

**División de Ciencias Básicas e Ingeniería**  
**Posgrado en Ciencias (Química)**

**“Ordenamiento de nanopartículas de oro en  
estructuras tipo celda cúbica empleando  
DNA origami.”**

**T E S I S**

Que para obtener el grado de  
**Maestro en Ciencias (Química)**

**P R E S E N T A**

Ing. David Emmanuel Martínez Miranda

**Matrícula:** 2223803381

**Correo:** david14\_mm@hotmail.com

**DIRECTOR DE TESIS**



Dra. Liliana Irais Vera Robles

**Jurado:**

Presidente: Dr. Nikola Batina Skeledzija

Secretario: Dr. Leonardo David Herrera Zúñiga

Vocal: Dr. Rodolfo Zanella Specia

Iztapalapa, Ciudad de México, 14 de enero de 2025

Dedicada a mis padres *Estela Miranda* y *Julio Martínez*, quienes nunca me cortaron las alas y siempre han estado ahí para apoyarme y motivarme en alcanzar mi sueño de dedicarme a la ciencia. Es por los valores que me inculcaron y por sus enseñanzas que soy la persona que soy ahora.

A mis grandes amigos de toda la vida *Noé Báez* y *Antonio Rico*, quienes siempre confiaron en que podría lograr lo que me propusiera y me han enseñado lo que es una auténtica amistad.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la *Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa*, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de maestría en tan prestigiosa institución y por brindar sus instalaciones para el desarrollo de este proyecto.

Agradezco de manera especial a mi asesora *Dra. L. Irais Vera Robles*, por haberme permitido formar parte de su grupo de investigación y por compartirme sus conocimientos y experiencia para realizar este proyecto. Por su tiempo para aconsejarme y brindarme sus enseñanzas para la resolución de problemas. Por su apoyo y por depositar su confianza en mí al adentrarme en una nueva área de conocimiento distinta a mi formación.

A mis sinodales por su tiempo dedicado a la atención, revisión y sugerencias que sirvieron para mejorar esta tesis.

Al *laboratorio central de microscopía electrónica UAM-I* y en particular a la *Ing. Patricia Castillo* por su conocimiento y tiempo dedicado a analizar las muestras en el microscopio.

Al *Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCyT)* por la beca otorgada (CVU 1251066) para la realización de estudios de maestría.

A mis compañeros del laboratorio de biofisiología R-207 por su disposición en apoyarme y orientarme en el estilo de trabajo del área cuando eran mis primeros días.

Este proyecto de investigación de maestría se realizó en las instalaciones del laboratorio R-207 perteneciente al área de Biofísicoquímica del departamento de Química de la Universidad Autónoma Metropolitana, unidad Iztapalapa, bajo la dirección de la Dra. L. Irais Vera Robles.

Hasta la fecha de conclusión de esta tesis, la investigación se ha presentado en póster en el 32° Congreso Internacional de Investigación en Materiales con el título de “Organización de nanopartículas de oro en cubos de DNA origami”. Este evento tuvo lugar en Cancún, México en agosto de 2024.

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>2D</b>	Dos dimensiones, bidimensional
<b>3D</b>	Tres dimensiones, tridimensional
<b>A</b>	Adenina, una de las cuatro bases nitrogenadas del DNA
<b>AIC</b>	Criterio de información de Akaike ( <i>Akaike Information Criterion</i> , por sus siglas en inglés)
<b>AuNPs</b>	Nanopartículas de Oro
<b>C</b>	Citosina, una de las cuatro bases nitrogenadas del DNA
<b>DLS</b>	Dispersión Dinámica de Luz ( <i>Dynamic Light Scattering</i> , por sus siglas en inglés)
<b>DNA</b>	Ácido desoxirribonucleico ( <i>Deoxyribonucleic Acid</i> , por sus siglas en inglés)
<b>DNA/3'Tiol</b>	Oligonucleótido con grupo tiol unido al extremo 3' de la cadena
<b>DTT</b>	Ditiotreitol
<b>EDTA</b>	Ácido etilendiaminotetraacético
<b>EtOH</b>	Etanol
<b>FWHM</b>	Ancho de banda a media altura ( <i>Full Width at Half Maximum</i> , por sus siglas en inglés)
<b>G</b>	Guanina, una de las cuatro bases nitrogenadas del DNA
<b>HAuCl<sub>4</sub></b>	Ácido cloroáurico
<b>HCl</b>	Ácido clorhídrico
<b>KOH</b>	Hidróxido de potasio
<b>MetOH</b>	Metanol
<b>ML</b>	<i>Machine Learning</i>
<b>MSE</b>	Error cuadrático medio ( <i>Mean Squared Error</i> , por sus siglas en inglés)
<b>NaOH</b>	Hidróxido de sodio

<b>NPs</b>	Nanopartículas
<b>nt</b>	Nucleótido
<b>PDI</b>	Índice de polidispersidad ( <i>Polydispersity Index</i> , por sus siglas en inglés)
<b>PEG</b>	Polietilenglicol
<b>R<sup>2</sup></b>	Coefficiente de determinación
<b>RNasa</b>	Ribonucleasa
<b>SDS</b>	Dodecilsulfato sódico
<b>SH</b>	Grupo tiol
<b>SPR</b>	Plasmón de resonancia superficial ( <i>Surface Plasmon Resonance</i> , por sus siglas en inglés)
<b>ssDNA</b>	DNA de cadena sencilla ( <i>Single Stranded DNA</i> , por sus siglas en inglés)
<b>T</b>	Timina, una de las cuatro bases nitrogenadas del DNA
<b>TAE</b>	Solución amortiguadora de Tris-Ácido acético-EDTA
<b>TBE</b>	Solución amortiguadora de Tris-Ácido bórico-EDTA
<b>TEM</b>	Microscopía electrónica de transmisión ( <i>Transmission Electron Microscopy</i> , por sus siglas en inglés)
<b>T<sub>m</sub></b>	Temperatura de <i>Melting</i>
<b>Tris</b>	Tris(hidroximetil)aminometano
<b>UV</b>	Ultravioleta
<b>UV-Vis</b>	Ultravioleta-visible
<b>VIF</b>	Factor de inflación de la varianza ( <i>Variance Inflation Factor</i> , por sus siglas en inglés)

## RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se organizaron nanopartículas de oro (AuNPs) en estructuras tipo celda unitaria cúbica, utilizando la técnica de DNA origami, esto como una nueva técnica de síntesis de supercristales. Dichas estructuras cúbicas fueron pensadas imitando la forma en que los átomos se organizan en materiales cristalinos; el DNA simuló las aristas del cubo y las nanopartículas se colocaron en los vértices.

En el primer capítulo se describe de manera detallada el concepto de nanomateriales, cómo se sintetizan, sus aplicaciones, su clasificación, y en particular, las propiedades que presenta el oro en escala nanométrica y cuando se organiza en estructuras tridimensionales. Se explica de igual forma el principio de la técnica de DNA origami y cómo ha evolucionado en los últimos años para producir diferentes estructuras y materiales híbridos metal – DNA.

Más adelante, se describe la metodología empleada para la producción los cubos de DNA origami - AuNPs, la cual consistió en primero obtener el DNA genómico circular de cadena sencilla del fago M13, mismo que sirvió como molécula andamio para el origami; seguido de la síntesis de nanopartículas de oro utilizando un método libre de surfactantes. Posteriormente, se diseñaron las secuencias de los oligos (grapas) que plegaron la molécula de DNA, se funcionalizaron las nanopartículas de oro con oligos tiolados en el extremo 3' y finalmente se hibridaron las grapas con el DNA genómico junto con las nanopartículas funcionalizadas, para producir el ensamble del cubo de DNA origami – AuNPs. Las AuNPs, el DNA y los ensambles fueron caracterizados por medio de técnicas como dispersión dinámica de luz (DLS), espectroscopía UV-Vis, microscopía electrónica de transmisión (TEM), entre otras.

Finalmente, se muestran los resultados de las técnicas de caracterización en las diferentes etapas del método y se hace una discusión de lo obtenido para inferir conclusiones respecto a los ensambles producidos de DNA origami y AuNPs.

### Palabras clave:

- DNA origami
- Nanopartículas de oro
- Supercristales
- Plasmón de resonancia superficial
- Acoplamiento de plasmones

# TABLA DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	II
LISTA DE ABREVIATURAS .....	IV
RESUMEN .....	VI
TABLA DE CONTENIDO .....	VII
1. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Nanomateriales .....	1
1.1.1. <i>Concepto, propiedades y aplicaciones</i> .....	1
1.1.2. <i>Métodos de síntesis</i> .....	3
1.1.3. <i>Tipos de nanomateriales</i> .....	4
1.1.4. <i>Plasmón de resonancia superficial localizado en nanopartículas metálicas</i> .....	5
1.1.5. <i>Nanopartículas de oro</i> .....	7
1.1.6. <i>Funcionalización de nanopartículas</i> .....	8
1.1.7. <i>Supercristales (arreglos cristalinos tridimensionales de nanopartículas)</i> .....	9
1.2. DNA Origami.....	11
1.2.1. <i>Concepto de la técnica</i> .....	11
1.2.2. <i>Estructura del DNA</i> .....	12
1.2.3. <i>Funcionalización de DNA origami</i> .....	14
1.2.4. <i>Materiales híbridos como aplicación del DNA origami</i> .....	15
2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	17
2.1. Justificación .....	17
2.2. Objetivos .....	18
2.2.1. <i>Objetivo general</i> .....	18
2.2.2. <i>Objetivos específicos</i> .....	18

3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL .....	19
3.1. Equipos y reactivos .....	19
3.1.1. <i>Reactivos</i> .....	19
3.1.2. <i>Equipos</i> .....	19
3.2. Biosíntesis de DNA de cadena sencilla.....	20
3.2.1. <i>Amplificación y purificación de fago M13</i> .....	20
3.2.2. <i>Purificación de DNA</i> .....	20
3.3. Caracterización de DNA de cadena sencilla .....	21
3.3.1. <i>Espectroscopía UV-vis</i> .....	21
3.3.2. <i>Electroforesis en gel de agarosa</i> .....	21
3.4. Síntesis de AuNPs .....	22
3.4.1. <i>Síntesis típica</i> .....	22
3.4.2. <i>Síntesis de AuNPs para Machine Learning (ML)</i> .....	22
3.4.2.1. <i>Predicción de variables respuesta con Machine Learning</i> .....	23
3.5. Caracterización de AuNPs .....	23
3.5.1. <i>Espectroscopía UV-vis</i> .....	23
3.5.2. <i>Dispersión Dinámica de Luz (DLS)</i> .....	24
3.5.3. <i>Microscopía electrónica de transmisión (TEM)</i> .....	24
3.6. DNA origami y ensamble con AuNPs .....	24
3.6.1. <i>Diseño de secuencias de oligonucleótidos para el cubo de DNA origami</i> .....	24
3.6.2. <i>Preparación de oligos estándar y reducción de oligos tiolados</i> .....	25
3.6.3. <i>Funcionalización de AuNPs con oligos DNA/3'Tiol</i> .....	25
3.6.4. <i>Hibridación de cubo de DNA origami y ensamble con AuNPs</i> .....	25
3.6.5. <i>Purificación del ensamble DNA origami – AuNPs</i> .....	26
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	27

4.1. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro.....	27
4.1.1. <i>Plasmón de resonancia superficial</i> .....	27
4.1.2. <i>Tamaño promedio hidrodinámico y polidispersidad de partículas</i> .....	28
4.1.3. <i>Microscopía electrónica de transmisión</i> .....	29
4.1.4. <i>Datos de síntesis y caracterización de AuNPs para alimentar Machine Learning</i> .....	30
4.1.5. <i>Resultados en el modelado de Machine Learning</i> .....	31
4.2. Caracterización de DNA de cadena sencilla .....	32
4.2.1. <i>Concentración y pureza</i> .....	32
4.2.2. <i>Integridad del DNA de cadena sencilla</i> .....	33
4.3. Diseño de cubo de DNA origami .....	34
4.3.1. <i>Patrón de plegamiento de la molécula de ssDNA</i> .....	34
4.3.2. <i>Oligos (grapas) para aristas del cubo</i> .....	36
4.3.3. <i>Oligos (grapas) para vértices del cubo</i> .....	37
4.4. AuNPs funcionalizadas con oligos DNA/3'Tiol.....	38
4.4.1. <i>Diámetro hidrodinámico de partículas funcionalizadas (DLS)</i> .....	38
4.4.2. <i>Micrografías de TEM de partículas funcionalizadas</i> .....	39
4.5. Ensamble DNA origami – AuNPs.....	40
4.5.1. <i>Prueba de hibridación de oligos (grapas)</i> .....	40
4.5.2. <i>Prueba de hibridación de AuNPs funcionalizadas con oligos tiolados (DNA/3'Tiol)</i> .....	41
4.5.3. <i>Hibridación de cubo de DNA origami</i> .....	42
4.5.4. <i>Ensamble de AuNPs al cubo de DNA origami</i> .....	43
4.5.5. <i>Rendimiento de ensamble DNA origami – AuNPs</i> .....	44
5. CONCLUSIONES .....	46
6. PERSPECTIVAS .....	47
REFERENCIAS.....	48

APÉNDICE A: CONDICIONES EXPERIMENTALES Y RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN DE SÍNTESIS DE AUNPS PARA ML.....	53
APÉNDICE B: ESQUEMAS DE POSICIONAMIENTO DE GRAPAS EN ARISTAS Y VÉRTICES DEL CUBO DE DNA ORIGAMI.....	65

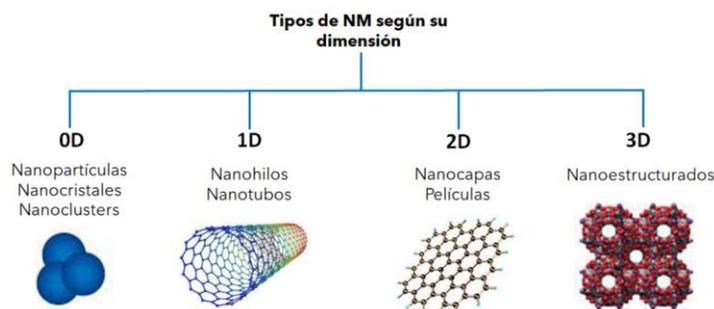
# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1. Nanomateriales

### 1.1.1. Concepto, propiedades y aplicaciones

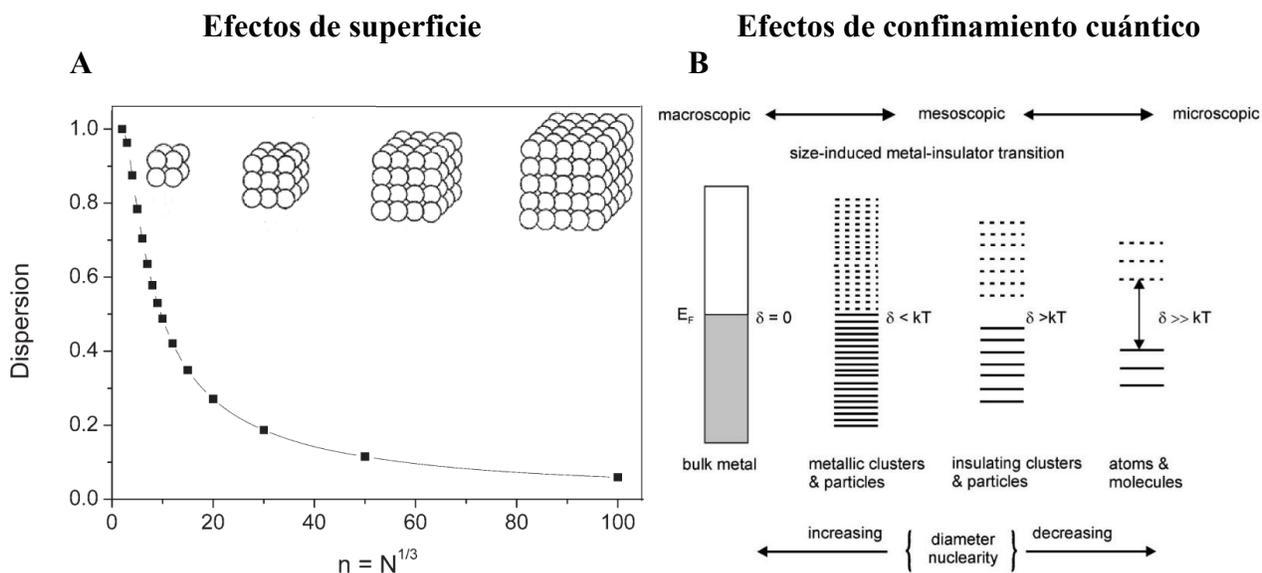
Las palabras "nanotecnología", "nanociencia", "nanomateriales", "nanoestructuras" y "nanopartículas" han sido ampliamente utilizadas en los últimos años debido al gran interés que han despertado los nanomateriales por sus propiedades únicas. La nanotecnología y la nanociencia se fundamentan en el estudio de los fenómenos ocurridos a nano escala en los llamados nanomateriales. Esto ha creado un nuevo dominio científico que se enfoca en la invención, creación y aplicación de nanoestructuras o nanomateriales, lo que ayuda a comprender mejor las relaciones entre las propiedades o fenómenos físicos y químicos de los materiales y sus dimensiones.

Se define a los nanomateriales como un tipo de material en el que al menos una de sus dimensiones está entre uno y cien nanómetros (nm). Estos materiales representan el punto medio entre átomos o moléculas, y la materia en bulto. Según el número de dimensiones que el material tenga en el régimen nanométrico, los nanomateriales se pueden clasificar en cuatro (véase figura 1): Materiales de dimensión cero, donde las tres dimensiones miden menos de cien nm, dando lugar a las nanopartículas (NPs); materiales de una dimensión, en el cual dos dimensiones permanecen en el intervalo nanométrico y una dimensión tiene una longitud variable (nanoalambres o nanotubos); materiales de dos dimensiones, que forman nanopelículas o nanocapas al conservar solo una dimensión en el régimen de nm; y finalmente, materiales de tres dimensiones con el que se crean cuerpos nanoestructurados a partir de la organización de materiales de dimensión cero (nanopartículas), lo que forman los llamados supercristales [1].



**Figura 1.** Clasificación de nanomateriales según su dimensión. Adaptado de la referencia [2].

Los materiales en escala micrométrica, en su mayoría muestran propiedades físicas iguales a la materia en bulto; sin embargo, a escala nanométrica muestran propiedades diferentes. Una de las razones por las que se presentan estas propiedades diferentes, es debido a efectos de superficie, ya que, debido a que el número de átomos superficiales se convierte en una fracción significativa del número total de átomos (véase figura 2A) al disminuir el tamaño, la dispersión aumenta. Por otro lado, la energía superficial es crucial para la estabilidad térmica, los materiales en el intervalo de la nano escala presentan un escalamiento respecto de algunas propiedades termodinámicas, como en el caso de la temperatura de fusión, la cual puede disminuir en decenas o centenas de grados ( $^{\circ}\text{C}$ ) a medida que la nanopartícula disminuye de tamaño. Otra razón por la que se presentan propiedades diferentes a escala nanométrica es por efectos de confinamiento cuántico, a medida que los materiales tienen menor cantidad de átomos, hay menos orbitales moleculares y menor densidad de estados; por tanto, las diferencias en la energía que se requiere para hacer que los electrones pasen de la banda de valencia a la banda de conducción, son mayores (véase figura 2B). Por ello, materiales ferroeléctricos y ferromagnéticos pueden perder propiedades eléctricas y magnéticas, semiconductores en bulto se vuelven aislantes, fluoróforos emiten en otras longitudes de onda, etc. [3].



