

Obtención de (Nanocilindros) de TiO_2 dirigido por ADN mediante sol-gel

M en C. Humberto A. Monreal, Dr. Martínez Villafañe & Dr. José G. Chacón Nava
Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S.C.
Chihuahua, Chih. Méx.

Email: humberto.monreal@cimav.edu.mx

Dr. Martínez-Villafañe

Dr. Daniel Glossman Mitnik, Dr. Carlos A. Martínez & Dra. Perla G. Casillas

Instituto de Ingeniería y Tecnología, U.A.C.J.

Cd. Juárez, Chihuahua, Méx.

Recibido: Febrero del 2005, Aceptado: Abril del 2005.

RESUMEN

En este trabajo sintetizamos nanocilindros de dióxido de titanio de 30 a 400 nm por medio de ADN del plásmido pBR322 de 4,362 pares de bases y el uso de isopropóxido de titanio como precursor por medio del proceso sol-gel. Los geles resultantes fueron calcinados y los polvos caracterizados por medio de Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), Espectroscopía de Energía Dispersiva, Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) y Difracción de Rayos X. Los resultados muestran que la síntesis *in vitro* de nanorods en presencia de ADN, puede ser activada. Muchas otras moléculas sintéticas pueden producirse por medio del uso de sistemas orgánicos, es así como reportamos la síntesis de híbridos hechos de ácidos nucleicos en materiales inorgánicos que pueden tener diversas aplicaciones en sistemas catalíticos, biomateriales y materiales nanoestructurados.

Palabras clave: Nanocilindros, sol-gel, ADN, dióxido de titanio.

ABSTRACT

In this work, we have synthesized titanium dioxide nanorods ranging in size from about 30 nm up to 400 nm by means of DNA plasmid pBR322 (4,362 base pairs) and using titanium isopropoxide as a precursor through the sol-gel process. The resulting gels were calcinated and the powders characterized by means of Scanning Electron Microscopy, Energy Dispersive Spectroscopy, Transmission Electron Microscopy, and X-Ray Diffraction. The results show that the synthesis *in vitro* of nanorods in the presence of DNA can be achieved. Many other synthetic molecules can be produced by means of the use of organic systems. Thus, we report the synthesis of hybrids made of nucleic acids in inorganic materials that may have several applications as catalytic systems, biomaterials and nanostructured materials.

Keywords: Nanorods, sol-gel, DNA, titanium dioxide.

INTRODUCCIÓN

El entendimiento de los niveles moleculares en la síntesis de nuevos materiales se ha incrementado gracias a la generación de nanomateriales, al diseño y fabricación de nanodispositivos en la escala molecular y al auto ensamblaje de diversos metales en sistemas biológicos [1]. El ensamblaje molecular es una herramienta importante en las décadas futuras, de esta manera los principios básicos para la micro fabricación pueden entenderse mediante el fenómeno del auto reconocimiento que se encuentra en la

naturaleza. La llave en los elementos del auto ensamblaje son la complementariedad química y la compatibilidad estructural de interacciones no covalentes [1]. Asimismo, se han desarrollado numerosos sistemas de auto ensamblaje como modelos de estudio del plegamiento de proteínas y la conformación de las proteínas en diversas enfermedades, para electrónica molecular, ingeniería de superficie y nanotecnología [1]. El advenimiento de la biotecnología y la ingeniería genética, acoplada con los recientes avances en la química de ácidos nucleicos y la síntesis de péptidos, es el resultado de un cambio conceptual en el desarrollo de nuevos materiales [2,3]. La adición de cationes monovalentes y polivalentes como el péptido poli L-lisina, o la introducción de soluciones con péptidos dentro de medios fisiológicos, producen que éstos oligopéptidos se ensamblen espontáneamente para formar estructuras microscópicas y macroscópicas que pueden fabricarse dentro de formas geométricas [4]. Uno de los sistemas de auto ensamblaje propuesto como modelo de estudio es el formado por el péptido poli L-lisina, donde las cargas positivas de éste interactúan con las cargas negativas del glutamato, formando estructuras moleculares beta plegadas [5]. De esta forma, se reporta un sistema modelo en solución de cetiltrimetilamonio, al que se le añaden moléculas de ADN para formar estructuras laminares, en donde las cargas negativas del ADN interactúan con las cargas positivas del cetiltrimetilamonio [6]. Por estas razones se justifica el uso de macromoléculas biológicas como el ADN de diferente origen, ya sea ADN viral, cromosomal, plásmidico, etc., proteínas sintéticas o naturales, oligonucleótidos, aminoácidos y péptidos por mencionar algunos, en tanto que estas moléculas poseen la capacidad de reconocer selectivamente, pudiendo unirse a otras especies para formar diferentes complejos como nanopartículas, nanotubos, nanocilindros, entre otros. En este trabajo en particular se diseñó el experimento con ADN plasmídico, ya que sólo utilizamos al ADN para que tenga un efecto de plantilla al añadir el precursor metálico, sin tener particular interés en sus características genéticas. Usamos particularmente el precursor de titanio porque estamos interesados en la síntesis de biomateriales que tengan aplicaciones biomédicas, como la producción de prótesis; en este caso, el titanio posee la característica de ser un material biocompatible e inocuo en el organismo, por lo que se escoge para la obtención de los nanocilindros. Los resultados que se muestran en este trabajo son de gran importancia, pues se pretende que sean utilizados en la síntesis de diferentes estructuras usando diversos precursores metálicos dependiendo del interés de cada grupo de investigación.

