa una nanoestructura conjugada conformada por la unión de módulos sin control de aproximadamente 200 nm de longitud total, lo que corresponde a 6 módulos unidos, en el cual se observan 6 AuNPs conjugadas, en lugar de las 12 esperadas. La tendencia general entre las nanoestructuras es que tengan al menos 1 AuNP por módulo. El análisis de corte seccional a lo largo de la nanoestructura en la figura 30 resultó en una longitud de  $204 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$  y ancho de  $37 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$  y revelando las nanopartículas en su interior. Esto nos permite concluir que los resultados obtenidos si corresponde a módulos funcionalizados, como se esperaba.



**Figura 30.** Micrografía de AFM de nanoestructuras sin control funcionalizados con AuNPs.

Para corroborar la formación se realizó una visualización por SEM, en la figura 31 se observa un aglomerado de nanoestructuras funcionalizados con nanopartículas de oro. Este aglomerado se debe en gran parte a una interacción llamada “ $\pi$ - $\pi$  stacking”, que por definición es una interacción atractiva entre dos anillos aromáticos apilados (Dhotel et al., 2013). Esta superposición es causada por interacciones electrostáticas como se describe en el modelo de Hunter y Sanders en 1990 (Hunter & Sanders, 1990). Estos resultados, sugieren, en síntesis, que aún es necesario perfeccionar la etapa de funcionalización para obtener un rendimiento mayor al

90% en la formación del conjugado AuNP-Origami. Sin embargo, esta micrografía es concluyente para indicar que el posicionamiento de las nanopartículas fue exitoso.

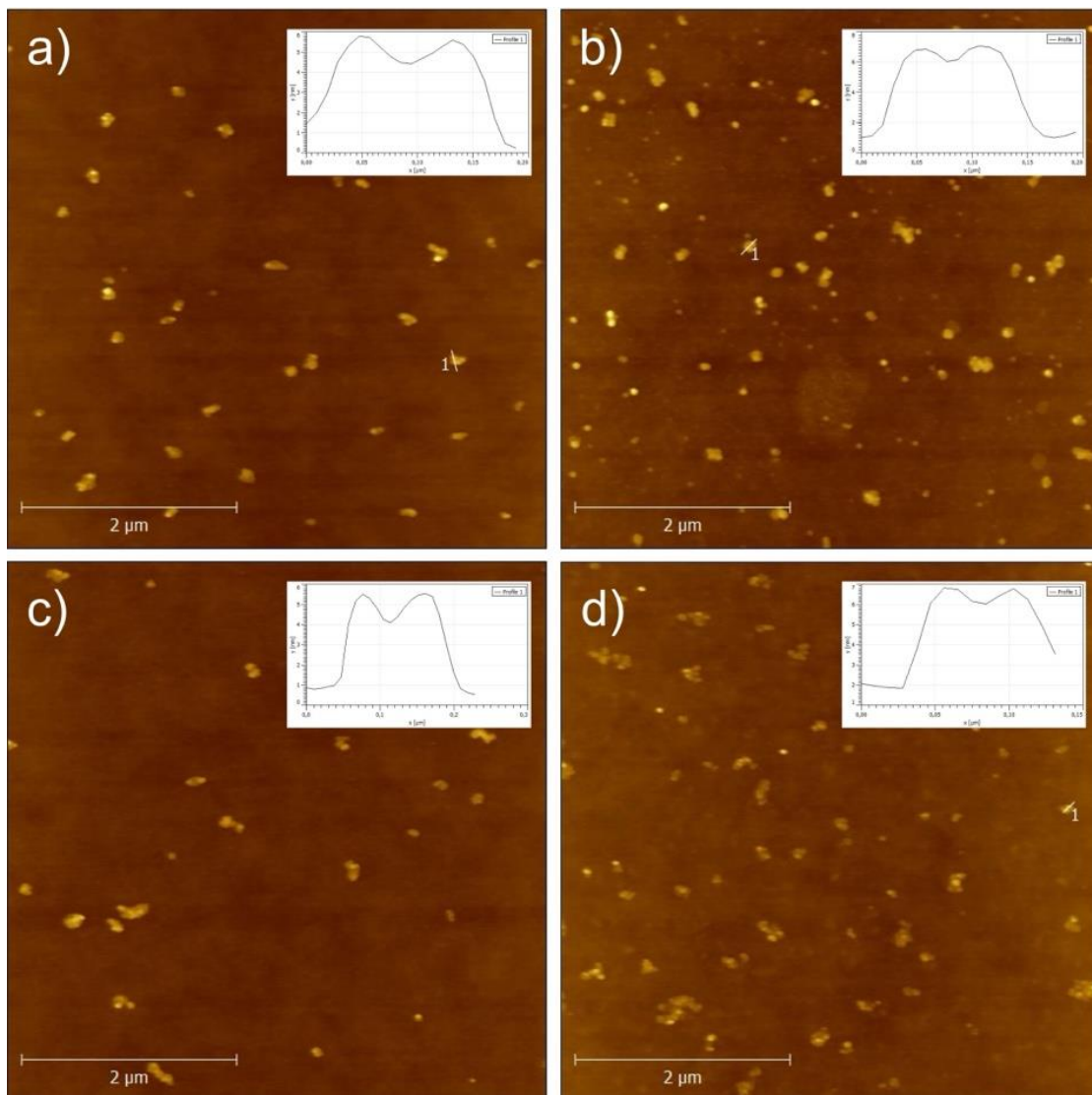


**Figura 31.** Micrografía por SEM de formación de conjugados sin control. Barra de escala de 200 nm.

### VI.2.3 Unión controlada de los módulos conjugados

Para corroborar la unión controlada de los módulos conjugados se hizo uso de la técnica de microscopía de fuerza atómica. Para generar un análisis más completo de la nanoestructura modular completa, primero se realizó la unión de dos módulos (dímeros), luego tres de ellos (trímeros), después cuatro de ellos (tetrameros) y finalmente los cinco módulos (pentámeros). En la figura 32 se muestran la unión de pares de módulos conjugados posibles a partir de los cinco diseños descritos en la sección V.1. En figura 32a muestra el dímero Morado-Azul (FM-PA), es posible observar varios de ellos bien conformados, e inclusive algunos trímeros. La figura 32b muestra el dímero Azul-Verde (FA-PV), se advierten con claridad a los módulos unidos. Sin

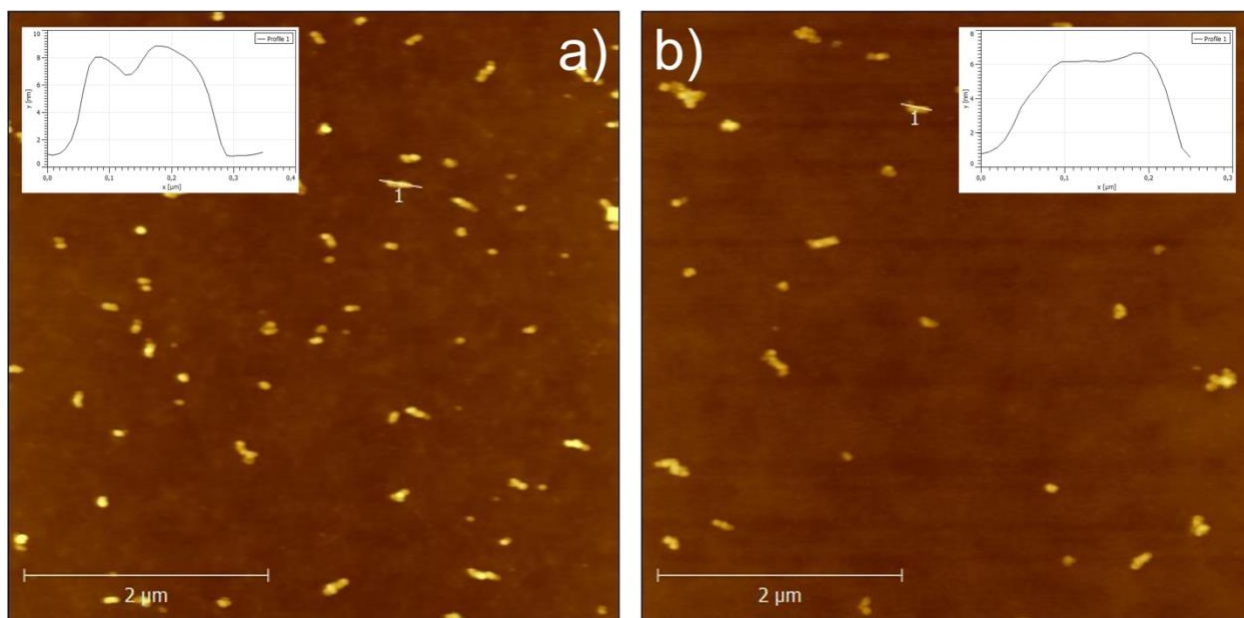
embargo, existe un gran número de grapas sueltas, o tal vez contaminación durante el proceso de incubación o depósito. El dímero Verde-Amarillo (FV-PA) se presentan en la figura 32c, aquí se sigue reflejando el alto rendimiento del módulo Verde. Por último, en la figura 32d; se expone el dímero Amarillo-Naranja (FA-PN) donde el número de dímeros con nanopartículas ha disminuido posiblemente debido a degradación. El análisis de corte seccional a lo largo de cada nanoestructura en la figura 32 resultó en una longitud de  $70 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$  revelando las nanopartículas en su interior con una altura aproximada de 7 nm, lo cual concuerda con a resultados anteriores.



**Figura 32.** Micrografías en AFM de dímeros funcionalizados con 2 AuNPs: a) Morado-Azul, b) Azul-Verde, c) Verde-Amarillo y d) Amarillo-Naranja.



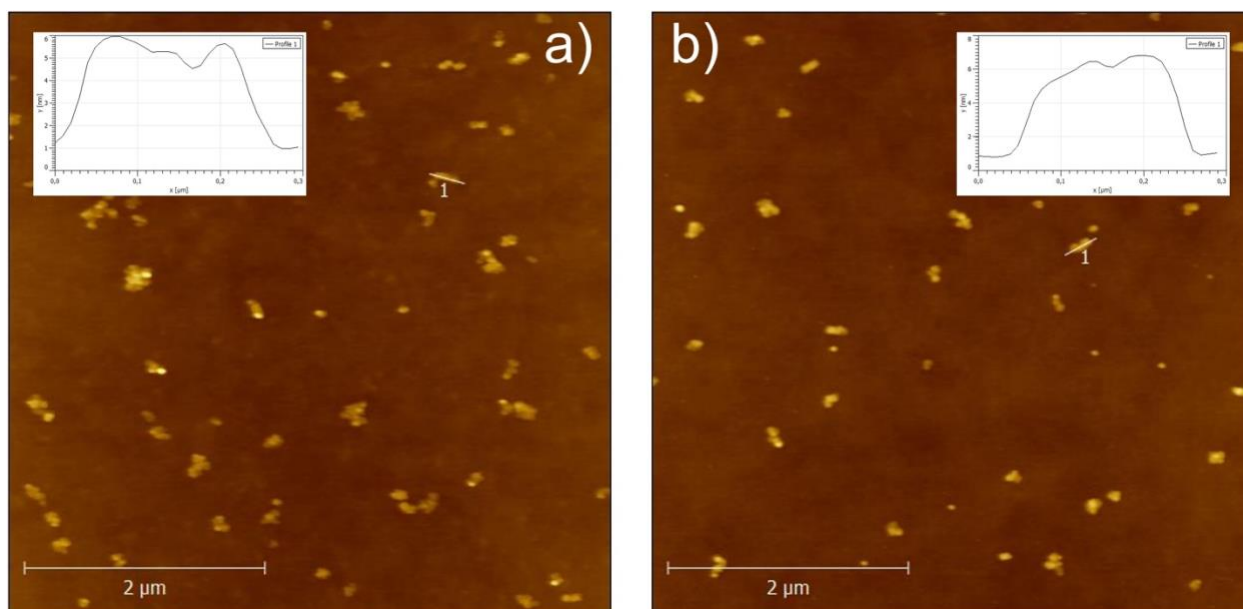
Posteriormente, se procedió a estudiar la formación de tres módulos conjugados a partir de los cinco diseños descritos en la sección V.1. La figura 33 exhibe dos trímeros posibles, las estructuras Morado-Azul-Verde (FM-PA+FA-PV) y Verde-Amarillo-Naranja (FV-PA+FA-PN). La figura 33a muestra a una densidad significativo de la primera de ellas; mientras que la figura 33b corresponde a la segunda de ellas. En particular, en el trímero Verde-Amarillo-Naranja, se observa un adecuado control en la formación lineal del trímero. Estos resultados son alentadores ya que confirman la unión de tres módulos unidos, a pesar de que en algunos de ellos no es posible corroborar el posicionamiento de dos nanopartículas en cada módulo. El análisis de corte seccional a lo largo de cada nanoestructura en la figura 33 resultó en una longitud de  $100 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$ , basado en las medidas obtenidas en la figura 13.



**Figura 33.** Micrografías en AFM de trímeros funcionalizados con 2 AuNPs: a) Morado-Azul-Verde, b) Verde-Amarillo-Naranja.

A continuación, se estudió la unión de cuatro módulos conjugados a partir de los cinco diseños descritos en la sección V.1. La figura 34 exhibe los dos únicos tetrámeros posibles, las estructuras Morado-Azul-Verde-Amarillo (FM-PA+FA-PV+FV-PA) y Azul-Verde-Amarillo-Naranja (FA-PV+FV-PA+FA-PN). La figura 34a muestra a la primera de ellas; mientras que la figura 34b corresponde a la segunda de ellas. En ambos casos existe un número considerable de

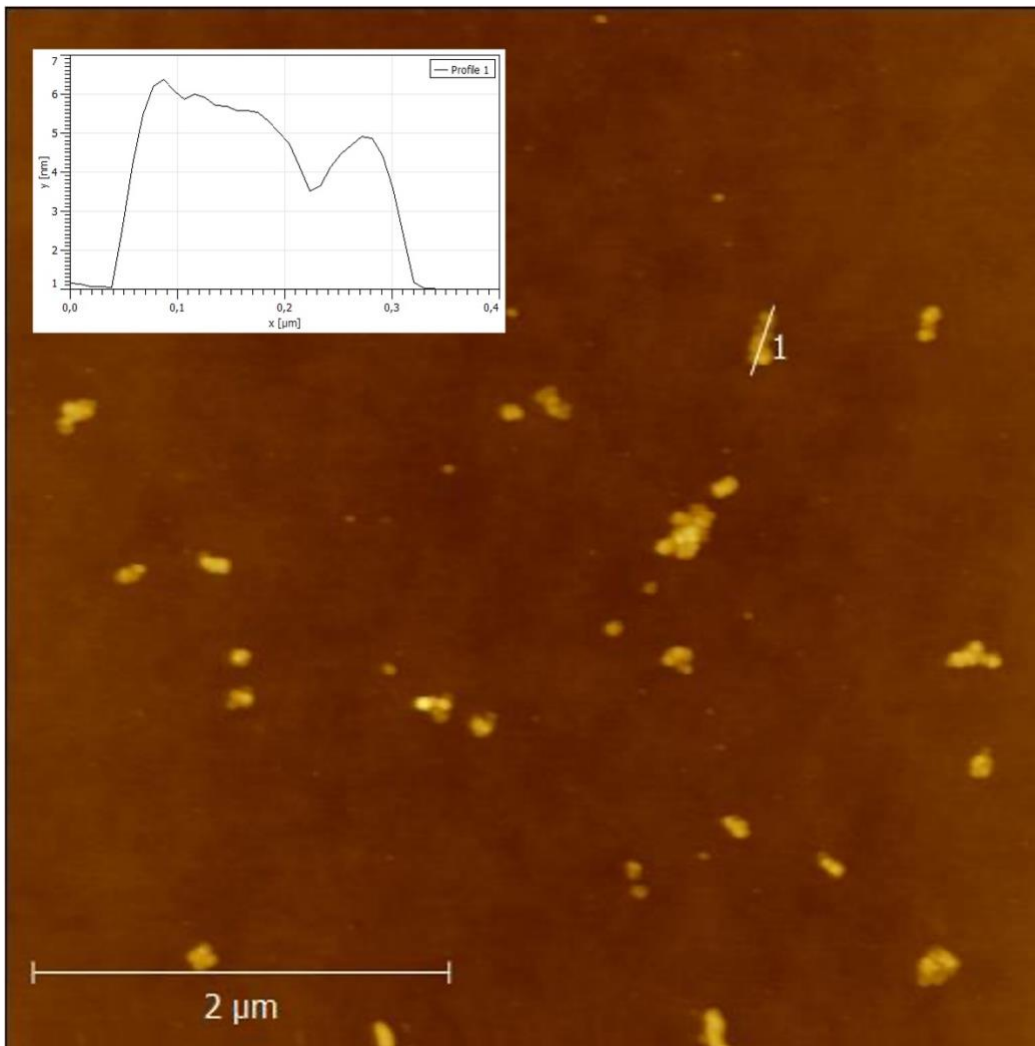
estructuras secundarias, no deseadas, por lo que podemos deducir que la densidad, o concentración, es baja y esto prevé éxito que en la fabricación de contactos por EBL posterior a la metalización de la nanoestructura completa. Solo es necesario verificar las uniones de los módulos y considerar aumentar o cambiar el “buffer” de incubación. El análisis de corte seccional a lo largo de cada nanoestructura en la figura 34 resultó en una longitud de  $130 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$ , basado en las medidas obtenidas en la figura 13.



**Figura 34.** Micrografías en AFM de tetrameros funcionalizados con 2 AuNPs: a) Morado-Azul-Verde-Amarillo, b) Azul-Verde-Amarillo-Naranja.

Por último, la formación de la nanoestructura básica completa conformada por los módulos Morado-Azul-Verde-Amarillo-Naranja (FM-PA+FA-PV+PV-PA+FA-PN) presenta un rendimiento bajo, como se observa en la figura 35. Es notoria la agregación de casi todas las estructuras exhibidas en la micrografía de AFM. Una mejoría es posible si se controla con cuidado la unión módulo a módulo de forma sistemática. Una posible pregunta que puede formularse a partir de los resultados obtenidos en esta investigación se centra en lo siguiente: ¿La longitud de las grapas de amarre son las adecuadas? Publicaciones recientes demuestran que es posible unir los módulos con sección transversal cuadrada con solo 3 nt de enlace al andamio extendiendo 24 grapas (Bayrak, Helmi, et al., 2018; Ye et al., 2019). El análisis de corte seccional a lo largo de

cada nanoestructura en la figura 35 resultó en una longitud de  $175 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$ , lo cual corresponde a lo esperado.

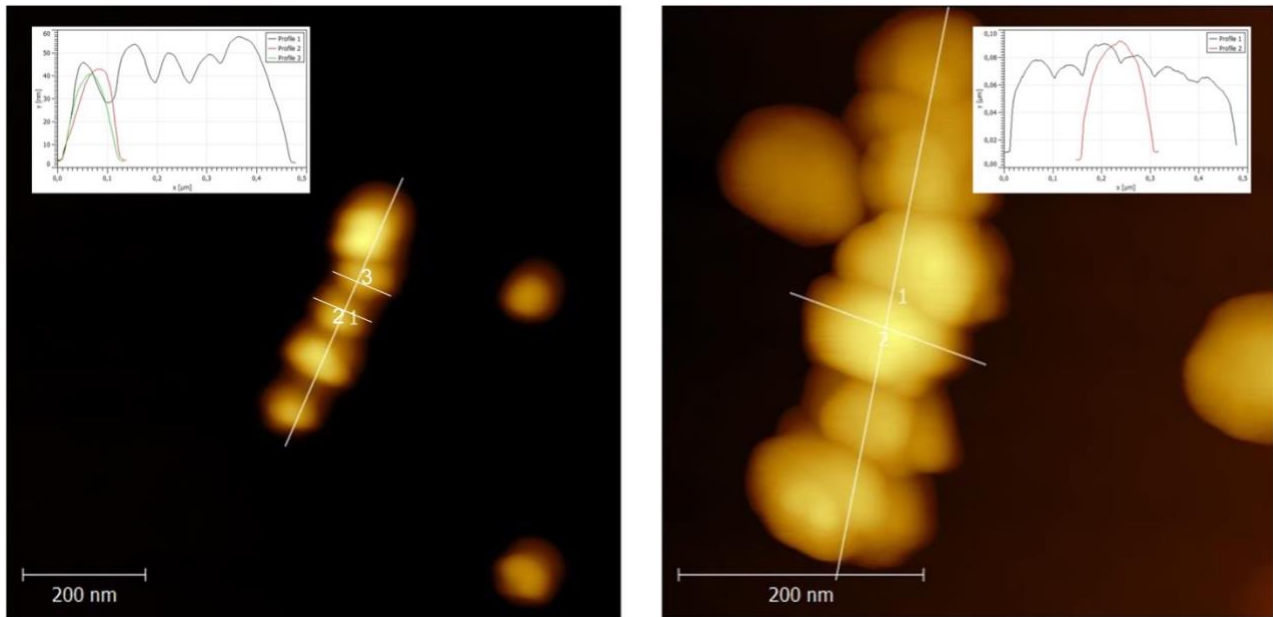


**Figura 35.** Micrografía en AFM de pentámeros funcionalizados con 2 AuNPs, la nanoestructura básica formada por la unión de los módulos Morado-Azul-Verde-Amarillo-Naranja.