**Figura 2.** Efectos por los que los nanomateriales son diferentes a la materia en bulto. A) Efectos de superficie, gráfico del número total de átomos ( $n$ ) vs fracción de los átomos en la superficie (dispersión). B) Efectos de confinamiento cuántico, evolución de la banda prohibida a medida que el número de átomos cambia. Adaptado de la referencia [4].

Estas propiedades de los nanomateriales ya han sido aplicadas y hoy en día es común encontrar nanopartículas en la ropa deportiva como inhibidor de malos olores, en las cremas bloqueadoras de rayos UV y en la industria de la construcción y la automoción. Entre muchas aplicaciones, en el campo clínico, las NPs se utilizan para el transporte de fármacos mejorando la selectividad, es decir, localizan de mejor manera el sitio de acción donde se liberará el medicamento, con una velocidad de apenas unos segundos, en comparación con otros acarreadores que hacen efecto al cabo de 10 o 15 minutos. Además, por su tamaño reducido y su forma pueden suministrar sustancias que faciliten la identificación de las células y tejidos, trabajando como biosensores para la detección de alguna anomalía en el cuerpo o incluso es posible que se adhieran a un agente antimicrobiano como antibióticos, antimicóticos, antiparasitarios, antivirales o antisépticos, para que actúen como transporte sobre la NP. Son capaces de impulsar el crecimiento óseo al permitir la regeneración de huesos y se añaden a resinas de piezas dentales para implantes [5].

### **1.1.2. Métodos de síntesis**

La síntesis de nanomateriales de forma química o física es efectuada principalmente mediante dos estrategias (véase figura 3), la primera es una técnica descendente y se conoce como “top down” y consiste en la división de un material en escala macro mediante procesos físicos o químicos hasta formar partículas de tamaño nanométrico. Esto se puede lograr de varias maneras: la deposición química en fase vapor, que consiste en la sublimación de una molécula volátil dentro de una cámara al vacío para crear una película o capa delgada en la superficie de un material; la evaporación térmica, ocurriendo cuando las moléculas que se depositarán se calientan y evaporan, formando una nanocapa en la superficie de un sustrato; la molienda mecánica intensiva, que implica el uso de un molino bajo condiciones controladas para reducir el tamaño de las partículas; y la ablación láser, que es cuando un láser incide en un material sólido o líquido para producir nanoestructuras de alta pureza [6, 7].

El segundo método para la síntesis de nanomateriales es una técnica ascendente y se conoce como “bottom up”, en la cual se forman nanopartículas a través de la unión de átomos o moléculas hasta obtener partículas de tamaño nanométrico. Se utilizan de forma general procesos químicos, tales como: reducción fotoquímica o radioquímica, que fabrica NPs en su mayoría metálicas utilizando energías de 60 a 104 eV; microemulsiones, que estabilizan dos agentes no miscibles en presencia de un estabilizante, creando partículas en la escala nanométrica; microondas, donde la energía ocasiona colisiones que llevan a

reacciones químicas que forman NPs; reacciones redox, que utilizan oxidantes y reductores para la síntesis de NPs a partir de sales metálicas [8].

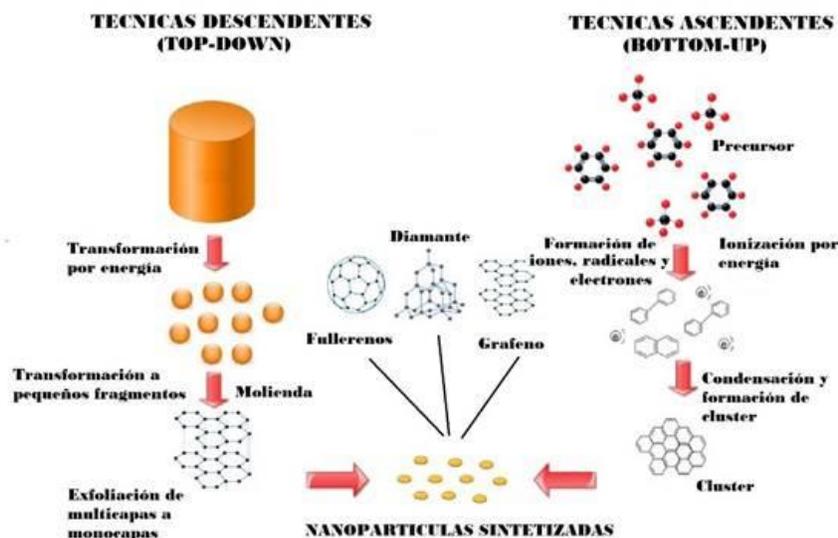


Figura 3. Métodos de síntesis de nanopartículas. Tomado de la referencia [5].

### 1.1.3. Tipos de nanomateriales

Los avances recientes en la nanotecnología han probado que las nanopartículas poseen propiedades que varían dependiendo el método utilizado para su síntesis. Los diversos métodos de síntesis de nanomateriales llevan a diferentes tipos de nanoestructuras que exhiben propiedades fisicoquímicas únicas. A continuación, se mencionan algunos ejemplos de nanomateriales que se han logrado sintetizar [9]:

- *Nanotubos a base de carbono:* Son estructuras en las que hojas de grafito de grosor nanométrico son enrolladas en forma de cilindro. Estas configuraciones tubulares pueden ser nanotubos de una pared o nanotubos de paredes múltiples.
- *Fulerenos:* Con apenas 0.7 nanómetros de diámetro son estructuras compuestas por 60 átomos de carbono que se arreglan en forma de icosaedro truncado. Su forma al igual que un balón de soccer tiene 20 hexágonos y 12 pentágonos y es altamente simétrica.

- *Puntos cuánticos*: Son nanocristales de materiales semiconductores que miden entre 2 y 10 nm. Consisten en un núcleo inorgánico semiconductor y una capa orgánica que, en conjunto, fluorescen cuando se les incide luz.
- *Nanopartículas tipo core-shell*: Son nanopartículas que contienen un núcleo de un material y una capa superficial de otro material distinto, pueden ser metal-metal o no metal-metal. Las propiedades de las nanopartículas *core-shell* pueden ser sintonizadas simplemente modificando la relación de espesor núcleo/capa.
- *Dendrimeros*: Son una clase única de polímeros, son estructuras ramificadas tipo árbol cuyo tamaño y forma pueden ser controlados de manera precisa. Son sintetizados a partir de la polimerización de monómeros, adquieren una estructura esférica que resulta en la formación de cavidades internas que pueden ser utilizadas como transporte de otras moléculas.
- *Mesoporos*: Son estructuras porosas con una alta densidad de poros monodispersos con diámetros entre 2 y 50 nm. Su ventaja es que no permiten el paso de ciertos compuestos y pueden ser potencialmente utilizados para proteger materiales biológicos.
- *Nanopartículas metálicas*: Son partículas de entre 1 y 100 nm sintetizadas con metales, y pueden ser esféricas, tetraédricas, piramidales, cúbicas, etc. Se han utilizado diversos metales para su síntesis, sin embargo, las de oro y plata han sido las de mayor importancia por sus usos potenciales en el campo de la medicina. Este tipo de nanopartículas pueden ser funcionalizadas en la superficie con relativa facilidad y varios ligandos como azúcares, péptidos, proteínas y DNA han sido utilizados.

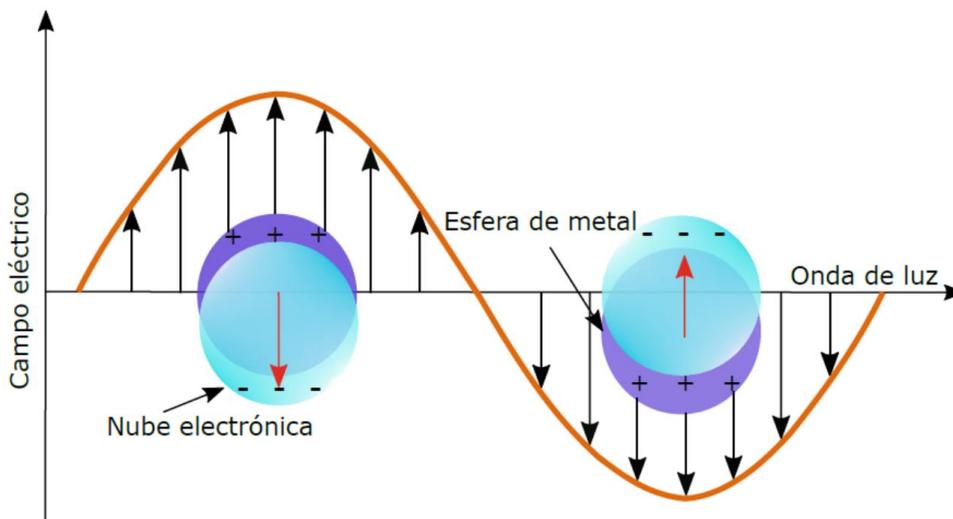
#### ***1.1.4. Plasmón de resonancia superficial localizado en nanopartículas metálicas***

Los metales tienen una gran cantidad de electrones que no están conectados a un núcleo atómico específico, lo que les permite moverse libremente dentro del material y en todas direcciones, creando un plasma, estado en el que, si no se aplica ningún campo eléctrico, el campo neto es cero.

Los electrones fluyen a través del material en una dirección privilegiada cuando se les aplica un campo eléctrico, generando corriente, lo que provoca el fenómeno de la conducción eléctrica. Si se aplica radiación electromagnética a los metales, se pueden producir plasmones, que son excitaciones colectivas de los electrones libres. Un plasmón superficial se produce por la propagación de ondas electromagnéticas en la interfase de un metal y un material dieléctrico.

Los metales absorben prácticamente en toda la región del visible y del ultravioleta del espectro electromagnético. Si la frecuencia de la radiación incidente se acerca o coincide a la frecuencia de oscilación colectivas del plasma de electrones se produce el fenómeno llamado plasmón [10].

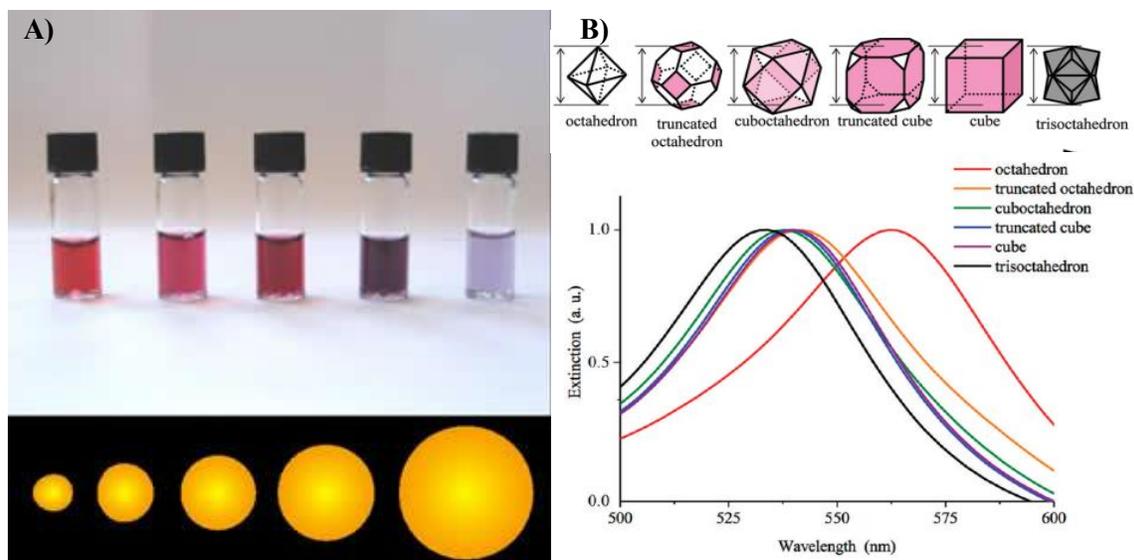
Se les llama plasmones de resonancia superficial localizados (LSPR, o simplemente SPR) a las oscilaciones colectivas de los electrones confinados cerca de interfaces metal-dieléctrico, incluyendo el vacío. Este fenómeno es posible solo si el tamaño de la partícula es mucho menor que el de la longitud de onda de la luz incidente, es decir, dimensiones en la escala nanométrica. El campo eléctrico oscilante de la radiación incidente (luz) produce un dipolo eléctrico en la partícula al orientar una parte de los electrones en una dirección opuesta del resto de la partícula metálica, generando así una carga neta negativa en un lado de la partícula (véase figura 4). De manera general, si la nanopartícula es pequeña produce un dipolo, sin embargo, a medida que aumenta de tamaño (más de 30 nm) o cambia de forma (más caras expuestas en la superficie) se produce un cuadrupolo y más aún, multipolos. Esta presencia de multipolos induce un corrimiento en el máximo del SPR al producir diversas oscilaciones, lo que significa que la posición del máximo de SPR es altamente dependiente de la forma y el tamaño de la nanopartícula [11].



**Figura 4.** Esquema de interacción de la luz con nanopartículas metálica produciendo plasmón de resonancia superficial localizado. Tomado de la referencia [12].

### 1.1.5. Nanopartículas de oro

La química de las AuNPs ha surgido como una nueva subdisciplina en el ámbito de los nanomateriales debido a las propiedades que estas presentan. En el caso de las AuNPs, el plasmón de resonancia superficial cae dentro del espectro visible (alrededor de 520 nm), de tal forma que presenta colores diferentes a los observados en su contraparte macroscópica (color dorado) y que pueden variar dependiendo el tamaño y forma de la partícula. Como se observa en la figura 5, dependiendo el tamaño de las NPs, la solución coloidal tiene un color rojo y a medida que crecen, pasan por el violeta, hasta llegar al morado claro. Del mismo modo, si el tamaño se conserva, pero la forma de la partícula cambia, también existe un desplazamiento en el máximo de absorción del SPR debido a que, como se mencionó, la cantidad de caras expuestas en la superficie de la nanopartícula según su forma puede producir múltiples polos, cada uno produciendo oscilaciones colectivas de los electrones.



**Figura 5.** Colores de las nanopartículas de oro dependiendo su forma y su tamaño. A) Suspensiones de nanopartículas de oro de varios tamaños, la diferencia de tamaño provoca la diferencia de colores. B) Espectros UV-Vis de nanopartículas de oro del mismo tamaño y diferente forma. Adaptado de las referencias [13, 14].

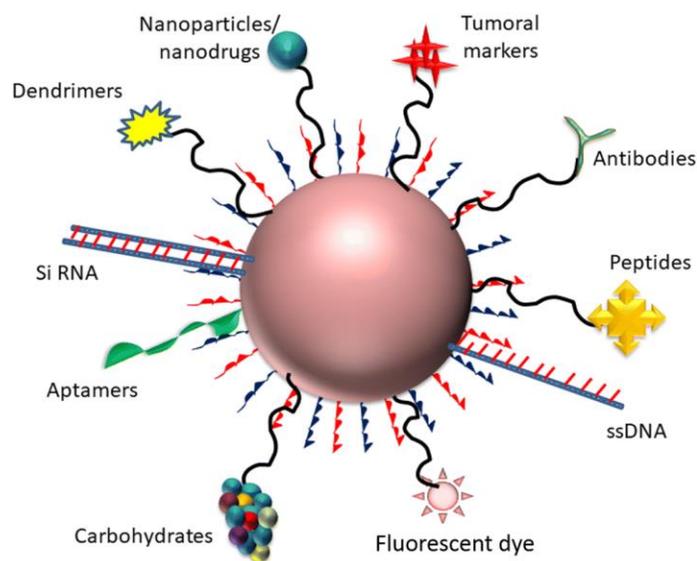
Hoy en día, las AuNPs son sintetizadas en gran medida utilizando sales metálicas de oro como precursor y utilizando agentes reductores para formar las suspensiones coloidales que posteriormente son estabilizadas utilizando tensoactivos, que permiten controlar el tamaño y la forma de la NP y, por tanto, el

SPR. Las diferentes formas de AuNPs que pueden ser creadas con estos procesos han variado desde pirámides, prismas hexagonales, octaedros, cubos, esferas, cilindros, entre otras.

Las propiedades ópticas, electroquímicas y de estabilidad de las AuNPs las han convertido en el sistema modelo de elección de la comunidad científica para explorar una amplia gama de fenómenos que incluyen el autoensamblaje, diseño de biosensores, catálisis, cambios de fase, interacción con DNA y formación de supercristales [15].

### 1.1.6. Funcionalización de nanopartículas

Como se ha mencionado, las AuNPs tienen propiedades físicas y químicas únicas por su escala nanométrica que las hacen muy versátiles para diversas aplicaciones y esto les ha otorgado una atención significativa por parte de la comunidad científica. Para aprovechar estas propiedades de manera eficaz, las NPs se funcionalizan con moléculas específicas que permiten su integración en sistemas más amplios y complejos. Las técnicas de funcionalización a menudo implican la unión de ligandos como pueden ser tioles, polímeros, biomoléculas, entre otros (véase figura 6), para modificar la química de la superficie y mejorar la estabilidad, compatibilidad y las interacciones dirigidas.

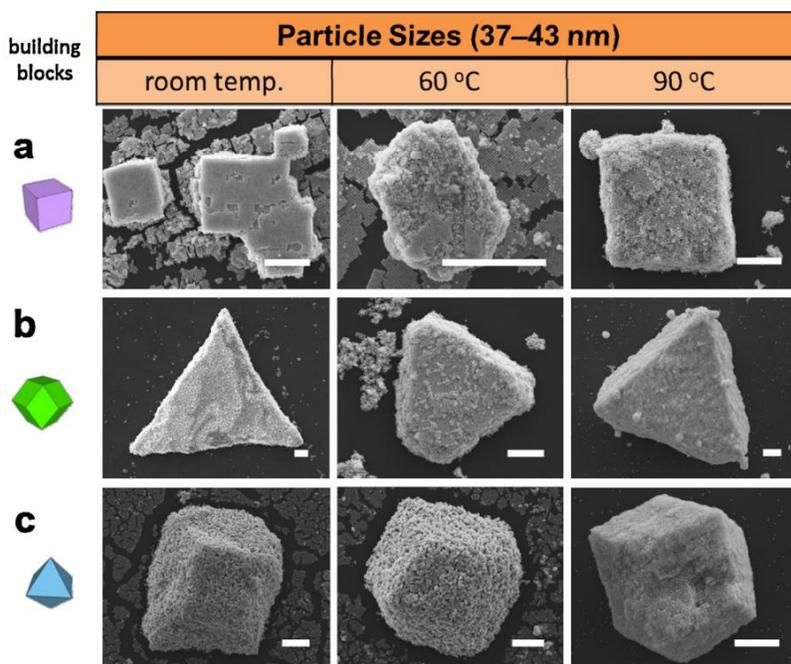


**Figura 6.** Esquematización de los diferentes ligandos empleados para funcionalizar nanopartículas. Tomado de la referencia [16]

Este enfoque personalizado permite que las AuNPs tengan aplicaciones en la administración de fármacos y el diagnóstico médico; en la catálisis y en dispositivos de detección. El proceso de funcionalización no solo estabiliza las NPs, sino que también facilita su ensamblaje organizado, lo que es crucial para la síntesis de supercristales, de los cuales se hablará más adelante, donde el control preciso sobre la estructura es esencial.