MATERIALES Y MÉTODOS

El procedimiento de síntesis de nanocilindros de dióxido de titanio, en presencia de ADN circular se diseñó de la siguiente forma: los nanocilindros de dióxido de titanio, fueron preparados en solución formando el sol de titanio, en etanol seguido por procesos de secado y tratamiento térmico. Con una micro pipeta se preparó una solución de isopropóxido de titanio (Sigma Aldrich cat. 205273, 1 M, en etanol absoluto pH 5.2 marca Sigma Aldrich cat. E702-3) y se añadió 10 µl de la solución, dentro de un tubo de 1 ml; de esta manera se adicionó, gota a gota 5 µg de ADN del plásmido pBR322 (35 µl) (marca Sigma Aldrich grado biología molecular cat. D-9893 Lot. 41k9049) y 50 µl de agua bidestilada (marca Pisa pH 7.0) para formar el gel, la muestra se incubó a 4° C por 10 días para evitar la rápida degradación del ADN y secar el gel. Posteriormente, la muestra se calcinó a 700°C por tres horas, y los polvos recuperados se analizaron mediante microscopio electrónico de barrido, análisis de energía dispersiva de rayos x, microscopio electrónico de transmisión y difracción de rayos x.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la imagen de la figura 1(a) en MEB se muestra claramente la formación de los nanocilindros de dióxido de titanio en presencia de ADN, los nanocilindros tienen una forma tubular con diámetros aproximados de 400 nanómetros. La evaporación del etanol causa enriquecimiento de surfactante catiónico junto con el anión del ADN, de esta

manera las cadenas del ADN se orientan perpendicularmente con las cadenas alquílicas del catión originando una atracción electrostática y una estabilidad termodinámica [6]. El surfactante catiónico de las cadenas alquílicas en este caso no sólo promueven el ensamblaje sino también proveen la fuerza electrostática necesaria para mantener la conformación de las cadenas del ADN [6]. El grado de homogeneidad de los nanocilindros depende ligeramente de la velocidad de evaporación del solvente así como de la presencia del ADN durante el proceso de síntesis, como se demostró en estudios de reproducibilidad al realizar un experimento control en ausencia de ADN. Véase la figura 1(b).

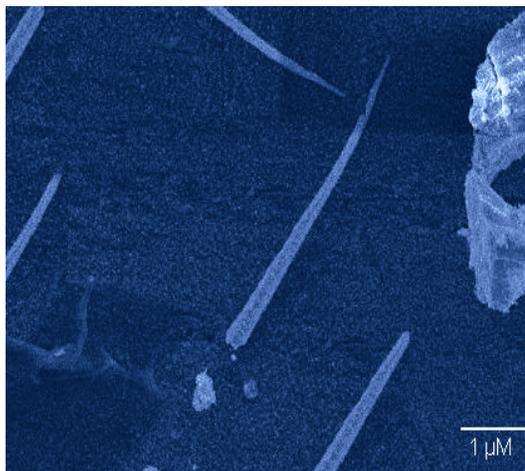


Fig. 1(a) Imagen de microscopio electrónico de barrido de nanocilindros de dióxido de titanio después de calcinar a 700° C.

