

La Química como Herramienta en Biomedicina

III CURSO DE DIVULGACIÓN
“LOS AVANCES DE LA QUÍMICA Y SU
IMPACTO EN
LA SOCIEDAD”

Enrique Mann
14 de febrero de 2013

- ❖ Introducción
- ❖ Receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)
- ❖ Secuenciación ADN
 - métodos “clásicos”
 - secuenciación basada en nanoporos
- ❖ Baterías en dispositivos médicos
 - Evolución baterías marcapasos
 - Bio-baterías



WIKIPEDIA
La enciclopedia libre

- ❖ La **biomedicina** es un término que engloba el **conocimiento y la investigación** que es común a los campos de la medicina, veterinaria, odontología y a las **biociencias** como bioquímica, química, biología, histología, genética, embriología, anatomía, fisiología, patología, ingeniería biomédica, zoología, botánica y microbiología. **La biomedicina no se relaciona con la práctica de la medicina, sino con el estudio e investigación de las ciencias de salud. Permite la creación de nuevos fármacos y comprender a nivel molecular los mecanismos fisiopatológicos**, etcétera. Todo esto se aplica a los avances en el diagnóstico y el tratamiento.



Medicina
(Médico)



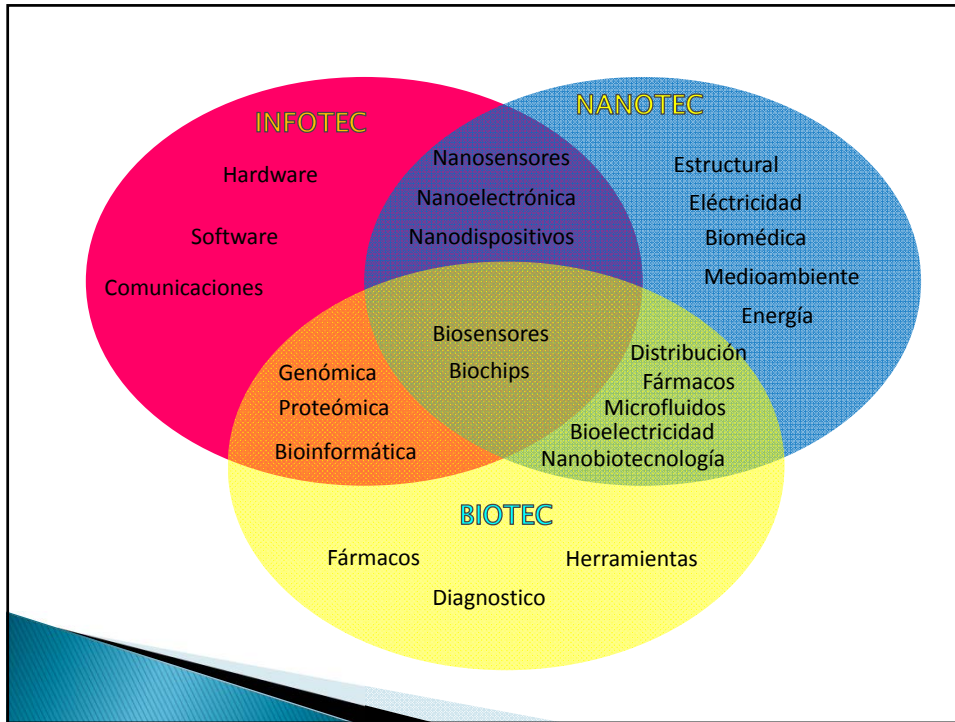
- ❖ La **medicina** es la ciencia dedicada al estudio de la vida, la salud, las enfermedades y la muerte del ser humano, **e implica el arte de ejercer tal conocimiento** para el mantenimiento y recuperación de la salud, aplicándolo al diagnóstico, tratamiento y prevención de las enfermedades. La medicina forma parte de las denominadas ciencias de la salud.

- **Creación de nuevos fármacos**
- **Comprensión a nivel molecular de los mecanismos fisiopatológicos**

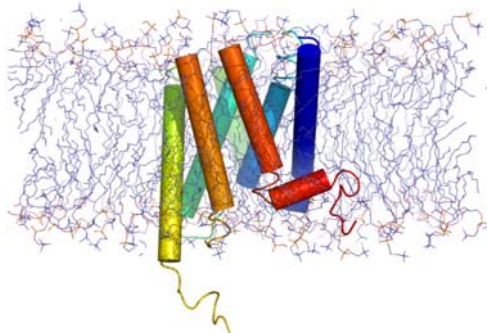
Química Biológica


“Un área multidisciplinar que aborda problemas biológicos fundamentales empleando una aproximación intelectual que se basa en la química”

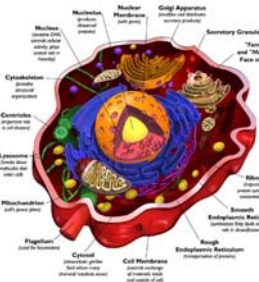
- La Química es la ciencia del **enlace** (covalente y no covalente), la **reactividad** y la **estructura** (nano)
- Históricamente la bioquímica ha jugado este papel; sin embargo, en la actualidad, **la comprensión a nivel molecular de estos mecanismos requieren un conocimiento más profundo de química** que el que generalmente se requiere para aplicar las aproximaciones bioquímicas estándar.