### 1.1.7. Supercristales (arreglos cristalinos tridimensionales de nanopartículas)

Los supercristales son materiales sintetizados a partir del ensamblaje tridimensional de NPs (véase figura 7). Estas funcionan como bloques de construcción para crear celdas unitarias que en conjunto producen redes cristalinas, de la misma forma en que los átomos lo hacen en los cristales [17].

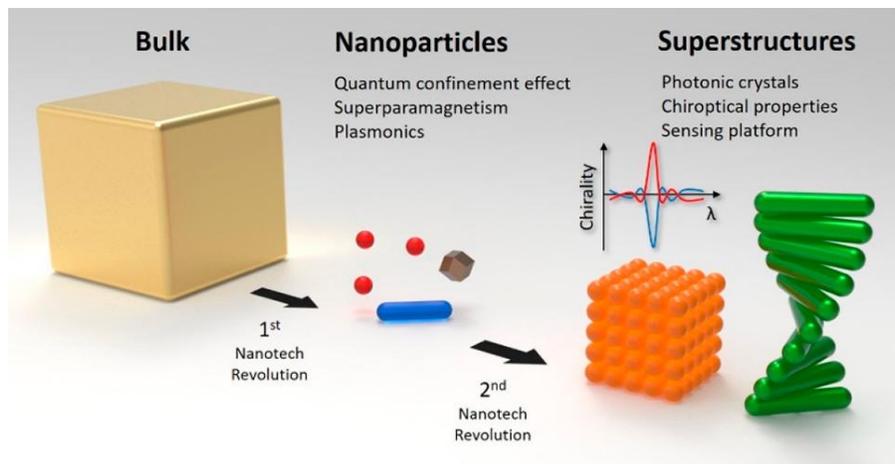


**Figura 7.** Supercristales con diferentes arreglos geométricos según la forma de su bloque de construcción (nanopartículas). Adaptado de la referencia [18].

Se han diseñado con éxito varios tipos de superestructuras de nanopartículas de una manera altamente controlable y eficiente. Una disposición uniforme y correcta de las nanopartículas dentro de la superestructura es esencial para demostrar su funcionalidad. Más específicamente, las superredes

ordenadas en una gran escala poseen propiedades diferentes por la escala nanométrica de sus componentes básicos (NPs) y más importante aún, pueden exhibir propiedades colectivas totalmente nuevas que no poseen las NPs individuales. Uno de los aspectos más atractivos de las NPs metálicas son sus excelentes propiedades ópticas, que tienen un gran potencial de aplicación en diferentes áreas tecnológicas. En este sentido, es importante crear técnicas que permitan organizar NPs en estructuras 3D y que además permitan combinar diferentes tipos de nanomateriales en cuanto a forma y composición se refiere, para lograr obtener propiedades ópticas únicas y sintonizables o ajustables, que en un futuro posibiliten el diseño de dispositivos tecnológicos.

Estos métodos para la organización de nanopartículas en 3D prometen ser una herramienta poderosa para producir materiales en macroescala con propiedades de la nanoescala [19]. Esta idea innovadora de arreglar NPs en 3D, se considera la segunda revolución de la nanotecnología después de la primera atribuida a la síntesis de nanomateriales con propiedades físicas y químicas poco convencionales (véase figura 8). El desarrollo de nanoestructuras organizadas es una tarea necesaria y desafiante para la comunidad científica ya que es el puente para aplicar las propiedades de los nanomateriales en materiales a gran escala [19]. Por esto, en la actualidad, se ha estado trabajando en la creación de técnicas que permitan organizar nanopartículas de forma controlada. Algunos de los métodos que pueden ser empleados para ello son la síntesis dirigida por tensoactivos, en la que las NPs son cubiertas por una capa de algún tensoactivo, que en conjunto con otras NPs recubiertas, se aglomeran de forma ordenada; el método de difusión de tensoactivos, con el cual los supercristales se forman al evaporar el solvente de una solución de NPs cubiertas con tensoactivos, provocando la reducción del volumen, y por tanto, aumentando la concentración del tensoactivo para promover interacciones [18]; el método de DNA origami (motivo del presente proyecto de investigación y del cual se habla con mayor detalle más adelante), con el cual las NPs son funcionalizadas con fragmentos de DNA que son complementarios a sitios de una estructura más compleja compuesta de DNA genómico.

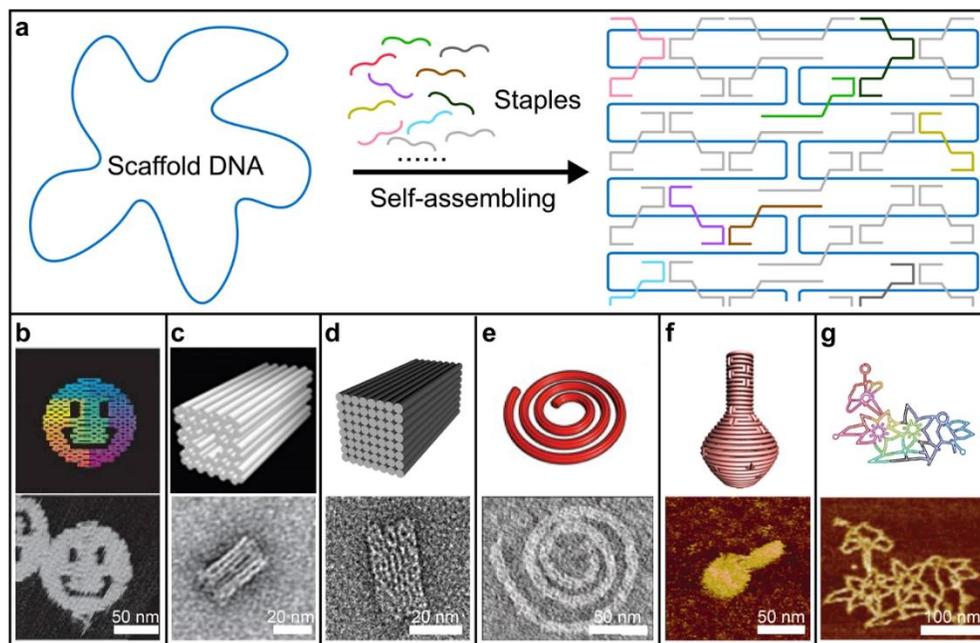


**Figura 8.** Progreso de la nanotecnología. Tomado de la referencia [19].

## 1.2. DNA Origami

### 1.2.1. Concepto de la técnica

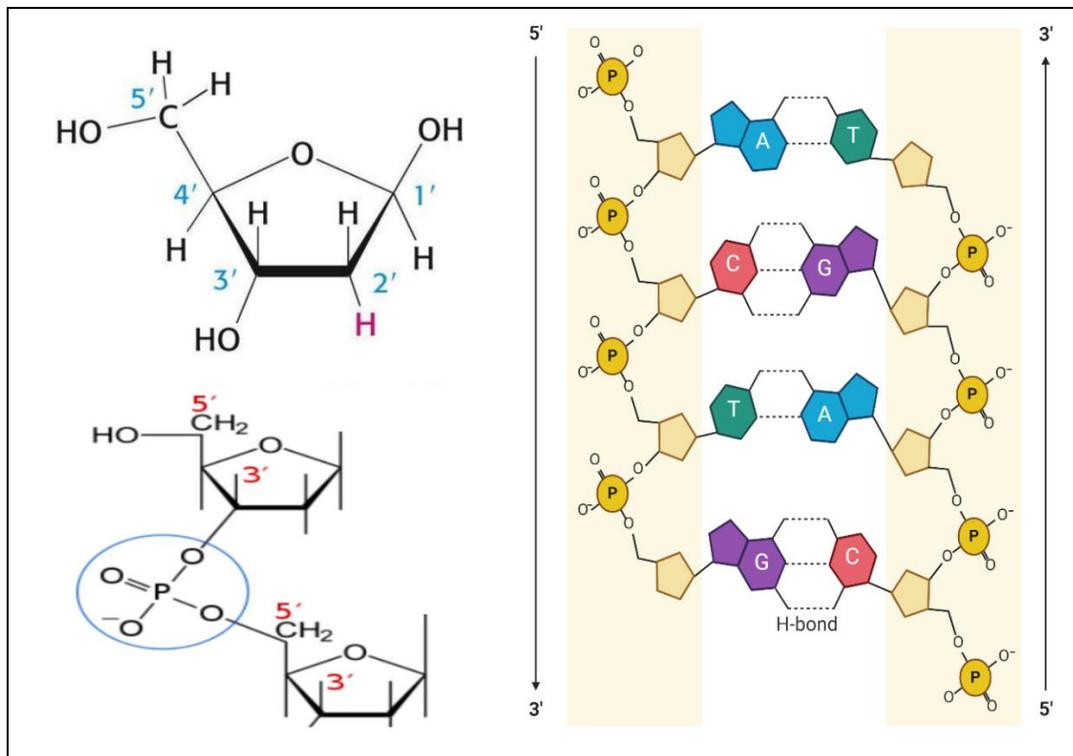
El DNA origami es uno de los métodos más recientes adoptado por la nanotecnología; su nombre viene de “*origami*” que es una palabra japonesa que significa doblar una hoja de papel para crear diferentes formas. Esta técnica permite crear nanoestructuras complejas en una, dos y tres dimensiones [20]. El DNA origami es una técnica de manipulación del DNA que consiste en tomar una molécula de cadena sencilla de DNA (ssDNA) genómico, generalmente de un virus, y plegarla a conveniencia utilizando oligonucleótidos también de cadena sencilla (véase figura 9). El DNA genómico recibe el nombre de andamio y los oligonucleótidos (que son fragmentos pequeños de DNA) se denominan grapas. Dichas grapas pliegan el andamio gracias a que tienen secuencias específicas que forman pares de Watson-Crick en sitios específicos debido a la complementariedad natural del DNA.



**Figura 9.** Tecnología de DNA origami para la construcción de diversas estructuras en 2D y 3D. Tomado de la referencia [21].

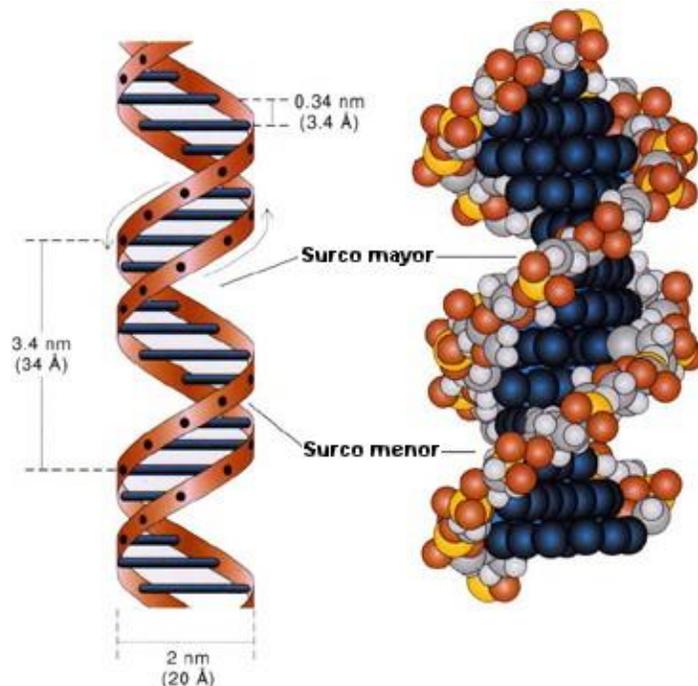
### 1.2.2. Estructura del DNA

Para aplicar la metodología de DNA origami, resulta importante destacar algunas propiedades de los ácidos nucleicos. El DNA está compuesto por subunidades llamadas nucleótidos. Un nucleótido está formado por un azúcar (desoxirribosa), un grupo fosfato y una de cuatro bases nitrogenadas: adenina (A), timina (T), guanina (G) o citosina (C). Las bases C y T tienen un anillo y se llaman pirimidinas, mientras que A y G tienen dos anillos y se llaman purinas. Los nucleótidos forman polímeros, los cuales están unidos por enlaces covalentes que se forman entre el grupo OH del carbono 3' del azúcar de un nucleótido y el grupo fosfato del carbono 5' del siguiente, conocido como enlace fosfodiéster o enlace 5' a 3' (véase figura 10).



**Figura 10.** Estructura del DNA. Cada uno de los carbonos del azúcar ribosa se enumera del 1 al 5 con una prima para diferenciarlos de los carbonos de las bases nitrogenadas. El grupo fosfato se une al carbono 5' de una ribosa y al carbono 3' de la siguiente. Imagen creada con biorender.com

Estos polímeros pueden unirse entre ellos para formar la característica estructura de doble hélice del DNA la cual está formada por dos moléculas antiparalelas, lo que significa que se compone de dos cadenas que corren una junto a la otra en direcciones opuestas (una de 5' a 3' y la otra de 3' a 5'). La torsión de la doble hélice del DNA y la geometría de las bases crea un surco mayor y un surco menor (véase figura 11). Las dos cadenas del DNA se mantienen unidas por puentes de hidrógeno entre las bases nitrogenadas y no se forman por cualquier combinación, si hay una A en una cadena, debe estar emparejada con una T y viceversa. Del mismo modo, una G con una C. Estas correspondencias se conocen como pares de Watson-Crick en honor a quienes descubrieron la estructura del DNA. Puesto que una purina grande (A o G) se empareja siempre con una pirimidina pequeña (T o C), el diámetro de la molécula de DNA siempre es uniforme, aproximadamente 2 nanómetros [22].

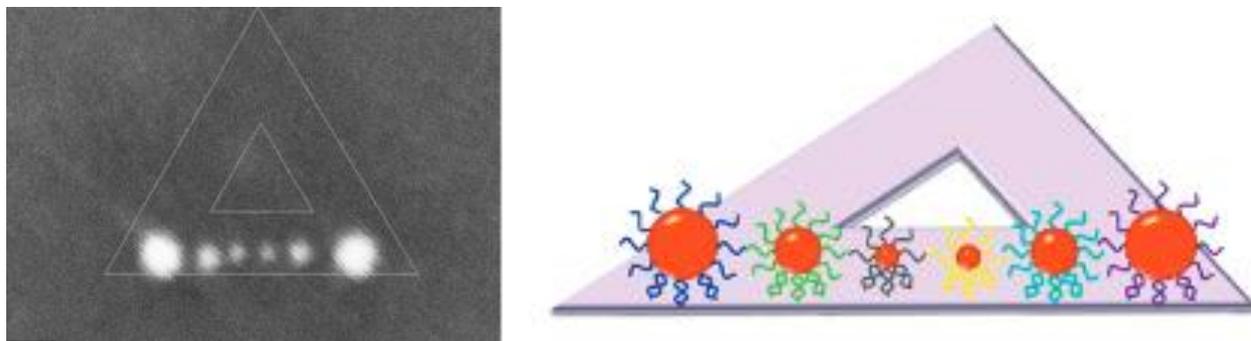


**Figura 11.** Estructura de doble hélice del DNA. La complementariedad de los pares de Watson-Crick produce una estructura de doble hélice con surcos mayores y menores. Adaptado de la referencia [23].

### 1.2.3. Funcionalización de DNA origami

La tecnología de origami aplicada al DNA es sin duda una herramienta poderosa para organizar y manipular moléculas a escala nanométrica. No obstante, para que el DNA sea útil en otro tipo de aplicaciones, es necesario funcionalizar sus estructuras con materiales con capacidades químicas, ópticas, electrónicas, etc. en función del tipo de aplicación. Por tanto, se han desarrollado varias estrategias para la modificación química y funcionalización de las nanoestructuras del DNA en varios campos científicos.

La hibridación de DNA con grapas seleccionadas que sobresalen del plano del origami es el método más común para modificar el origami. Este enfoque se utiliza principalmente para decorar origami con nanopartículas de varios tamaños. Por ejemplo, se ha empleado para construir origami triangular, en los cuales se han alineado nanopartículas de Au y de Ag en uno de sus bordes. Para lograr esto, se utilizaron nanopartículas previamente funcionalizadas con DNA tiolado, es decir, funcionalizado con el grupo tiol (SH), que se hibrida con secuencias complementarias al andamio de DNA. En este se pueden unir hasta seis AuNPs diferentes a una estructura de origami utilizando diferentes conjuntos de grapas [24] (véase figura 12).



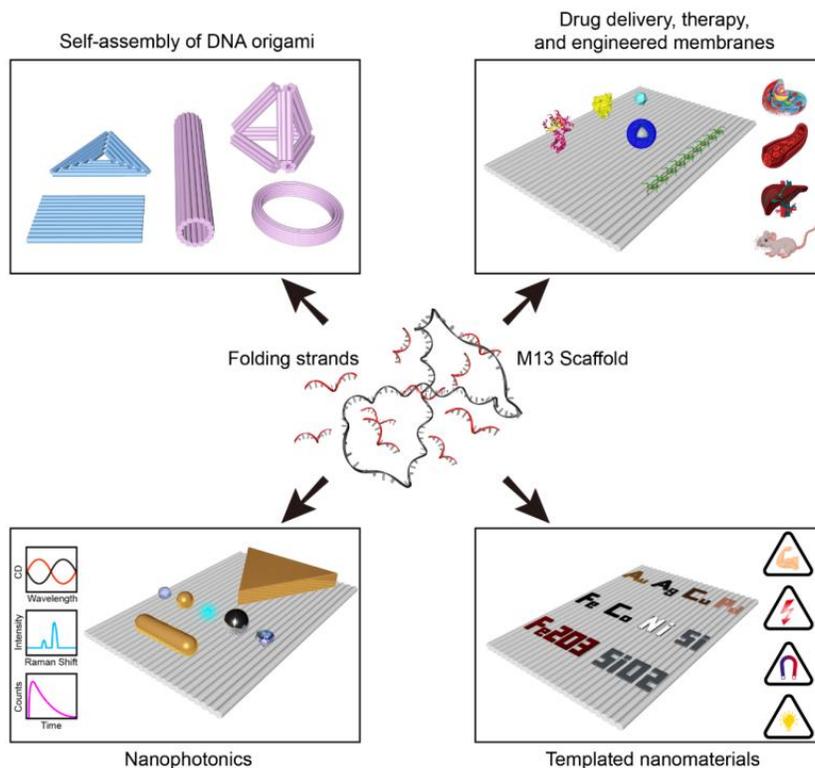
**Figura 12.** La hibridación de NPs marcadas con DNA en secuencias complementarias que sobresalen del plano de origami. Adaptado de la referencia [25].

Este tipo de funcionalización con grupos tioles ha sido ampliamente utilizado para la creación de materiales híbridos metal-DNA por su control preciso, ya que se pueden crear estructuras 2D o 3D que proporcionan control sobre la disposición de NPs y por su estabilidad, pues la unión azufre-metal es resistente y soporta diferentes condiciones experimentales. Dicha técnica de funcionalización consiste en introducir un grupo tiol (-SH) en uno de los extremos (5' o 3') de la cadena de DNA y al añadir superficies metálicas (NPs) a estas cadenas tioladas, se forma un enlace covalente fuerte S-Au que es altamente estable y permite que las NPs queden adheridas firmemente y, por tanto, puedan organizarse en patrones o estructuras específicas.

#### **1.2.4. Materiales híbridos como aplicación del DNA origami**

El origami de DNA se ha utilizado de manera general para producir estructuras tridimensionales complejas como pirámides, cilindros o anillos; como transporte de fármacos e ingeniería de membranas; o como plantillas para adherir distintos materiales, y más específicamente, organizar partículas de metal y otros materiales inorgánicos con un motivo bien definido y a la medida de la aplicación que se desee. Estos materiales híbridos podrían utilizarse para investigar el efecto dependiente de la distancia del acoplamiento plasmónico de nanopartículas metálicas, lo cual abre la posibilidad de aplicaciones en dispositivos como detectores, entre otras potenciales aplicaciones (véase figura 13).