#### VI.2.4 Nanoalambres metálicos

El proceso de metalización descrito en la sección V.2.12 se llevó a cabo para los bioconjugados de la nanoestructura básica conformada por los cinco módulos. Durante el proceso de metalización, la idea principal es que las paredes de la nanoestructura modular contenga la metalización para que así funcione como un molde para la fabricación de los nanoalambres de oro. En la figura 36a se observa la micrografía de AFM de un nanoalambre metalizado completo con una

longitud de  $358.9 \pm 10$  nm y ancho de  $56.2 \pm 10$  nm basado en el análisis seccional, ubicado en la parte superior izquierda de la micrografía. En la figura 36b se observa la micrografía de otro nanoalambre con una longitud de  $404.7 \pm 10$  nm y ancho de  $66 \pm 10$  nm basado en el análisis seccional, ubicado en la parte superior derecha de la micrografía.

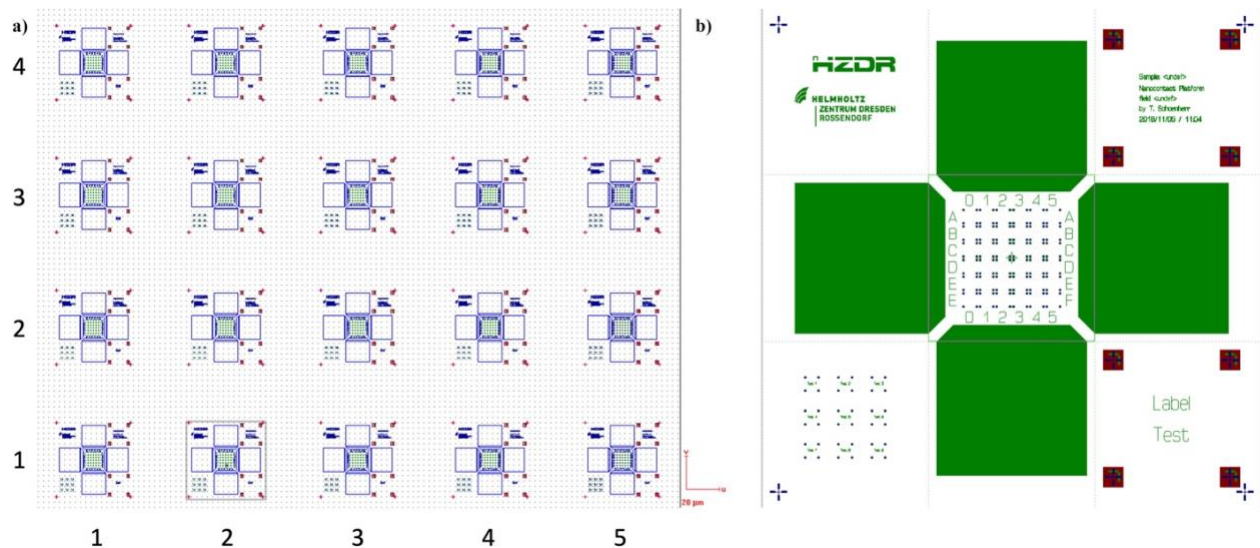


**Figura 36.** Dos nanoalambres de oro obtenidos por medio de metalización por reducción química de una nanoestructura modular: a) nanoalambre de oro de 358.9 nm de longitud b) nanoalambre de oro de 404.8 nm de longitud.

En la micrografía de la figura 36 se observa con claridad como las nanopartículas de oro de 5 nm de tamaño han coalescido hasta formar una estructura metálica continua posterior al proceso de metalización. En futuros experimentos es conveniente mejorar la coalescencia entre las nanopartículas de oro variando el tiempo de metalización, entre otros parámetros. Es importante mencionar que se llevaron a cabo varios experimentos en la realización de esta tesis tal que los resultados mostrados en este capítulo son solo ejemplos representativos, incluyendo los nanoalambres mostrados en la figura 36. Basados en los logros conseguidos, y la continuidad de los nanoalambres, es posible realizar medidas de transporte de carga, descritas en la siguiente sección.

### VI.3 Transporte de carga

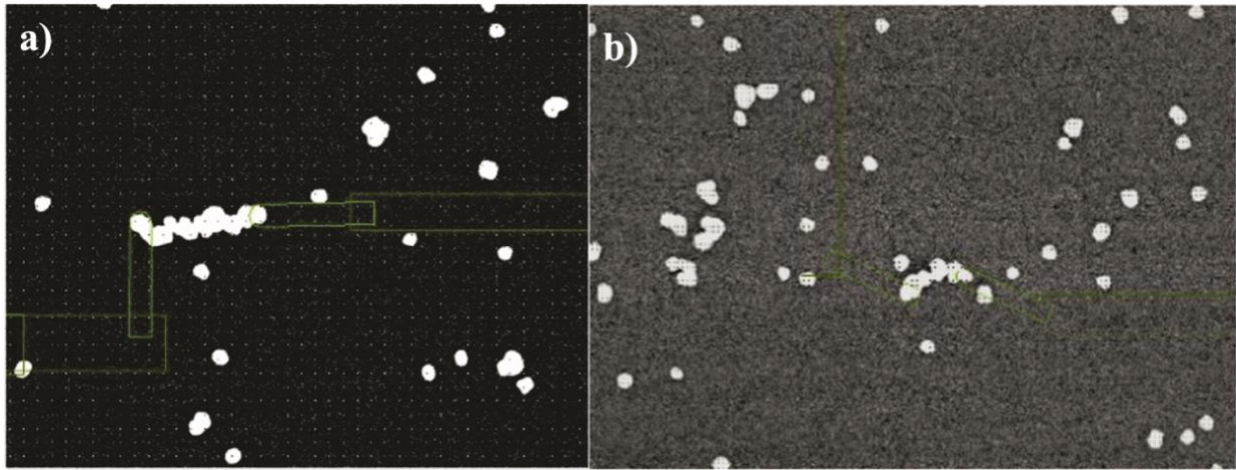
Posterior a la metalización de la unión de los cinco conjugados AuNP:Origami, fabricación de nanoalambres de oro, sobre un sustrato de  $\text{SiO}_x/\text{Si}$ , se utilizó EBL para contactarlos por medio de marcadores de alineación. Para estudiar el transporte eléctrico en los nanoalambres de oro mostrados en la sección anterior, se fabricaron patrones para generar áreas de contacto sobre la muestra siguiendo el protocolo establecido por el laboratorio de nanoelectrónica en el centro de investigación de Helmholtz-Zentrum Dresden-Rossendorf (HZDR), ver sección V.2.12. Las nanoestructuras metalizadas se encuentran distribuidas aleatoriamente sobre la superficie del sustrato, por lo que previamente se realizó una inspección minuciosa de las estructuras antes y posteriormente se escribió el patrón prediseñado. La Figura 37 proporciona una visión general del diseño del patrón y de cada chip de oro con áreas y marcas de alineación para conectar los nanoalambres.



**Figura 37.** Diseño del patrón HZDR con almohadillas de contacto de 90  $\mu\text{m}$ . a) Serie de chips escritos sobre  $\text{SiO}_x$ , b) ampliación de un chip en donde se exhiben las marcas de alineación y almohadillas.

Posterior al proceso de escritura del chip por EBL, se realizó una inspección que permitió conocer la posición lo más precisa posible de las estructuras metálicas seleccionadas para las medidas eléctricas. Es importante recordar que la estructura que se está utilizando para las primeras pruebas de medidas eléctricas es un nanoalambre sin control en los módulos conjugados. La figura

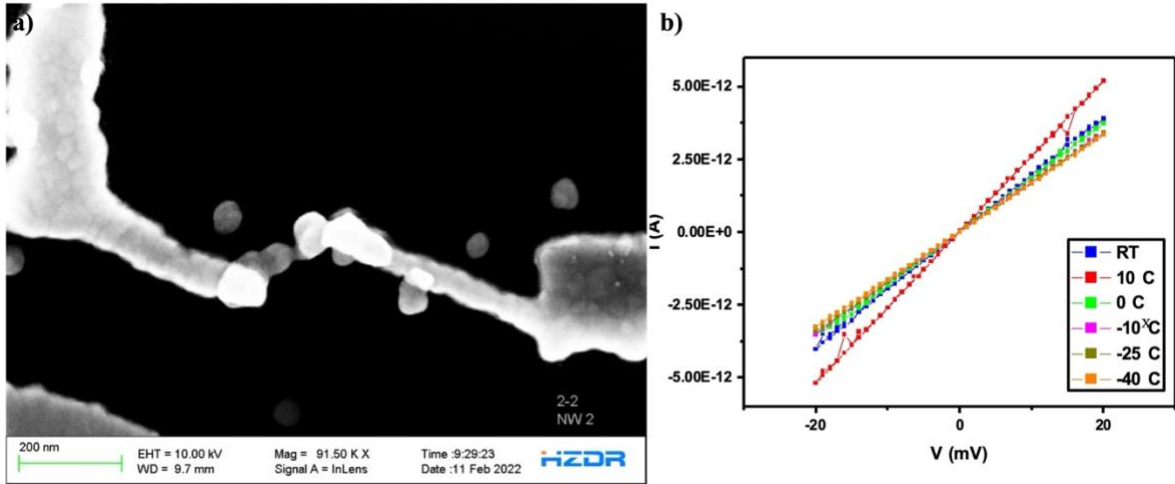
38 exhibe la elección de dos de seis nanoalambres en los que se realizaron contactos eléctricos. Conocida la ubicación del nanoalambre se procedió a usar el sistema de EBL como SEM para diseñar y alinear dos pequeños contactos, regiones enmarcadas en color verde en la figura 38a, en cada extremo del nanoalambre de la muestra seleccionada y, a continuación, las extensiones de esos contactos que irían hacia las almohadillas mostradas en la figura 38b. Los contactos fueron depositados por medio de una evaporadora como se describe en la sección V.2.12.



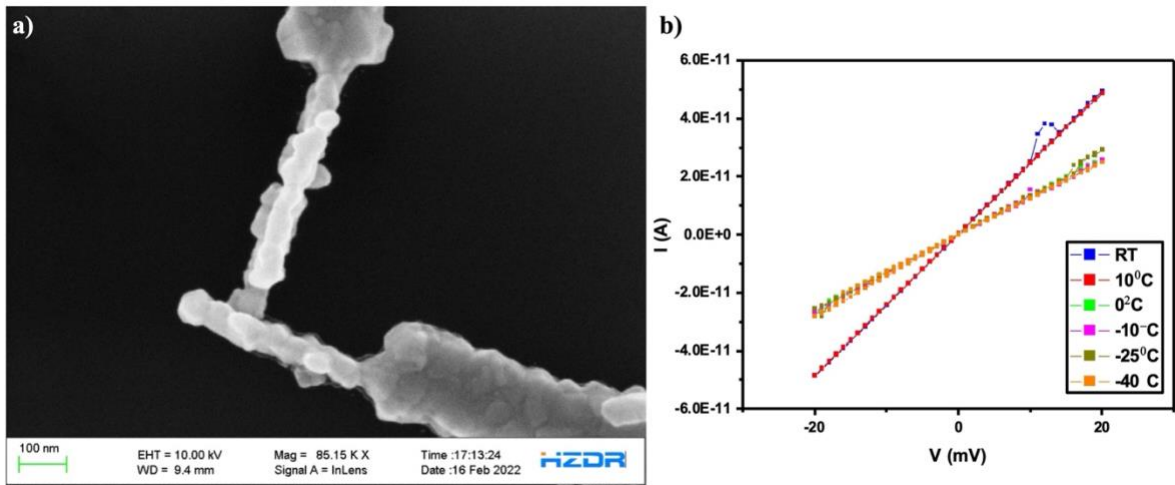
**Figura 38.** Micrografía de SEM de nanoalambres de oro con diseño y posición de contactos en nanoalambres sobre: a) Chip 2-5 y b) Chip 2-2.

Como una primera aproximación a las mediciones  $I$  vs  $V$ , se realizaron experimentos de los seis nanoalmbres conectados a una fuente de poder de corriente regulada, Keithley Interactive Test Environment, aplicando un voltaje en el rango  $-20$  a  $+20$  mV a temperatura ambiente usando el arreglo experimental descrito en la sección V.3. Dependiendo de los resultados obtenidos, comprobar continuidad eléctrica, se procedió a llevar a cabo el estudio de transporte eléctrico como función de la temperatura en el rango de  $-40^{\circ}\text{C}$  a temperatura ambiente usando un refrigerador de flujo continuo detallado en la sección V.3.

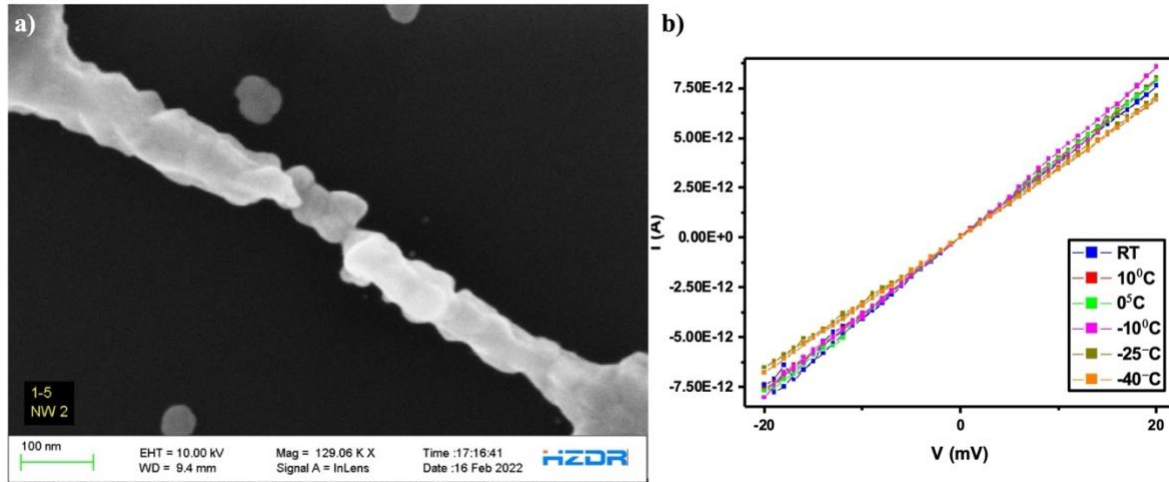
Los resultados obtenidos por estas medidas se muestran en las siguientes curvas de  $I$  vs  $V$  contenidas en las figuras 39 a 44 como función de la temperatura,  $T$ , para cada nanoalambre, así como una micrografía en SEM indicando la conexión eléctrica en cada uno.



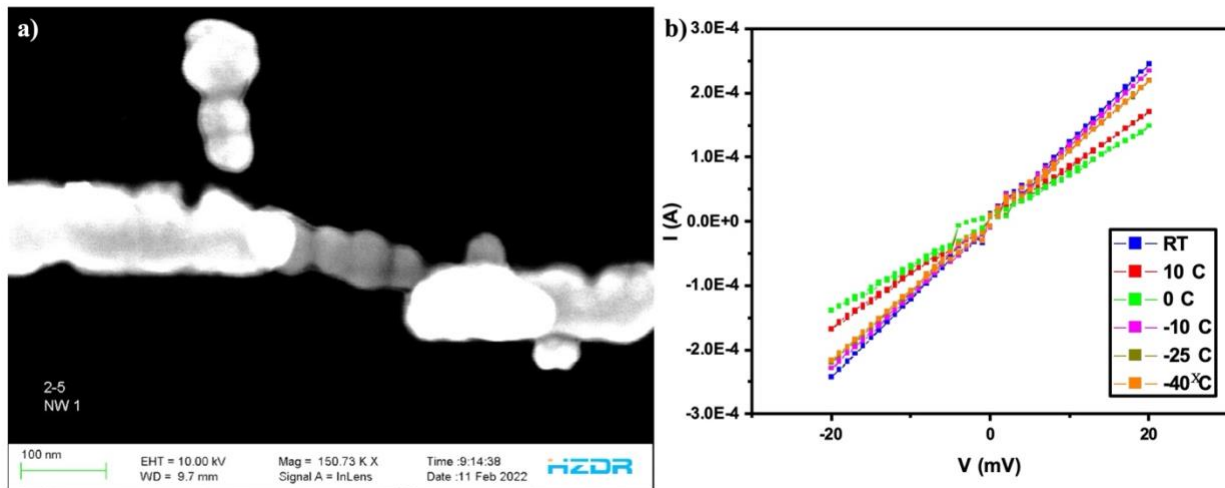
**Figura 39.** Nanoalambre NW-R1 ubicado en el Chip 2-3, NW2. a) Micrografía en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando  $T$  varía de  $-40$  °C a temperatura ambiente.



**Figura 40.** Nanoalambre NW-R2 ubicado en el Chip 1-5, NW3. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando  $T$  varía de  $-40$  °C a temperatura ambiente.

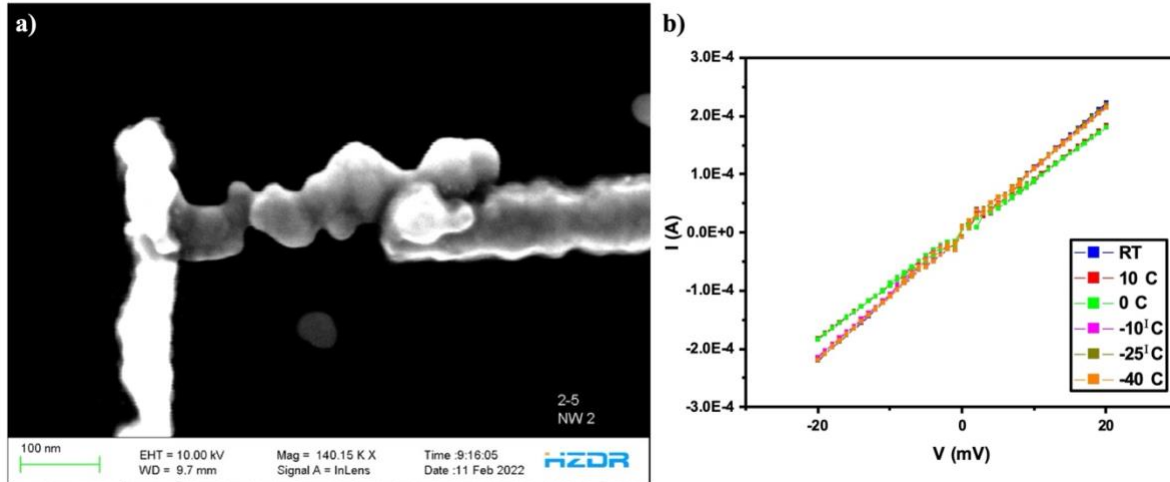


**Figura 41.** Nanoalambre NW-R3 ubicado en el Chip 1-5, NW2. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando  $T$  varía de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  a temperatura ambiente.