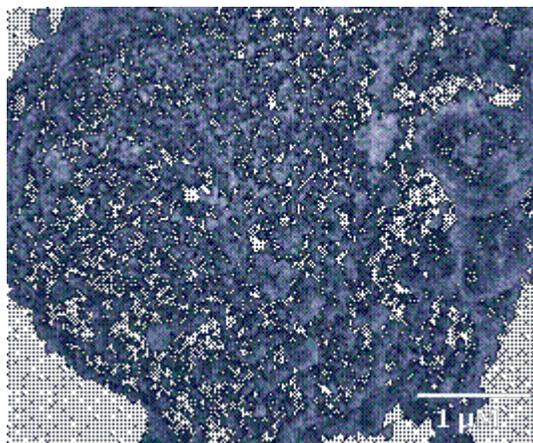
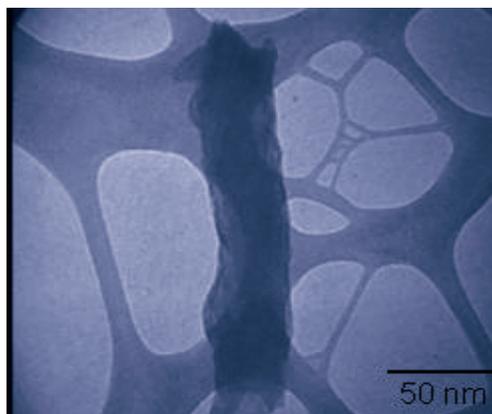


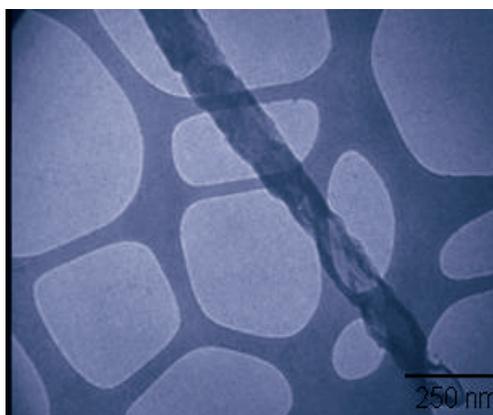
Fig. 1(b) Imagen de microscopio electrónico de barrido de dióxido de titanio en ausencia de ADN.

En la figura 2 se muestran las imágenes de microscopía electrónica de transmisión en modo de campo claro, en la imagen (a) se observa la presencia de nanocilindros de dióxido de titanio en presencia de ADN, con un diámetro de 30 nanómetros. Se aprecia que dicho nanocilindro presenta en su parte inferior una curvatura; en la imagen (b) de la misma figura, se presenta otro nanocilindro con un diámetro aproximado de 130 nanómetros, se observa que en su superficie se forma un aspecto rugoso el cual tiende a ser igual a lo largo del nanocilindro.

El control de la morfología de los nanocilindros se basa en la unión entre los enlaces fosfodiéster (un enlace covalente) que une mediante el fosfato los residuos de azúcares a través de los grupos OH de los carbonos C-3' y C-5' de los nucleótidos, de esta manera las moléculas del titanio, durante el proceso de polimerización, se unen intermolecularmente, dando lugar a una unión inespecífica entre las cadenas de Adenina, Timina, Guanina y Citosina del ADN y el titanio [7].



(a)



(b)

Fig. 2 - Imágenes (a y b) nanocilindros de dióxido de titanio en presencia de ADN después de calcinar a 700°C.

Las bases del ADN poseen átomos electronegativos de Oxígeno (excepto adenina), en posición exocíclica o extranuclear, y de Nitrógeno, tanto exocíclicos como en el anillo, nucleares. Como consecuencia los enlaces polares son abundantes, lo que les permite interactuar entre sí mediante puentes de hidrógeno, manteniendo íntegra la estructura del ADN. De esta manera, la naturaleza aromática de los anillos hace que las bases tengan un marcado carácter apolar [8]. Es así como a pH ácido, como es el caso durante la realización de este proceso, las bases nitrogenadas adquieren carga y se hacen más solubles en agua. Debido al carácter polianiónico del ADN, casi siempre se encuentra neutralizado por interacción iónica con las cargas positivas de otras moléculas, dando como resultado que su cristalización se facilite por la unión de iones metálicos [8]. Por lo tanto el fenómeno de ensamblaje tiene dos causas, en primer lugar, las moléculas del surfactante catiónico pueden ocupar el espacio de los pares de bases que contiene el ADN y, de esta manera, ocurrir la orientación por medio de la reducción de la tensión; y segundo, con la formación de la estructura orientada, las cadenas alquílicas hacen que se lleve a cabo un efecto de plantilla [6].

En la figura 3 se muestra el espectro del material que revela la composición del dióxido de titanio de la muestra correspondiente a los nanocilindros en presencia de ADN, se observa un pico correspondiendo al titanio con un porcentaje en peso de 55.9% y otro pico, que es característico del oxígeno con un valor de 44.10% en peso.

