



Simona Ranallo  
Università di Roma Tor Vergata  
University of California, Santa Barbara (USA)  
[simona.ranallo@uniroma2.it](mailto:simona.ranallo@uniroma2.it)

# NANOTECCNOLOGIE A DNA: DIAGNOSTICA E DRUG-DELIVERY

*Il DNA, molecola chiave per l'immagazzinamento e la trasmissione dell'informazione genetica nei sistemi biologici, è diventato anche il materiale "building block" delle nanotecnologie a DNA. Grazie alle sue proprietà uniche di stabilità strutturale, programmabilità delle sequenze ed autoassemblaggio, il DNA è ampiamente sfruttato in una vasta gamma di applicazioni, dalla diagnostica al drug-delivery.*

Le nanotecnologie a DNA utilizzano acidi nucleici sintetici come materiale strutturale per la progettazione e lo sviluppo di sistemi che, seppur di dimensioni nanometriche, presentano diversi gradi di complessità e specifiche funzioni [1, 2]. Ned Seeman, professore alla New York University, è considerato il fondatore di questo filone di ricerca da quando, negli anni Ottanta, ha dimostrato come sequenze oligonucleotiche possano combinarsi in maniera altamente controllata a generare reti tridimensionali di acidi nucleici con una precisione dell'ordine dell'Armstrong [3]. L'utilizzo di DNA sintetico come elemento costitutivo ha portato poi alla realizzazione di numerosi oggetti nanoscopici, da forme più semplici, quali buche faccine sorridenti, a strutture geometriche più complesse come scatole o box interamente costituite da DNA [4].

## DNA: proprietà e caratteristiche

Numerose sono le caratteristiche che rendono il DNA sintetico un biomateriale altamente versatile e che pertanto trova particolare impiego in molteplici applicazioni, dalla diagnostica clinica al rilascio controllato di farmaci. Prima tra tutti la ben nota complementarità tra le basi dettata dalle interazioni Watson-Crick (Adenina-Timina, Citosina-Guanina) che, non solo consente l'autoassemblaggio controllato di filamenti di DNA in forme complesse,

ma offre, inoltre, la possibilità di attribuirgli specifiche funzioni. Il DNA è anche un materiale molto stabile, biocompatibile, facile da sintetizzare e, non in ultimo, a basso costo: attualmente, infatti, il costo di 150 µg di un filamento di DNA di 20 nucleotidi ammonta a circa 8 euro ed è disponibile sul mercato nel portfolio di numerose aziende biotecnologiche. In combinazione con i progressi nel campo della scienza dei materiali, le nanotecnologie a DNA hanno assunto un ruolo indispensabile per la realizzazione di sistemi dinamici artificiali, specialmente per applicazioni biomediche. Questi dispositivi possono essere programmati per interagire tra loro, rispondere a specifici stimoli ed eseguire operazioni logiche anche all'interno di organismi viventi. La medicina convenzionale infatti può trarre grandi vantaggi dalle nanotecnologie a DNA, ad esempio per controllare la somministrazione ed il rilascio di farmaci, rilevare i primi marcatori di malattie ed eseguire autonomamente azioni terapeutiche. Tutto ciò è reso possibile dalla versatilità chimica del DNA. Numerosi gruppi reattivi ed elementi di riconoscimento, infatti, possono essere facilmente coniugati a filamenti di DNA così che, oltre al semplice rilevamento di una specifica sequenza complementare, questi sistemi possono essere sfruttati per il riconoscimento di una vasta gamma di molecole bersaglio, tra cui quelle di interesse clinico.

Simona Ranallo è risultata vincitrice ex-aequo del **Premio Levi 2019** attribuito dal Gruppo Giovani della Società Chimica Italiana. Qui i link al [video](#) e all'[articolo](#).



## Sistemi a DNA per la misura di anticorpi diagnostici

Negli ultimi anni, nel gruppo di ricerca guidato dal prof. Francesco Ricci, e grazie anche ad importanti collaborazioni internazionali con la University of California Santa Barbara (USA) e la Université de Montréal (Canada), abbiamo sviluppato sistemi a DNA che sfruttano la possibilità di utilizzare il DNA non come elemento di riconoscimento, bensì come scaffold (o impalcatura) per la rilevazione di biomolecole di interesse clinico, quali ad esempio proteine ed anticorpi. Questi ultimi, in particolar modo, sono tra i più importanti biomarcatori e pertanto il loro livello nei campioni clinici viene abitualmente utilizzato per diagnosticare un'ampia gamma di patologie, comprese quelle infettive e autoimmuni. Inoltre, l'utilizzo di anticorpi sta acquisendo importanza in contesti terapeutici con l'immunoterapia, che rappresenta oggi la nuova frontiera delle strategie di trattamento oncologico.