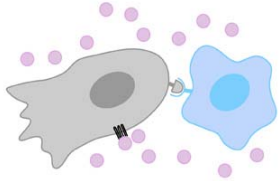


❖ **Receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)**



<p>Cerebro Señales nerviosas alertan al resto del cuerpo. El cerebro también segrega hormonas que activan las glándula adrenales</p>	<p>Ojos Dilatación de pupilas</p>	<p>Corazón La adrenalina y noradrenalina aumentan el ritmo cardiaco</p>
<p>Pulmones Los bronquios se expanden y el ritmo de respiración aumenta</p>		<p>Medula adrenal Produce y segrega adrenalina y noradrenalina</p>
<p>Células grasas Liberan ácidos grasos en el torrente sanguíneo</p>		<p>Corteza adrenal Produce y segrega cortisol</p>
<p>Hígado Produce azúcar que se libera al torrente sanguíneo</p>	<p>Estomago e intestinos El flujo de sangre hacia el sistema digestivo disminuye</p>	<p>Tejido muscular El flujo sanguíneo aumenta y se contrae</p>

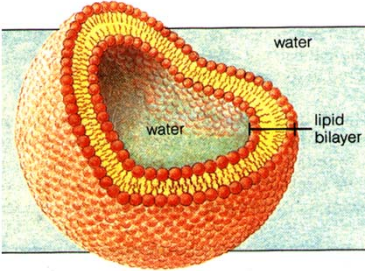




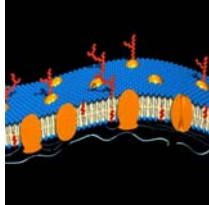
Comunicación celular

~ 10¹⁴ células en el ser humano

Un problema físico-químico:
¿Cómo se transfiere la información entre dos medios hidrófilos separados por una membrana hidrófoba?



La mayoría de los casos esto se debe a la presencia de los *receptores transmembrana*, que comunican los medios intra e intercelulares.



- ¿Cuál es el mecanismo a nivel molecular?
- ¿Qué tipo de moléculas hacen este trabajo?
- ¿Cómo discriminan entre los diferentes tipos de señales?
- ¿Cómo se regulan estas señales?



Robert Lefkowitz



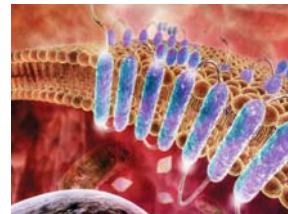
Brian Kobilka

Nobel Química 2012

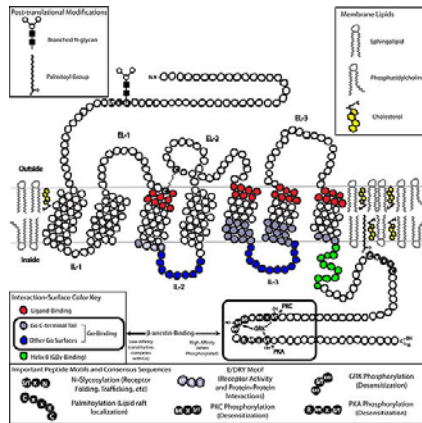
“por sus estudios de los receptores acoplados a proteínas G”

RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G (GPCRs)

- ❖ Mayor familia de proteínas de membrana (aproximadamente el **2% del genoma**)
- ❖ Implicadas en numerosos procesos biológicos y patológicos
- ❖ Diana biológica del 40-50% de los fármacos a nuestra disposición
- ❖ Transducen la señal producida por diferentes ligandos para obtener una respuesta celular
- ❖ La interacción molecular con el ligando permite la activación de diferentes proteínas G

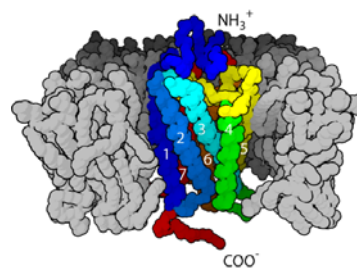


ESTRUCTURA

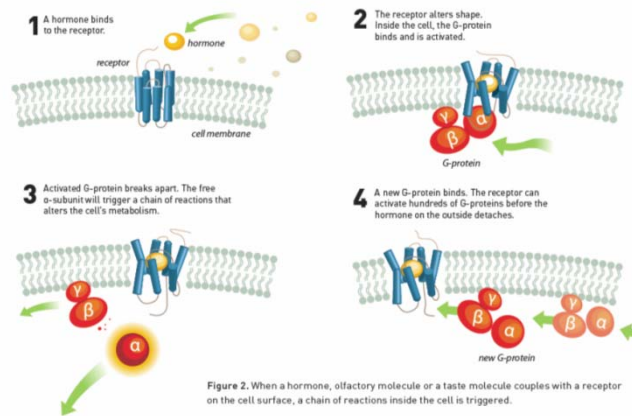


Estructura:

- 7 helices alfa (TM-1 a TM-7)
- 3 lazos intracelulares (IL-1 a IL-3)
- 3 lazos extracelulares (EL-1 a EL-7)
- Extremo N-terminal extracelular
- Extremo C-terminal intracelular

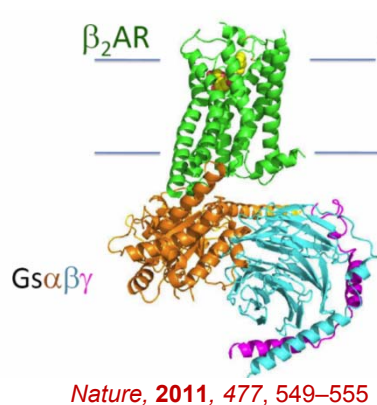


Funcionamiento

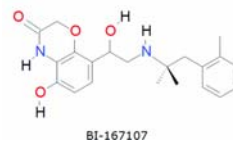


- 1) Un ligando se une al GPCR
- 2) El GPCR "cambia su forma" y se une a una proteína G (complejo ternario)
- 3) La proteína G activada se fragmenta e inicia una serie de reacciones en cadena que alteran el metabolismo de la célula
- 4) Una nueva proteína G se une.