La técnica de DNA origami ha sido empleada para sintetizar figuras y cuerpos tridimensionales; para el transporte de medicamentos, para aplicaciones en fotónica y para ordenar nanomateriales metálicos [26].



**Figura 13.** Esquematización de los posibles tipos de funcionalización y aplicaciones de la técnica de DNA origami. Tomado de la referencia [26].

Para el proyecto de investigación de la presente tesis se trabajó en la organización de AuNPs utilizando la técnica de DNA origami. La idea principal fue crear una estructura cúbica tipo alambre de DNA y en cuyos vértices se unan AuNPs, de la misma forma en que lo hacen los átomos en una celda unitaria en un material cristalino. Para lograr este posicionamiento se utilizaron oligos funcionalizados con grupos tioles en el extremo 3'.

## **2. JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS**

### **2.1. Justificación**

Los nanomateriales, especialmente las nanopartículas metálicas, exhiben propiedades únicas y fascinantes que no se observan en sus contrapartes en bulto. Estas propiedades son de gran interés desde el punto de vista científico y tecnológico. Así, cuando se organizan en superestructuras, su comportamiento puede cambiar drásticamente. En efecto, pueden emerger nuevas propiedades colectivas que solo existen en estas superestructuras y no en las partículas aisladas. La organización de nanopartículas de oro utilizando DNA origami permite la formación de cristales coloidales con arreglos espaciales controlados a nivel nanométrico. Esta técnica es potencialmente útil en aplicaciones fotónicas y fonónicas, ya que permite crear redes periódicas con geometrías complejas y baja densidad de empaque, lo que contribuye a la manipulación precisa de la propagación de ondas de luz y sonido. Los cristales coloidales formados pueden ser empleados en dispositivos ópticos avanzados, como polarizadores, divisores de haz, láseres, aislantes térmicos y cavidades optomecánicas, además de tener aplicaciones en la creación de metamateriales con propiedades electromagnéticas y acústicas personalizadas.

La técnica de DNA origami como método para organizar NPs, se emplea en este proyecto como prueba de concepto para posicionar nanopartículas de oro en las aristas de una celda cúbica simple. El marco de la celda está hecho de DNA. Así, el desarrollo de esta técnica, en un futuro permitiría desarrollar metodologías para la síntesis de supercristales de materiales incluso diferentes al Au con nuevas e interesantes aplicaciones al desarrollo de nuevos materiales.

## 2.2. Objetivos

### 2.2.1. *Objetivo general*

Diseñar cubos tipo alambre hechos de cadenas de DNA, que sirvan como estructura para ordenar nanopartículas metálicas. El DNA reproducirá estructuras tipo celda unitaria cúbica y las NPs se posicionarían en los vértices de la estructura, de manera similar a como lo hacen los átomos en un material cristalino.

### 2.2.2. *Objetivos específicos*

1. Sintetizar nanopartículas de oro utilizando un método libre de surfactantes y caracterizarlas con las técnicas de UV-Vis y dispersión dinámica de luz (DLS).
2. Biosintetizar y purificar el ssDNA del fago M13 (andamio).
3. Diseñar las secuencias de los oligonucleótidos (grapas) que propicien el plegamiento de la molécula de ssDNA en forma de cubo, así como de los oligos que posicionen las NPs en los vértices. Estos últimos se funcionalizan con un grupo tiol en el extremo 3'.
4. Obtener las estructuras tipo celda unitaria cúbica con DNA y caracterizarlas.
5. Decorar las celdas unitarias con las AuNPs para producir el cubo de DNA origami-AuNP.

### 3. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

#### 3.1. Equipos y reactivos

##### 3.1.1. Reactivos

Ácido cloroáurico trihidratado ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , Sigma-Aldrich, 99.5%), etanol absoluto (EtOH, Wöhler, 99.5%), metanol absoluto (MetOH, J. T. Baker, 99.8%), hidróxido de sodio (NaOH, Wöhler, 97%), hidróxido de potasio (KOH, J. T. Baker, 99%), tris(hidroximetil)aminometano (Tris, Sigma-Aldrich, 99.8%), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA, J. T. Baker, 99%), ácido acético glacial ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , MERCK, 100%), ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ , Técnica Química, 99.5%), tris(hidroximetil)aminometano base (Tris-base, Santa Cruz Biotechnology, 99%), ácido clorhídrico (HCl, Sigma-Aldrich, 37%), acetato de sodio ( $\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$ , Sigma-Aldrich, 99%), isopropanol ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$ , Sigma-Aldrich, 99.5%), glicerol ( $\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$ , J. T. Baker, 99.5%), polietilenglicol (PEG 8000, Santa Cruz Biotechnology, 99%), dodecilsulfato sódico (SDS, MP biomedical, 99%), trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}$ , MERCK), ditioneitol (DTT, Bio-Rad), acetato de etilo ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ , Sigma-Aldrich, 99.5%), tetraciclina (Sigma-Aldrich, 98%), medio de cultivo LB (Invitrogen), RNasa A (Sigma-Aldrich), *E. Coli* cepa XL1-Blue (Agilent), fago M13mp18 (New England Biolabs), 1kb Plus DNA Ladder (New England Biolabs), agarosa (Bio-Rad), colorante SYBR DNA Stain (Jena Bioscience), buffer de carga EZ-Vision Three (VWR), cloruro de magnesio ( $\text{MgCl}_2$ , New England Biolabs, 50mM). Los oligos utilizados para la técnica de DNA origami (grapas) fueron adquiridos con Integrated DNA Technologies (IDT), desalados y a escala de 25 nmol.

##### 3.1.2. Equipos

- Espectrofotómetro ultravioleta visible (UV-Vis) Hewlett Packard con lámpara de Xenón en un intervalo de longitud de onda de 200 a 800 nm y celdas desechables con trayectoria de 1 cm.
- Espectrofotómetro UV-Vis Nanodrop 2000 Thermo Scientific.
- Equipo Malvern Zetasizer Nano modelo ZSP con láser de 10 mW de He-Ne a una longitud de onda de 632.8 nm.
- Microscopio electrónico de transmisión (TEM) AltaJeol modelo JSM7600-F con emisor de campo de 200 kV de aceleración, resolución de 1.89Å.

- Sistema de electroforesis MINIPCR modelo blueGel con voltaje de 48V y transiluminador incluido de luz azul.

- Termociclador MINIPCR modelo Mini 16.

## **3.2. Biosíntesis de DNA de cadena sencilla**

### **3.2.1. Amplificación y purificación de fago M13**

Con el fin de amplificar el fago M13, y posteriormente purificar el DNA de cadena sencilla (genoma), un matraz de 2 L que contenía 500 mL de cultivo LB fue inoculado con 5 mL de bacteria *E. coli* (cepa XL1-Blue), 250  $\mu$ L de fago M13, y tetraciclina a una concentración final de 10  $\mu$ g/mL. Este medio se dejó en crecimiento durante 5 horas a 37°C, con agitación constante (240 rpm). Para purificar el fago amplificado, se centrifugó el medio a 8 000 rpm durante 15 minutos, a una temperatura de 4°C precipitando la bacteria y dejando en el sobrenadante el fago M13. Dicho sobrenadante fue separado por precipitación añadiendo 1/6 del volumen total de una solución PEG (20% en peso) y NaCl (2.5M) y reposando en hielo durante 2 horas. El fago se centrifugó nuevamente, ahora a 10 000 rpm por 10 minutos a 4°C y enseguida se resuspendió con agua estéril. Este último paso de adición de PEG y centrifugación se repitió una segunda vez para incrementar la pureza. El sedimento final, que consiste en fago M13, se resuspendió en un volumen adecuado de agua estéril.

### **3.2.2. Purificación de DNA**

La purificación del DNA de cadena sencilla se efectuó utilizando el método de Midi Kit de QIAGEN [27] escalado a las cantidades obtenidas de fago. Así, se prepararon 3 *buffers* denominados P1, P2 y P3: para preparar el *buffer* P1 se añadió 0.181 g de tris base y 0.111 g de EDTA en 24 mL de agua estéril, se ajustó el pH a 8 con HCl y se aforó a 30 mL, posteriormente se esterilizó en autoclave y se le añadió 3 mg de RNasa; el *buffer* P2 se preparó disolviendo 0.24 g de NaOH en una mezcla con 28.5 ml de agua estéril y 1.5 mL de SDS al 20%; finalmente, para el *buffer* P3 se disolvieron 12.25 g de acetato de sodio en 15 mL de agua estéril, se ajustó pH a 5.5 con ácido acético concentrado y se aforó a 30 mL.

Se añadió 10 mL de P1 al fago purificado del paso anterior y se agitó vigorosamente unos segundos, enseguida se adicionó 10 mL de P2, se mezcló por inversión 10 veces y se incubó por 4 minutos.

Posteriormente, se añadió 10 mL de P3, previamente enfriado, nuevamente se mezcló por inversión 10 veces y se incubó 30 minutos en hielo. Este proceso desnaturizó la cápside del fago y liberó el DNA de su interior. Se centrifugó la mezcla a 12 000 rpm por 15 minutos a 4°C con el fin de precipitar las proteínas desnaturizadas de la cápside y dejar en el sobrenadante el DNA. Después, al sobrenadante separado se le agregó 50 % de su volumen de etanol y 50 % de isopropanol, se agitó vigorosamente unos segundos y se centrifugó de nuevo a 12 000 rpm por 5 minutos a 4°C. Tras esta centrifugación se eliminó el sobrenadante y el precipitado se resuspendió con 500 µL de agua estéril. Se repitió el paso de adición de etanol e isopropanol y centrifugación, para maximizar la pureza. Finalmente, el DNA se sometió a liofilización durante 3 horas a 45°C y al término se resuspendió con 100 µL de agua estéril.

### **3.3. Caracterización de DNA de cadena sencilla**

#### **3.3.1. Espectroscopía UV-vis**

Se midió la absorción del DNA de cadena sencilla empleando el espectrofotómetro Nanodrop 2000. La concentración se calculó de acuerdo con la Ley de Lambert-Beer, sabiendo que los ácidos nucleicos absorben a 260 nm y que una unidad de absorbancia en un centímetro de trayectoria óptica para DNA de cadena sencilla corresponde a una concentración igual a 33 µg/mL. La pureza se determinó usando la relación de absorbancia a 260 y 280 nm, que para ssDNA puro debe ser cercana a 1.8.

#### **3.3.2. Electroforesis en gel de agarosa**

Para verificar el tamaño y la integridad del ssDNA purificado se corrió una electroforesis en gel de agarosa. Se preparó una mezcla conteniendo 1 µL de ssDNA purificado, 2 µL de colorante EZ-visión y 17 µL de agua estéril. Se cargaron los 20 µL de la mezcla en un pozo del gel de agarosa (0.8% en peso), y en otro pozo se depositaron 20 µL de marcador (1kb DNA Ladder). Como amortiguador de corrida se usó TAE (tris-base 40mM, ácido acético 20 mM, EDTA 1mM) ajustado a un pH de 8.5. Las condiciones de corrida fueron 70V por 90 minutos. Enseguida se reveló el gel con un transiluminador para observar las bandas de DNA.

### 3.4. Síntesis de AuNPs

#### 3.4.1. Síntesis típica

Uno de los métodos principales en la síntesis de NPs metálicas es el uso de agentes estabilizadores (tensoactivos), los cuales permiten el control del tamaño y de la forma. Recientemente, ha habido interés por desarrollar métodos libres de surfactantes dado que, cuando se usan tensoactivos, es necesario añadir un paso extra en el que se desplacen dichos tensoactivos para poder funcionalizar las NPs, además de que una síntesis libre de tensoactivos también resulta en un ahorro de recursos y tiempo en el laboratorio. Para este trabajo se utilizó una síntesis de AuNPs adaptada de un método libre de surfactantes [28]. Típicamente, se añadió secuencialmente agua, etanol y NaOH en un recipiente plástico de 15 mL con agitación a temperatura ambiente. A esta mezcla se adicionó rápidamente HAuCl<sub>4</sub>. El volumen final de la reacción fue de 2 mL y las concentraciones finales del etanol, NaOH y HAuCl<sub>4</sub> fueron de 30 % en volumen, 2 mM y 0.5 mM, respectivamente. La reacción resultante se dejó en agitación durante 18 horas a temperatura ambiente. El HAuCl<sub>4</sub> actúa como precursor, el etanol como reductor, y el NaOH crea un medio básico.

#### 3.4.2. Síntesis de AuNPs para Machine Learning (ML)

Tomando como inspiración el trabajo de Schletz *et al.* [29], para este proyecto se probó el método libre de tensoactivos y se aplicaron modelos de *Machine Learning* (ML) con el fin de optimizar la obtención de nanopartículas monodispersas, esféricas y de tamaño adecuado para su acoplamiento con DNA. Para ello se realizaron 328 síntesis modificando las concentraciones finales de los reactivos utilizados y cambiando el reductor y la base (etanol por metanol y NaOH por KOH), manteniendo la relación Au/base en un intervalo de  $4 \pm 1$ . Los parámetros experimentales que se recopilaron para alimentar el modelo de ML fueron:

##### Condiciones experimentales (*Inputs*)

- Porcentaje etanol
- Porcentaje metanol
- Concentración final NaOH
- Concentración final KOH
- Concentración final de Au

### Resultados de caracterización (*Outputs*)

- Máximo del SPR
- Ancho de banda a media altura (FWHM)
- Tamaño población 1
- Porcentaje población 1
- Tamaño población 2
- Porcentaje población 2
- Tamaño población 3
- Porcentaje población 3
- Índice de polidispersidad (PDI)

#### **3.4.2.1. Predicción de variables respuesta con *Machine Learning***

La predicción de las variables respuesta (outputs) se realizó ejecutando una regresión multilínea con todas las variables, enseguida se utilizó el método de criterio de información de Akaike (AIC) para analizar la calidad de los modelos estadísticos empleados y se seleccionó el más adecuado, posteriormente se resolvieron problemas de multicolinealidad utilizando el factor de inflación de varianza (VIF) y finalmente se entrenó programa con modelos de ML. Los modelos empleados fueron redes neuronales, regresión multilínea por mínimos cuadrados ordinarios, regresión con análisis de componentes principales, *random forest*, entre otros.

### **3.5. Caracterización de AuNPs**

#### **3.5.1. Espectroscopía UV-vis**

Las AuNPs fueron caracterizadas por medio de espectrofotometría UV-Vis en equipo Hewlett Packard para conocer el máximo de la banda de plasmón de superficie (SPR). Para cada una de las 328 síntesis se utilizaron 800  $\mu\text{L}$  de suspensión de NPs sin diluir en una celda de plástico.

### **3.5.2. *Dispersión Dinámica de Luz (DLS)***

Para determinar el tamaño promedio y polidispersidad de las nanopartículas se utilizó la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) empleando el equipo Malvern Zetasizer. Los parámetros experimentales se ajustaron de la siguiente manera: material, Au NPs (índice de refracción de 0.2 y absorción de 3.32); dispersante, agua (viscosidad de 0.8872 cP e índice de refracción de 1.33); temperatura de 25°C con tiempo de equilibrio de 120 s; 3 mediciones de 15 corridas con una duración de 10 s cada una. Se utilizó una celda de plástico de 1 cm de trayectoria óptica (modelo DTS0012) y 1.2 mL de muestra sin diluir. El análisis se efectuó con las 328 síntesis.

### **3.5.3. *Microscopía electrónica de transmisión (TEM)***

Las AuNPs obtenidas se caracterizaron por TEM. Para ello se preparó una dilución 1:10 de AuNPs con agua y se colocaron 2  $\mu$ L en una rejilla de cobre con soporte de película de carbono para TEM. Después de 1 minuto, el exceso de muestra se extrajo mediante absorción con papel filtro y para evaporar cualquier solución restante, se mantuvo a temperatura ambiente hasta sequedad. La muestra depositada en la rejilla se observó en el microscopio electrónico de transmisión JEOL. Es importante mencionar que la caracterización con TEM se realizó para unas cuantas síntesis representativas y no para las 328 síntesis, ya que por la naturaleza costosa de la técnica no se consideró como variable para alimentar los datos de ML.

## **3.6. DNA origami y ensamble con AuNPs**

### **3.6.1. *Diseño de secuencias de oligonucleótidos para el cubo de DNA origami***

La molécula de DNA empleada como andamio proviene del fago M13 y en particular se empleó la cepa M13mp18, la cual es circular de cadena sencilla y cuenta con 7249 nucleótidos. Dado que a la fecha no se cuenta con software que facilite el diseño de oligos a través de un método que permita la estructuración tipo alambre, el diseño se realizó manualmente, basándose en el método de Rothemund [30] y con el apoyo del programa SnapGene únicamente para estar corroborando que las secuencias diseñadas se encuentran y son complementarias a la secuencia del M13mp18. Se diseñaron un total de 96 grapas, de las cuales 88 son estándar y se hibridan en lo que serán las aristas que forman la estructura

cúbica, y otras 8 funcionalizadas con un grupo tiol en el extremo 3' (DNA/3'tiol) que posicionarán en los vértices a las AuNPs.

### **3.6.2. Preparación de oligos estándar y reducción de oligos tiolados**

Los oligos estándar fueron resuspendidos de acuerdo con las indicaciones del fabricante; brevemente, se centrifugaron levemente y enseguida se les añadió la cantidad adecuada de agua estéril y se agitó suavemente. Por otro lado, para los oligos tiolados fue necesario llevar a cabo una reducción ya que el grupo tiol viene protegido en su forma oxidada, misma que también se llevó a cabo de acuerdo con el protocolo del fabricante. Brevemente, se centrifugaron y se resuspendieron durante 15 minutos en 300  $\mu\text{L}$  de una solución al 2% v/v de trietilamina con 50 mM de DTT (ditiotreitól). Enseguida se lavó cuatro veces con 1.2 mL de acetato de etilo y se separó la fase acuosa.

### **3.6.3. Funcionalización de AuNPs con oligos DNA/3'Tiol**

La funcionalización de las nanopartículas se llevó a cabo siguiendo el método de congelación [31]. Para ello, se preparó una mezcla con AuNPs de 17 nm y los 8 oligos tiolados (DNA/3'Tiol) de los vértices de la estructura cúbica en una relación molar 250:1, DNA:NPs, la cual se dejó en reposo 20 minutos y se sometió a congelación a  $-20^{\circ}\text{C}$  durante 2 horas. La mezcla se descongeló a temperatura ambiente y se centrifugó a 6500 rpm durante 20 minutos, se lavó una vez con agua estéril en las mismas condiciones de centrifugación y se retiró sobrenadante hasta dejar 20  $\mu\text{L}$  del mismo para resuspender AuNPs funcionalizadas. Para su caracterización con DLS y TEM se preparó una dilución 1:10 con agua estéril siguiendo el mismo procedimiento de los puntos 3.5.2 y 3.5.3.