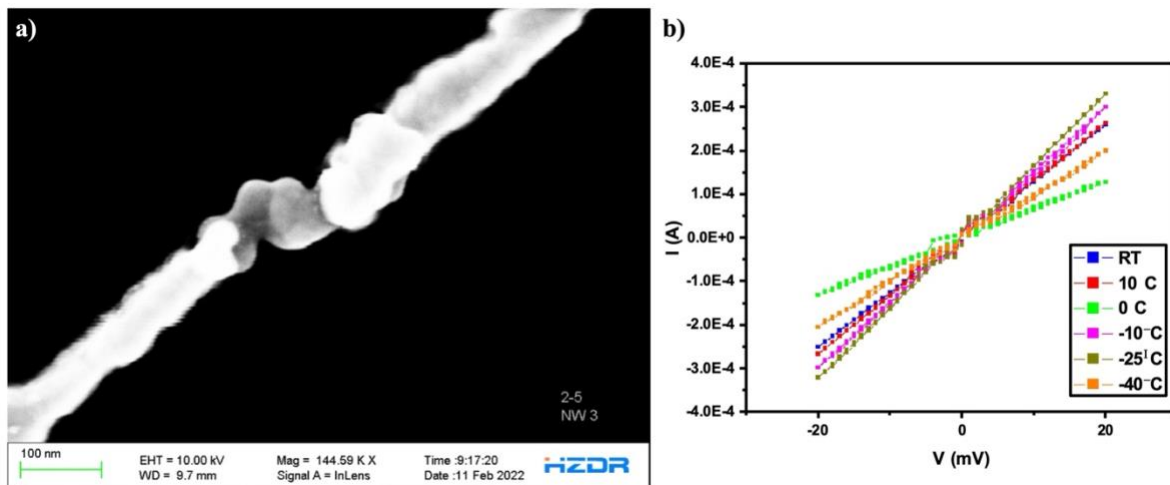


**Figura 42.** Nanoalambre NW-C1 ubicado en el Chip 2-5, NW1. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando  $T$  varía de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  a temperatura ambiente.





**Figura 43.** Nanoalambre NW-C2 ubicado en el Chip 2-5, NW2. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) Gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando  $T$  varía de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  a temperatura ambiente.



**Figura 44.** Nanoalambre NW-C3 ubicado en el Chip 2-5, NW3. a) Imagen en SEM del nanoalambre con contactos. b) gráfica de corriente contra voltaje de nanoalambre cuando  $T$  varía de  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$  a temperatura ambiente.

Se deduce de esta serie de curvas que tres nanoalambres (NW-C1, NW-C2 y NW-C3) exhiben características de baja resistencia, mientras que los otros tres nanoalambres (NW-R1, NW-R2 y NW-R3) son altamente resistivos. Además, todas las curvas de  $I$  vs  $V$  exhiben un comportamiento lineal a diferentes temperaturas, indicando un comportamiento eléctrico óhmico. La tabla 10 resume los resultados y observaciones más relevantes obtenidos de las figuras 39 a 44, el código asignado a los nanoalambres depende si es resistivo (R) o buen conductor (C). La tabla incluye las resistencias medidas a partir de la pendiente de las curvas  $I$  vs  $V$  a tres diferentes temperaturas (RT,  $0^{\circ}\text{C}$  y  $-40^{\circ}\text{C}$ ) y las dimensiones de los nanoalambres:

Tipo	Código	Resistencia a RT	Resistencia a 0°C	Resistencia a -40°C	Longitud	Ancho
<b>Resistivo</b>	NW-R1	5.05 GΩ	5.36 GΩ	5.96 GΩ	295.64 ± 10 nm	50 ± 10 nm
	NW-R2	393.23 MΩ	760.39 MΩ	761.59 MΩ	578.56 ± 10 nm	75 ± 10 nm
	NW-R3	2.75 GΩ	2.54 GΩ	2.94 GΩ	187.78 ± 10 nm	65 ± 10 nm
<b>Conductor</b>	NW-C1	81.42 Ω	119.21 Ω	91.69 Ω	311.95 ± 10 nm	55 ± 10 nm
	NW-C2	90.42 Ω	111.27 Ω	92.53 Ω	477.15 ± 10 nm	50 ± 10 nm
	NW-C3	79.19 Ω	153.17 Ω	100.38 Ω	288.46 ± 10 nm	60 ± 10 nm

**Tabla 10.** Valores de resistencia y dimensiones para 6 nanoalambres con dos contactos.

Los valores de las resistencias aquí obtenidos son comparables con resultados reportados en la literatura (Bayrak, Helmi, et al., 2018). Bayrak et al encontraron la resistencia de 4 nanoalambres de oro a temperatura ambiente, de los cuales dos fueron resistivos y dos buenos conductores. Los valores resistivos resultaron ser 190 KΩ y 700 MΩ, con longitud de 290 y 115 nm, anchura de 26 y 39 nm, respectivamente. Y los dos nanoalambres conductores C1 y C2 cuentan con una longitud de 200 y 285 nm, un ancho de 40 y 30 nm, con una resistencia a temperatura ambiente de 90 Ω y 420 Ω, respectivamente. Esta comparación es alentadora ya que estos resultados fueron realizados en una estación Agilent 4156-C en vacío de 10<sup>-5</sup> mbar variando el voltaje de 0 a 30 mV y 0 a -30 mV.

Un factor importante que puede afectar los valores de la resistencia aquí medidos es la continuidad de los nanoalambres, la cual está regida por el éxito o no del proceso de metalización contenida por las estructuras modulares, tal como hemos observado en la sección VI.2.4. En resumen, se ha demostrado en esta sección que los nanoalambres de oro fabricados a base de nanoestructuras basadas en ADN con sección transversal casi-circular como moldes pueden ser buenos conductores eléctricos, hipótesis planteada en la presente tesis. Los resultados expuestos representan un avance en el área de materiales autoensamblados y nanoelectrónica. Las dimensiones de los nanoalambres y continuidad debido a un adecuado proceso de metalización son factores que aún pueden desarrollarse con mayor cuidado y precisión.

## VII. CONCLUSIONES

En resumen, la presente tesis demuestra la factibilidad de la técnica de Origami de ADN como un medio de construcción para nanoalambres de oro de longitud controlada. Para el logro de los objetivos planteados en el presente trabajo de investigación el diseño y simulación de los módulos de ADN se realizaron con el uso de softwares *ad hoc* de libre acceso; así como, la elección de los sitios adecuados para colocar nanopartículas de oro de 5 nm de diámetro en el interior de los módulos.

Se demostró la formación de 5 módulos (M-A-V-A-N) por la técnica de electroforesis. Esta técnica sirvió de primer filtro ya que permitió comparar y analizar parámetros de *annealing* como: concentración de Mg, relación andamio:grapas, rampa de temperatura y tiempo de *annealing*. De esta forma se puede elegir el módulo con mejor rendimiento de formación basado en el corrimiento de las bandas. Las dimensiones de las muestras seleccionadas se analizaron por AFM que corresponden a  $36 \pm 8$  nm de ancho y  $32 \pm 8$  nm de largo.

Se comprobó el posicionamiento de dos nanopartículas de oro de 5 nm en interior de los módulos por microscopía de fuerza atómica y microscopía electrónica de barrido. Posteriormente se demostró la unión controlada de dímeros, trímeros, tetrámeros y pentámeros; con longitudes de  $70 \pm 8$  nm,  $100 \pm 8$  nm,  $130 \pm 8$  nm y  $175 \pm 8$  nm, respectivamente.

Además, se realizó la fabricación de un nanoalambre sin control con nanopartículas de oro de 5 nm en su interior, logrando evitar espacios en la unión de cada módulo con las siguientes dimensiones  $204 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$  largo y  $37 \text{ nm} \pm 8 \text{ nm}$ . El proceso de metalización generó nanoalambres de oro de diferente longitud (100-700 nm) con un grosor de  $60 \pm 10$  nm.

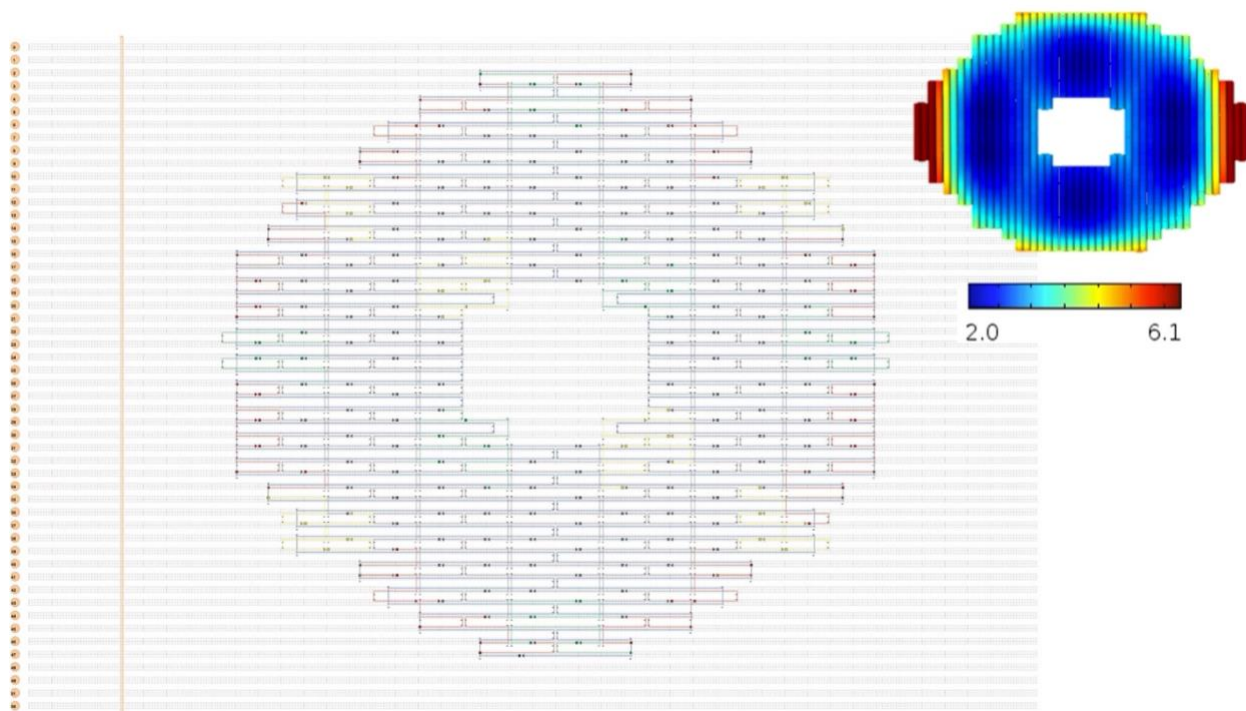
Para las medidas de transporte eléctrico fueron elegidos 6 nanoalambres para obtener curvas de corriente vs voltaje como función de la temperatura, en el intervalo de  $-40^\circ\text{C}$  a temperatura ambiente, los valores de la resistencia demuestran un comportamiento óhmico. Para los nanoalambres resistivos (NW-R) los valores rondan hasta  $5 \text{ G}\Omega$ , mientras que los valores para los nanoalambres conductores (NW-C) rondan hasta los  $90 \text{ }\Omega$ . Cabe recalcar que los resultados

permiten inferir que no existe una dependencia directa con la longitud de los nanoalambres, por otro lado el ancho se encuentra en el rango de los  $60 \pm 10$  nm.

Los resultados proporcionan soporte necesario para continuar con el proceso de mejora continua en la obtención de nanoalambres metálicos. En conclusión, el presente trabajo demuestra la fabricación de estructuras modulares para sintetizar alambres de oro a escala nanométrica por medio de la combinación de métodos de auto-ensamble, origami de ADN, y miniaturización, EBL, un objetivo largamente buscado en nanotecnología en la manufactura de dispositivos electrónicos.

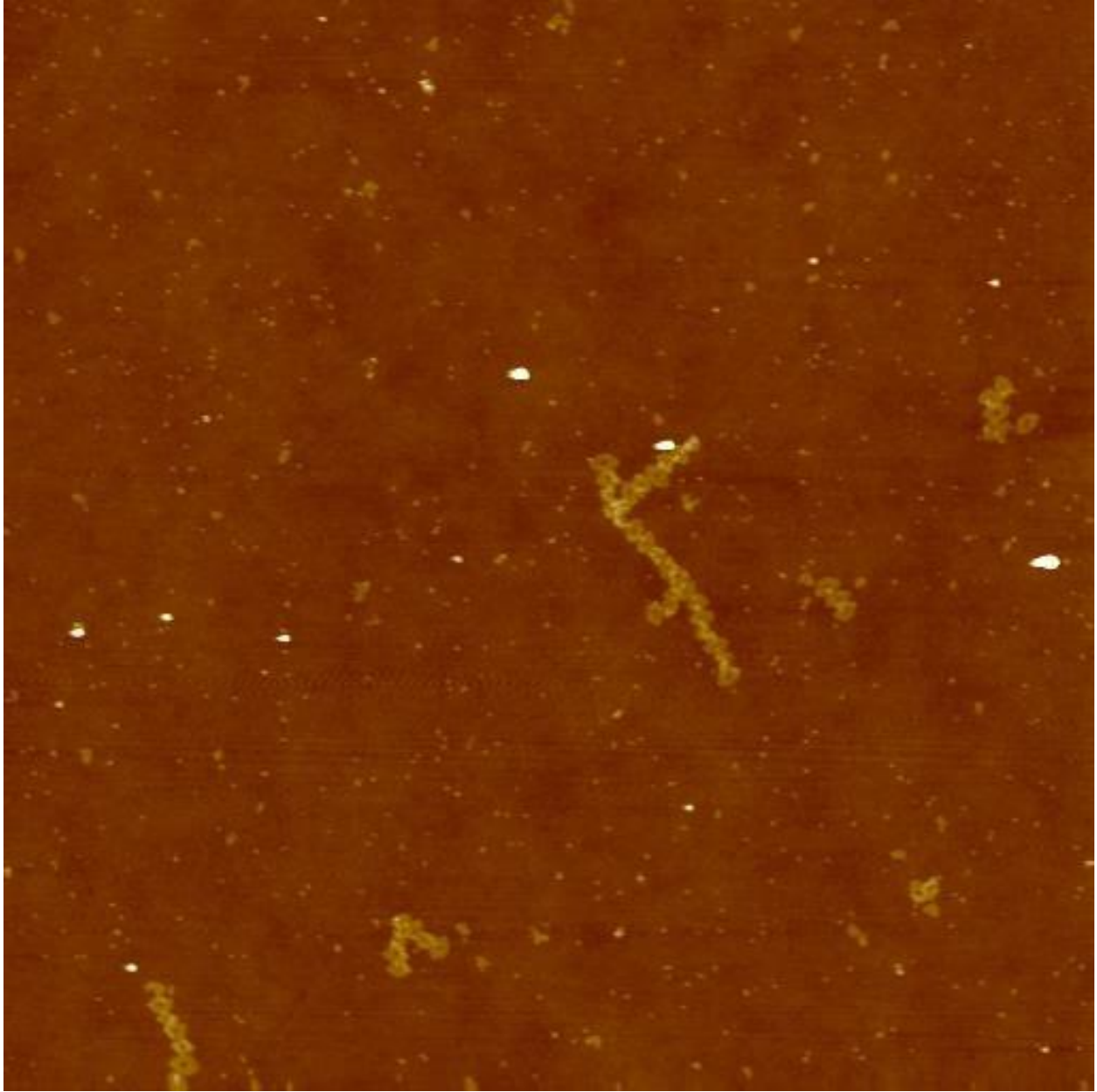
## VIII. PROYECTO ADICIONAL

En la presente tesis se exploró la técnica de origami de ADN como medio de construcción de nanoalambres de oro. Además, hemos planteado el desarrollo de una estructura de dos círculos concéntricos usando la técnica de origami de ADN 2D. Para ello, se llevó a cabo el diseño de una estructura en la plataforma “square lattice” en caDNAno (figura 45) y simulación por CanDo (esquina superior derecha, barra de escala en nm). Además, se diseñó el posicionamiento de 4 nanopartículas de oro de 5 nm de tamaño en el interior y 8 en el exterior (grapas en color amarillo y verde).

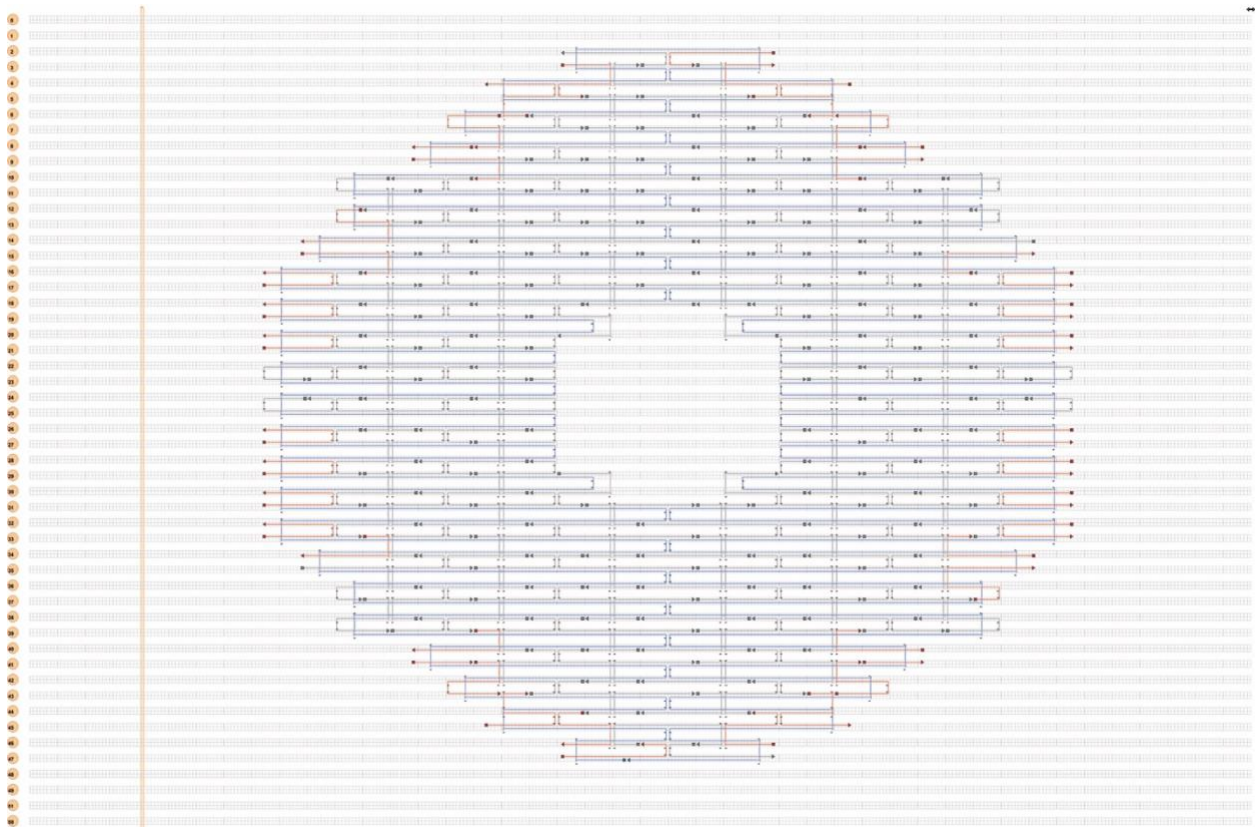


**Figura 45.** Diseño y simulación de dos círculos concéntricos. Barra de escala en nm.

En primera instancia los resultados obtenidos son de acuerdo con lo esperado, en la figura 46 se observan estructuras aglomeradas debido a la interacción  $\pi$ - $\pi$  “staking”. Previniendo este hecho, también se realizó el diseño de grapas extendidas en la periferia de la estructura para evitar este fenómeno. En la figura 47 se exhibe el diseño de “T-Bumpers” en el contorno, constituidos de una secuencia X que esta enlazada al andamio y una protuberancia de 5 timinas.