Estructura cristalina del complejo receptor adrenérgico β_2 -proteína Gs
(Kobilka 2011)

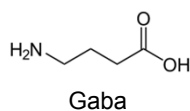


Nature, 2011, 477, 549–555

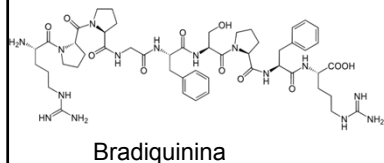


- relajación de la musculatura lisa (bronquios)
- relajación de la pared de la vejiga urinaria
- dilatación de las arterias
- glucogenólisis y gluconeogénesis
- secreciones aumentadas de las glándulas salivales;
- aumento de la secreción de renina del riñón
- etc

Neurotransmisores



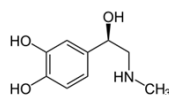
Péptidos



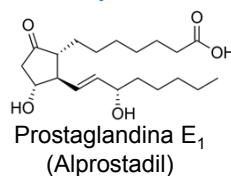
Compuestos sensibles a la luz

Ligandos

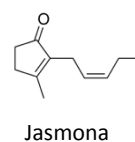
Hormonas



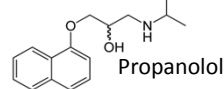
Lipidos



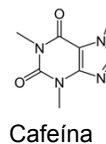
Olores



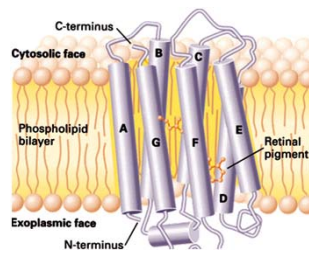
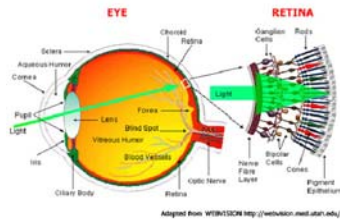
Fármacos



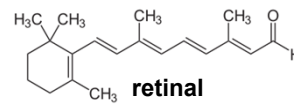
Estimulantes



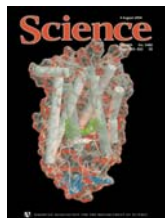
RODOPSINA



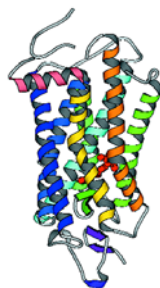
- ❖ Proteínas presentes en los bastones de la retina de los vertebrados
- ❖ Responsable de la visión acromática en condiciones de baja luminosidad
- ❖ 348 amino ácidos, GPCR
- ❖ Grupo prostético :
11-cis-retinaldehído (cromóforo derivado de la Vit A)
- ❖ Retinaldehído unido covalentemente a una lisina



RODOPSINA

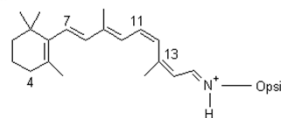


Science, 2000, 289, 739-745.



Rodopsina bovina

11-cis retinal



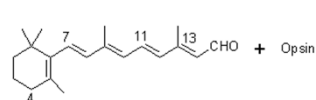
Light



Enzymatic
Regeneration



all trans retinal

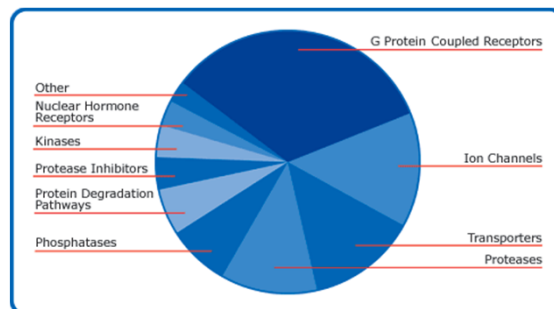
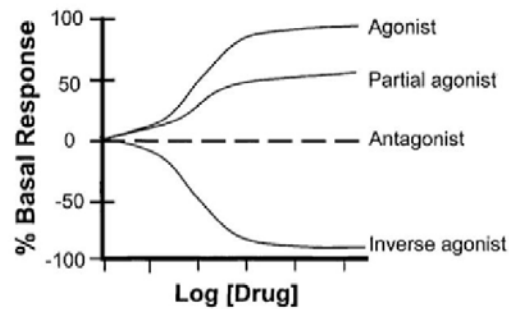


Implicaciones biomédicas

Agonista: ligando capaz de unirse a un receptor celular y provocar una respuesta en la célula con el fin de estimular una función

Antagonista ligando que al unirse a un receptor celular no provoca una respuesta biológica, pero bloquea o detiene respuestas mediadas por agonistas

Agonista Inverso es un agente que se une al mismo receptor que un agonista pero induciendo una respuesta farmacológica opuesta a la del agonista.



Ejemplos

Cardiovascular : enfermedades coronarias, fallo cardiaco, hipertensión

Respiratorias: asma, alergia, enfermedades pulmonares,

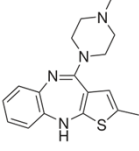
Neurológicas: desordenes psíquicos, abuso de drogas, Parkinson, tratamiento del dolor

Gastrointestinal : úlceras, movilidad gastrointestinal

Genitourinarias: disfunción de vejiga, hiperplasia benigna de prostata

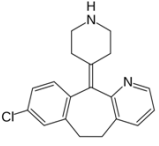
Ejemplos fármacos

Olanzapine
(Zyprexa®, Eli Lilly)



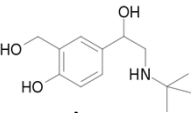
Trastorno bipolar
Esquizofrenia

Desloratadine
(Clarinetx®, Schering-Plough)



















Antihistamínico

Salbutamol
(Ventolin®, GlaxoSmithKline)



Asma
Bronquitis crónica

2010 Top Selling Drugs

- 6 of Top 10 Hit GPCRs
- 60 of Top 200 Hit GPCRs

- ❖ Introducción
- ❖ Receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)
- ❖ Baterías en dispositivos médicos
 - Evolución baterías marcapasos
 - Bio-baterías
- ❖ Secuenciación ADN
 - métodos “clásicos”
 - secuenciación basada en nanoporos

DISPOSITIVOS MÉDICOS IMPLANTABLES

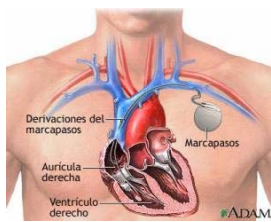
"Un dispositivo medico implantable es cualquier producto sanitario activo destinado a ser introducido total o parcialmente, mediante intervención quirúrgica o médica, en el cuerpo humano, o mediante intervención médica, en un orificio natural, y destinado a permanecer después de dicho proceso".