### **3.6.4. Hibridación de cubo de DNA origami y ensamble con AuNPs**

La hibridación del DNA para formar el cubo de origami se llevó a cabo junto con las AuNPs funcionalizadas para que se ensamblaran en el proceso. Para ello, se añadió 20  $\mu\text{L}$  de AuNPs funcionalizadas a un tubo de PCR de 200  $\mu\text{L}$ . Enseguida y en orden se añadió  $\text{MgCl}_2$ , TBE, ssDNA (M13mp18) y la mezcla de 88 grasas de DNA estándar hasta un volumen final de 40  $\mu\text{L}$ , a una concentración final de 12 mM, 1x de  $\text{MgCl}_2$  y TBE, respectivamente, en una relación molar grasas (oligos):ssDNA (andamio) y NPs:ssDNA 200:1 y 8:1, respectivamente. La mezcla se desnaturalizó a  $90^{\circ}\text{C}$

durante 10 minutos, seguido de una disminución de temperatura de 75°C a 27°C en rampa lineal a una velocidad de 0.4°C/min utilizando un minitermociclador.

### **3.6.5. Purificación del ensamble DNA origami – AuNPs**

El producto de la hibridación de DNA origami y AuNPs se cargó en un gel de agarosa al 1% (buffer de corrida TBE/Mg a 1X/12mM y buffer de carga glicerol/DNA stain SYBR green 1x/1x) durante 1 hora a 48 V, utilizando el sistema de electroforesis Bluegel de MINIPCR. Al término, la banda deseada fue cortada con una navaja estéril y el ensamble DNA origami – AuNPs se extrajo utilizando un dispositivo de ultrafiltración Amicon de 50K. La solución recuperada se caracterizó con TEM y espectroscopía UV-Vis siguiendo el mismo procedimiento de los puntos 3.5.1 y 3.5.3.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

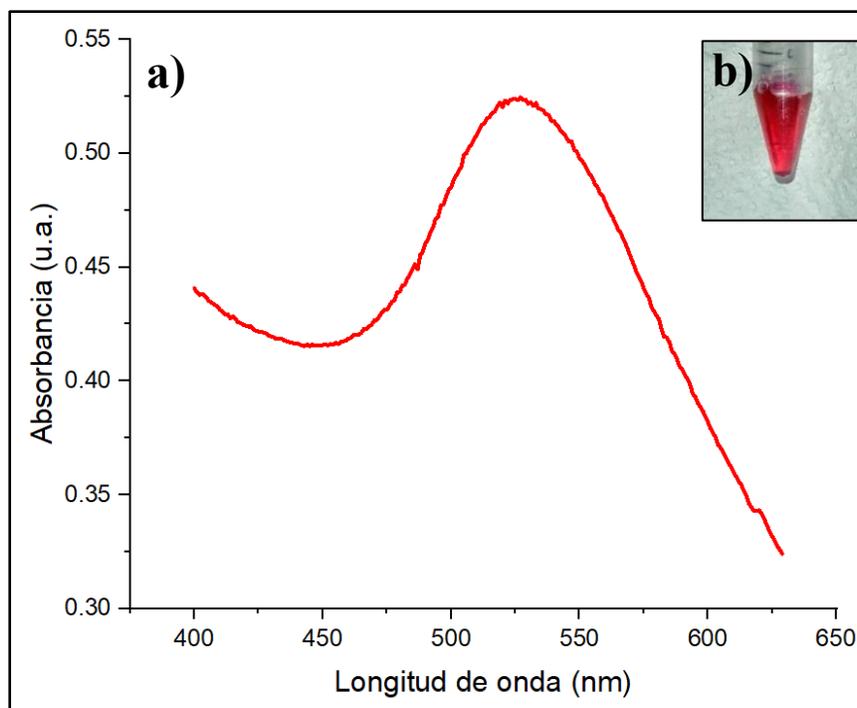
### 4.1. Síntesis y caracterización de nanopartículas de oro

Como se mencionó en el apartado de metodología, se realizaron 328 síntesis de AuNPs para alimentar los modelos de ML, las cuales fueron caracterizadas con las técnicas de DLS y UV-Vis. De manera general y de acuerdo con lo observado en el laboratorio, el parámetro más importante en cuanto a tamaño de NP se refiere, fue el porcentaje de reductor (etanol o metanol, según sea el caso). Más adelante se discuten los resultados de todas las síntesis. La descripción de los parámetros utilizados, así como los resultados de caracterización, para cada una de las síntesis se muestran en el Apéndice A.

A partir de los datos obtenidos del índice de polidispersidad (PDI), tamaño y forma de nanopartícula, y ubicación de la banda del SPR, que a continuación se discutirán para algunos ejemplos, se eligieron las NP más apropiadas para el DNA origami.

#### 4.1.1. *Plasmón de resonancia superficial*

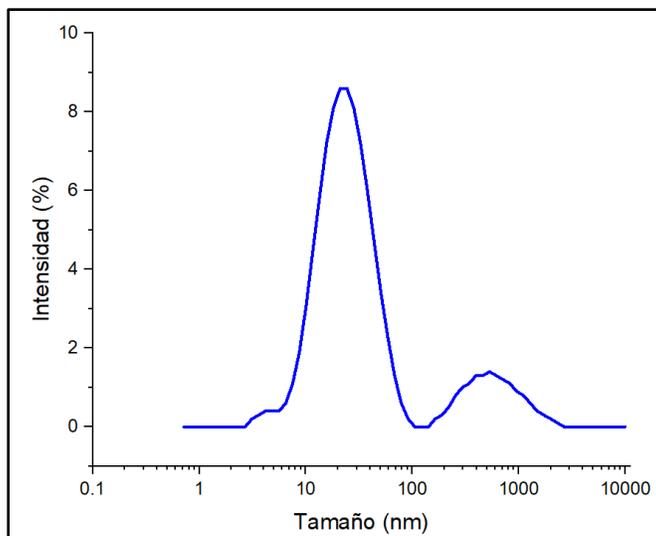
En la figura 14 se muestra el espectro UV-Vis de la síntesis 16 de AuNPs, preparadas por el método libre de tensoactivos. La banda del SPR aparece con un máximo a 527 nm y la solución adquiere un tono rojizo al dispersar la luz a esa longitud de onda. La forma del espectro puede brindarnos información sobre la forma de las partículas, la relación de la absorbancia en el máximo del SPR ( $A_{SPR}$ ) y la absorbancia a 450 nm ( $A_{450}$ ) es de 1.67, que de acuerdo con la literatura [28, 32], indica que las nanopartículas obtenidas son esféricas y tienen un tamaño aproximado entre 15 y 18 nm.



**Figura 14.** Nanopartículas de oro obtenidas con las condiciones de la síntesis 16. a) Espectro UV-vis. b) Fotografía de la solución resultante de la síntesis.

#### 4.1.2. *Tamaño promedio hidrodinámico y polidispersidad de partículas*

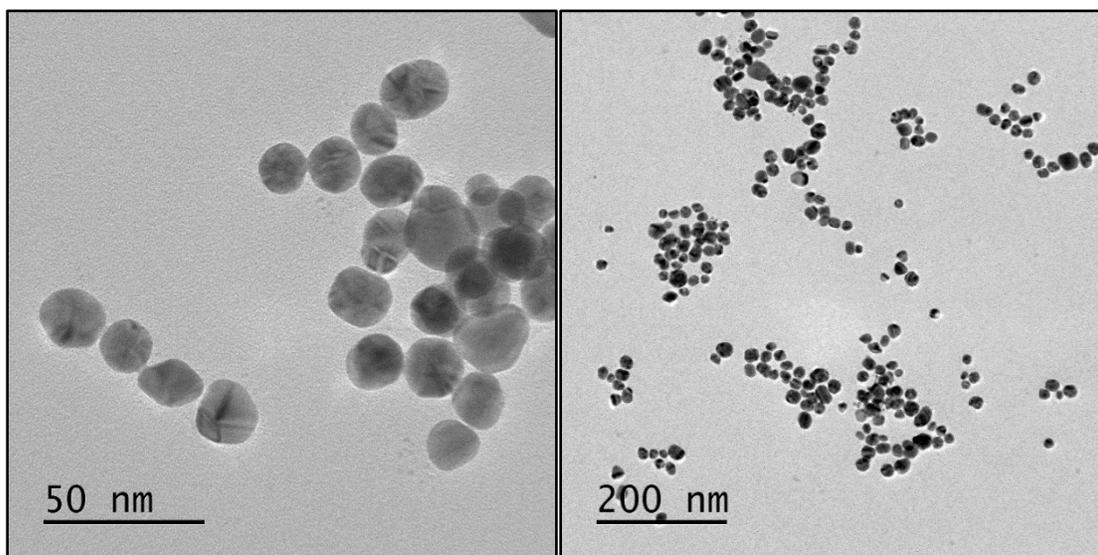
En la figura 15 se muestra el tamaño promedio (radio hidrodinámico) de las nanopartículas de la síntesis 16, obtenido por DLS. Para esta síntesis se presentaron tres poblaciones de tamaños, siendo la predominante la de 26.2 nm representando el 83.9 % de la población total, y otras dos bandas indicando tamaños de 656.0 y 4.1 nm que representan el 14.8 % y el 1.3 %, respectivamente. Este resultado sugiere que la síntesis 16 genera partículas con una polidispersidad moderada.



**Figura 15.** Diámetro hidrodinámico promedio de las nanopartículas de oro (síntesis 16) por DLS.

#### 4.1.3. Microscopía electrónica de transmisión

Las micrografías de TEM (véase figura 16) revelaron que la síntesis produce nanopartículas cuasiesféricas, principalmente (94%). Las NPs tienen un tamaño alrededor de 15-18 nm, de acuerdo con los resultados obtenidos por espectroscopía UV-Vis y DLS.



**Figura 16.** Micrografías de TEM de nanopartículas de oro producidas por la síntesis 16 del método libre de surfactantes.

#### **4.1.4. Datos de síntesis y caracterización de AuNPs para alimentar Machine Learning**

Como se mencionó, se realizaron 328 síntesis de AuNPs modificando los parámetros de reacción, para obtener suficientes datos para los modelos que se emplearon para la técnica de ML, con el fin de obtener los parámetros de síntesis que produzcan partículas esféricas, monodispersas y de tamaño adecuado para su organización en el DNA origami.

Los parámetros experimentales que sirvieron para alimentar los modelos fueron: porcentaje de reductor (%EtOH o %MetOH), concentración final de base (NaOH o KOH) en mM y concentración final de Au en mM. Las variables empleadas como respuesta para el modelo fueron: posición de la banda del SPR, ancho de banda a media altura (FWHM), tamaño hidrodinámico y porcentaje de las poblaciones de partículas, e índice de polidispersidad (PDI), el cual es un índice que entre más cercano a 0 indica monodispersidad y entre más cercano a 1 indica polidispersidad. Estas variables respuesta fueron utilizadas debido a que en conjunto dan la información pertinente para determinar, forma, tamaño y dispersidad de las AuNPs, propiedades que se requieren optimizar para su organización con el DNA origami. Es importante mencionar, que si bien, la técnica de difracción de rayos X es excelente para determinar forma de NPs, no se utilizó para el presente proyecto debido al tiempo y recursos que hubiera representado caracterizar 328 síntesis (mismo caso para microscopía electrónica de transmisión).

A continuación, se muestran las condiciones experimentales y resultados de caracterización para las primeras 10 síntesis de AuNPs (véase tabla 1). Para ver las condiciones de cada una de las 328 síntesis, véase Apéndice A.

**Tabla 1.** Datos de condiciones experimentales y resultados de caracterización de las primeras 10 síntesis de AuNPs para alimentar los modelos de ML. Para los experimentos que no produjeron nanopartículas se consideraron los resultados de caracterización como “0” ya que este representa síntesis nula para el modelo.

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp1	0	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp2	10	0	2	0	0.5	581	160.3	99.29	100	0	0	0	0	0.417
Exp3	20	0	2	0	0.5	525	54.3	258	57.3	47.74	42.7	0	0	0.538
Exp4	30	0	2	0	0.5	550	207.4	156.6	87.1	17.25	9.6	4345	3.3	0.506
Exp5	40	0	2	0	0.5	622	288.1	627.2	100	0	0	0	0	0.301
Exp6	15	0	2	0	0.5	533	58.2	118.2	83.7	16.56	7.9	5.32	7.3	0.541
Exp7	50	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp8	60	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp9	70	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp10	0	15	2	0	0.5	535	56.2	97.73	100	0	0	0	0	0.442

<sup>a</sup> porcentaje en volumen de EtOH

<sup>b</sup> porcentaje en volumen de MetOH

<sup>c</sup> concentración de NaOH (mM)

<sup>d</sup> concentración de KOH (mM)

<sup>e</sup> concentración de Au (mM)

<sup>f</sup> longitud de onda del máximo de la banda del SPR (nm)

<sup>g</sup> ancho de banda a media altura (nm)

<sup>h</sup> radio hidrodinámico de NP (nm)

<sup>i</sup> índice de polidispersidad

Cabe mencionar que las AuNPs obtenidas con las condiciones de la síntesis 16 son las que se emplearon para su organización en el DNA origami dado que resultaron en nanopartículas mayormente esféricas, de tamaño y dispersidad adecuado para el ensamble DNA origami – AuNPs.

#### 4.1.5. Resultados en el modelado de Machine Learning

Se puede observar en la tabla 2 cuál fue el mejor modelo para predecir diferentes variables relacionadas con las características de las nanopartículas. Los parámetros que determinan la precisión y la capacidad de predicción de un modelo son el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y el error cuadrático medio (MSE). Un valor de  $R^2$  cercano a 1 indica una fuerte correlación entre las variables predichas y los valores reales, mientras que un MSE bajo señala una menor discrepancia entre las predicciones y los valores observados.

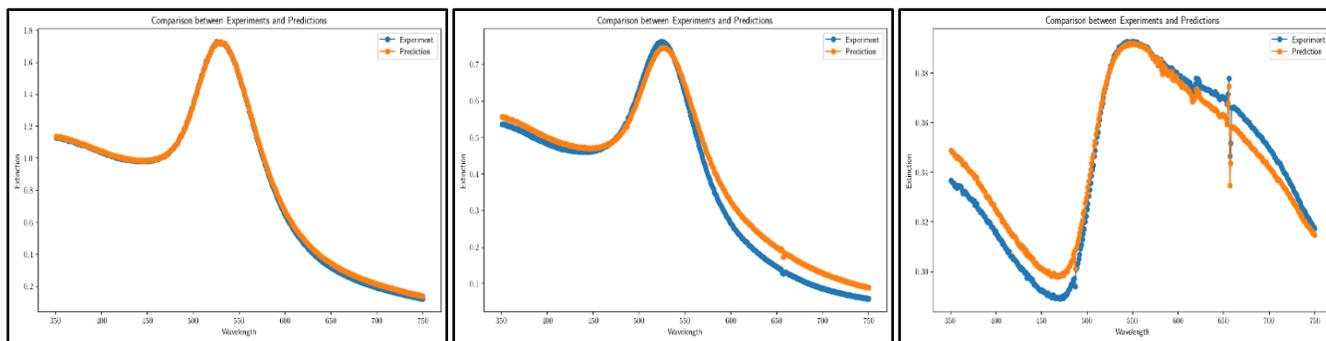
**Tabla 2.** Resultados de los modelos empleados en la predicción de las variables respuesta en la síntesis de nanopartículas de oro.

Variable respuesta	Mejor modelo	R <sup>2</sup>	MSE
PDI	Random Forest	0.900	0.006
FWHM	Regresión con análisis de componentes principales	0.91	0.01
SPR	Random Forest	0.73	0.01
Absorbancia	Random Forest	0.96	0.002

De acuerdo con los resultados presentados, el modelo Random Forest demostró ser el mejor predictor para tres de las variables analizadas: PDI, SPR y Absorbancia. En el caso de PDI, se obtuvo un coeficiente de determinación de 0.90, lo que indica una buena predicción, con un MSE de 0.006. La predicción de SPR mostró un coeficiente de determinación más bajo (0.73) con un MSE de 0.01, indicando una menor precisión relativa en comparación con las otras variables.

Por otro lado, el mejor desempeño en la predicción de FWHM se logró mediante un modelo de regresión con análisis de componentes principales (PCA), con un R<sup>2</sup> de 0.91 y un MSE de 0.01.

Se destaca la variable Absorbancia, para la cual el modelo de Random Forest mostró la mejor capacidad predictiva, con un coeficiente de determinación de 0.96 y un error cuadrático medio de 0.002. Para ilustrar la precisión del modelo, se presentan gráficas comparativas que muestran los espectros UV-Vis correspondientes a las curvas por el modelo (color naranja) contra los valores experimentales reales (color azul) (véase figura 17).



**Figura 17.** Comparación de las absorbancias resultado del modelaje de ML (naranja) vs absorbancias resultado experimental (azul). La gráfica de la izquierda representa la síntesis 16, mientras que la del centro y derecha corresponden a las síntesis 142 y 86, respectivamente.

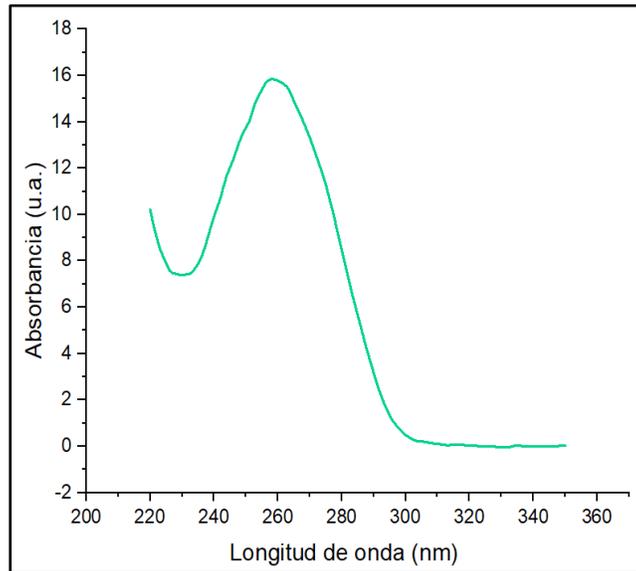
Las gráficas revelan que las curvas de absorción generadas a partir de las predicciones se superponen casi completamente con las curvas experimentales, incluso cuando las condiciones experimentales no resultan en nanopartículas esféricas o muestras monodispersas, lo que indica una alta concordancia entre ambos conjuntos de datos (predicción vs experimental). Esto revela que el modelo de Random Forest, para la variable Absorbancia puede predecir con precisión espectros UV-Vis de síntesis de AuNPs futuras introduciendo únicamente condiciones experimentales, sin la necesidad de realizar la síntesis.

## 4.2. Caracterización de DNA de cadena sencilla

### 4.2.1. Concentración y pureza

Empleando el método de espectroscopía UV-Vis, se obtuvo la concentración y la pureza del DNA de cadena sencilla. El espectro mostró un máximo a 260 nm, característica del DNA [33]. A partir del espectro y empleando la ley de Beer-Lambert, la concentración se calculó en 520.5 ng/ $\mu$ L (véase figura 18) lo cual confirma que se logró obtener una muestra concentrada de ssDNA, adecuada para su uso en aplicaciones posteriores.