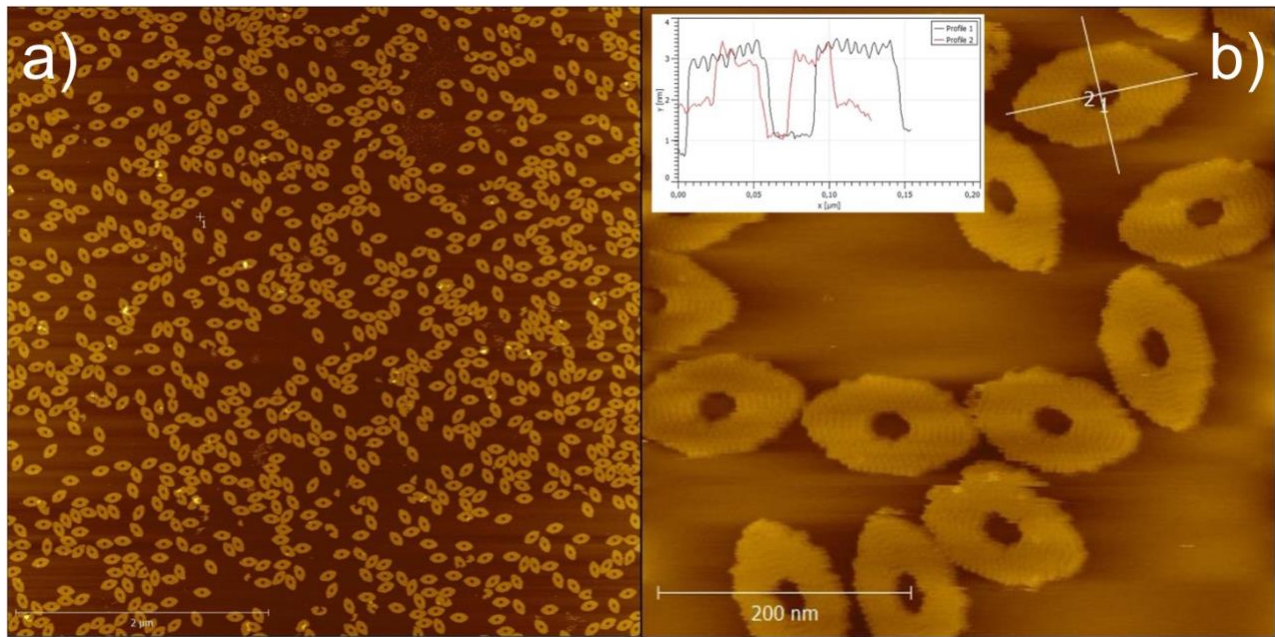


**Figura 46.** Micrografías por AFM de estructuras de origami de ADN con forma de dos círculos concéntricos.



**Figura 47.** Diseño de “T-Bumpers” en la periferia de la estructura. Identificados en color rojo.

De esta forma hemos logrado separar las estructuras logrando así un rendimiento aproximado del 99 %. En la figura 48 es posible ver un gran número de estructuras depositadas en mica y visualizadas en un Cypher S de Oxford Instruments en fluido. El análisis de corte seccional revela una altura aproximada de nm, ancho de nm y el diámetro interior de aproximadamente nm. Además, es posible extraer de estos resultados la estabilidad de la muestra coincide con los resultados de la simulación por CanDo.



**Figura 48.** Micrografía de a) 5 x 5  $\mu\text{m}$  y b) 500 x 500 nm de estructuras de origami de ADN con forma de dos círculos concéntricos. Barra de escala nm.

El siguiente paso, consiste en estudiar el posicionamiento de las nanopartículas de oro propuestas en el diseño para posteriormente metalizarlas y realizar medidas de transporte eléctrico en función de la temperatura. Con todo esto, podemos demostrar la versatilidad de la técnica de origami de ADN que permite generar una gran diversidad de diseños, arreglos y patrones que pueden ser de gran utilidad para la industria electrónica.



## IX. REFERENCIAS

- Alberts, B., Johnson, A. D., Lewis, J., Morgan, D., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2014). *Molecular Biology of the Cell: Sixth International Student Edition*. Garland Science, Taylor and Francis Group.
- Alivisatos, A. P., Johnsson, K. P., Peng, X., Wilson, T. E., Loweth, C. J., Bruchez, M. P., & Schultz, P. G. (1996). Organization of “nanocrystal molecules” using DNA. *Nature*, 382(6592), 609–611. <https://doi.org/10.1038/382609a0>
- Andersen, E. S., Dong, M., Nielsen, M. M., Jahn, K., Lind-Thomsen, A., Mamdouh, W., Gothelf, K. v., Besenbacher, F., & Kjems, J. (2008). DNA Origami Design of Dolphin-Shaped Structures with Flexible Tails. *ACS Nano*, 2(6), 1213–1218. <https://doi.org/10.1021/nn800215j>
- Balzini, V., Credi, A., & Venturi, M. (2008). Molecular Devices and Machines: Concepts and Perspectives for the Nanoworld. *Nano Today*, 3(3), 47. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1748-0132\(08\)70044-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S1748-0132(08)70044-6)
- Bayrak, T., Helmi, S., Ye, J., Kauert, D., Kelling, J., Schönherr, T., Weichelt, R., Erbe, A., & Seidel, R. (2018). DNA-Mold Templated Assembly of Conductive Gold Nanowires. *Nano Letters*, 18(3), 2116–2123. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b00344>
- Bayrak, T., Martinez-Reyes, A., Arce, D. D. R., Kelling, J., Samano, E. C., & Erbe, A. (2021). Fabrication and temperature-dependent electrical characterization of a C-shape nanowire patterned by a DNA origami. *Scientific Reports*, 11(1), 1922. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81178-8>
- Bayrak, T., S. Jagtap, N., & Erbe, A. (2018). Review of the Electrical Characterization of Metallic Nanowires on DNA Templates. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 19). <https://doi.org/10.3390/ijms19103019>
- Bellido, E. P., Bobadilla, A. D., Rangel, N. L., Zhong, H., Norton, M. L., Sinitskii, A., & Seminario, J. M. (2009). Current–voltage–temperature characteristics of DNA origami. *Nanotechnology*, 20(17), 175102. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/17/175102>
- Benson, E., Mohammed, A., Gardell, J., Masich, S., Czeizler, E., Orponen, P., & Högberg, B. (2015a). DNA rendering of polyhedral meshes at the nanoscale. *Nature*, 523(7561), 441–444. <https://doi.org/10.1038/nature14586>
- Benson, E., Mohammed, A., Gardell, J., Masich, S., Czeizler, E., Orponen, P., & Högberg, B. (2015b). DNA rendering of polyhedral meshes at the nanoscale. *Nature*, 523(7561), 441–444. <https://doi.org/10.1038/nature14586>
- Birac, J. J., Sherman, W. B., Kopatsch, J., Constantinou, P. E., & Seeman, N. C. (2006). Architecture with GIDEON, a program for design in structural DNA nanotechnology. *Journal of Molecular Graphics & Modelling*, 25(4), 470–480. <https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2006.03.005>
- Brown, K. R., & Natan, M. J. (1998). Hydroxylamine Seeding of Colloidal Au Nanoparticles in Solution and on Surfaces. *Langmuir*, 14(4), 726–728. <https://doi.org/10.1021/la970982u>
- Castro, C. E., Kilchherr, F., Kim, D.-N., Shiao, E. L., Wauer, T., Wortmann, P., Bathe, M., & Dietz, H. (2011). A primer to scaffolded DNA origami. *Nature Methods*, 8(3), 221–229. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1570>
- Chandrasekaran, A. R., Pushpanathan, M., & Halvorsen, K. (2016). Evolution of DNA origami scaffolds. *Materials Letters*, 170, 221–224. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.01.161>

- Chen, Z., Liu, C., Cao, F., Ren, J., & Qu, X. (2018). DNA metallization: principles, methods, structures, and applications. *Chemical Society Reviews*, 47(11), 4017–4072. <https://doi.org/10.1039/C8CS00011E>
- de Llano, E., Miao, H., Ahmadi, Y., Wilson, A. J., Beeby, M., Viola, I., & Barisic, I. (2020). Adenita: interactive 3D modelling and visualization of DNA nanostructures. *Nucleic Acids Research*, 48(15), 8269–8275. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa593>
- Dey, S., Fan, C., Gothelf, K. v, Li, J., Lin, C., Liu, L., Liu, N., Nijenhuis, M. A. D., Saccà, B., Simmel, F. C., Yan, H., & Zhan, P. (2021). DNA origami. *Nature Reviews Methods Primers*, 1(1), 13. <https://doi.org/10.1038/s43586-020-00009-8>
- Dhotel, A., Chen, Z., Delbreilh, L., Youssef, B., Saiter, J. M., & Tan, L. (2013). Molecular motions in functional self-assembled nanostructures. *International Journal of Molecular Sciences*, 14(2), 2303–2333. <https://doi.org/10.3390/IJMS14022303>
- Douglas, S. M., Marblestone, A. H., Teerapittayanon, S., Vazquez, A., Church, G. M., & Shih, W. M. (2009). Rapid prototyping of 3D DNA-origami shapes with caDNAno. *Nucleic Acids Research*, 37(15), 5001–5006. <https://doi.org/10.1093/nar/gkp436>
- Fu, T. J., & Seeman, N. C. (1993). DNA double-crossover molecules. *Biochemistry*, 32(13), 3211–3220. <https://doi.org/10.1021/bi00064a003>
- Geng, Y., Pearson, A. C., Gates, E. P., Uprety, B., Davis, R. C., Harb, J. N., & Woolley, A. T. (2013). Electrically Conductive Gold- and Copper-Metallized DNA Origami Nanostructures. *Langmuir*, 29(10), 3482–3490. <https://doi.org/10.1021/la305155u>
- Helmi, S., Ziegler, C., Kauert, D. J., & Seidel, R. (2014). Shape-Controlled Synthesis of Gold Nanostructures Using DNA Origami Molds. *Nano Letters*, 14(11), 6693–6698. <https://doi.org/10.1021/nl503441v>
- Hett, A. (2004). *Nanotechnology Small matter , many unknowns*. Swiss Reinsurance Company.
- Holliday, R. (1964). A mechanism for gene conversion in fungi. *Genetical Research*, 5(2), 282–304. <https://doi.org/DOI: 10.1017/S0016672300001233>
- Hornyak, L., Moore, J., Tibbals, H. F., & Dutta, J. (2009). *Fundamentals of Nanotechnology*.
- Hu, J., Odom, T. W., & Lieber, C. M. (1999). Chemistry and Physics in One Dimension: Synthesis and Properties of Nanowires and Nanotubes. *Accounts of Chemical Research*, 32(5), 435–445. <https://doi.org/10.1021/ar9700365>
- Huang, C.-M., Kucinic, A., Johnson, J. A., Su, H.-J., & Castro, C. E. (2021). Integrated computer-aided engineering and design for DNA assemblies. *Nature Materials*, 20(9), 1264–1271. <https://doi.org/10.1038/s41563-021-00978-5>
- Hunter, C. A., & Sanders, J. K. M. (1990). The nature of  $\pi$ - $\pi$  interactions. *Journal of the American Chemical Society*, 112(14), 5525–5534. <https://doi.org/10.1021/ja00170a016>
- Jun, H., Shepherd, T. R., Zhang, K., Bricker, W. P., Li, S., Chiu, W., & Bathe, M. (2019). Automated Sequence Design of 3D Polyhedral Wireframe DNA Origami with Honeycomb Edges. *ACS Nano*, 13(2), 2083–2093. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b08671>
- Jun, H., Wang, X., Bricker, W. P., Jackson, S., & Bathe, M. (2020). Rapid Prototyping of Wireframe Scaffolded DNA Origami using ATHENA. *BioRxiv*, 2020.02.09.940320. <https://doi.org/10.1101/2020.02.09.940320>
- Kallenbach, N. R., Ma, R.-I., & Seeman, N. C. (1983). An Immobile nucleic acid junction constructed from oligonucleotides. *Nature*, 305, 829–831.
- Kim, D.-N., Kilchherr, F., Dietz, H., & Bathe, M. (2012). Quantitative prediction of 3D solution shape and flexibility of nucleic acid nanostructures. *Nucleic Acids Research*, 40(7), 2862–2868. <https://doi.org/10.1093/nar/gkr1173>

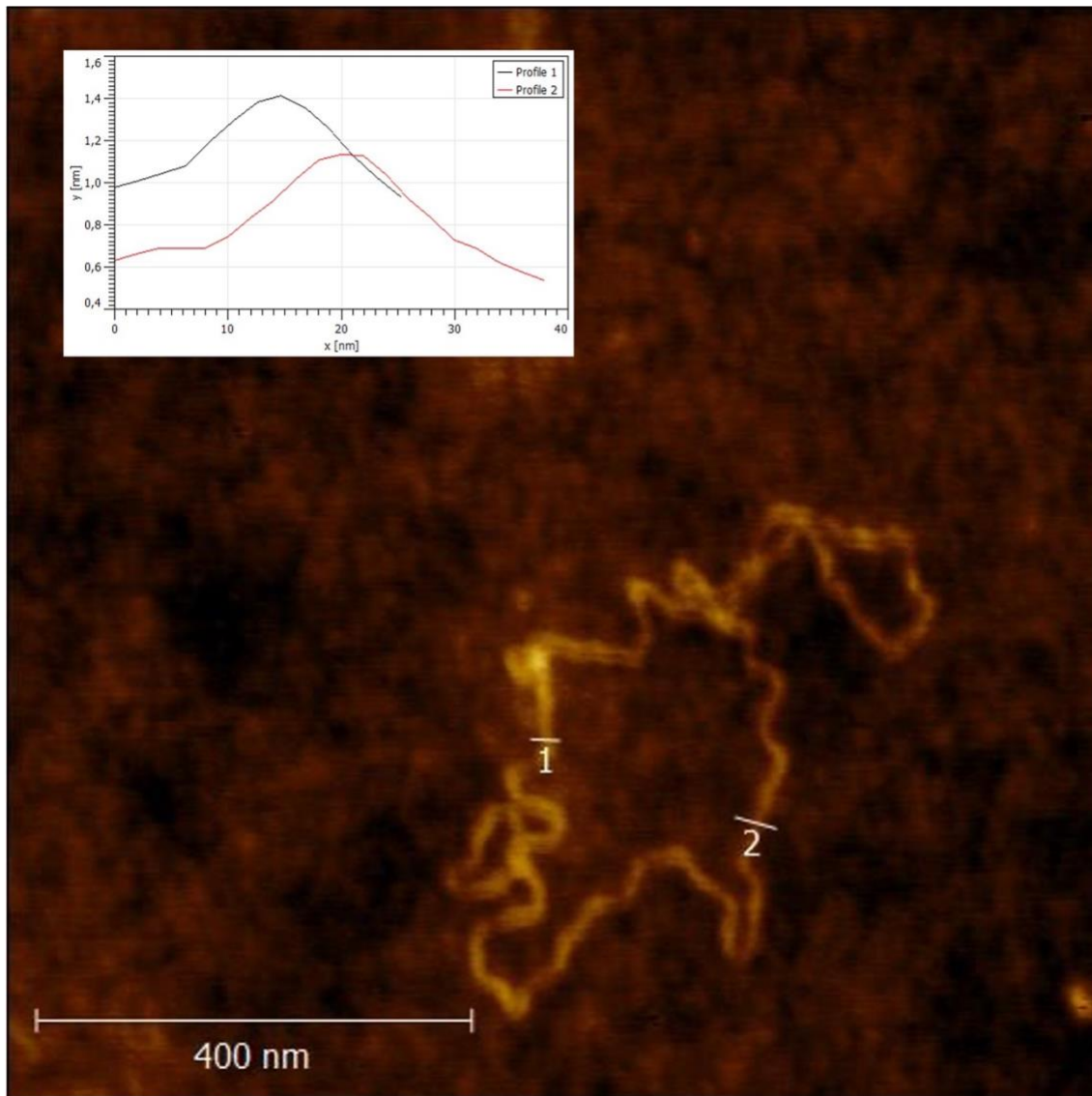
- Kuzyk, A., Schreiber, R., Fan, Z., Pardatscher, G., Roller, E.-M., Högele, A., Simmel, F. C., Govorov, A. O., & Liedl, T. (2012). DNA-based self-assembly of chiral plasmonic nanostructures with tailored optical response. *Nature*, *483*(7389), 311–314. <https://doi.org/10.1038/nature10889>
- LaBean, T. H., Yan, H., Kopatsch, J., Liu, F., Winfree, E., Reif, J. H., & Seeman, N. C. (2000). Construction, Analysis, Ligation, and Self-Assembly of DNA Triple Crossover Complexes. *Journal of the American Chemical Society*, *122*(9), 1848–1860. <https://doi.org/10.1021/ja993393e>
- Li, H., Carter, J., & Labean, T. (2009). Nanofabrication by DNA Self-Assembly. In *Materials Today - MATER TODAY* (Vol. 12). [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(09\)70157-9](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(09)70157-9)
- Lindsay, S. M. (2010). *Introduction to Nanoscience*. Oxford University Press.
- Liu, J., Geng, Y., Pound, E., Gyawali, S., Ashton, J. R., Hickey, J., Woolley, A. T., & Harb, J. N. (2011). Metallization of Branched DNA Origami for Nanoelectronic Circuit Fabrication. *ACS Nano*, *5*(3), 2240–2247. <https://doi.org/10.1021/nn1035075>
- M, D. S., Ido, B., & M, C. G. (2012). A Logic-Gated Nanorobot for Targeted Transport of Molecular Payloads. *Science*, *335*(6070), 831–834. <https://doi.org/10.1126/science.1214081>
- Majikes, J., & Liddle, J. (2021). *DNA Origami Design: A How-To Tutorial*. Journal of Research (NIST JRES), National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD. <https://doi.org/https://doi.org/10.6028/jres.126.001>
- Marchi, A. N., Saaem, I., Vogen, B. N., Brown, S., & LaBean, T. H. (2014). Toward larger DNA origami. *Nano Letters*, *14*(10), 5740–5747. <https://doi.org/10.1021/nl502626s>
- Martín-Palma, R. J., & Lakhtakia, A. (2010). Properties of Nanostructures. In *Nanotechnology: A Crash Course* (pp. 31–52). SPIE PRESS. <https://doi.org/https://doi.org/10.1117/3.853406.ch3>
- Mathur, D., & Medintz, I. L. (2017). Analyzing DNA Nanotechnology: A Call to Arms For The Analytical Chemistry Community. *Analytical Chemistry*, *89*(5), 2646–2663. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04033>
- Matthies, M., Agarwal, N. P., Poppleton, E., Joshi, F. M., Šulc, P., & Schmidt, T. L. (2019). Triangulated Wireframe Structures Assembled Using Single-Stranded DNA Tiles. *ACS Nano*, *13*(2), 1839–1848. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b08009>
- Miramontes, O., & Volke, K. (2013). *Fronteras de la Física en el siglo XXI ( Editores )*. <https://doi.org/10.13140/2.1.2118.8809>
- Moore, G. (1965). Cramming More Components onto Integrated Circuits. *Electronics*, *38*(8), 114–117.
- Nangreave, J., Han, D., Liu, Y., & Yan, H. (2010). DNA origami: a history and current perspective. *Current Opinion in Chemical Biology*, *14*(5), 608–615. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.06.182>
- NSTC Committee on Technology, Subcommittee of Nanoscale Science, Engineering, and T. (NSET). (2017). *Highlights from the Nanoelectronics for 2020 and Beyond (Nanoelectronics) NSI*. NNI Publications and Reports. [https://www.nano.gov/sites/default/files/pub\\_resource/Nanoelectronics\\_NSI\\_Highlights\\_April2017.pdf](https://www.nano.gov/sites/default/files/pub_resource/Nanoelectronics_NSI_Highlights_April2017.pdf)
- Ochmann, S. E., Joshi, H., Büber, E., Franquelim, H. G., Stegemann, P., Saccà, B., Keyser, U. F., Aksimentiev, A., & Tinnefeld, P. (2021). DNA Origami Voltage Sensors for Transmembrane Potentials with Single-Molecule Sensitivity. *Nano Letters*, *21*(20), 8634–8641. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.1c02584>