WIRELESS IMPLANTABLE MEDICAL DEVICES

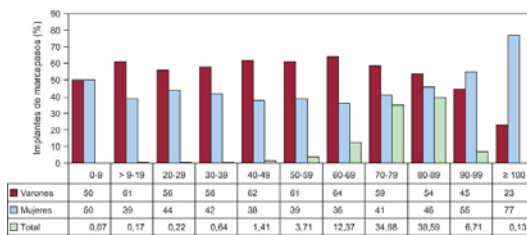
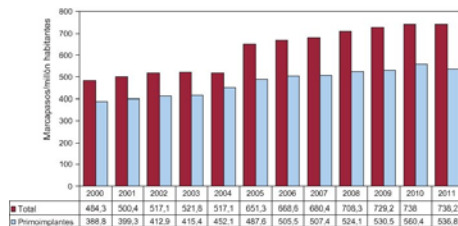


MARCAPASOS

Un **marcapasos artificial** es un dispositivo que ayuda a un corazón enfermo a **normalizar su frecuencia cardiaca** mediante su **estimulación con pequeños impulsos eléctricos**.

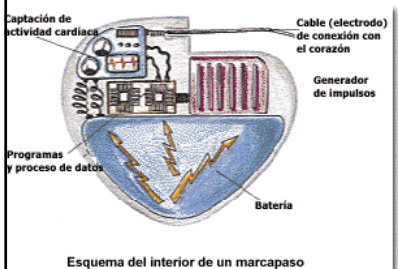


España ~35.000 personas



Rev. Esp. Cardiol. 2012, 65, 1117

MARCAPASOS



Esquema del interior de un marcapasos

Batería

- Ocupa mayor parte del marcapasos
- Fiabilidad
- Herméticamente selladas
- Duración limitada
- **No pueden ser reemplazadas**

La batería es la principal limitación en la miniaturización de marcapasos

EL MUNDO.es

Especial Benedicto XVI

12 de Febrero de 2013

El Vaticano confirma que el Papa lleva marcapasos desde hace diez años



El portavoz de la Santa Sede, Federico Lombardi, habla del marcapasos del Papa. | Afp

Irene Hdez. Velasco (Corresponsal) | Roma

Actualizado martes 12/02/2013 17:00 horas

Compartir

Recomendar 32

Twitter 67

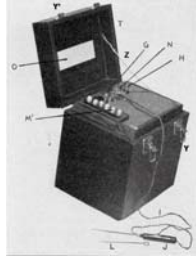
Benedicto XVI lleva desde hace 10 años un marcapasos y hace poco menos de tres meses se sometió a una operación para cambiar su batería. El Vaticano ha confirmado la noticia, que hasta ahora se desconocía completamente. Ha sido una intervención rutinaria, como aquella a la que se somete cualquiera que lleve un

HISTORIA



1929 M. Lidwell

- Primer dispositivo portátil
- Dos electrodos
- Ritmo variable
- Logró revivir a un recién nacido muerto tras 10 min de estimulación



1932: Albert Hyman

- Inventa el termino: "Marcapasos artificial"
- Logró revivir 14 de 43 animales de laboratorio



Años 50

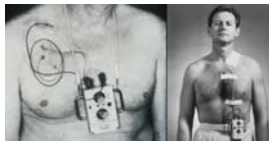
- Interrupción en investigación sobre marcapasos
- Percepción pública de que se estaba "interfiriendo con la naturaleza" al "revivir a los muertos"

La edad de oro

1956 Transistor de silicio disponible comercialmente

1957

Primer marcapasos portátil



8 de Octubre de 1958

Primer implante de un marcapasos (Suecia)



Rune Elmqvist



- Baterías Niquel-Cadmio (Ni/Cd)
- Circuito electrónicos
- Bobina de carga
- Encapsulados en Araldita (resina expoxi)

Baterías Niquel-Cadmio (Ni/Cd)

- Tiempo de vida muy bajo
- Recarga inductiva: responsabilidad de recarga en manos del paciente.

HISTORIA

1960

Marcapasos Chardack-Greatbatch



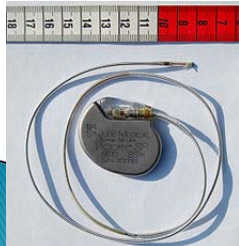
- Baterías de mercurio (Zn/Hg)
- Tiempo de vida media ~ 2 años
- El primer receptor vivió más de 18 meses

Baterías plutonio (1974)



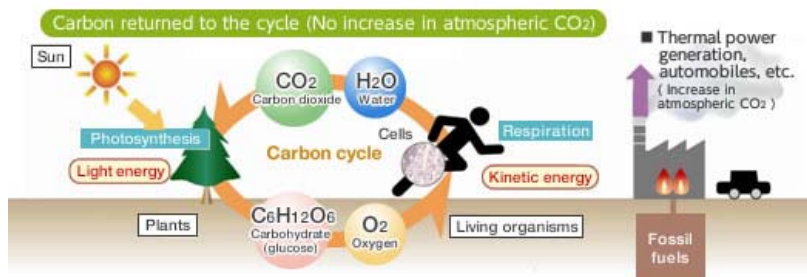
- Generador termoelectrónico de radioisótopos Plutonio 238 (vida media 87 años)
- Capsula titanio
- 10-20 años duración
- Se dejaron de emplear por su toxicidad