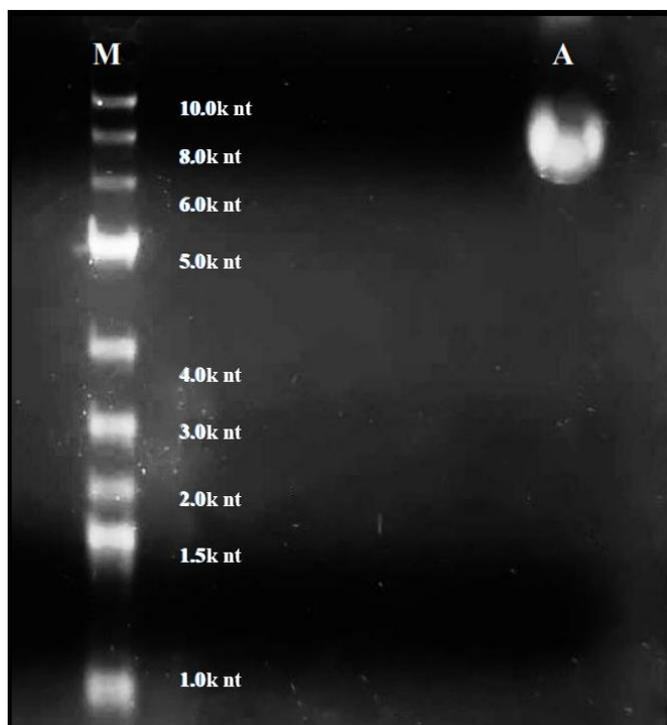
Además, la relación de absorbancia a 260 nm ( $A_{260}$ ) y 280 nm ( $A_{280}$ ) se calculó en 1.86. Este valor es consistente con el esperado para muestras de DNA puro, que generalmente se sitúa entre 1.8 y 2 [34]. Una relación  $A_{260}/A_{280}$  de 1.8 sugiere que el ssDNA está libre de contaminantes significativos, como proteínas u otros compuestos que podrían interferir en las reacciones de interés.



**Figura 18.** Espectro UV-Vis de la muestra purificada de ssDNA del fago M13 cepa M13mp18.

#### **4.2.2. Integridad del DNA de cadena sencilla**

Una vez purificado el DNA, se corrió un gel de agarosa para verificar su tamaño. Los resultados mostraron una banda bien definida correspondiente a la muestra de ssDNA, la cual se ubicó entre las bandas de 6,000 y 8,000 nucleótidos del marcador (véase figura 19). Esta localización concuerda con la longitud esperada de 7249 nucleótidos del fago M13, lo que indica que el ssDNA purificado se mantuvo íntegro durante el proceso de extracción. La curvatura de la banda se debe a la alta concentración en la que se encontraba el DNA.

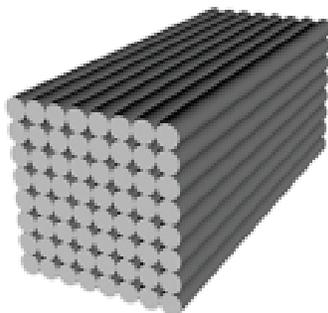


**Figura 19.** Gel de agarosa 0.8 %. En el pozo indicado como M se cargó el marcador 1kb plus DNA Ladder, de lado derecho se indica el tamaño en nt de los fragmentos del marcador. En el pozo A se depositó la muestra de ADN de M13. La forma curvada de la banda se debe a que fue una muestra altamente concentrada.

### 4.3. Diseño de cubo de ADN origami

#### 4.3.1. Patrón de plegamiento de la molécula de ssDNA

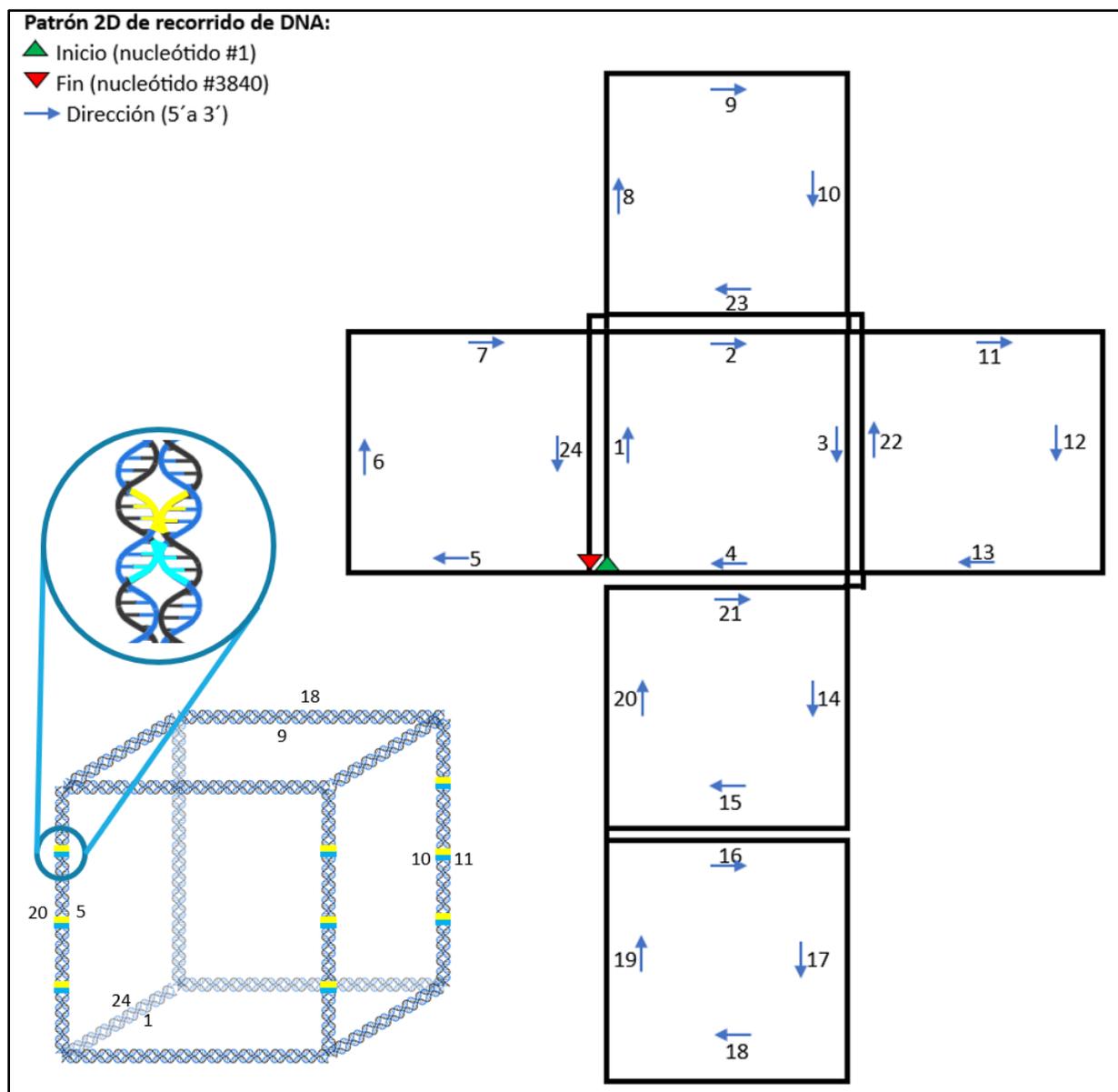
La mayoría de los autores que trabajan con el plegamiento de moléculas de ADN utilizan un software llamado CaDNAno el cual permite ingresar el patrón de plegamiento deseado del ADN con el que se trabajará y en automático arroja las secuencias de las grapas y su posición óptima para obtener la estructura deseada. Sin embargo, una de las desventajas de dicho programa es que exige que el plegamiento del ADN sea en planos 2D, por lo que si se desea crear cuerpos tridimensionales la única forma es con la superposición de varias “hojas” de ADN (véase figura 20) lo que requiere el empleo de un gran número de grapas, resultando en un método poco eficiente desde el punto de vista económico.



**Figura 20.** Nanoestructura de ocho capas de DNA formando un cubo sólido. Tomado y adaptado de la referencia [34].

Por ello, en el presente trabajo se muestra una idea de diseño de cubo en la cual se utilizó el DNA únicamente en las aristas del cuerpo, resultando en una estructura tipo alambre. Se empleó DNA proveniente del fago M13 cuyo genoma es una molécula circular de DNA de cadena sencilla (ssDNA), el cual es la plataforma ideal para la técnica de origami. Esta molécula se pliega de forma que cada una de las aristas de la estructura cúbica cuenta con dos cadenas de DNA, una que va en sentido 5' a 3' y la otra en sentido contrario. Esto para que los surcos mayores de la estructura del DNA sean los que se encuentren y entren en contacto. En este diseño cada una de las aristas cuenta con 160 nucleótidos, dándole al cubo una longitud por lado de aproximadamente 53 nm y facilitando la adición de grapas en múltiplos de 8, ya que cada 8 nucleótidos se favorece el acercamiento de los surcos mayores de la estructura del DNA. Esta longitud está dada para que se puedan acoplar AuNPs de entre 10 y 25 nm, que es el tamaño aproximado resultante del método de síntesis libre de tensoactivos.

A partir de la secuencia de M13mp18 e iniciando la estructura del cubo a partir del nucleótido 1 se obtuvo el siguiente esquema (véase figura 21).

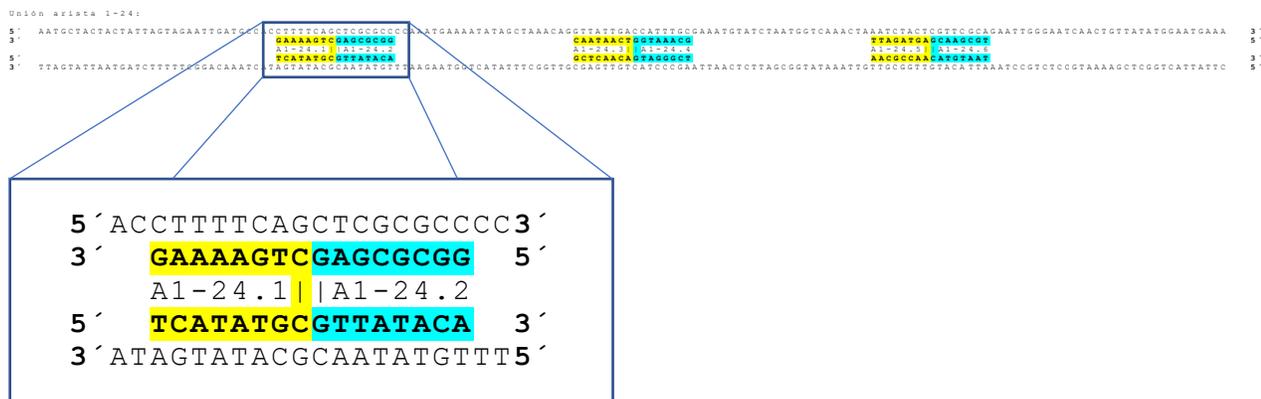


**Figura 21.** Esquematación del plegamiento de la molécula de ssDNA para formar la estructura cúbica de origami. Las flechas indican la dirección 5' a 3' del DNA, mientras que los números son la arista consecutiva que forma el DNA al plegarse, las zonas marcadas en amarillo y cian representan una grapa diferente. Imagen creada con Biorender.com

### 4.3.2. Oligos (grapas) para aristas del cubo

En la figura 22 se muestra la unión de dos cadenas que forman una arista de la estructura cúbica, en específico la unión de la arista 1 con la 24. Las grapas tienen una extensión de 16 nucleótidos de forma que 8 se hibridan a la cadena que representa la arista 1, y los otros 8 se hibridan a la secuencia que representa la arista 24. Dos grapas se posicionan encontradas para asegurar el acercamiento de las dos

cadenas de DNA. Así pues, por arista hay 3 pares de grapas separadas por 24 nucleótidos. En total, por las 12 aristas del cuerpo se diseñaron 72 grapas. La nomenclatura de las grapas se conforma por la primera letra de su posición en la estructura, que puede ser A si va en una arista o V si va en un vértice; seguido del número de las dos aristas que une, separado por un guion; finalmente el número consecutivo de la grapa en esa unión después de un punto.

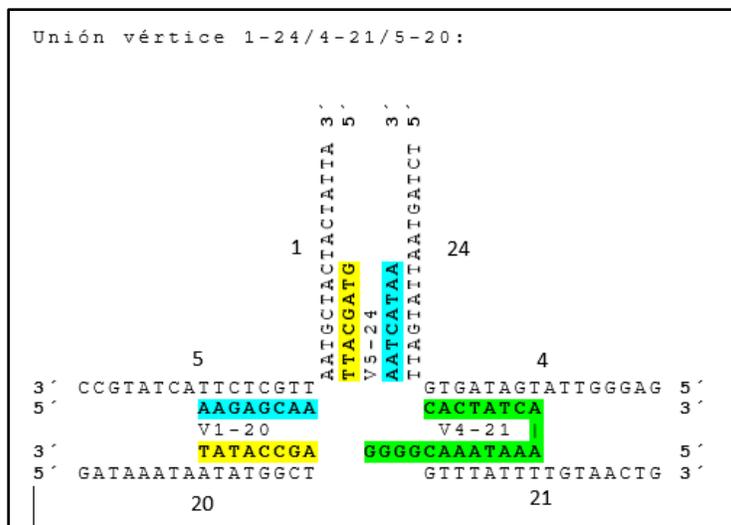


**Figura 22.** Modelo de la construcción de grapas que se colocan en las aristas para plegar el ssDNA (M13mp18) en forma de cubo. El color amarillo indica una grapa, y el color cian otra grapa distinta. Los nombres A1-24.1 y A1-24.2 de las grapas indican que son la grapa 1 y 2 de la unión de las aristas 1 con la 24.

Para visualizar el posicionamiento de las grapas en todos los pares de aristas que conforman el cubo, el listado de grapas y sus secuencias diseñadas para las aristas, así como las secuencias del genoma que conforman las aristas, véase el Apéndice B.

#### 4.3.3. Oligos (grapas) para vértices del cubo

Para cada uno de los vértices del cubo se diseñaron tres grapas, dos que sirven para mantener las cadenas de DNA unidas mediante pares de Watson-Crick y una funcionalizada con un grupo tiol en el extremo 3' para unir las AuNPs a la estructura de DNA. En total son 8 vértices y por tanto 24 oligos, de los cuales 8 son funcionalizados con grupos tioles y 16 son estándar. A continuación, se presenta un ejemplo de las secuencias de las grapas para uno de los vértices (véase figura 23).



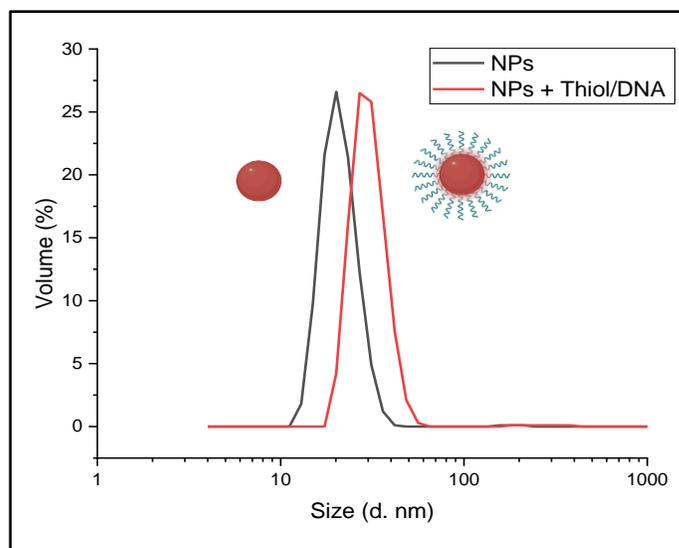
**Figura 23.** Modelo de la construcción de grapas que se colocan en los vértices para plegar el ssDNA (M13mp18) en forma de cubo. El color amarillo indica una grapa, el color cian otra grapa distinta y el color verde es para la grapa funcionalizada con el grupo tiol. V1-20 indica grapa de vértice que une arista 1 con arista 20, V5-24 indica grapa de vértice que une arista 5 con arista 24, y V4-21 indica grapa de vértice que une arista 4 con arista 21.

Para visualizar el posicionamiento de las grapas en todos los vértices que conforman el cubo, el listado de grapas y sus secuencias diseñadas para los vértices véase el Apéndice B.

#### 4.4. AuNPs funcionalizadas con oligos DNA/3'Tiol

##### 4.4.1. Diámetro hidrodinámico de partículas funcionalizadas (DLS)

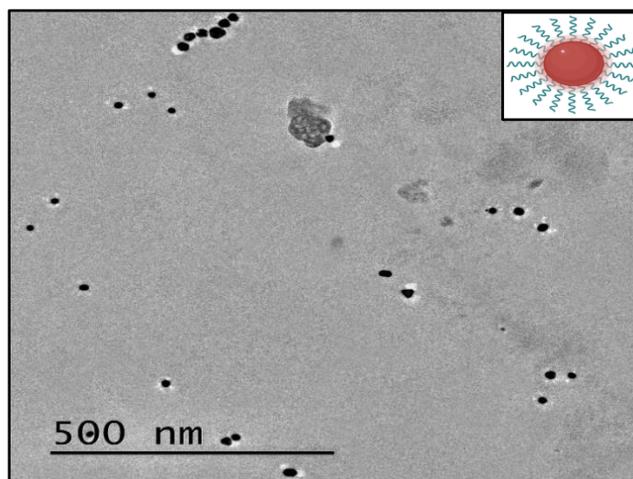
Para el posicionamiento de las AuNPs en la estructura del DNA es necesario funcionalizar a las NPs con los oligos que contienen al grupo tiol (SH). La funcionalización de las AuNPs con los oligos se estudió por DLS. La figura 24 muestra cómo el tamaño de las AuNPs tal como se sintetizaron es menor a aquellas funcionalizadas con los oligos de DNA tiolados. Las AuNPs muestran un diámetro de alrededor de 20 nm mientras que, con las cadenas de DNA adheridas, muestran un diámetro cercano a 28 nm, lo cual tiene sentido considerando que los oligos tiolados tienen 20 nucleótidos, por tanto, una longitud de 6.7 nm, y que el equipo detecta el diámetro hidrodinámico de las partículas (diámetro NP + doble capa).



**Figura 24.** Gráfico de distribución de tamaños resultantes por DLS, para AuNPs sin funcionalizar vs AuNPs funcionalizadas con oligos tiolados. (Esquemización de AuNPs y oligos creada con Biorender.com)

#### 4.4.2. Micrografías de TEM de partículas funcionalizadas

Las micrografías de las AuNPs funcionalizadas muestran los oligos de DNA tiolados adheridos a la superficie de cada nanopartícula. Dado que el DNA está compuesto por elementos lejanos en masa atómica (materia orgánica: C, N, P y H) a las NPs (metal: Au), el contraste en la imagen es perceptible, los oligos se perciben como hebras blancas que forman un aura alrededor de cada nanopartícula (véase figura 25).