- Pearson, A. C., Liu, J., Pound, E., Uprety, B., Woolley, A. T., Davis, R. C., & Harb, J. N. (2012a). DNA Origami Metallized Site Specifically to Form Electrically Conductive Nanowires. *The Journal of Physical Chemistry B*, *116*(35), 10551–10560. <https://doi.org/10.1021/jp302316p>
- Pearson, A. C., Liu, J., Pound, E., Uprety, B., Woolley, A. T., Davis, R. C., & Harb, J. N. (2012b). DNA Origami Metallized Site Specifically to Form Electrically Conductive Nanowires. *The Journal of Physical Chemistry B*, *116*(35), 10551–10560. <https://doi.org/10.1021/jp302316p>
- Pedersen, R., Marchi, A., Majikes, J., Nash, J., Estrich, N., Courson, D., Hall, C., L. Craig, S., & Labean, T. (2014). *Properties of DNA*. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-31107-9\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-31107-9_10)
- Peters 3rd, J. P., & Maher, L. J. (2010). DNA curvature and flexibility in vitro and in vivo. *Quarterly Reviews of Biophysics*, *43*(1), 23–63. <https://doi.org/10.1017/S0033583510000077>
- Pilo-Pais, M., Goldberg, S., Samano, E., LaBean, T. H., & Finkelstein, G. (2011). Connecting the Nanodots: Programmable Nanofabrication of Fused Metal Shapes on DNA Templates. *Nano Letters*, *11*(8), 3489–3492. <https://doi.org/10.1021/nl202066c>
- Praetorius, F., Kick, B., Behler, K. L., Honemann, M. N., Weuster-Botz, D., & Dietz, H. (2017). Biotechnological mass production of DNA origami. *Nature*, *552*, 84. <http://dx.doi.org/10.1038/nature24650>
- Rémi, V., Sakul, R., Kaiming, Z., Fei, Z., Hao, Y., Wah, C., & Mark, B. (2016). Designer nanoscale DNA assemblies programmed from the top down. *Science*, *352*(6293), 1534. <https://doi.org/10.1126/science.aaf4388>
- Rojo, M. M., Calero, O. C., Lopeandia, A. F., Rodriguez-Viejo, J., & Martin-Gonzalez, M. (2013). Review on measurement techniques of transport properties of nanowires. *Nanoscale*, *5*(23), 11526–11544. <https://doi.org/10.1039/C3NR03242F>
- Rothmund, P. W. K. (2006). Folding DNA to create nanoscale shapes and patterns. *Nature*, *440*, 297. <http://dx.doi.org/10.1038/nature04586>
- Ruiz, D. D., Cardos, K. L., Martínez, A., Girón, T. M., & Samano, E. (2017). NANOSTRUCTURES BASED ON DNA ORIGAMI AND APPLICATIONS. In C. W. Brooks (Ed.), *Biomaterialization* (pp. 77–101). Nova Science Publishers, Inc.
- Ruiz, D. D., Cardos, K. L., Soto, G., & Samano, E. C. (2017). Gold nanostructures based on DNA Origami templates with applications in nanoelectronics and plasmonics. *MRS Advances*, *2*(64), 4017–4023. <https://doi.org/DOI: 10.1557/adv.2018.177>
- Saccà, B., & Niemeyer, C. M. (2012). DNA origami: the art of folding DNA. *Angewandte Chemie (International Ed. in English)*, *51*(1), 58–66. <https://doi.org/10.1002/anie.201105846>
- Said, H., Schüller, V. J., Eber, F. J., Wege, C., Liedl, T., & Richert, C. (2013). M1.3 – a small scaffold for DNA origami. *Nanoscale*, *5*(1), 284–290. <https://doi.org/10.1039/C2NR32393A>
- Schreiber, R., Kempter, S., Holler, S., Schüller, V., Schiffels, D., Simmel, S. S., Nickels, P. C., & Liedl, T. (2011). DNA Origami-Templated Growth of Arbitrarily Shaped Metal Nanoparticles. *Small*, *7*(13), 1795–1799. <https://doi.org/10.1002/sml.201100465>
- Seeman, N. C. (2010). Nanomaterials based on DNA. *Annual Review of Biochemistry*, *79*, 65–87. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060308-102244>
- Seeman, N. C., & Sleiman, H. F. (2017). DNA nanotechnology. *Nature Reviews Materials*, *3*(1), 17068. <https://doi.org/10.1038/natrevmats.2017.68>

- Shen, B., Kostianen, M. A., & Linko, V. (2018). DNA Origami Nanophotonics and Plasmonics at Interfaces. *Langmuir*, *34*(49), 14911–14920. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b01843>
- Shen, B., Tapio, K., Linko, V., Kostianen, A. M., & Toppari, J. J. (2016). Metallic Nanostructures Based on DNA Nanoshapes. In *Nanomaterials* (Vol. 6, Issue 8). <https://doi.org/10.3390/nano6080146>
- S.M. Sze, K. K. N. (2006). Metal-Insulator-Semiconductor Capacitors. In *Physics of Semiconductor Devices* (pp. 197–240). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/9780470068328.ch4>
- Sun, W., Boulais, E., Hakobyan, Y., Wang, W. L., Guan, A., Bathe, M., & Yin, P. (2014). Casting inorganic structures with DNA molds. *Science*, *346*(6210). <http://science.sciencemag.org/content/346/6210/1258361.abstract>
- Tapio, K., & Bald, I. (2020). The potential of DNA origami to build multifunctional materials. *Multifunctional Materials*, *3*(3), 032001. <https://doi.org/10.1088/2399-7532/ab80d5>
- Teschome, B., Facsko, S., Schönherr, T., Kerbusch, J., Keller, A., & Erbe, A. (2016). Temperature-Dependent Charge Transport through Individually Contacted DNA Origami-Based Au Nanowires. *Langmuir*, *32*(40), 10159–10165. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.6b01961>
- Williams, S., Lund, K., Lin, C., Wonka, P., Lindsay, S., & Yan, H. (2009). Tiamat: A Three-Dimensional Editing Tool for Complex DNA Structures. In A. Goel, F. C. Simmel, & P. Sosík (Eds.), *DNA Computing* (pp. 90–101). Springer Berlin Heidelberg.
- Xia, Y., Yang, P., Sun, Y., Wu, Y., Mayers, B., Gates, B., Yin, Y., Kim, F., & Yan, H. (2003). One-Dimensional Nanostructures: Synthesis, Characterization, and Applications. *Advanced Materials*, *15*(5), 353–389. <https://doi.org/10.1002/adma.200390087>
- Ye, J., Aftenieva, O., Bayrak, T., Jain, A., König, T. A. F., Erbe, A., & Seidel, R. (2021). Complex Metal Nanostructures with Programmable Shapes from Simple DNA Building Blocks. *Advanced Materials*, *33*(29), 2100381. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/adma.202100381>
- Ye, J., Helmi, S., Teske, J., & Seidel, R. (2019). Fabrication of Metal Nanostructures with Programmable Length and Patterns Using a Modular DNA Platform. *Nano Letters*, *19*(4), 2707–2714. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b00740>
- Ye, J., Teske, J., Kemper, U., & Seidel, R. (2021). Sequential Pull-Down Purification of DNA Origami Superstructures. *Small*, *17*(17), 2007218. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/smll.202007218>
- Zhang, Q., Jiang, Q., Li, N., Dai, L., Liu, Q., Song, L., Wang, J., Li, Y., Tian, J., Ding, B., & Du, Y. (2014). DNA Origami as an In Vivo Drug Delivery Vehicle for Cancer Therapy. *ACS Nano*, *8*(7), 6633–6643. <https://doi.org/10.1021/nn502058j>



### A.b. Imagen de andamio por AFM



**Figura 49.** Micrografía por AFM de andamio de cadena sencilla P7560 de la compañía tilibit nanosystems.

## B. Pools

### B. a. Pool 1

Nombre	Secuencia
NM_13[49]-10[56]	TGAAATAGCAATAGTTATATA
NM_50[104]-55[113]	CGTTGTAGCTCATGGCCGCTACCACCACACCCGCCGC
NM_59[28]-68[28]	AAATTTCGAATTGTACAACCTTCCCGCCA
NM_44[48]-49[55]	TAGCGCGCGCCAGCATTGACAGGCCGCCAGAACTGAGTAACTGGTAAT
NM_42[104]-41[90]	AGGTGAGCAGTTGGGTTGAAAGGAATTGAGGAACAAATCAAT
NM_23[63]-19[69]	ACGAGAAGCGCGAAGCGACCTGACCAGGCCAGGTG
NM_53[19]-48[12]	ACCCTAAAGCCGGCGATTATTCTTGCCCCCTGCCTATTT
NM_69[28]-76[21]	CCCTGGAACATAAATCATTTCGACCTCCGAATTAC
NM_66[62]-65[69]	TTCTTCTCCAGCTTTCGGCA
NM_53[32]-19[34]	CCCAAAGCACCTATCAG
NM_20[76]-31[83]	ATACCAAACACCAGCGCCAGGGGGGAGAGGCGGTT
NM_52[69]-51[55]	GGAATAAGAGAGGGCACTGCCTGAGTAGAAGAACGGATAAG
NM_58[113]-63[104]	CTAGCATGTCAATCATAACGGTATAAAGCCAAATGCA
NM_4[48]-15[55]	TTAAATCGCAAATCAGCTCATCCGCATAATTCTGTATATGTGCTTGCTT
NM_31[84]-20[77]	TGATTTTATGGGCGTAAAGTTTGTACCGTAACACTGTTACTTAGCGATT
NM_11[35]-12[42]	ATTGAGCGCTGCTGGTAAATAGAAACAAGGAAACC
NM_24[90]-30[91]	GGCTTGCTAAAGAGAATTGGAGTAAAGGCACCAATTTCTGT
NM_64[69]-62[56]	CAAAAACCTGCCTGAAGAGGGTAGCTATTCTTCCTGAGTAACA
NM_68[90]-72[91]	GAACGAGAGAGGCTTTTGCAATGTTTAGATGCTGTCCAGACC
NM_9[77]-59[97]	TAGCATTGAAATACCGACCGTACCTAAAAGGCCGGACCGTTCATCGATG
NM_44[90]-48[91]	CATTAACTTGATATTCACAAAGCGCAGGGATTATATTTTGA
NM_41[91]-45[90]	ATCTGGTGCGGTCAAATTTTAAAAGAAACCACCAGTAGTCTT
NM_0[34]-14[42]	CAATAATTATTAAGATATGTGCATGATTAAGACTCCATAACAGTGATT
NM_65[91]-69[90]	ATTAGCAATAAATCCTGTTGGACGCCAGCTGGCGAGAAGTTT
NM_38[41]-0[35]	TTAGAACGAAATAAGATGAATAACAATAAACCAAT
NM_76[34]-72[21]	CCAAAAGTGGTTGGAAACAGGGCTTAAG
NM_18[106]-33[97]	TGACCAACTTTGAAAGACGAGGCGAACCATTGTCGT
NM_47[42]-43[41]	TGATAATCAGAAAAGATCATAT
NM_17[42]-41[55]	CCACCCTACCCTCAGAGCCACGAGCCGCTTTTCATGAAACGT
NM_62[48]-8[42]	TATAAAAAACGTCAAGAAATTATTATTCATCTAAAGCATCAC
NM_43[91]-54[95]	GGATTCTAATTCGCAGCGCAT
NM_63[84]-65[76]	CCCTCATGGTAAAGATTCAACATTAATAAAAATTGTTGTACCCGCTTC
NM_58[97]-70[91]	ATGTACCATTCTACATTCTGCCATTCCAACATAAG
NM_19[19]-50[12]	AAAACCGTTAAATCGATTAGCGGAGACTCCTCAAGAGA



NM_6[97]-3[90]	AATAAGAATAAAACAACGCTCAAAGTTTTGAGGCCACGAGCCAAGCTAAT
NM_75[35]-68[35]	AACAAATCCCCTCGCACTATCTAAATGT
NM_47[16]-56[19]	CACCGGAACCGCAGAGCCGCC
NM_29[98]-76[98]	CTTGCTTTTTCTTAGACAACAGCGGATTCTGACTAAGTAAAA
NM_37[77]-0[77]	GCCCGAATAATACAGGCGACAAATCAATAAAATCGACAAGAA
NM_54[48]-46[35]	TCGTTAGGCCTTGCAGTGCCCGTATAAAAGAGCCGGACAAAA
NM_67[35]-59[48]	ATGACACTCATGCGCTCAGGAAGATCGCATACTTTTTACAAA
NM_42[76]-57[69]	TGCAACAATCCTTTGGAATTATCATCATAACAATTTTTGCCTGAGGCAG
NM_23[98]-29[97]	CCTAAAACGTAATGCCACTACCTTTTTCGAGAATATTATCAG
NM_47[84]-44[77]	CTGAAATCTCTGAATTTACCGATTGGCAAGACAG
NM_20[97]-52[84]	CATCTTTGACCCCCAGCCGGAAGGACAGGGAGGTTGAGGCCA
NM_42[62]-45[48]	GCTGAGAGCCAGCACAAATTCGATTATCAGATGATGGCGTAAG
NM_56[113]-43[109]	TAAAGCCAGAATGGAAACAAATACCCTAAAAGCAGAAGATAA
NM_58[48]-63[48]	TAAGCAAATATTTACATTAATGCGCATATGGGCGGGAGAAG
NM_34[41]-32[28]	GTGGACTGGCGATGATCAAGAGTAATCTCGGATATTTTGCCC
NM_53[49]-34[49]	CAGAGCGTTTTTGACGTGAACACTATT
NM_21[49]-33[55]	TTGTGTCCTACAACCTCCACA
NM_70[109]-79[113]	TTTAAATATGCATATAACACGCTATTGAAGGGCGATCGGTGC
NM_31[35]-25[41]	TCGTGCCTTAATTGCCAGACA
NM_1[49]-2[56]	CGCCTGACAGGTTTGAAACGCAAAGACAAATCAATCCAGACGCCGACAA
NM_16[69]-1[48]	TCATATGGTTTATTTTGCTTTCCTAATTTACGAGCATGTAGAACGGATT
NM_60[112]-61[104]	TCAATATGATATTCAAGACAGT
NM_37[98]-0[91]	AAAGTTTTAGATTATATCTTTAGAAGATATTCATTCAACAATAGATAA
NM_2[34]-7[41]	AAGCAAGGCGCCACGCAATAAATAATAAGAGCAAATATCAGCGCTAAC
NM_22[55]-21[48]	TCATTGTGAATTACCAGTGAAAGATTTGTGATAAA
NM_29[35]-30[42]	GCTAACTCAAATCGTTGACAAGCTGCAGAGACGG
NM_15[56]-4[49]	CTGTAAACAAAGTTGAAGGCTGAGGTTTTGAAGCC
NM_77[70]-72[70]	AAACCAAATACTGAGAGCTTACAGGTC
NM_70[41]-67[48]	GCATTTCTGTGACTCGGTTTTCCAAGCTTCTCAGTGTGAATCTGTTTA
NM_19[70]-34[84]	TATCACCTCCAGTTAGCCCGAGATAGGGTCACCAAGAGCTG
NM_65[28]-69[27]	TATCGGCCACGACTGCCAGTGCCAGTCACGACGTTACGCTCG
NM_67[84]-63[83]	GGCATCACCGGTTGATAATCAGAGCAAATAAATCGTTTAGAA
NM_72[69]-75[69]	AGGATTATCGAATTGTTTACAGGTAGAAAGAAAACGAGAATG
NM_0[90]-17[109]	GTCCTGACGCAGAGGCGAATTGATGAAAGAAAACAAAATTAATTACA
NM_2[76]-12[84]	GAGAATATATTCTAAGCAGATACCGAAGCCCTTTTTAAGAGTTGAGAAG
NM_23[49]-24[56]	TAAGGCTCACAGTTAATGAATCGGCCAATAATTGTAGCAAGCGGGAT
NM_15[63]-17[69]	TCGTGCGGTACATAACCACGGA
NM_3[91]-4[98]	GCAGAACATTTGAAAATCCTTGAAAACATTAGATTCATGTAAGAATCGC
NM_77[98]-65[106]	AAGAAGTATTCCATAATAGTACATCCAAAATTAAGC

NM_60[48]-64[28]	GATCTTTTGTAAACAAAAATCCGTGGGAACAAACGGTGTAGCGTAACC
NM_41[21]-45[27]	GAGCCATTTGGGAACAAAATCTTATACTATCAATATAATCCTTTTGCCA
NM_7[63]-1[69]	ATTCTTACTTGCGGTATCCGGTAAAGTAACGACAAATCCCATGAATACC
NM_44[76]-52[70]	AATCAAGTTTTGAACATTCTGGCAAGTGTTTGACGGGCCGATATAGCCC
NM_51[56]-48[63]	TGCCGTCATCAAGTGGAGCTAAACAGGAAGCACGTACAATATGGGGTCA
NM_48[76]-50[84]	TTTAACTACCGCCATAACATTTGATATAATAAAAGAGTCTGTTCTTTG
NM_57[28]-49[34]	ACCACCACACCCTCCTCCCTCCAGTTAAGAAACAT
NM_4[83]-8[77]	AGCGAACCTCCCGACCAGTATCGGCTTAAAAGAACGCGAGAAGTGCCTT
NM_72[90]-26[91]	GGAAGCACTTCAAAAAAGATTGTTGCGCCGACAATAACAGCT
NM_38[76]-43[69]	TTTGAGGATTTAGAGTATTAAGTGCCACCAGCACC
NM_34[34]-20[28]	CCAACGTGGTGGTTCCGAAATACGCTGGTCTCGCCTATCAATTACCCAA
NM_2[55]-12[49]	AAGGTAAAGATATAACCAGAA
NM_52[111]-53[111]	AGAAGTGTTTTTATCGGTACGCCAGAAT
NM_28[55]-27[62]	TTTTCACTCCAAAAAAGGCTCACAATGGAACAA
NM_31[91]-24[91]	GCTAAACAACTTTTCGCGGAGTATGAGGATATTCGGTCGCTGA
NM_67[63]-65[55]	TGGGGCGCCAAAAACAGGAAAGGTCATATTATGACCCTGTAECTCCAG
NM_77[49]-78[56]	TCGTTTAATATTCAGGTCATTTTTGCGGAGGGGCTGCGGCCGATTAAG
NM_61[84]-6[77]	GTGAGAATTTAATGAACTTTTACCTTTTTAACCTCAAAGCCACCGGAAT
NM_50[83]-46[84]	ATTAGTAAGCCATTTGGTTGCTAGCGGTCACGCTGAGTAATA
NM_35[49]-20[49]	ATCCCTTATAAATCGTACAAAGAAATCCACAAAGTACAACGG
NM_58[76]-77[69]	GAAAAGCCGAGCTGAGTTTGACCATTAGACGATAA
NM_47[63]-36[77]	ATACAGGAGTGTACTGGTAGTAAAGGGATGGCTATAAGGAGC
NM_75[28]-71[41]	GATACATGGAATACCCTCGATAAAGACGTTTGAGTTGTAATT
NM_79[56]-69[69]	CAGGGTGGACGCCATTCGCCAATGTGCTGCAAGGCCGTCAT
NM_24[41]-26[28]	GCGAAAGTCAGGACAAAATCTAAGCATA
NM_48[62]-54[49]	GTGCCTTTTTGATGGAGATAGAACCCTTGGAGCGGGCTTTCC
NM_37[21]-57[27]	GTTTGAACCAGTACATTAGCAAGGCCGCGGCATTTTCGGTCCAGAACC
NM_11[49]-6[63]	ATGCAAATCCAATCCATAAAAGTTTAAACGTCAAAAAGTAGAA
NM_43[70]-39[76]	GTAATCAGTAGCTACACCGCCAACCCTCACCGATTGAGGGAGACAAAAG
NM_66[55]-77[48]	AAGTGGTGAGAAGCTTGGGTAACGCCAGTATGATATGGTCAAATAACCC
NM_42[41]-38[21]	AAGCCAGTTAGAAAATTAAGGTGAATTTAAACACTACCATATCAAAA
NM_41[56]-38[42]	CTTGCTGAAATATTGACGGAAGCGTAGAGACTTTACAAAGGG
NM_33[28]-34[42]	AGTTGCAGCAAGCGGTTAGCAGCCTGCCC GGCAAAAAGAAC
NM_29[63]-35[69]	TCCAAAATGCGAATAACGCGCGTGGTTTCTCATAGGTCACCAAAAAGAA
NM_57[70]-43[62]	GTCAGACGTTCCAGTAAGCGTCATACATGGAGGTTTTAGCGTTCGATAG
NM_34[83]-33[76]	AGTGTTGGTACTCAATGAACGGTGTACAGCTCCATGAGTTTCTTAGCGT
NM_65[12]-60[19]	GAGGGGACGACGACAGGTGCATCTTTGTTAATTTTTTAA
NM_63[21]-13[27]	TCACGTTGGCGGATAATAGGAAACTGAAAAAGTCAACCCACATAAGCCC
NM_75[70]-70[77]	ACCATAAAGTCATGCGTAACCCGAAAGAAACTCCAAATTGCTTCCGTCG