**1975-actualidad
Li-I₂ (Greatbatch)**



- Velocidad de descarga muy lenta
- Pérdida de voltaje predecible
- Ánodo: Li
- Cátodo: mezcla polivinilpiridina (P2VP) y yodo

BATERÍAS PARA DISPOSITIVOS MÉDICOS: FUTURO

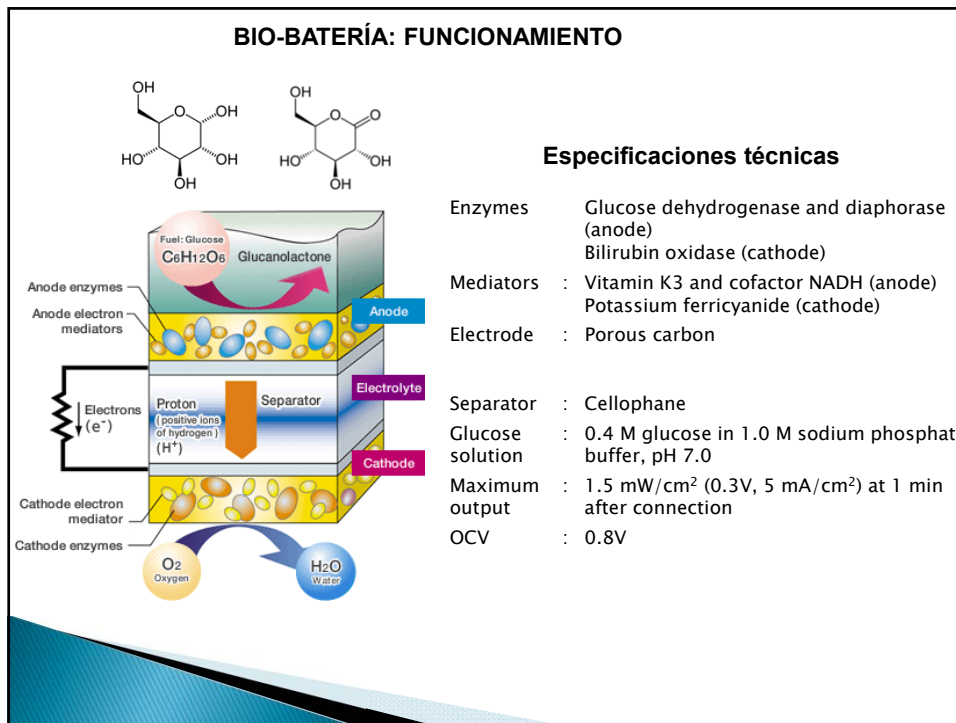


23 agosto 2007



- ❖ Sony anuncia el desarrollo de una bio-batería que genera electricidad a partir de carbohidratos
- ❖ Suficiente para hacer funcionar un mp3

<http://phys.org/news107101014.html>



Flexible energy storage devices based on nanocomposite paper

Victor L. Pushparaj*, Manikoth M. Shaijumon*, Ashvani Kumar*, Saravanababu Murugesan[†], Lijie Ci*, Robert Vajtai[‡], Robert J. Linhardt[‡], Omkaram Nalamasu*, and Pulickel M. Ajayan*^{§§}

Departments of *Materials Science and Engineering and [†]Chemical and Biological Engineering, and Center for Biotechnology and Interdisciplinary Studies, [‡]Rensselaer Nanotechnology Center, Rensselaer Polytechnic Institute, Troy, NY 12180

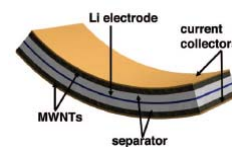
PNAS, 2007, 104, 13574-13577



- Flexible
- Resistente
- Puede funcionar con sangre o sudor
- Nuevas vías hacia la miniaturización

Composición

- ✓ Nanotubos de carbono
- ✓ Litio
- ✓ Celulosa
- ✓ Líquido iónico



BATERÍAS BASADAS EN VIRUS

Fabricating Genetically Engineered High-Power Lithium-Ion Batteries Using Multiple Virus Genes

Yun Jung Lee,^{1*} Hyunjung Yi,^{1*} Woo-Jae Kim,² Kisuk Kang,^{1,4} Dong Soo Yun,¹ Michael S. Strano,² Gerbrand Ceder,³ Angela M. Belcher^{1,5†}

Science, 2009, 324, 1051-1055

A Genes to be engineered
pVIII
Genetically modified peptides
pIII

B α -FePO₄ templated virus nanowire + SWNT
Biomolecular recognition and attachment of templated virus to SWNT
High Power Lithium Ion Battery Cathode
Cathode
Electrolyte
Anode

D 100 nm 4 nm

Conclusiones:

- ✓ Aplicaciones en la preparación de baterías en miniatura
- ✓ Obtención de la energía de biomoléculas
- ✓ Especialmente interesantes en aplicaciones de dispositivos biomédicos implantables

Problemas a solventar

- (1) Nanoestructuración
- (2) Inmovilización del biocatalizador.
- (3) Desnaturalización de las enzimas

- ❖ Introducción
- ❖ Receptores acoplados a proteínas G (GPCRs)
- ❖ Baterías en dispositivos médicos
 - Evolución baterías marcapasos
 - Bio-baterías
- ❖ Secuenciación ADN
 - métodos “clásicos”
 - secuenciación basada en nanoporos

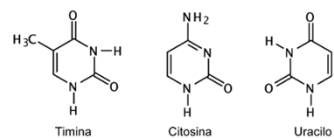
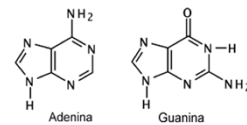
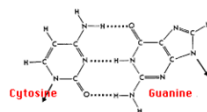
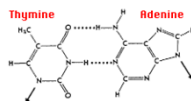
SECUENCIACIÓN DE ADN

“Proceso de determinación del orden preciso de nucleótidos en una molécula de ADN”