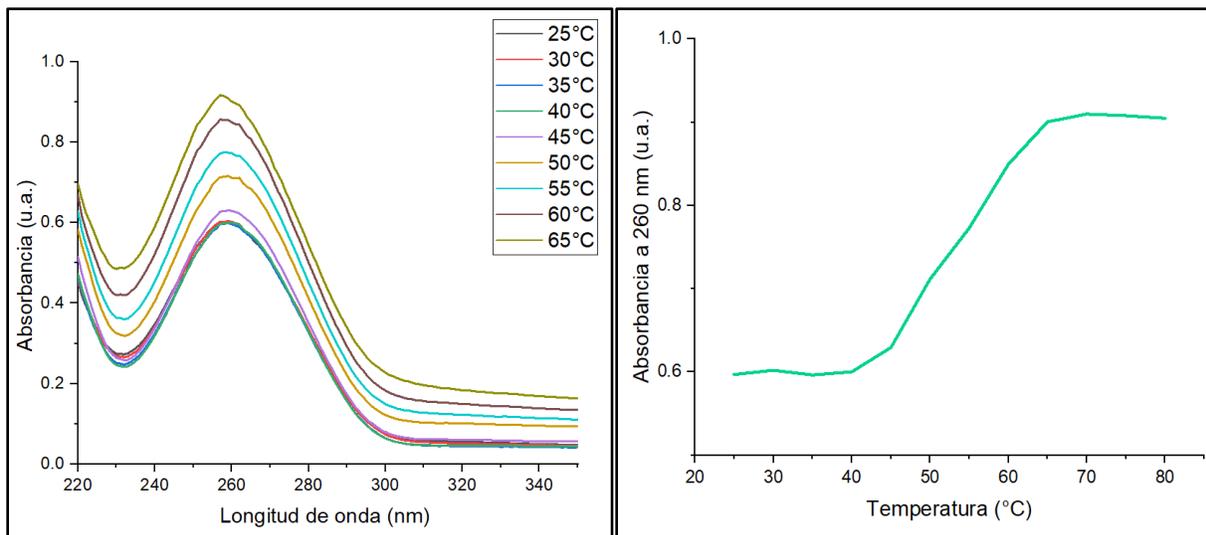


**Figura 25.** Micrografía de TEM mostrando AuNPs funcionalizadas con oligos tiolados. (Esquemización de AuNP con oligos creada en Biorender.com)

## 4.5. Ensamble DNA origami – AuNPs

### 4.5.1. Prueba de hibridación de oligos (grapas)

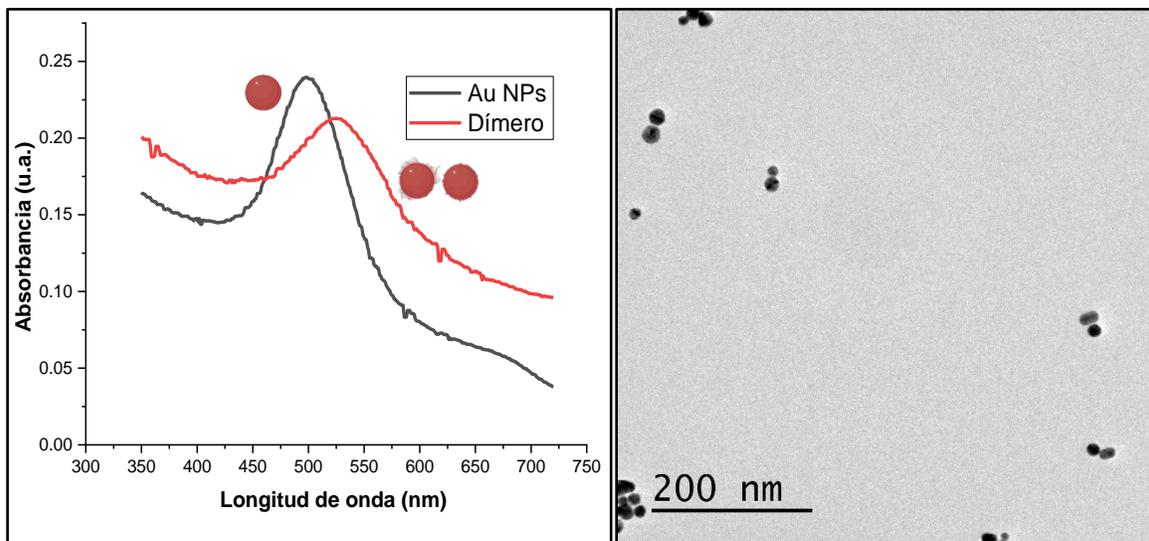
Para verificar que las secuencias de los oligos que son complementarias se estuvieran hibridando, se realizó una prueba de hibridación utilizando únicamente dos oligos con secuencias complementarias. Dichos oligos se mezclaron equimolarmente utilizando buffer TAE 1x, esta mezcla se calentó desde 25°C a 80°C en rampa lineal a 1°C/min utilizando el sistema peltier del espectrofotómetro UV-Vis HP. La absorbancia a 260 nm; que es la longitud de onda a la que absorbe el DNA se registró cada 2.5 °C. Dado que, según la literatura [35], el coeficiente de extinción molar del DNA de cadena sencilla es mayor que el de doble cadena, se esperaba que, a medida que las cadenas hibridadas se separan por el incremento de temperatura, la absorbancia aumente. La progresión de espectros mostró que efectivamente la absorbancia aumenta debido a que las cadenas de oligos se desnaturalizan (separan) a medida que la temperatura se eleva (véase figura 26). La gráfica de la absorbancia a 260 nm vs temperatura muestra claramente el comportamiento tipo sigmoideal del aumento de la absorbancia en función de la temperatura, en la cual puede observarse el punto de inflexión alrededor de 54°C que corresponde a la temperatura de *melting* ( $T_m$ , temperatura en la que el 50% de las copias de DNA se encuentran hibridadas), que es cercana a la calculada de forma teórica (50°C).



**Figura 26.** Espectros UV-Vis de oligo de doble cadena sometido a varias temperaturas, y evolución de su absorbancia a 260 nm. Secuencia del oligo: CATATGGTAATAAAAATTGGCTAAGTA.

#### 4.5.2. Prueba de hibridación de AuNPs funcionalizadas con oligos tiolados (DNA/3'Tiol)

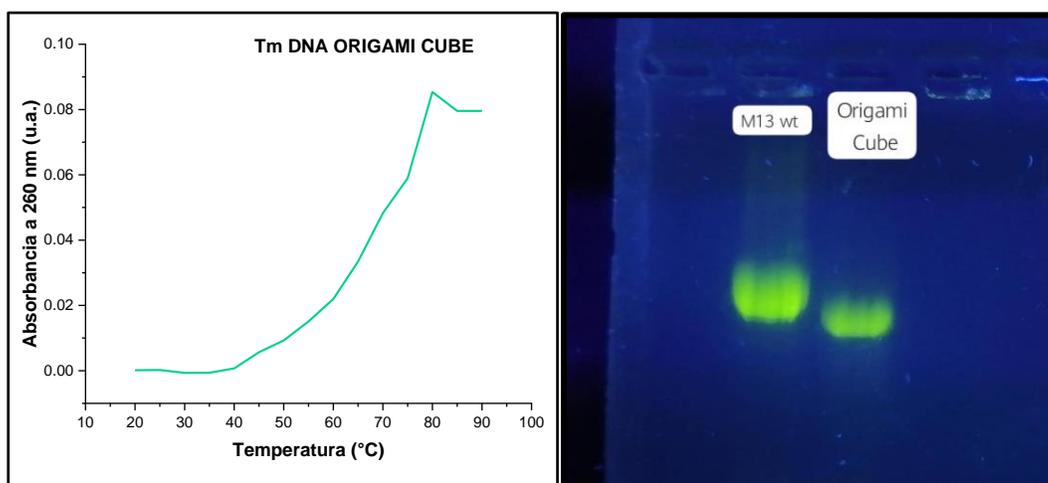
Una vez comprobado que los oligos se hibridan y que las AuNPs se unen al grupo tiol de los oligos, se realizó una prueba para verificar ahora que las cadenas de DNA de las AuNPs funcionalizadas se hibridan y, por tanto, controlan la posición de las nanopartículas. Dicha prueba consistió en funcionalizar nanopartículas con dos oligos tiolados complementarios que posteriormente se hibridaron para producir dímeros. Los dímeros se caracterizaron con espectroscopía UV-Vis y TEM (véase figura 27). Los espectros mostraron que existe una diferencia en el máximo del SPR alrededor de 500 nm para AuNPs aisladas y de 540 nm para el dímero denotando un corrimiento hacia el rojo. Este corrimiento es una característica del acoplamiento de plasmones entre las AuNPs que conforman el dímero. Las nanopartículas en el dímero se encuentran a una distancia suficientemente corta como para permitir este fenómeno de acoplamiento de sus plasmones superficiales, lo que genera un modo plasmónico colectivo. Esto causa una reducción en la energía de resonancia, o lo que es lo mismo, un desplazamiento hacia el rojo en el espectro de absorción [36, 37]. El resultado de microscopía electrónica mostró que efectivamente se estaban formando los dímeros de AuNPs.



**Figura 27.** Espectros UV-Vis de AuNPs solas vs dímeros de AuNPs, y micrografía de TEM de los dímeros producidos. (Esquemmatización de AuNP y dinero de AuNPs creada con Biorender.com)

### 4.5.3. Hibridación de cubo de DNA origami

La formación de la estructura cúbica tipo alambre se realizó mediante la hibridación del ssDNA (andamio) y las grapas como se describe en el apartado 3.6.4. La obtención del cubo se analizó por espectroscopía UV-Vis, mediante el registro de los espectros de 25°C a 80°C a una velocidad de 1°C/min utilizando el sistema peltier del equipo, las mediciones se hicieron cada 2.5°C a la absorbancia de 260 nm. El producto obtenido de este proceso se estudió por electroforesis en gel de agarosa. La absorbancia a 260 nm del cubo de DNA mostró un incremento a medida que aumentó la temperatura, teniendo dos pendientes con diferentes  $T_m$ : uno cercano a 50°C y otro cercano a 68°C, lo cual coincide con las  $T_m$  más frecuentes en los 96 oligos y también indica que existe una hibridación de los oligos al ssDNA (M13mp18) ya que, como se mencionó, el DNA de cadena sencilla tiene un coeficiente de extinción mayor que el DNA de doble cadena, es decir, es hipocrómico; además de que por la cantidad de oligos empleados y que se están hibridando, hay un ensanchamiento en la tendencia tipo sigmoïdal de la gráfica [38]. Por otro lado, las bandas de DNA en el gel de agarosa mostraron que existe una diferencia en la velocidad de migración entre el andamio de ssDNA y el cubo de DNA origami, sugiriendo que hay una topología diferente (véase figura 28) debida al plegamiento del andamio provocado por la hibridación de las grapas, de tal manera que la estructura se “compacta” avanzando a mayor velocidad. Esta diferencia en la migración ha sido observada por otros autores [39, 40] quienes producen estructuras con DNA origami similares y también observan una migración más rápida del origami que la del andamio.

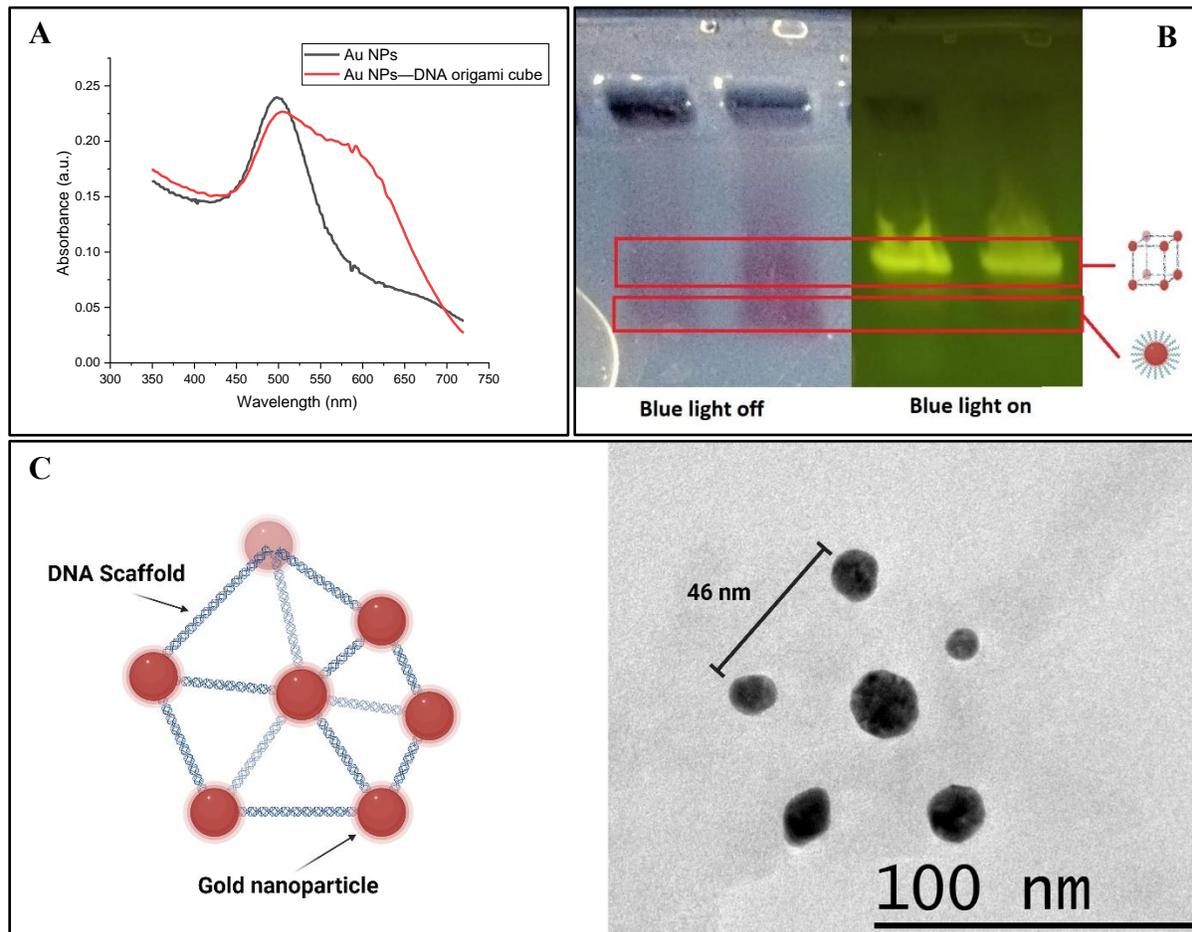


**Figura 28.** Evolución de la absorbancia a 260 nm del cubo de origami a diferentes temperaturas, y gel de agarosa con una muestra de ssDNA (M13mp18) y una muestra del cubo de DNA origami.

#### 4.5.4. Ensamble de AuNPs al cubo de DNA origami

Como se mencionó en la metodología, el ensamble resultante DNA origami – AuNPs se caracterizó con las técnicas de electroforesis, espectroscopía UV-Vis y TEM. El espectro de UV-vis del ensamble mostró dos máximos para el SPR, uno alrededor de 500 nm y otro cercano a 575 nm (véase figura 29-A) lo cual se puede atribuir al acoplamiento del plasmón de las partículas aisladas con el plasmón longitudinal de la estructura cúbica por la cercanía de las nanopartículas entre sí [41]. De separarse más las AuNPs, el segundo plasmón se iría desplazando hacia el azul hasta unificarse con el de las partículas aisladas, mientras que, a medida que se juntan, los dos plasmones se definen mucho más y el longitudinal se desplaza más hacia el rojo.

El gel de agarosa mostró dos bandas de nanopartículas (véase figura 29-B): una que migró a la par del DNA (indicando que son las que se ensamblaron a la estructura de origami) y otra que migró más rápido indicando que son NPs aisladas que no se unieron al DNA (lo que evidencia que hubo nanopartículas restantes no ensambladas); esto se verificó visualizando las mismas muestras, pero en presencia de un fluoróforo que en presencia de DNA emite en el verde. Esta misma muestra se analizó por microscopía electrónica mostrando que las AuNPs sí se organizaron en las estructuras deseadas formadas por el cubo de DNA origami (véase figura 29-C). En la figura 29-C se observa la esquematización del cubo visualizado en la micrografía dando lugar a un cubo ligeramente “deformado” con aristas de 46 nm. Si bien, el modelo diseñado, de forma teórica tiene aristas de 53 nm, la distancia de 46 nm de la micrografía se debe a la orientación del cubo y a la poca rigidez de las cadenas.



**Figura 29.** Caracterización del ensamble DNA origami – AuNPs. A) Espectro UV-Vis de AuNPs solas vs ensamble DNA origami – AuNPs. B) Gel de agarosa del ensamble DNA origami – AuNPs, en ambos pozos se cargó la misma muestra, del lado izquierdo se visualizan las bandas de las NPs en rojo y del lado derecho excitando al fluoróforo para observar las bandas de DNA. C) Micrografía de TEM del ensamble DNA origami – AuNPs comparado con la esquematización de su arreglo. (Esquematizaciones creadas con Biorender.com)

#### 4.5.5. Rendimiento de ensamble DNA origami – AuNPs

El rendimiento de la producción de estructuras cúbicas se expresa como “% AuNPs ensambladas” y se calculó con el promedio del porcentaje de AuNPs ensambladas de 10 micrografías de TEM de la muestra del ensamble DNA origami – AuNPs de la siguiente manera:

$$\% \text{ AuNPs ensambladas} = \frac{\# \text{ AuNPs ensambladas}}{\# \text{ AuNPs totales}} (100)$$

Obteniendo así, un rendimiento promedio del **61.8 %**.

Resulta entonces importante destacar que, si bien, las AuNPs se organizaron en los cubos de DNA origami, es necesario seguir trabajando en la optimización del proceso para mejorar el rendimiento, misma que por la duración del plan de estudios para maestría, se sigue efectuando fuera del periodo de esta tesis.

## 5. CONCLUSIONES

Las AuNPs se sintetizaron por un método libre de tensoactivos. Se realizaron 328 variantes de este método para evaluar la importancia de los parámetros experimentales en la obtención de NPs esféricas, monodispersas y con un diámetro aproximado de 20 nm. La evaluación mediante *Machine Learning* arrojó que el modelo Random Forest era más apropiado para predecir tres de las variables respuesta: PDI, SPR y Absorbancia. Incluso el modelo Random Forest predijo adecuadamente los espectros UV-Vis de síntesis de AuNPs solo con introducir datos experimentales, evitando la síntesis y con ello, ahorrando tiempo y recursos.

Se logró amplificar y purificar el DNA de cadena sencilla del fago M13 de forma exitosa, el genoma estaba intacto ya que contenía los 7249 nucleótidos de acuerdo con los resultados de electroforesis. El ssDNA se obtuvo de manera pura resultando adecuado para su empleo como andamio en la técnica de DNA origami.

Se diseñaron manualmente 96 grapas, (88 estándar y 8 con grupos tioles en el extremo 3') que se hibridaron al ssDNA para producir la estructura cúbica de DNA origami.

Las nanopartículas de oro fueron funcionalizadas exitosamente con cadenas de DNA tioladas y se lograron producir dímeros, comprobando que las cadenas de DNA pueden controlar su ordenamiento empleando oligos con secuencias complementarias.

La síntesis 16 de nanopartículas de oro permitió su uso directo con la técnica de DNA origami sin la necesidad de añadir un paso de desplazamiento o remoción de tensoactivos a la metodología aquí descrita, haciendo el proceso más rápido y disminuyendo el tiempo en el laboratorio.

Se ha introducido un nuevo método para crear estructuras cúbicas tipo alambre empleando la técnica de DNA origami y utilizando un mínimo de grapas. Este cubo de DNA permitió organizar nanopartículas de oro, lo cual puede ser utilizado como un nuevo método para, en el futuro, construir supercristales tridimensionales.

## 6. PERSPECTIVAS

La metodología empleada para el ensamble de DNA origami – AuNPs puede mejorarse y optimizarse en la búsqueda de mejores rendimientos, modificando parámetros como tiempos de hibridación, tasa de cambio de temperatura, relación DNA:Grapas:AuNPs, buffer, etc. Es deseable un mejor entendimiento del principio de funcionamiento de la técnica de DNA origami para producir estructuras más estables.