Anche la pandemia Covid-19, che ha investito il mondo intero nell'ultimo anno, ha evidenziato l'importanza e la necessità di sviluppare nuove strategie per il rilevamento di specifici anticorpi che non siano solo rapide, economiche e facili da usare, ma anche quantitative e sensibili.

In un primo studio il nostro gruppo di ricerca ha sviluppato una serie di sensori ottici altamente versatili (definiti "nanoswitch") costituiti interamente da DNA sintetico per il rilevamento di anticorpi diagnostici, tra cui quelli coinvolti nella diagnosi dell'HIV [5]. Il sistema utilizza il DNA come impalcatura per l'introduzione (o ancoraggio) di specifici elementi di riconoscimento (piccole molecole, antigeni o peptidi) e di molecole fluorescenti, responsabili dell'output ottico registrato solamente in presenza dell'anticorpo bersaglio nel campione in esame. Il legame bidentato dell'anticorpo agli elementi di riconoscimento induce, infatti, la variazione conformazionale del nanoswitch provocando un aumento del segnale ottico, proporzionale alla concentrazione di anticorpo presente nel campione. I sensori sviluppati sono in grado di misurare il livello di marcatori, senza l'aggiunta di nessun re-

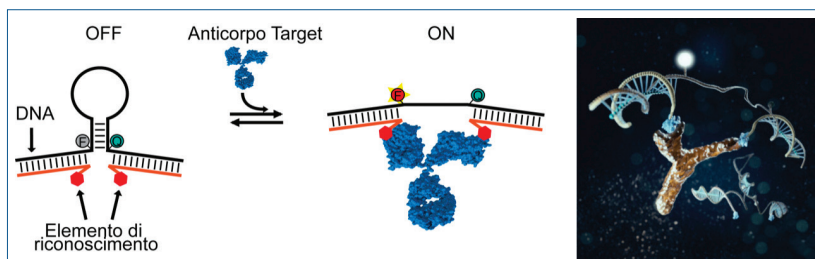


Fig. 1 - Il sensore è composto da una sequenza a DNA modificata con una coppia fluoroforo/quencher e contenente due code a singolo filamento per l'introduzione degli elementi di riconoscimento per l'anticorpo target. Il legame dell'anticorpo induce una variazione conformazionale con conseguente aumento del segnale di fluorescenza

agente, in maniera rapida (<10 min) e single-step, sensibile (limite di rilevabilità del basso nanomolare), specifica e selettiva anche in campioni complessi (siero). Tali caratteristiche, insieme al basso costo di fabbricazione (ogni test ha un costo stimato di circa 15 centesimi) inseriscono questi sistemi nel campo della diagnostica *point-of-care* (Fig. 1).

## Nuove frontiere per il rilascio controllato di farmaci

La somministrazione controllata di farmaci tramite sistemi nanotecnologici di rilascio programmato, rappresenta oggi uno dei campi in cui maggiormente trovano impiego le nanotecnologie a DNA. In questo contesto, e sfruttando la capacità degli anticorpi di riconoscere selettivamente specifiche molecole,

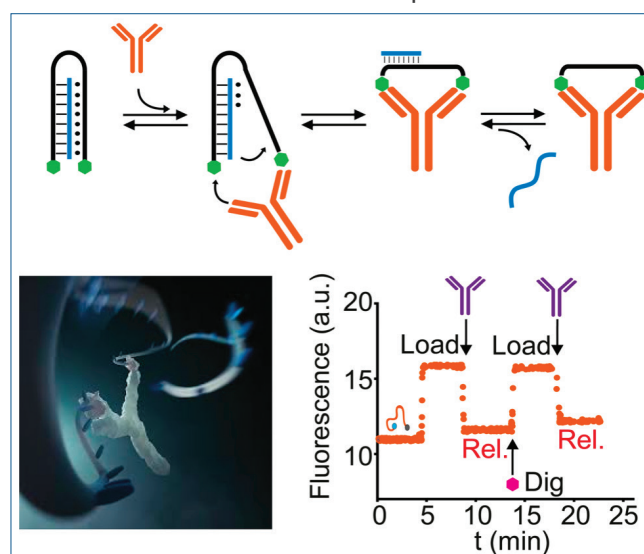


Fig. 2 - Fionda molecolare a DNA progettata per caricare e rilasciare un cargo in maniera reversibile in presenza di specifici anticorpi