A Adenina
T Timina
C Citosina
G Guanina

Representación
gráfica del
ADN





“3 mil millones de bases dispuestas en un único orden, con unos 20.000 genes que dirigen la síntesis de todas las proteínas que nos forman”

Medicina genómica personalizada

- ✓ Diagnóstico más temprano
- ✓ Prevención más efectiva
- ✓ Tratamiento más efectivo
- ✓ Fármacos personalizados

Antropología



Ciencias forenses



Métodos clásicos (desarrollados en los años 70)

❖ Método de degradación química (Maxam-Gilbert)

- Basado en la modificación general o específica de las bases mediante reactivos químicos
- No se emplea en la actualidad (solo para objetivos muy especializados como el análisis de interacciones proteína-ADN)

❖ Método de terminación cadena (Sanger)

- Basado en la replicación del ADN (ADN polimerasa)
- Emplea nucleótidos químicamente modificados
- Mayor eficiencia
- Automatización (1986)

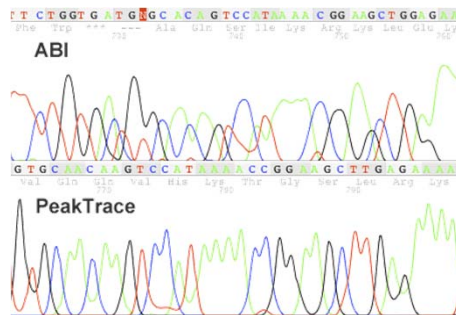


Walter Gilbert Fred Sanger Paul Berg
Nobel de Química 1980



Fred Sanger
Nobel de Química 1958

ABI 3730xl DNA Sequencer



~1.6 Mbp/día (1.600.000)
Genoma humano ~ 3GB (3.000.000.000)
~ 3 años

Métodos de Secuenciación de Próxima Generación

- Comienzan a desarrollarse a mediados de los 90
- Surgen ante la necesidad de abaratar los precios en comparación con los métodos tradicionales basados en colorantes (Sanger)
- Sacan partido de la miniaturización para llevar a cabo análisis en paralelo de forma masiva (HTS)
- Emplean sofisticados métodos de análisis computacional de cantidades ingentes de información



Method of the year 2007

Roche 454 SEQUENCING
<http://www.454.com/>

Applied Biosystems by Life Technologies
SOLiD™
<http://www.appliedbiosystems.com>

Solexa illumina
http://www.illumina.com/technology/solexa_technology.ilmn

PACIFIC BIOSCIENCES™
<http://www.pacificbiosciences.com/>

Applied Biosystems by Life Technologies
Ion Torrent™
<http://www.invitrogen.com/>

Method	Single-molecule real-time sequencing (Pacific Bio)	Ion semiconductor (Ion Torrent sequencing)	Pyrosequencing (454)	Sequencing by synthesis (Illumina)	Sequencing by ligation (SOLiD sequencing)	Chain termination (Sanger sequencing)
Read length	2900 bp average	200 bp	700 bp	50 to 250 bp	50+35 or 50+50 bp	400 to 900 bp
Accuracy	87% (read length mode), 99% (accuracy mode)	98%	99.9%	98%	99.9%	99.9%
Reads per run	35-75 thousand	up to 5 million	1 million	up to 3 billion	1.2 to 1.4 billion	N/A
Time per run	30 minutes to 2 hours	2 hours	24 hours	1 to 10 days, depending upon sequencer and specified read length	1 to 2 weeks	20 minutes to 3 hours
Cost per 1 million bases (in US\$)	\$2	\$1	\$10	\$0.05 to \$0.15	\$0.13	\$2400
Advantages	Longest read length. Fast. Detects 4mC, 5mC, 6mA.	Less expensive equipment. Fast.	Long read size. Fast.	Potential for high sequence yield, depending upon sequencer model and desired application.	Low cost per base.	Long individual reads. Useful for many applications.
Disadvantages	Low yield at high accuracy. Equipment can be very expensive.	Homopolymer errors.	Runs are expensive. Homopolymer errors.	Equipment can be very expensive.	Slower than other methods.	More expensive and impractical for larger sequencing projects.



<http://www.genome.gov/sequencingcosts/>

El futuro de la medicina genómica depende principalmente del desarrollo de nuevos métodos más baratos para secuenciar el genoma entero



Archon Genomics X PRIZE

- ✓ Secuenciar 100 genomas humanos en 30 días o menos
- ✓ Tasa de error no superior a un fallo por cada millón de bases
- ✓ Coste no superior a 1000 USD por genoma
- ✓ 100 Over 100

\$ 10 Millones



MINA DE EKATI (CANADA)

17 Febrero 2012*

<http://www.nanoporetech.com/>

MinION™

- Dispositivo de un solo uso
- USB
- 150 Mbp/6h (bacteriofagos)
- 900 \$



GridION™

Secuenciar genoma humano en 15 minutos ~ 1000\$

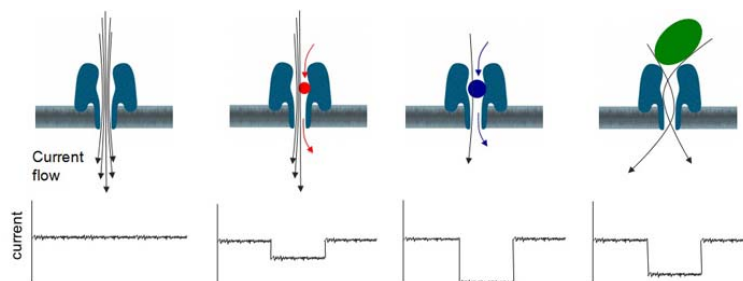
Nueva método de secuenciación basado en el uso de nanoporos

* A día de hoy (14/02/2013), aún no ha sido comercializado

SECUENCIACIÓN BASADA EN NANOPOROS

Un nanoporo es, esencialmente, un agujero a nano escala (1-100 nm)

- Biológico: proteínas capaces de formar poros en una membrana
- Estado sólido: materiales sintéticos como grafeno o nitruro de silicio
- Híbridos: proteínas sobre superficies sintéticas



44

SECUENCIACION ADN CON NANOPOROS

DNA can be sequenced by threading it through a microscopic pore in a membrane. Bases are identified by the way they affect ions flowing through the pore from one side of the membrane to the other.