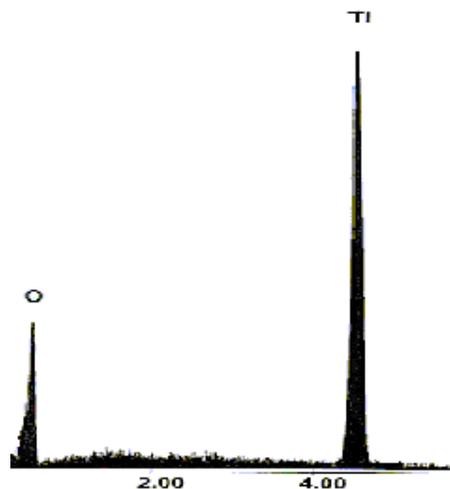


Fig. 3- Espectro de la composición de dióxido de titanio.

En la figura 4 se presenta la caracterización de los nanocilindros de dióxido de titanio con ADN después de calcinar a 700°C por medio de la difracción de rayos x, en la gráfica se observa un pico de difracción, este pico se encuentra a un plano de (101) a 25.2°, otro pico está a un plano de (103) a 37.4° y el otro pico de difracción está a un plano de (200) a 48.5°, existe otro pico de difracción a un plano de (105) a 54.8°. Caruso y colaboradores [9], reportan la formación de anatasa a temperaturas de calcinamiento por debajo de 990°C. Cerca de esta temperatura, la formación de la fase rutilo fue mencionada. Otros trabajos en la síntesis de nanopartículas de dióxido de titanio reportan la formación de la fase anatasa y rutilo a temperaturas de calentamiento hidrotermal de cerca de 100°C a 150°C, dependiendo de los compuestos químicos y el tratamiento térmico usados [10].

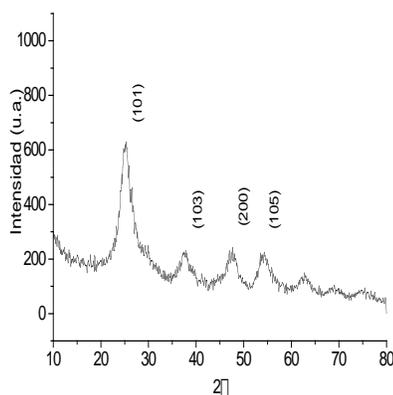


Fig. 4- Patrón de difracción de nanocilindros de dióxido de titanio después de calcinar a 700°C.

CONCLUSIONES

En este trabajo hemos reportado la síntesis de nanocilindros de dióxido de titanio en presencia de ADN por medio del proceso sol-gel, que se ha convertido en una vía fácil para sintetizar materiales nanoestructurados. De esta manera, la obtención de nanocilindros con diámetros de entre 30 a 400 nanómetros, pueden aplicarse en diversas áreas de la ciencia de materiales, como nanobiomateriales para medicina, catálisis y dispositivos electrónicos, entre otros.

REFERENCIAS

1. Zhang S. "Emerging biological materials through molecular self-assembly". *Biotechnology Adv.*, Cambridge, MA., EUA, vol. 20, p. 321, 2002.
2. Urry D.W. Pattanaik A. "Elastic protein-based materials in tissue reconstruction". *Ann Acad sci*, Nueva York, vol. 831, pp. 32-46, 1997.
3. Petka W. et. al "Reversible hydrogels from self-assembling artificial proteins". *Science*, vol. 281, pp. 389-92, 1998.
4. Holmes T. et. al "Extensive neurite out-growth and active neuronal synapses on peptide scaffolds". *Proc Natl Acad Sci*, EUA, vol. 97, 33:6728, 2000.
5. Marini D, et al "Left-handed helical ribbon intermediates in the self-assembly of a β -sheet peptide". *Nano Letters*, vol. 2, p. 295-99, 2002.
6. Lili, W. Jonichi Y, & Naoya O. "Self-assembled Supramolecular Films Derived From Marine Deoxyribonucleic Acid (DNA) Cationic Surfactant Complexes: Large Scale Preparation and Optical and Thermal Properties". *Chem. Mater*, vol. 13, núm. 4, pp. 1273-1281, 2001.
7. Chistof M, Niemeyer, "Nanoparticles, proteins, and nucleic acids: Biotechnology Meets", *Materials Science. Angew Chem Int.*, Ed. Bremen, Alemania, vol. 40, pp. 4128-4158, 2001.
8. Cabrera L, Herráez S, Angel. "Handbook Molecular Biology and Engineering Genetic". Alcalá de Henares, Madrid, España, pp. 34-53, 2001.
9. Caruso A R, Michael G, Frank W, & Markus A. "Macromolecules", *American Chemical Society*, vol. 14, p. 6335, 1998.
10. Mogyorosi K, Dekani I, & Fendler J H. "Preparation and Characterization of Clay Mineral Intercalated Titanium Dioxide Nanoparticles" *American Chemical Society*, vol. 19, p. 2938, 2003.