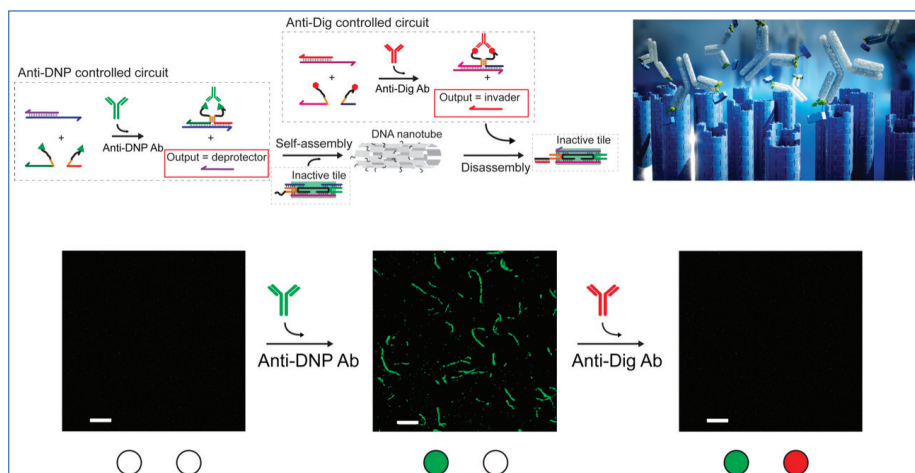


Fig. 3 - Circuiti a DNA controllati da anticorpi diversi. Come mattoncini Lego, i nanotubi a DNA si assemblano in presenza di un anticorpo e disassemblano con un anticorpo diverso

abbiamo sviluppato una nanomacchina costituita da DNA sintetico, 20 mila volte più piccola di un capello umano, capace di trasportare carichi molecolari e rilasciarli in seguito al legame con anticorpi target [6]. La nanomacchina, nel suo funzionamento, ricorda una fionda in grado di indirizzare il carico (ad esempio un farmaco) in maniera precisa e controllata. In particolare, il DNA, che nella fionda svolge la funzione di elastico, alle due estremità presenta gli elementi di riconoscimento e, in seguito al legame degli specifici anticorpi, subisce un cambiamento conformazionale, promuovendo così il rilascio del carico stesso (Fig. 2). La nanomacchina potrebbe, quindi, rappresentare uno strumento rapido, valido e versatile nella diagnosi e nel trattamento di numerose malattie in quanto, molte di esse, portano alla produzione di specifici tipi di anticorpi che verrebbero così riconosciuti in modo univoco dalla nanomacchina. In futuro simili fionde molecolari potrebbero anche essere utilizzate per somministrare farmaci in punti specifici del corpo, migliorandone l'efficacia nonché diminuendone gli effetti tossici secondari. In un successivo e recente studio abbiamo dimostrato la possibilità di utilizzare gli anticorpi come strumenti molecolari per controllare circuiti a DNA in grado di promuovere l'assemblaggio ed il disassemblaggio di nanostrutture costituite da DNA sintetico [7]. Mattoncini di DNA, così come Lego, sono stati progettati per legarsi l'uno all'altro a formare delle strutture tubulari, definite nanotubi. Affinché l'assemblaggio di tali strutture venisse promosso dalla presenza di anticorpi, su queste unità sono stati introdotti degli elementi di riconoscimento (antigeni)

specifici per gli anticorpi di interesse. In questo modo solo quando l'anticorpo specifico è presente nel campione la formazione dei nanotubi ha inizio. Inoltre, abbiamo dimostrato di poter disassemblare tali strutture con un anticorpo diverso. Questa strategia dimostra che è possibile progettare nanostrutture intelligenti in grado di formarsi e distruggersi in presenza di uno specifico marker e, pertanto, potrebbe avere potenziali applicazioni in ambito biomedico, diagnostico e terapeutico.

Le promettenti opportunità offerte dal campo delle nanotecnologie a DNA sono state negli ultimi 5 anni riconosciute dall'Accademia Reale Svedese delle Scienze con due premi Nobel per la Chimica: nel 2015 è stata premiata la scoperta dei processi di riparazione del DNA e, nel 2020, il riconoscimento è andato allo sviluppo della più rivoluzionaria tecnica di editing del genoma CRISPR-Cas9.

## BIBLIOGRAFIA

- [1] M. Zahid *et al.*, *Nanoscale Res. Lett.*, 2013, **8**, 119.
- [2] N.C. Seeman, H.F. Sleiman, *Nat. Rev. Mater.*, 2017, **3**, 17068.
- [3] N.C. Seeman, *J. Theor. Biol.*, 1982, **99**, 237.
- [4] P.W.K. Rothemund, *Nature*, 2006, **440**, 297.
- [5] S. Ranallo *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2015, **54**, 13214.
- [6] S. Ranallo *et al.*, *Nat. Commun.*, 2017, **8**, 15150.
- [7] S. Ranallo *et al.*, *Nat. Commun.*, 2019, **10**, 5509.

### DNA Nanotechnology: Diagnostic and Drug Delivery Applications

DNA, key molecule that stores and transmits genetic information in biological systems, has become the "building block material" of DNA nanotechnology. Thanks to its unique structural stability, sequence programmability and capability of self-assembly DNA has been intensively employed in a wide range of applications including point-of-care diagnostics and drug-delivery.