1 One protein unzips the DNA helix into two strands.

2 A second protein creates a pore in the membrane and holds an "adapter" molecule.

3 A flow of ions through the pore creates a current. Each base blocks the flow to a different degree, altering the current.

4 The adapter molecule keeps bases in place long enough for them to be identified electronically.

5 Secuenciación basada en el empleo de una única molécula

6 Eléctrico

Nc1ncnc2n(cnc12)N
Adenina

Nc1nc2[nH]cnc2c(=O)[nH]1
Guanina

Cc1c[nH]c(=O)[nH]c1=O
Timina

Nc1c[nH]c(=O)c1=O
Citosina

O=c1cc[nH]c1=O
Uracilo

Limitaciones a resolver

- (i) Ralentizar y controlar el paso del ADN a través del nanoporo
- (ii) Mejorar la resolución de la señal obtenida.

NANOPOROS BIOLÓGICOS

Prueba de concepto

Proc. Natl. Acad. Sci. USA
Vol. 93, pp. 13770–13773, November 1996
Biophysics

Characterization of individual polynucleotide molecules using a membrane channel

JOHN J. KASIANOWICZ*, ERIC BRANDIN†, DANIEL BRANTON†‡, AND DAVID W. DEAMER§

*Biotechnology Division, National Institute of Science and Technology, 222/A353, Gaithersburg, MD 20899; †Department of Molecular and Cellular Biology, Harvard University, 16 Divinity Avenue, Cambridge, MA 02138; and ‡Department of Chemistry and Biochemistry, University of California, Santa Cruz, CA 95064

Contributed by Daniel Branton, September 5, 1996

α-hemolisina (αHL)

α-Hemolysin

MspA

Mycobacterium porina (MspA)
PNAS, 2008, 105, 20647–20652

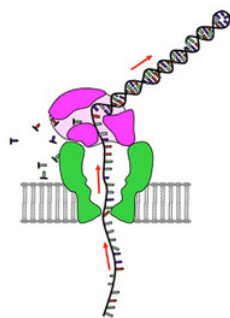
NANOPOROS BIOLÓGICOS

❖ Aproximación basada en exonucleasas (phi29 ADN polimerasa)

Reading DNA at single-nucleotide resolution with a mutant MspA nanopore and phi29 DNA polymerase

Elizabeth A Manrao¹, Ian M Derrington¹, Andrew H Lazdin¹, Kyle W Langford¹, Matthew K Hopper¹, Nathaniel Gillgren¹, Mikhail Pavlenok², Michael Niederweis² & Jens H Gundlach¹

Nat. Biotechnol. **30**, 349–353 (2012).



Micoporina

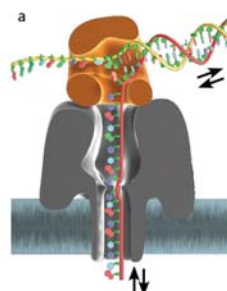
LETTERS

future
biotechnology

Automated forward and reverse ratcheting of DNA in a nanopore at 5-Å precision

Gerald M Choi¹, Kate H Lieberman, Hytham Rashid, Christopher I Lee, Kevin Karylis & Mark Akeson

Nat. Biotechnol. **30**, 344–348 (2012)



α-hemolisina

ChemComm

RSC Publishing

COMMUNICATION

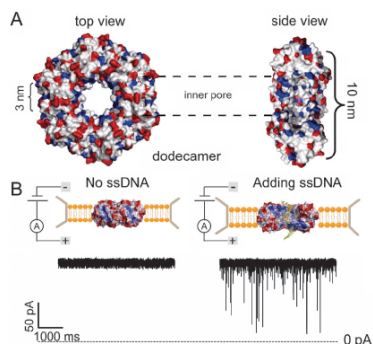
View Article Online
View Journal | View Issue

Single-molecule DNA detection using a novel SP1 protein nanopore†

Cite this: *Chem. Commun.*, 2013, **49**, 1741

Received 14th December 2012,
Accepted 10th January 2013

Hai-Yan Wang,^a Yang Li,^a Li-Xia Qin,^a Arnon Heyman,^b Oded Shoseyov,^b Itamar Willner,^{*c} Yi-Tao Long^{**a} and He Tian^{**a}



NANOPOROS ESTADO SOLIDO

Ion-beam sculpting at nanometre length scales

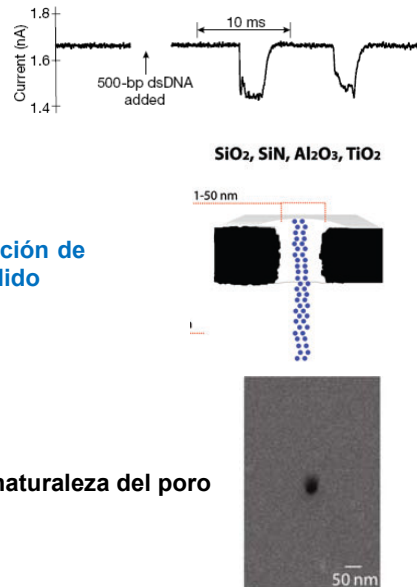
Jiali Li^{*}, Derek Stein[†], Ciaran McMullan[‡], Daniel Branton[‡],
Michael J. Aziz[†] & Jene A. Golovchenko^{*†}

^{*} Department of Physics, [†] Division of Engineering and Applied Sciences, and
[‡] Department of Molecular and Cellular Biology, Harvard University, Cambridge,
Massachusetts 02138, USA

Nature, 2001, 412, 166-169.