NM_65[77]-61[83]	TGGTGAGGCCAAAGAATAAAGCCAAGAGATAGCTGATAAATTACAAAAGG
NM_12[41]-11[34]	GAGGAAAATAGCAAAAGATTAGTTGCTATTACCAAAGAGATAGAGGGTA
NM_62[55]-8[63]	ACCCGTCCCTTTATTTCAACGCAAGGATGTGAGCGTAGCCAGAGAATAA
NM_34[69]-18[49]	TTGGAACAAGAGTCCCATCACCGCATAGGCTGGCT
NM_73[42]-25[55]	GAGGATCTCAGTTGTA AACGCTCAGCAGCATCGGAACGAGG
NM_77[77]-66[63]	AATAGCGTAGATTTAAAAGGTCACCGGAAACCAGGCAAAGTG
NM_4[97]-9[104]	CATATTTACAGTAGAGAGACTTCAAATATATTTTATCTTCTGGTGATAA
NM_45[35]-43[48]	ATAATAAGCAATTCTCTGAATAATGGAAGCAAATGCACCAAT
NM_39[91]-43[90]	TCTAAAAGAGCCGTCAATAGACGTTATTGTATTAACCGAACG
NM_0[76]-5[83]	AAATAATTAACAAGGAAACATATTAATTAATTTTAAAAGTAAGAACGC
NM_37[56]-41[76]	ACAACCTCAGTATTATTCCAGCGCCAAAGGGAAAGGTAACCTCAAATATCA
NM_69[70]-66[84]	CTGTAAGCAACTTGAAGGGGGTTCAGGCTGCGCAAATACAGG
NM_6[41]-60[28]	CCAGAGCCTAATTTTCCAATGAGAATTACGCCATTCAGCTC
NM_68[55]-75[48]	TCGCAAACCGACAGTTGAATCGGCTGACGATAAGATTGAATCGCTTTAA
NM_7[56]-60[49]	TATACAAAAAGCCTGTTTTAGTATTTTTTACAGGGAGTCTGGCTTTGAGA
NM_26[90]-28[84]	TGATACCTATCGGTGAAAGGA
NM_1[28]-2[35]	CGGGAGAATACAGTTAAAGGTGGCAACAATTACGCCCAAGTACGAGAAC
NM_28[83]-26[63]	ACAACCTATTGAGGAAGGGAGTTAAAGGCTAGCTGTAAATTGTTATCCGC
NM_31[16]-30[16]	TTCCAGTCGGGCCCTTCACCGCC
NM_50[34]-53[48]	AGAGGCTGGGTTTTGCTCAGTGTGCCGTCGATTTAGAGAAT
NM_1[70]-39[90]	AAGTTACAGAAAATATAAGTTTTATTTTGTTCATCAACAAACACTTGGTTA
NM_30[41]-29[34]	GCAACAGGCTCATTCTTATGCGATTTTACATTATACGTTGCGTGAGTGA
NM_18[48]-50[35]	GACCTTCGCCACTGGTCGAGACCAGGCTCAAACCTATTATTA
NM_54[94]-35[104]	GGCGACAGGAAAATCAGTTAGTACCCACCCTCCCCTCATTTTCAGG
NM_15[84]-2[77]	CCCTTAGTTACCTTTTTTAATCATGTTTCGTAATAA
NM_70[90]-75[90]	TACGGTGGAATATAACTGGATATCAGGT
NM_29[70]-76[77]	GGAGCCTTAAATTGGAGTGTGTTCCTTAAAGAGGAATCAAAAAGCGTCC
NM_24[55]-74[35]	CGTCACCAACTAACTCCACACAACATACGAGCCGGACGTTAAAGATTTA
NM_75[49]-72[42]	ACAGTTCAGATTCACCCGGGTACCGAGCGAGAGTACCTTTAATTGCTCC
NM_48[104]-36[98]	TACCTACTTACATTCCAGTCACGAACTGGC GGAAC
NM_49[35]-46[42]	GAAAGCGCTTGACGGGAAGAAAGCGAAACTGACCT
NM_8[41]-10[49]	TAGACGGCCAAATAAGAAACGATTCTTTGAGCGCATATGCGTACTATAT
NM_52[83]-48[77]	CCGAGGTTAAAGGATTTTAGCGTACTAGCAACAGCGCTCAATCATAAG
NM_33[77]-28[70]	AACGATCTATTGGGAACGAGTGCTTGAGATGGTTTAGAGGCTAAGGAAT
NM_27[63]-22[56]	CATTACACGCTTTTCGGCTACAATTTCAACTTTAA
NM_6[76]-59[76]	CATAATTATGAAAATACAGAGCTTTCATATGCCGGGAGTCTG
NM_43[49]-36[56]	GAAACCACAGACTGAATACGTGGCACAGATTCTCTG
NM_70[76]-68[56]	GTGGGCACGAATATATGGCTTCGGAATCGTCATAACCAGACGATACATT

**B. b. Pool 2**

Nombre	Secuencia
Y_17[16]-40[6]	AAA ATA CAT ACA AAC AGT ATT GCA CGA TCA CCG TCA CCC AAC ACA AAT
Y_26[27]-28[6]	AAG TGT ATG CCT AAC TCA CTG CCC GCT TTC AAA CAG
Y_33[4]-34[21]	CTT TCC AGA CGT TGG CCC TGA GAG CAG CAG GGT TTG ATC AAA GGG
Y_3[3]-0[12]	GCG CCT GTT TCA TTC CAA GAA CGG GCG GCT GTC TTT CCT TA
Y_7[3]-5[27]	GGC TTA ATT AAT TTT ATC CTG AAT CTT TTG CAC ATT ACC
Y_9[14]-6[3]	AGC CAT ATT ATT TAG CCA GTT ACA AAA TAA AAG GCG TTA

**B. c. Pool 3**

Nombre	Secuencia
B_26[109]-29[119]	AAA ATA CAT ACA AAC AGT ATT GCA CGA TCA CCG TCA CCC AAC ACA AAT
B_32[119]-32[98]	AAG TGT ATG CCT AAC TCA CTG CCC GCT TTC AAA CAG
B_49[91]-51[115]	CTT TCC AGA CGT TGG CCC TGA GAG CAG CAG GGT TTG ATC AAA GGG
B_2[121]-13[97]	GCG CCT GTT TCA TTC CAA GAA CGG GCG GCT GTC TTT CCT TA
B_75[91]-73[121]	GGC TTA ATT AAT TTT ATC CTG AAT CTT TTG CAC ATT ACC
NW_B_62[115]-64[91]	AGC CAT ATT ATT TAG CCA GTT ACA AAA TAA AAG GCG TTA

**B. d. Pool 4**

Nombre	Secuencia
NW_S1_49[56]-46[119]	ATC CAG AAT AAC GTG CGC TAG GGC GCT GGC CAA CAT TTT TAA TAA TAA TAA TAA
NW_S1_33[56]-23[137]	GAC AGC CTT CTT TTT GCC CTG TTT TTA ATA ATA ATA ATA A
NW_S1_59[49]-67[137]	GGC TAT CGA TTG TAG CTA TAT TTT CAT TTT TTT AAT AAT AAT AAT AA
NW_S1_11[63]-12[119]	GCA AGA CGG TTG GGC TAT CTT AGC CGA ATT TTT AAT AAT AAT AAT AA

**B. e. Pool 5**

Nombre	Secuencia
NW_S2_45[119]-53[31]	AAA AAA AAA AAA AAA TTT TTC TTT TCT CAC CGG AAG GAA GGG GAA AGG GAG
NW_S2_68[137]-77[34]	AAA AAA AAA AAA AAA TTT TAA ATA ACC ATA GTA AGA GCA A
NW_S2_15[119]-14[21]	AAA AAA AAA AAA AAA TTT TAT AAC GGA GAA CTG TAG CAA A
NW_S2_22[137]-31[34]	AAA AAA AAA AAA AAA TTT TCA AAG CTC TGA TTG AAA CCT G

### B. f. Pool 6

Nombre	Secuencia
TY_40[114]_41[114]	TTT TTA AAT CTT GGC TTT TT
TY_3[98]_3[111]	ACG CGC CTG TTT TT
TY_6[111]_7[111]	TTT TTA TAA GGC GTA GGG CTT AAT TTT T
TY_28[114]_31[114]	TTT TTA GTT TTC AAC TTT TT
TY_33[98]_33[114]	GTC TTT CCA GAC TTT TT

### B. g. Pool 7

Nombre	Secuencia
TB_73[11]_73[27]	TTT TTT ACG TGG TGC TT
TB_62[20]_62[7]	TGA CCG TAA TTT TT
TB_35[11]_32[11]	TTT TTG AAA ACA GGC TTT TT
TB_29[11]_26[11]	TTT TTA GCC TTG TAA TTT TT
TB_51[7]_51[20]	TTT TTG AAG GAT TA
TB_2[27]_2[7]	AGC CGT TTT TAT TTT CTT TTT

### B. h. Pool 8

Nombre	Secuencia
BT_75[91]_73[114]	CTT TAC CGC ATC AAT ATC GCG TTT TAA TTC GAG TTT TT
BT_2[111]_13[97]	TTT TTT AGG CAG AGG CAT TTT ACG CCA AAA GAC GCC AAT AGT
BT_26[109]_29[114]	GTG AAT CGA GTT TTT
BT_62[111]_64[91]	TTT TTG CCT GAG TAA TGT GTA ATA TTT TTC AGA GC
BT_49[91]_51[111]	GAA AAA CGC AAT ACT CCA TCA CGC AAA TTA TTT TT
BT_32[114]_32[98]	TTT TTC AAG CCC AAT AG

### B. i. Pool 9

Nombre	Secuencia
YT_17[16]_40[11]	AAA ATA CAT ACA AAC AGT ATT GCA CGA TCA CCG TCA CCT TTT T

YT_33[11]_34[21]	TTT TTT GGC CCT GAG AGC AGC AGG GTT TGA TCA AAG GG
YT_9[14]_6[7]	AGC CAT ATT ATT TAG CCA GTT ACA AAA TAA TTT TT
YT_26[27]_28[11]	AAG TGT ATG CCT AAC TCA CTG CCC GCT TTT T
YT_7[7]_5[27]	TTT TTA ATT TTA TCC TGA ATC TTT TGC ACA TTA CC
YT_3[7]_0[12]	TTT TTT CAT TCC AAG AAC GGG CGG CTG TCT TTC CTT A

### B. j. Pool 10

Nombre	Secuencia
TO_46[114]_47[114]	TTT TTA TTC AGG CAG TTT TT
TO_42[114]_42[105]	TTT TTA ACA G
TO_8[114]_11[114]	TTT TTT TTC AGT TAA TTT TT
TO_12[114]_15[114]	TTT TTA TAG CTA GCG TTT TT
TO_66[114]_67[114]	TTT TTC ATT AAG TAG TTT TT
TO_74[118]_74[105]	TTT TTG AAG CAA A

### B. k. Pool 11

Nombre	Secuencia
O_75[19]_74[11]	ACT AAT GCA CAC ATT CAG AAG CAA A
O_46[27]_46[6]	AAC CAG AGC CAC ATT CAG GCA G
O_43[16]_42[11]	ATT ACG CAC CAA CAG
O_67[16]_66[6]	GTG CTG AAT TGT TAA GTG TCC TTA GAT TAA GTA G
O_11[16]_8[6]	TGA ACC ACC CTT TCA GTT AA
O_15[16]_12[6]	CCA AAA ATA CAT AGC TAG CG

### B. l. Pool 12

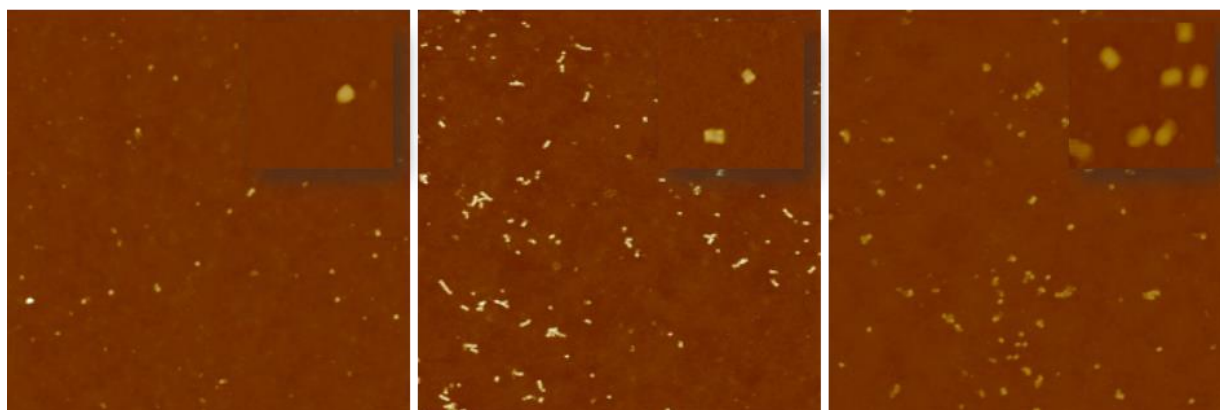
Nombre	Secuencia
TP_25[18]_22[18]	TTT TTT GGC TAG AAC TTT TT
TP_13[11]_10[11]	TTT TTT GAG TAG AAT TTT TT
TP_72[27]_72[11]	GCT TAA GCT ACG TTT TT
TP_23[18]_20[18]	TTT TTC GTA AAT CAA TTT TT
TP_27[18]_24[18]	TTT TTG AAG AGT TGG TTT TT
TP_14[20]_147[11]	CGT AGT TTT T

### B. m. Pool 13

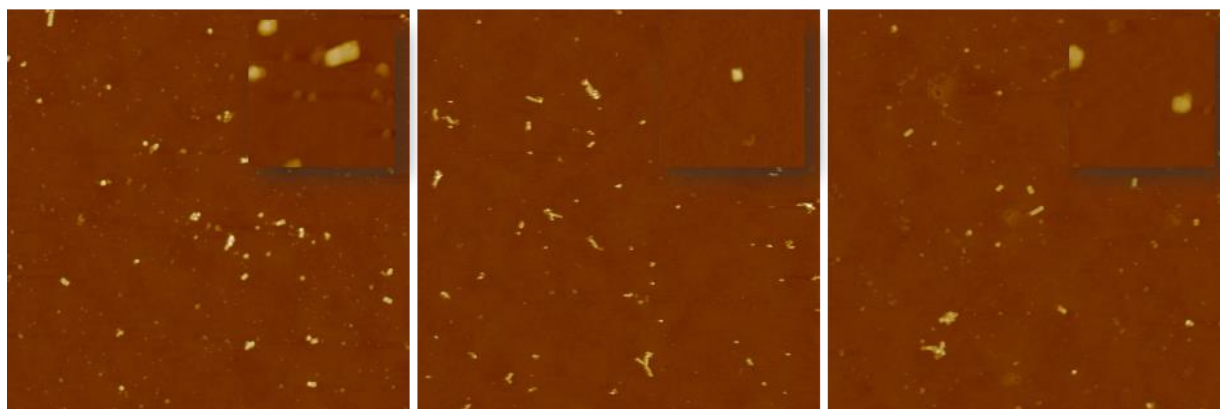
Nombre	Secuencia
P_20[126]_20[98]	CGT AAA TCA AAA GAA TAC ACT AAA ACA CT
P_14[114]_14[98]	CGT AGT TTA ACA ATT TC
P_10[114]_13[109]	TGA GTA GAA TAT CAT AGG TCT GGA ATT TAT CAA A

P_24[126]_25[116]	GAA GAG TTG GGC ATA ACC GAT AAG TTT CCA TTA A
P_72[121]_71[109]	GCT TAA GCT ACG CTT CAA AGC GAA AGC TCA ACA TGT
P_22[126]_23[116]	TGG CTA GAA CAC GGG TAA AAT ACG AAA GAG GCA A

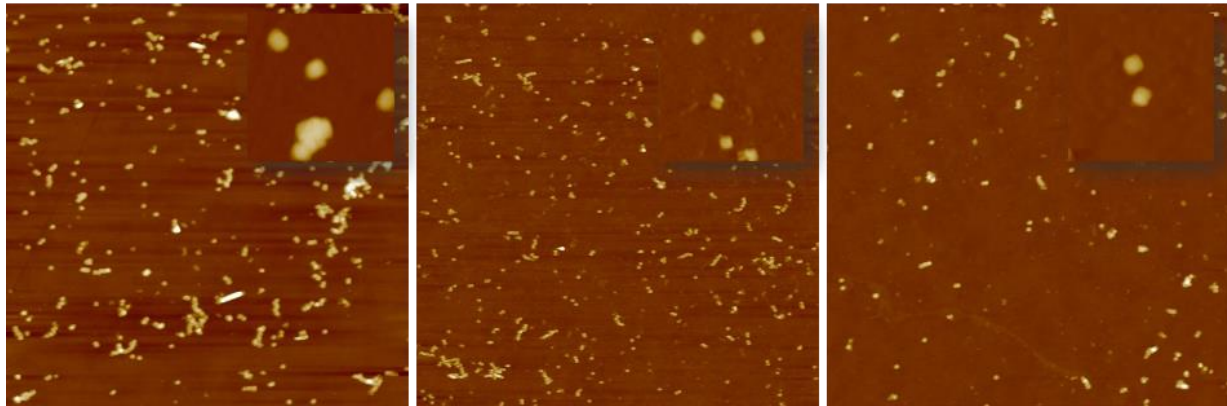
### C. Estudio del depósito sobre SiO<sub>2</sub> variando la concentración de Mg<sup>2+</sup>



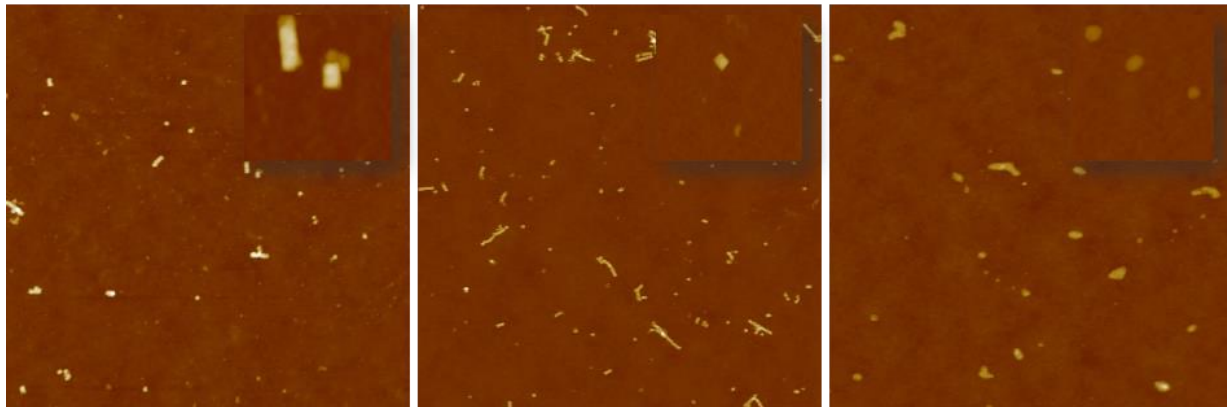
**Figura 50.** Micrografías de AFM de 5 x 5 μm y 1 x 1 μm (esquina superior derecha) en donde se exhiben los diferentes depósitos de modulo morado variando la concentración de Mg<sup>2+</sup>. a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.



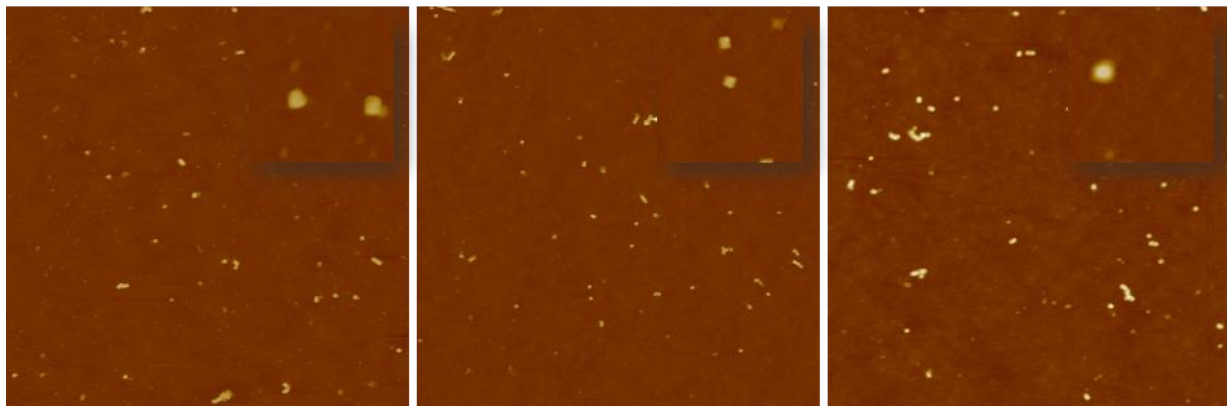
**Figura 51.** Micrografías de AFM de 5 x 5 μm y 1 x 1 μm (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de la modulo azul variando la concentración de Mg<sup>2+</sup>. a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.



**Figura 52.** Micrografías de AFM de 5 x 5  $\mu\text{m}$  y 1 x 1  $\mu\text{m}$  (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de modulo verde variando la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.

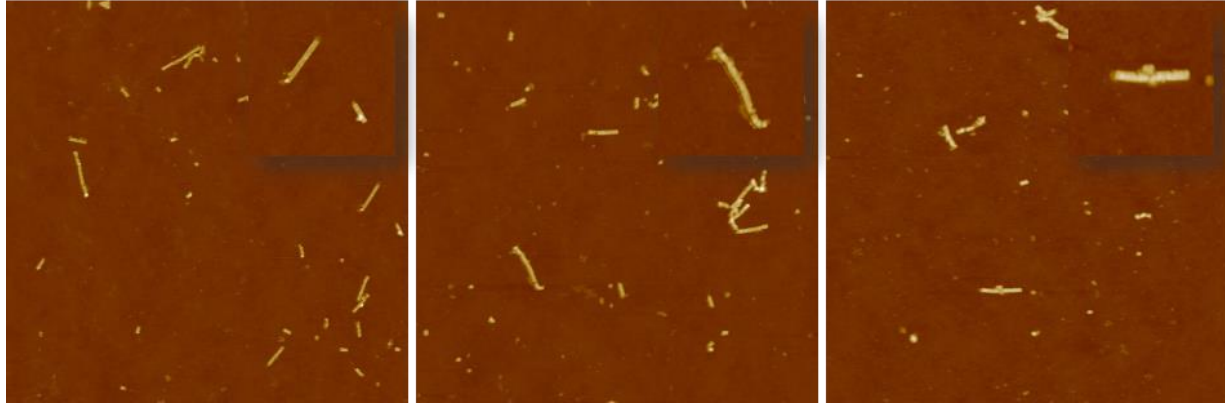


**Figura 53.** Micrografías de AFM de 5 x 5  $\mu\text{m}$  y 1 x 1  $\mu\text{m}$  (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de modulo amarillo variando la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.



**Figura 54.** Micrografías de AFM de 5 x 5  $\mu\text{m}$  y 1 x 1  $\mu\text{m}$  (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de modulo naranja variando la concentración de  $\text{Mg}^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.





**Figura 55.** Micrografías de AFM de 5 x 5 μm y 1 x 1 μm (esquina superior derecha) en la cual se muestran los diferentes depósitos de Nanoalambres sin control variando la concentración de  $Mg^{2+}$ . a) 125 mM b) 200 mM y c) 350 mM.

## D. Diseños en caDNAno

### D. a. Morado

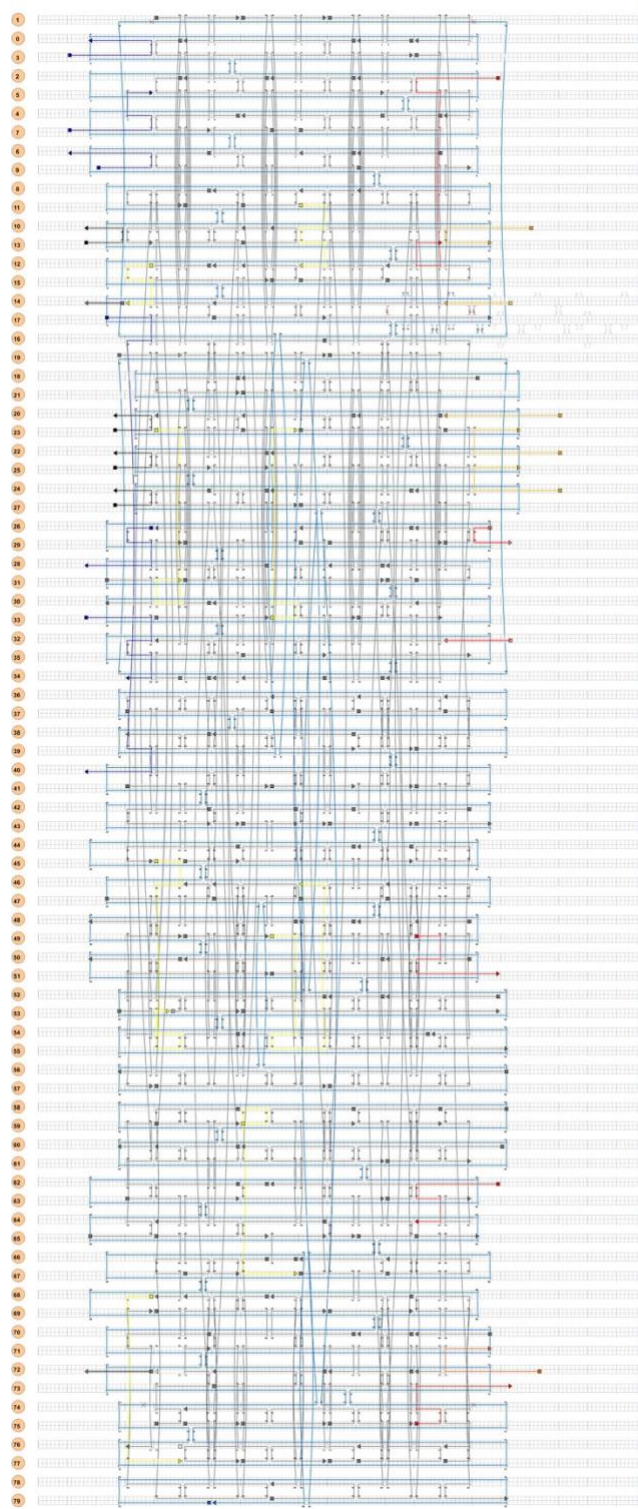


Figura 56. Diseño de modulo Morado con 6 grapas de enlace.

D. b. Azul

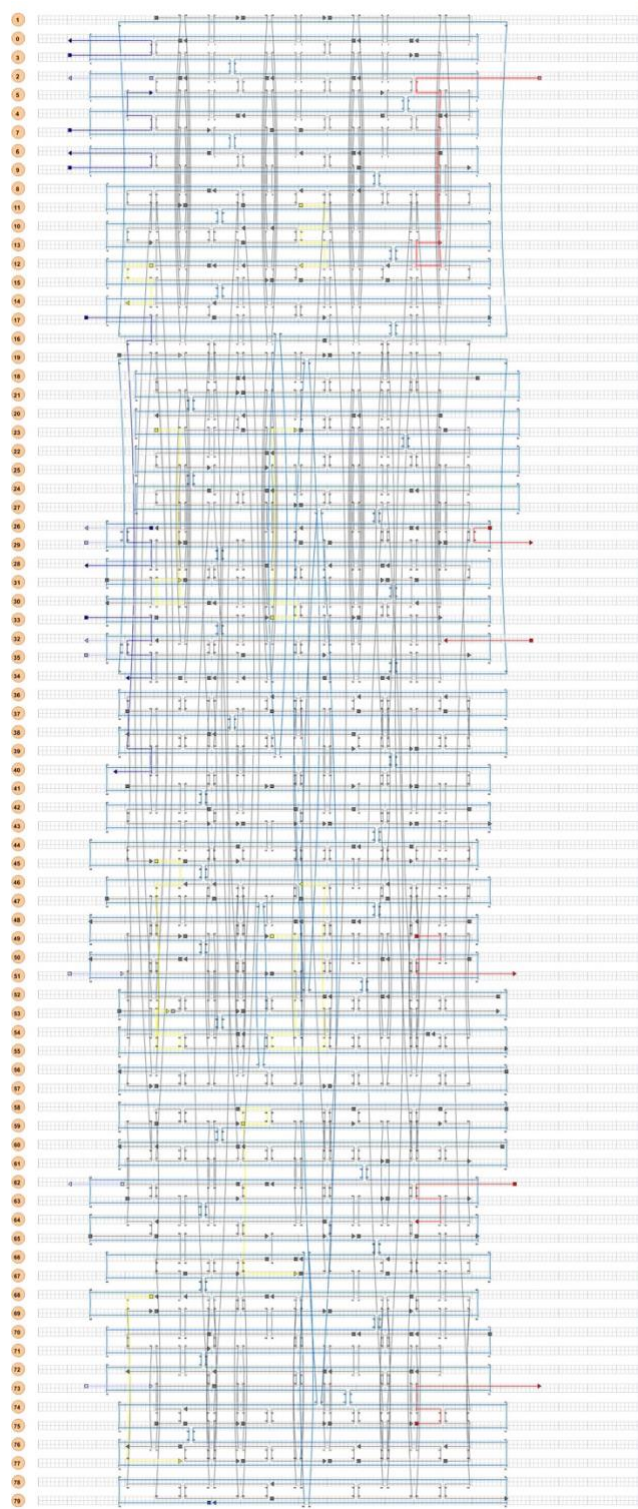
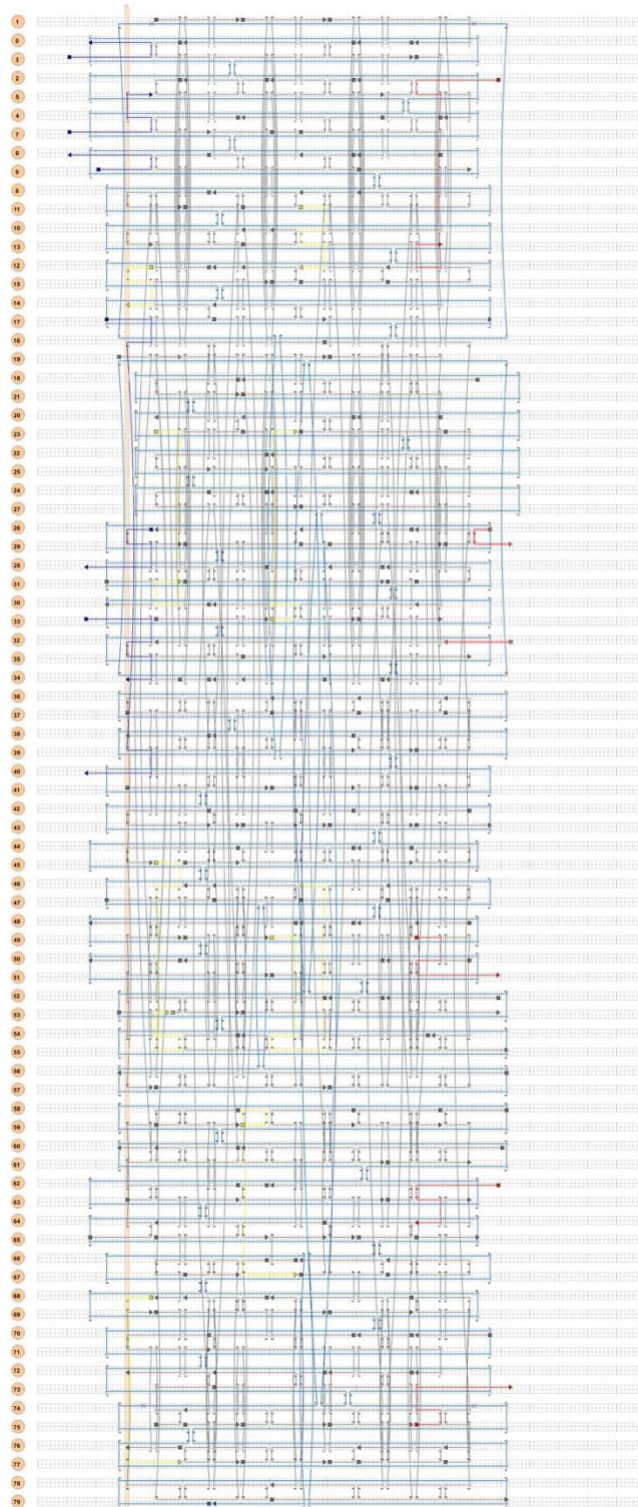


Figura 57. Diseño de modulo Azul con 6 grapas de enlace.

D.d. Verde



**Figura 58.** Diseño de modulo Verde con 6 grapas de bloqueo para estructura Morado y 6 grapas de bloqueo para estructura Naranja.

D.e. Amarillo

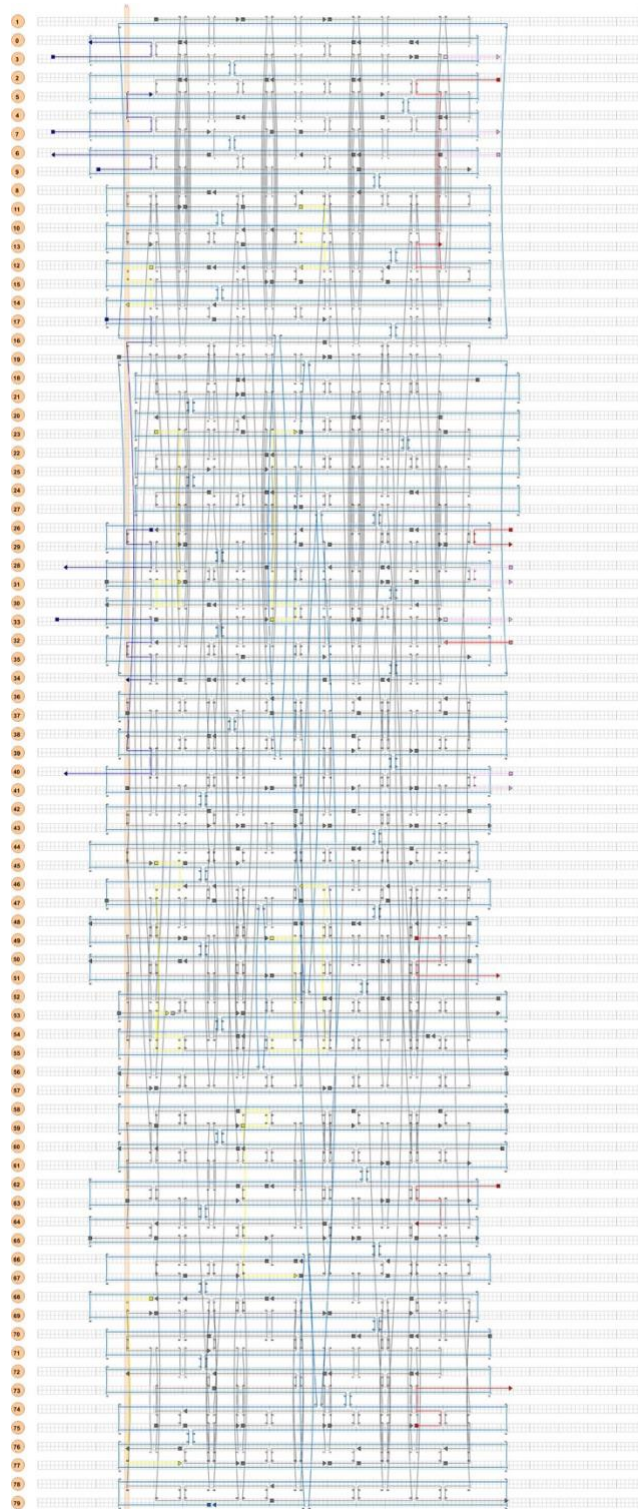


Figura 59. Diseño de modulo Amarillo con 5 grapas de enlace.