- Primera vez que se describe la traslocación de ADN a través de un nanoporo estado sólido
- Litografía por haz de electrones
- Superficie de Si_3N_4
- Se puede controlar tamaño (1-50 nm)

- Traslocación muy rápida
- Baja resolución
- Problemas reproducibilidad en la naturaleza del poro

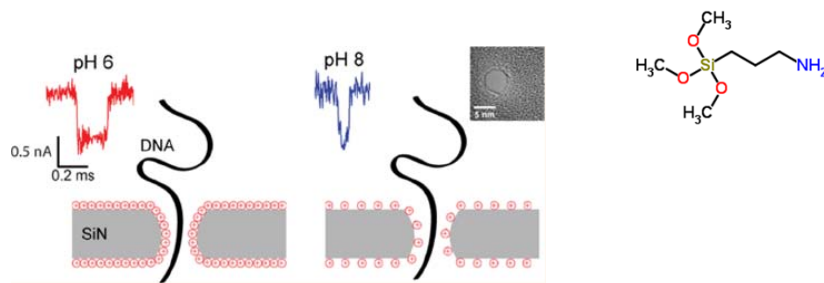


pH Tuning of DNA Translocation Time through Organically Functionalized Nanopores

Brett N. Anderson,[†] Murugappan Muthukumar,[‡] and Amit Meller^{*†}

[†]Department of Biomedical Engineering, Boston University, 44 Cummings St, Boston, Massachusetts 02215, United States and [‡]Polymer Science and Engineering Department, University of Massachusetts, 120 Governors Drive, Amherst, Massachusetts 01003, United States

ACS Nano, 2013, Article ASAP



LETTERS **NANOPOROS ESTADO SOLIDO: GRAFENO**

Graphene as a subnanometre trans-electrode membrane
 S. Gara¹, W. Hubbard¹, A. Reina¹, J. Kong¹, D. Branton¹ & J. A. Golovchenko^{1,2}
Nature **2010**, *467*, 190–193

DNA Translocation through Graphene Nanopores
 Grégory F. Schneider, Stefan W. Kowalczyk, Victor E. Calado, Grégory Pandraud, Henny W. Zandbergen, Lieven M. K. Vandersypen, and Coen Dekker¹
 Kavli Institute of Nanoscience, Lorentzweg 1, 2628 CJ Delft, The Netherlands
Nano Lett., **2010**, *10*, 3163

DNA Translocation through Graphene Nanopores
 Christopher A. Merchant, Ken Healy, Meni Wanunu, Vidhya Ray, Neil Peterman, John Bartel, Michael D. Fischlein, Kimberly Veita, Zhongqiang Luo, A. T. Charlie Johnson, and Marija Džurina¹
Nano Lett. **2010**, *10*, 2915–2921.

Grafeno

- Material semimetálico
- Grosor : 0.34-0.68 nm (similar a la distancia entre nucleótidos, 0.32-052)
- Alta conductividad

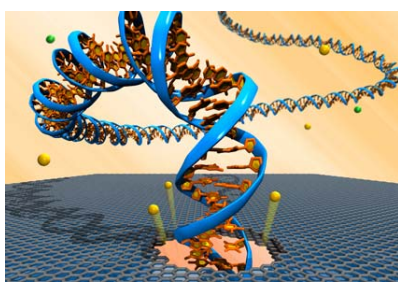
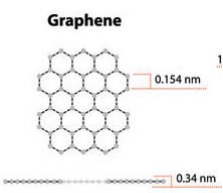
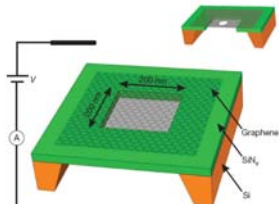




Figure 1 | Diagram of our experiments. A graphene membrane was mounted over a 200 × 200 nm aperture in SiN₄ suspended across a Si frame (not to scale). The membrane separates two ionic solutions (not shown) in contact with Ag/AgCl electrodes (thick lines top and bottom, connected via a voltage source and a sensitive ammeter, A). Inset, cross-section through the Si frame, SiN₄ aperture, and the graphene membrane through which a nanopore has been drilled.

NANOPOROS ESTADO SOLIDO: GRAFENO

Inconvenientes:

- Alta velocidad de traslocación (>40 nuc/μs)
- Baja relación señal-ruido

Stacked Graphene-Al₂O₃ Nanopore Sensors for Sensitive Detection of DNA and DNA-Protein Complexes
 Bala Murali Venkatesan,^{1,4} David Estrada,^{1,4} Shouvik Banerjee,^{1,4} Xiaozhong Jin,^{1,2} Vincent E. Dorgan,^{1,4} Myung-Ho Bae,^{1,4} Narayana R. Aluru,^{1,2} Eric Pop,^{1,4,5} and Rashid Bashir^{1,2,4,6*}
ACS Nano, **2012**, *6*, 441-450

- Mejora calidad relación señal/ruido
- Ralentiza el paso de los nucleótidos a través del nanoporo

Mucho espacio para la mejora de este método



¿Cuánto cuesta secuenciar un genoma humano?



Abril 2003

- Genoma Humano de Referencia
- >10 años
- 3.000.000.000 \$



Junio 2007

- James Watson
- 1 año
- 2.000.000 \$



Septiembre 2007

- Craig Venter
- 1 año
- 1.000.000 \$



2011

- Steve Jobs
- ?
- 100.000 \$

Junio de 2012: 69 genomas humanos casi completos disponibles al público

❖ Implicaciones e impacto social:

- Por primera vez, cada individuo tendrá la posibilidad de secuenciar su propio genoma
- Medicina preventiva
- Medicina predictiva
- Consejero genético (¿nuevas profesiones?)
- Problemas éticos: control información, menores, discriminación genética...