D.f. Naranja

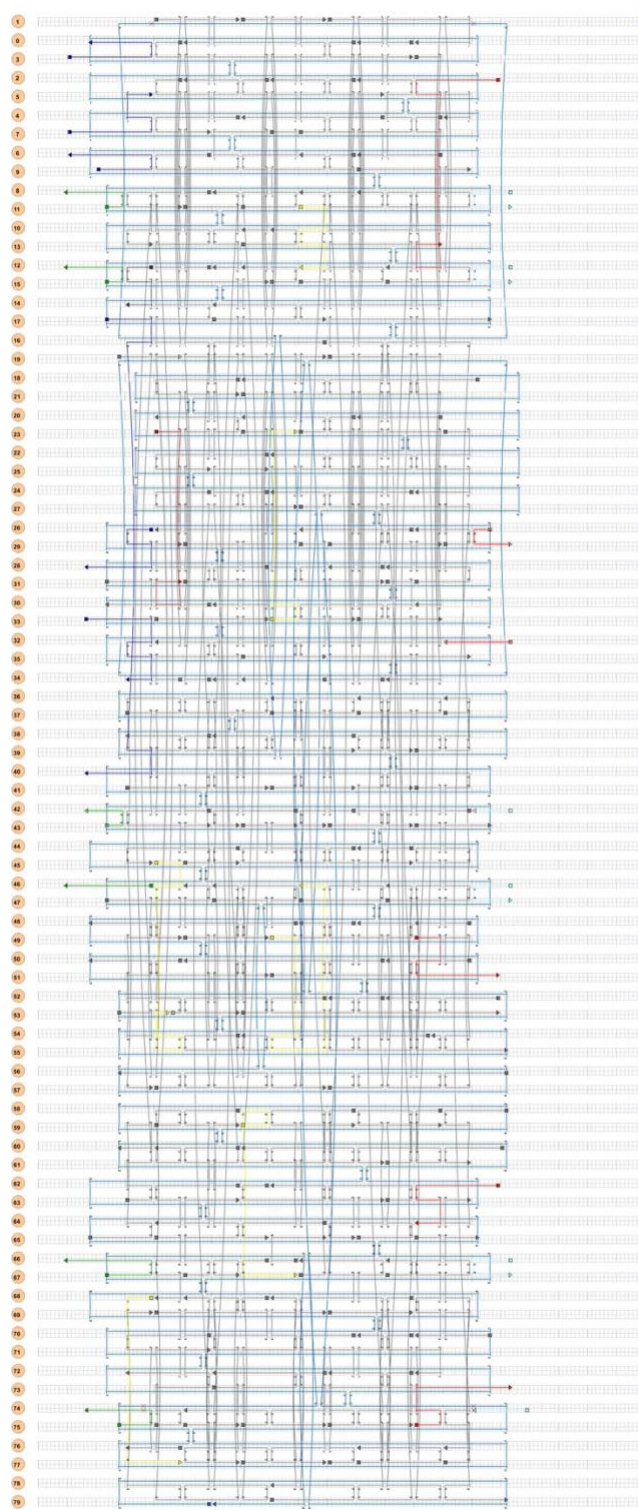
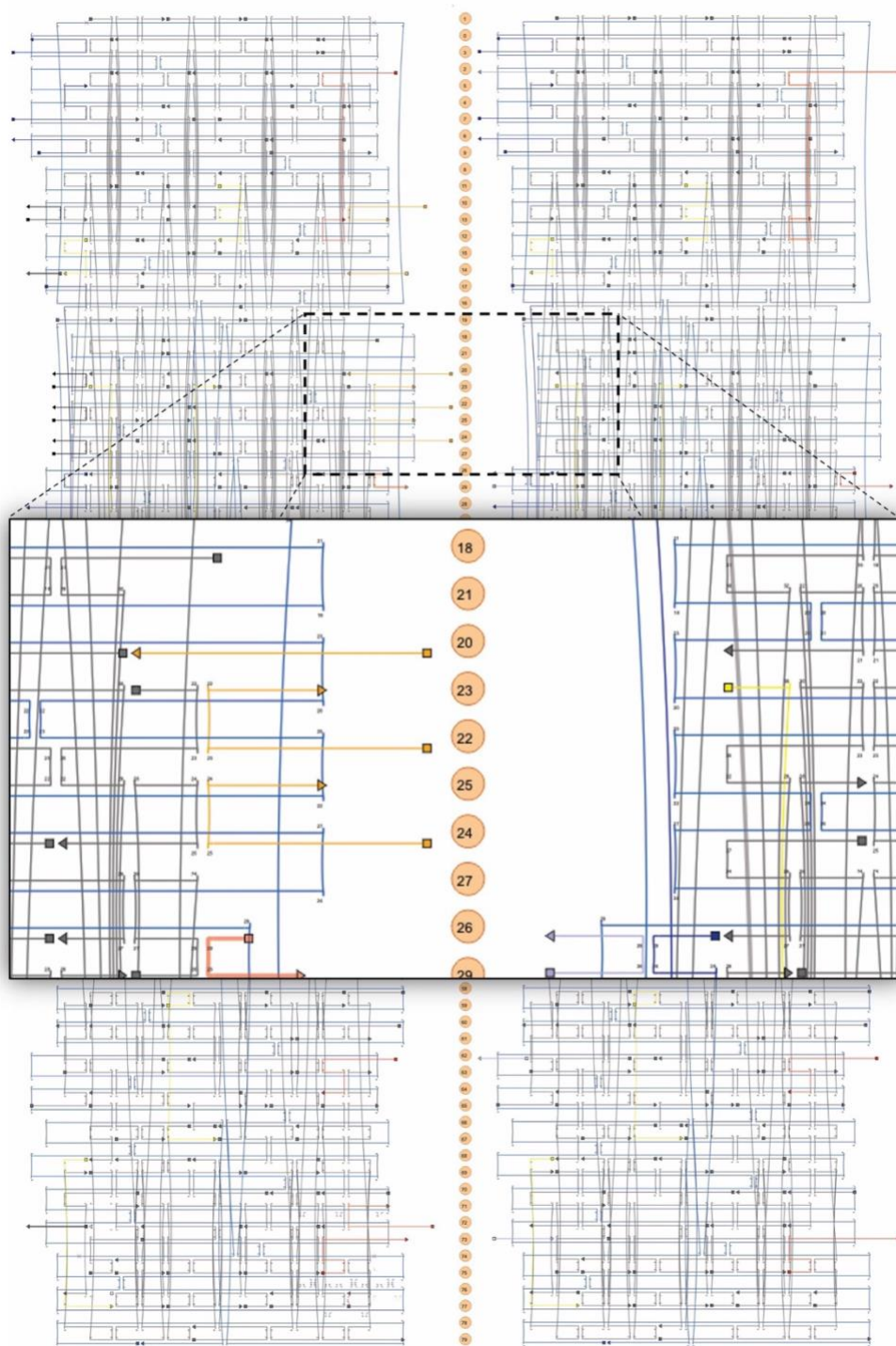


Figura 60. Diseño de modulo Naranja con 6 grapas de enlace.

## E. Unión de módulos

### E.a. Morado+Azul



**Figura 61.** Mecanismo de unión de entre modulo Morado y Azul.

## E.b. Azul+Verde

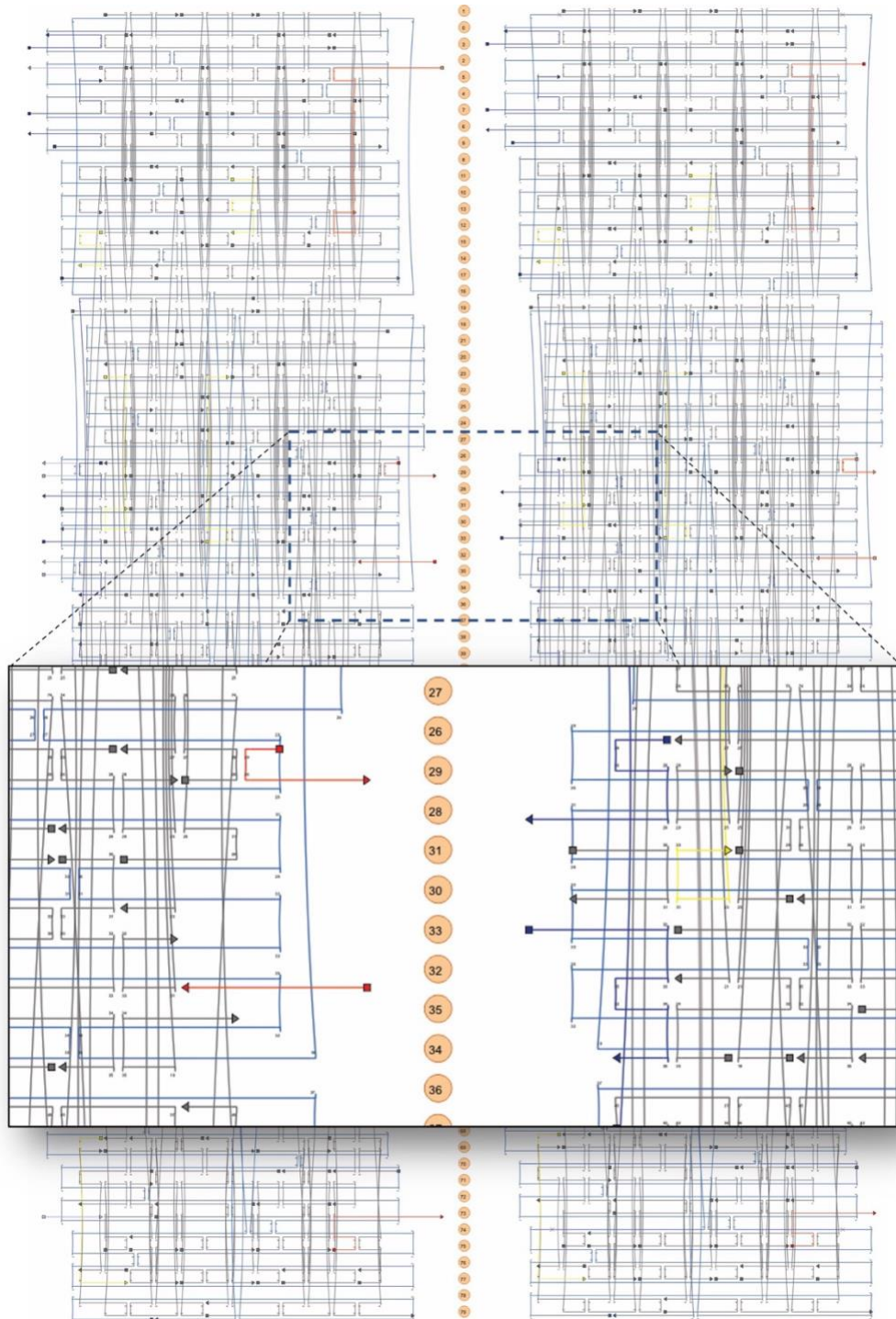
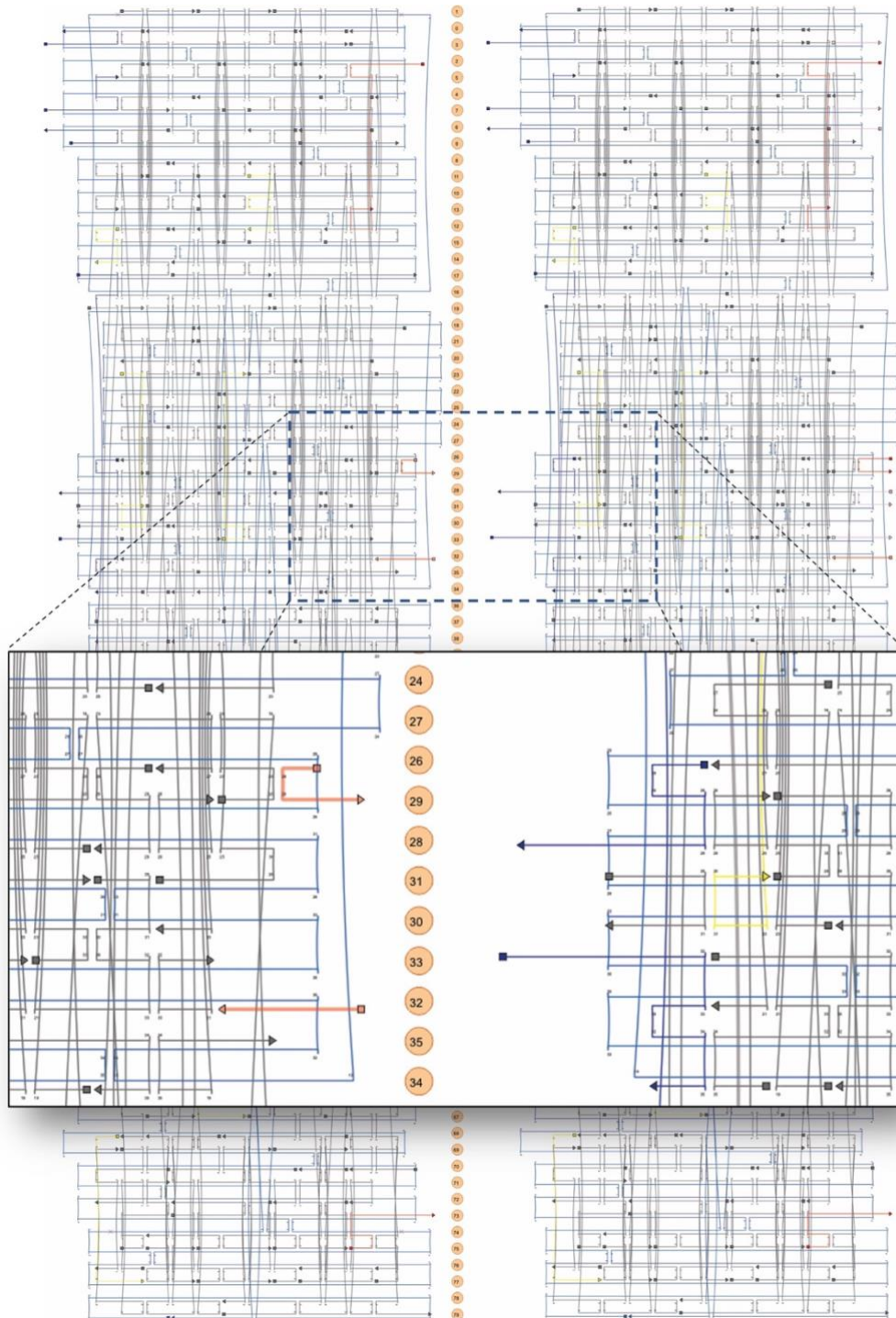


Figura 62. Mecanismo de unión de entre modulo Azul y Verde.

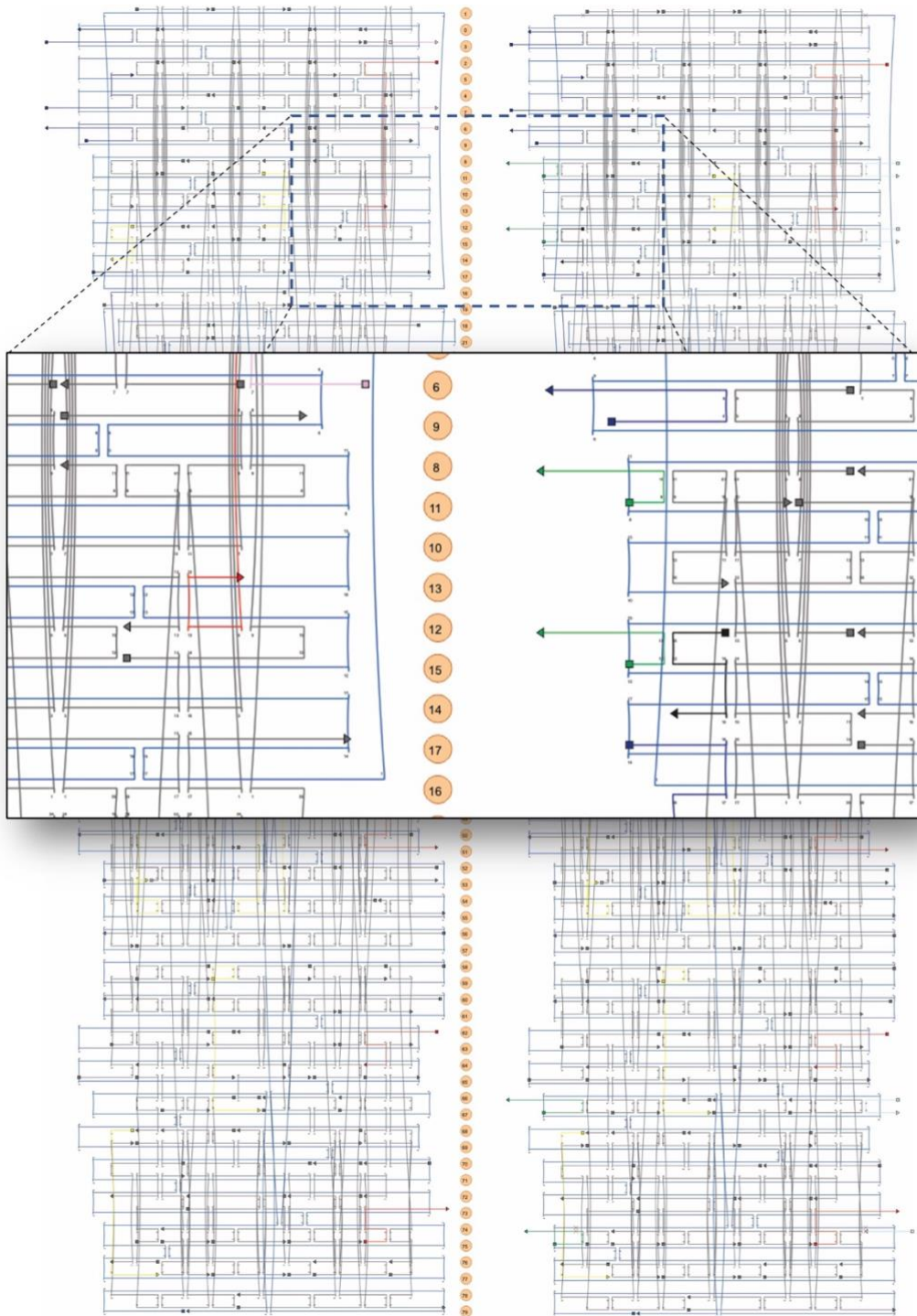


**E.c. Verde+Amarillo**



**Figura 63.** Mecanismo de unión de entre modulo Verde y Amarillo.

## E.d. Amarillo+Naranja



**Figura 64.** Mecanismo de unión de entre modulo Amarillo y Naranja.

## F. Variaciones de las muestras en geles de electroforesis

Las siguientes tablas representan variaciones en las muestras para obtener una estructura más estable. En la descripción se encuentra aquello que es diferente en cada una de las muestras.

### F.a. Módulos Morados

<b>Módulos Morado</b>		
<b>Muestra</b>	<b>Grapas</b>	<b>Relación</b>
16.1	Azules "T-Bumper"	1:5
	Amarillo "T-Bumper"	1:5
	Tapón Morado	1:10
	Morado	1:5
16.2	Amarillo "T-Bumper"	1:5
	Tapón Morado	1:10
	Morado	1:5
16.3	Azules "T-Bumper"	1:5
	Tapón Morado	1:10
	Morado	1:5
16.4	Tapón Morado	1:10
	Morado	1:10
16.5	Tapón Morado 1 grapa	1:10
	Morado	1:5
16.6	Tapón Morado 2 grapas	1:10
	Morado	1:5
16.7	Tapón Morado 3 grapas	1:10
	Morado	1:5
16.8	Tapón Morado 4 grapas	1:10
	Morado	1:5
16.9	Tapón Morado 5 grapas	1:10
	Morado	1:5
M15.1	Tapón Morado	1:10
	Morado	1:5
M14.2	Tapón Morado	1:5
	Morado	1:5

### F.b. Módulos Azul

<b>Módulos Azul</b>		
<b>Muestra</b>	<b>Grapas</b>	<b>Relación</b>
17.1	Tapón azul	1:10
	T-Bumper Amarillo	1:5
	Azul	1:5

17.2	Tapón Azul	1:10
	Azul	1:10
17.3	Tapón Azul 1 grapa	1:10
	Azul	1:5
17.4	Tapón Azul 2 grapas	1:10
	Azul	1:5
17.5	Tapón Azul 3 grapas	1:10
	Azul	1:5
17.6	Tapón Azul 4 grapas	1:10
	Azul	1:5
17.7	Tapón Azul 5 grapas	1:10
	Azul	1:5
A15.1	Tapón Azul	1:10
	Azul	1:5
A14.2	Tapón Azul	1:5
	Azul	1:5

#### F.a. Módulos Verde

<b>Módulos Verde</b>		
<b>Muestra</b>	<b>Grapas</b>	<b>Relación</b>
18.1	Azules "T-Bumper"	1:10
	Amarillo "T-Bumper"	1:10
18.2	Azules "T-Bumper"	1:5
	Amarillo "T-Bumper"	1:5
	Tapón Morado	1:5
	Morado	1:5
18.3	Amarillo "T-Bumper"	1:10
18.4	Azules "T-Bumper"	1:10
18.5	Tapón Azul	1:10
18.6	Tapón Naranja	1:10
V15.1	Tapón Naranja	1:10
	Tapón Morado	1:10

#### F.a. Módulos Amarillo

<b>Módulos Amarillo</b>		
<b>Muestra</b>	<b>Grapas</b>	<b>Relación</b>
19.1	Tapón Amarillo	1:10
	T-Bumper Azul	1:10
	Amarillo	1:5
19.2	Tapón Amarillo 1 grapa	1:10
	Amarillo	1:5
19.3	Tapón Amarillo 2 grapa	1:10

	Amarillo	1:5
19.4	Tapón Amarillo 3 grapa	1:10
	Amarillo	1:5
19.5	Tapón Amarillo 4 grapa	1:10
	Amarillo	1:5
19.6	Tapón Amarillo	1:10
	Amarillo	1:10
A15.1	Tapón Amarillo	1:10
	Amarillo	1:5
A14.2	Tapón Amarillo	1:5
	Amarillo	1:5

#### F.a. Módulos Naranja

<b>Módulos Naranja</b>		
<b>Muestra</b>	<b>Grapas</b>	<b>Relación</b>
20.1	Azul "T-Bumper"	1:10
	Amarillo "T-Bumper"	1:10
	Naranja	1:5
20.2	Amarillo "T-Bumper"	1:10
	Naranja	1:5
20.3	Azul "T-Bumper"	1:10
	Naranja	1:5
20.4	Tapón Naranja	1:10
	Naranja	1:10
20.5	Tapón Naranja 1 grapa	1:10
	Naranja	1:5
20.6	Tapón Naranja 2 grapas	1:10
	Naranja	1:5
20.7	Tapón Naranja 3 grapas	1:10
	Naranja	1:5
20.8	Tapón Naranja 4 grapas	1:10
	Naranja	1:5
20.9	Tapón Naranja 5 grapas	1:10
	Naranja	1:5
N15.1	Tapón Naranja	1:10
	Naranja	1:5
N14.2	Tapón Naranja	1:5
	Naranja	1:5