De validarse el empleo de *Machine Learning* en la síntesis de nanopartículas de oro, se puede retar al modelo y hacer una optimización para que prediga no solo la curva de absorción sino los datos numéricos óptimos de cada variable. Además, se puede transportar a futuro a la creación de un software de diseño de grapas para estructuras tridimensionales tipo alambre de DNA origami.

Una vez comprobado que se pueden organizar las nanopartículas de oro en celdas unitarias cúbicas, empleando DNA origami, se pueden crear ahora otro tipo de estructuras cristalinas, como cúbica centrada en la cara, cúbica centrada en el cuerpo, hexagonal, etc. Y más aún, sería posible ensamblar estas celdas para producir supercristales. Resultaría interesante continuar con la exploración de las propiedades ópticas de los arreglos de nanopartículas para profundizar nuestro conocimiento respecto del acoplamiento de plasmones según la distancia inter-partícula y su distribución espacial.

## REFERENCIAS

- [1] C. Gutierrez *et al*, “Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial”, *App. Phys. A*, (2001) 70, 237-243
- [2] S. Estrada *et al*, "Nanomateriales: conceptos, aplicación en nanoterapia y regulaciones" *QuímicaViva*, vol. 22, no.1, febrero 2023. Consultado: 4 enero 2024. [En línea]. Disponible: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar/v22n1/E0242.pdf>
- [3] C. Guozhong, "Nanostructures & nanomaterials, synthesis, properties and applications", London: Imperial College Press , 2004.
- [4] E. Roduner, “Size matters: why nanomaterials are different”, *Chem. Soc. Rev.*, 2006, 35, 583–592. doi: 10.1039/b502142c
- [5] M. Gómez, "Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde" *Repertorio de Medicina y Cirugía*, vol 27, no. 2, abril 2018. Consultado: 4 enero 2024 [En línea]. Disponible: <https://revistas.fucsalud.edu.co/index.php/repertorio/article/view/191/173>
- [6] H. Huang *et al*, “Pulsed laser ablation of bulk target and particle products in liquid for nanomaterial fabrication,” *AIP Adv*, vol. 9, no. 1, p. 015307, 2019. doi: 10.1063/1.5082695.
- [7] D. Zhang *et al*, “Laser Synthesis and Processing of Colloids: Fundamentals and Applications,” *Chem Rev*, vol. 117, no. 5, pp. 3990–4103, 2017, doi: 10.1021/ACS.CHEMREV.6B00468
- [8] M. Jeyaraj *et al*, “A comprehensive review on the synthesis, characterization, and biomedical application of platinum nanoparticles,” *Nanomaterials*, vol. 9, no. 12. MDPI AG, 2019. doi: 10.3390/nano9121719.
- [9] S. Bhatia. “Natural Polymer Drug Delivery Systems: Nanoparticles, Plants and Algae”, Springer, 2016, pp. 33-70.
- [10] C. Luna *et al*, “Fenómenos físicos de las nanopartículas de oro”, *Celerinet*, vol 1, pp 97-103, 2013. Consultado: 7 de febrero de 2024 [En línea]. Disponible: <http://eprints.uanl.mx/id/eprint/3540>

- [11] D. Cruz *et al*, “Nanopartículas metálicas y plasmones de superficie: una relación profunda”, *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol 3, núm 2, pp 67-78, 2012. Consultado: 7 de febrero de 2024 [En línea]. Disponible: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=323627686007>
- [12] E. Gélvez, L Guerra, “Resonancia de plasmones superficiales propagantes en sistemas film metálicos utilizando la configuración de kretschmann”. REDSI, ISSN 2711-3892. Consultado: 7 de febrero de 2024 [En línea]. Disponible: [https://revistas.unipamplona.edu.co/ojs\\_viceinves/index.php/SEMINVE/article/view/4699/2746](https://revistas.unipamplona.edu.co/ojs_viceinves/index.php/SEMINVE/article/view/4699/2746)
- [13] De Aleksandar Kondinski, “Colloidal Gold” kondinski.webs.com, CC BY-SA 4.0, Consultado: 10 febrero de 2024 [En línea]. Disponible: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=8890972>
- [14] M. Eguchi *et al*, “Simple reductant concentration-dependent shape control of polyhedral gold nanoparticles and their plasmonic properties”, *Langmuir* 2012, 28, 9021–9026. doi: 10.1021/la3002114
- [15] R. Sardar *et al*, “Gold nanoparticles: Past, present, and future”, *Langmuir* 2009, 25(24), 13840–13851. doi: 10.1021/la9019475
- [16] Y. Kumar *et al*, “Functionalized nanoparticles: Tailoring properties through surface energetics and coordination chemistry for advanced biomedical applications”, *Nanoscale*, 2023, 15, 6075-6104. doi: 10.1039/D2NR07163K
- [17] K Shivan *et al*, “Emergent properties in supercrystals of atomically precise nanoclusters and colloidal nanocrystals” *Chem. Commun.*, 2022, 58, 6998-7017. doi: 10.1039/d2cc00778a
- [18] C, Liao *et al*, “Formation of Diverse Supercrystals from Self-Assembly of a Variety of Polyhedral Gold Nanocrystals”, *J. Am. Chem. Soc.* 2013, 135, 2684–2693. doi: 10.1021/ja311008r
- [19] F Qi *et al*, “Modulation of Nano-superstructures and Their Optical Properties”, *Acc. Chem. Res.* 2022, 55, 2425-2438. doi: 10.1021/acs.accounts.2c00202

- [20] T. Topping *et al*, “DNA origami: a quantum leap for self-assembly of complex structures” *Chem. Soc. Rev.*, 2011,40, 5636-5646. doi: 10.1039/C1CS15057J
- [21] Y. Zhou *et al*, “Fabricating higher-order functional DNA origami structures to reveal biological processes at multiple scales”, *NPG Asia Mater* 15, 25 (2023). doi: 10.1038/s41427-023-00470-3
- [22] L. Pray, “Discovery of DNA structure and function: Watson and Crick” *Nature Education*, 2008, 1(1):100. Consultado: abril 2024 [En línea]. Disponible: <https://www.nature.com/scitable/topicpage/discovery-of-dna-structure-and-function-watson-397/>
- [23] “La tiocoralina fortalece la doble hélice el ADN y dificulta el proceso tumoral”, Fundación Anna Vázquez 2007. Consultado: abril 2024 [En línea]. Disponible: <https://fundacionannavazquez.wordpress.com/2007/12/13/la-tiocoralina-fortalece-la-doble-helice-del-adn-y-dificulta-el-proceso-tumoral/>
- [24] B. Saccá, C. Niemeyer, “DNA origami: the art of folding DNA”, *Angew Chem Int Ed Engl*, 2012, 51 (1): 58-66. doi: 10.1002/anie.201105846
- [25] B. Ding *et al*, “Gold nanoparticle self-similar chain structure organized by DNA origami”, *J. Am. Chem. Soc.* 2010, 132, 10, 3248-3249. doi: 10.1021/ja9101198
- [26] P. Zhan *et al*, “Recent advances in DNA origami-engineered nanomaterials and applications”, *Chem. Rev.* 2023, 123, 3975-4050. doi: 10.1021/acs.chemrev.3c00028
- [27] “Quick-Start Protocol, Plasmid Mini, Midi and Maxi Kits”, QIAGEN, Consultado: enero 2024. [En línea]. Disponible: <https://www.qiagen.com/us/resources/download.aspx?id=c164c4ce-3d6a-4d18-91c4-f5763b6d4283&lang=en>
- [28] J. Quinson *et al*, “Surfactant-Free Colloidal Syntheses of Gold-Based Nanomaterials in Alkaline Water and Mono-alcohol Mixtures” *Chem. Mater*, vol. 35, pp. 2173-2190, 2023. doi: 10.1021/acs.chemmater.3c00090

- [29] D. Schletz *et al*, “Validating and utilizing machine learning methods to investigate the impacts of synthesis parameters in gold nanoparticle synthesis”, *J. Phys. Chem. C* 2023, 127, 2, 1117–1125. doi: 10.1021/acs.jpcc.2c07578
- [30] P. Rothmund, “Folding DNA to create nanoscale shape and patterns”, *Nature*, 440, 297-302, 2006. doi: 10.1038/nature04586.
- [31] B. Liu, J. Liu, “Freezing directed construction of bio/nano interfaces: reagentless conjugation, denser spherical nucleic acids, and better nanoflakes”, *J. Am. Chem. Soc.*, 2017, 139, 9471-9474. doi: 10.1021/jacs.7b04885
- [32] W. Haiss *et al*, “Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra”, *Anal. Chem.* 2007, 79, 4215-4221. doi: 10.1021/ac0702084
- [33] G. Aguilar *et al*, “DNA source selection for downstream applications based on DNA quality indicators analysis”, *Biopreserv Biobank* 2016, 14(4), 264-270. doi: 10.1089/bio.2015.0064
- [34] Y. Ke *et al*, “Multilayer DNA origami packed on a square lattice”, *J. Am. Chem. Soc.* 2009, 131, 43, 15903-15908. doi: 10.1021/ja906381y
- [35] G. Kallansrud, B. Ward, “A comparison of measured and calculated single- and double-stranded oligodeoxynucleotide extinction coefficients”, *Analytical Biochemistry*, 236 (1), 1996, 134-138. doi: 10.1006/abio.1996.0141
- [36] Z. Zhong *et al*, “The Surface chemistry of Au colloids and their interactions with functional amino acids” *J. Phys. Chem. B* 2004, 108, 4046-4052. doi: 10.1021/jp037056a
- [37] E. Encina, E. Coronado, “Plasmon coupling in silver nanosphere pairs” *J. Phys. Chem. C* 2010, 114, 3918–3923. doi: 10.1021/jp912096v
- [38] J. Kim, J. Lee, “Synthesis and thermodynamically controlled anisotropic assembly of DNA-silver nanoprisms conjugates for diagnostic applications” *Chem. Mater.* 2010, 22, 6684-6691. doi: 10.1021/cm102984m

- [39] J. Hyungmin *et al.* “Automated sequence design of 3D polyhedral wireframe DNA origami with honeycomb edges” ACS Nano 2019, 13, 2083-2093. doi: 10.1021/acsnano.8b08671
- [40] K. Wagenbauer *et al.* “How we make DNA origami”
- [41] H. Cha *et al.*, “Plasmon coupling between silver nanoparticles: Transition from the classical to the quantum regime”, Journal of colloid and interface science 464 (2016) 18-24. doi: 10.1016/j.jcis.2015.11.009

**APÉNDICE A: CONDICIONES EXPERIMENTALES Y RESULTADOS DE  
CARACTERIZACIÓN DE SÍNTESIS DE AUNPS PARA ML**

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp1	0	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp2	10	0	2	0	0.5	581	160.3	99.29	100	0	0	0	0	0.417
Exp3	20	0	2	0	0.5	525	54.3	258	57.3	47.74	42.7	0	0	0.538
Exp4	30	0	2	0	0.5	550	207.4	156.6	87.1	17.25	9.6	4345	3.3	0.506
Exp5	40	0	2	0	0.5	622	288.1	627.2	100	0	0	0	0	0.301
Exp6	15	0	2	0	0.5	533	58.2	118.2	83.7	16.56	7.9	5.32	7.3	0.541
Exp7	50	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp8	60	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp9	70	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp10	0	15	2	0	0.5	535	56.2	97.73	100	0	0	0	0	0.442
Exp11	0	20	2	0	0.5	535	55.4	89.85	100	0	0	0	0	0.485
Exp12	0	25	2	0	0.5	537	59.8	166.4	80.3	23.33	17.5	4748	2.2	0.46
Exp13	0	30	2	0	0.5	541	87.3	264.8	89.5	26.45	8.2	4422	2.2	0.442
Exp14	0	35	2	0	0.5	547	86.8	161.9	88.8	28.82	10	4863	1.2	0.382
Exp15	0	40	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp16	5	5	2	0	0.5	527	62.7	26.2	83.9	656.6	14.8	4.06	1.3	0.411
Exp17	7.5	7.5	2	0	0.5	533	89.3	36.16	63.7	342.5	31.1	2.49	5.2	0.836
Exp18	10	10	2	0	0.5	527	70.1	25.56	60.7	135.5	36.6	4981	2.7	0.609
Exp19	12.5	12.5	2	0	0.5	533	97.7	33.98	73.4	284.3	17.8	3.152	5.2	0.604
Exp20	15	15	2	0	0.5	538	137.9	39.75	82.1	249.7	13.1	4788	4.8	0.634
Exp21	17.5	17.5	2	0	0.5	538	92.1	31.82	56.6	144.6	43.4	0	0	0.174
Exp22	10	0	2.5	0	0.5	547	124.8	163.2	89.9	22.81	5.5	4072	4.6	0.406
Exp23	15	0	2.5	0	0.5	538	100.2	154.6	100	0	0	0	0	0.241
Exp24	20	0	2.5	0	0.5	697	526.4	141.1	100	0	0	0	0	0.1
Exp25	25	0	2.5	0	0.5	657	597.5	190.7	95.8	29.04	4.2	0	0	0.296
Exp26	30	0	2.5	0	0.5	581	251.0	229.2	100	0	0	0	0	0.158
Exp27	35	0	2.5	0	0.5	581	189.9	229.7	100	0	0	0	0	0.37
Exp28	10	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp29	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp30	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp31	10	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp32	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp33	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp34	10	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp35	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp36	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp37	10	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp38	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp39	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp40	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp41	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp42	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp43	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp44	20	0	2	0	0.5	580	108.0	181.6	100	0	0	0	0	0.16
Exp45	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp46	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp47	30	0	2	0	0.5	566	119.5	196.7	100	0	0	0	0	0.223
Exp48	30	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp49	10	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp50	10	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp51	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp52	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp53	20	0	2	0	0.5	551	58.0	101.8	81.8	597.3	10.1	5108	8.1	0.451
Exp54	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp55	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp56	20	0	2	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp57	10	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp58	15	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp59	20	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp60	25	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp61	30	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp62	35	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp63	40	0	0	2	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp64	0	10	0	2	0.5	575	192.8	1015	100	0	0	0	0	0.401
Exp65	0	15	0	2	0.5	540	65.1	694.9	98.5	5436	1.5	0	0	0.347
Exp66	0	20	0	2	0.5	541	72.6	1280	68.9	228.2	30.1	50.18	1.1	0.514
Exp67	0	25	0	2	0.5	541	79.1	124.8	94	4599	6	0	0	0.42
Exp68	0	30	0	2	0.5	547	92.5	153.2	88.8	29.82	6.5	4982	4.7	0.494
Exp69	0	35	0	2	0.5	565	154.2	218.8	94.9	33.52	3.2	4724	1.9	0.277
Exp70	0	40	0	2	0.5	552	107.1	926.4	97.4	5392	2.6	0	0	0.318
Exp71	5	5	0	2	0.5	533	55.4	94.41	97.8	4426	2.2	0	0	0.424
Exp72	7.5	7.5	0	2	0.5	529	55.3	362.2	100	0	0	0	0	0.484
Exp73	10	10	0	2	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp74	12.5	12.5	0	2	0.5	541	89.6	185.5	87.7	34.35	10.5	5440	1.8	0.465
Exp75	15	15	0	2	0.5	560	151.4	326.8	97.5	4547	2.5	0	0	0.514
Exp76	17.5	17.5	0	2	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp77	20	20	0	2	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp78	10	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp79	15	0	2	0	0.5	532	111.4	52.85	69.7	2.529	28.3	0.72	1.9	0.619
Exp80	20	0	2	0	0.5	532	85.3	142.1	74.3	16.43	12.9	3.11	6.9	1
Exp81	25	0	2	0	0.5	547	126.2	140.3	86.5	21.28	7.6	2.96	5.9	0.52
Exp82	30	0	2	0	0.5	547	124.4	175.3	83.2	25.57	8.9	3302	7.9	0.502
Exp83	35	0	2	0	0.5	540	120.7	224.8	93.4	22.53	6.6	0	0	0.435
Exp84	40	0	2	0	0.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp85	10	0	4	0	1	542	71.0	148.3	96.6	4520	3.4	0	0	0.476
Exp86	20	0	4	0	1	528	53.0	123	96.7	4295	3.3	0	0	0.504
Exp87	30	0	4	0	1	529	57.4	330.3	88.2	26.02	9.8	4335	2	0.564
Exp88	40	0	4	0	1	532	62.4	162.2	89	22.29	11	0	0	0.541
Exp89	0	10	4	0	1	565	130.7	157.8	100	0	0	0	0	0.336
Exp90	0	20	4	0	1	548	83.7	167.2	97.9	4684	2.1	0	0	0.265
Exp91	0	30	4	0	1	536	61.4	111.3	100	0	0	0	0	0.454
Exp92	0	40	4	0	1	541	80.5	170.4	90.3	24.99	9.7	0	0	0.432
Exp93	10	0	6	0	1.5	542	84.2	127.1	94.5	22.14	5.5	0	0	0.397

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp94	20	0	6	0	1.5	528	63.1	115.7	100	0	0	0	0	0.489
Exp95	30	0	6	0	1.5	528	62.7	122.7	100	0	0	0	0	0.472
Exp96	40	0	6	0	1.5	552	104.2	183.8	93.3	29.82	6.7	0	0	0.294
Exp97	0	10	6	0	1.5	567	156.4	374	97.9	5460	2.1	0	0	0.388
Exp98	0	20	6	0	1.5	552	98.4	154.8	100	0	0	0	0	0.259
Exp99	0	30	6	0	1.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp100	0	40	6	0	1.5	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp101	10	0	8	0	2	554	88.6	186.5	94	25.68	6	0	0	0.285
Exp102	20	0	8	0	2	532	61.9	2802	100	0	0	0	0	0.449
Exp103	30	0	8	0	2	547	82.3	469.6	95.1	4635	4.9	0	0	0.363
Exp104	40	0	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp105	0	10	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp106	0	20	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp107	0	30	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp108	0	40	8	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp109	10	0	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp110	20	0	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp111	30	0	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp112	40	0	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp113	0	10	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp114	0	20	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp115	0	30	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp116	0	40	10	0	2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Exp117	10	0	1	0	0.25	528	59.1	84.25	91.1	3.926	7.6	4923	1.3	0.518
Exp118	20	0	1	0	0.25	529	99.4	81.78	77.6	2.91	22.4	0	0	0.78
Exp119	30	0	1	0	0.25	559	183.1	66.42	77.2	2.34	20.3	5377	2.5	0.245
Exp120	40	0	1	0	0.25	0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp121	1	0	2	0	0.5	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1
Exp122	2	0	2	0	0.5	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1
Exp123	3	0	2	0	0.5	0.000	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1
Exp124	4	0	2	0	0.5	0.000	0.0	417.6	91.3	23.2	8.7	0.0	0.0	0.556

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp125	5	0	2	0	0.5	533	0.0	87.8	90.7	4.9	8.3	4611.0	1.0	0.515
Exp126	17.5	0	2	0	0.5	522	45.6	70.11	85.5	10.78	14.5	0	0	0.57
Exp127	20	0	2	0	0.5	519	48.1	82.5	94.2	4.38	5.8	0	0	0.682
Exp128	22.5	0	2	0	0.5	519	49.6	96	68.9	20	25.1	2.66	5.9	0.274
Exp129	25	0	2	0	0.5	531	52.9	204.9	93.8	32.43	6.2	0	0	0.335
Exp130	27.5	0	2	0	0.5	527	56.2	228.1	86.2	30.7	7.2	3388	6.6	0.528
Exp131	30	0	2	0	0.5	524	55.7	286.1	100	0	0	0	0	0.295
Exp132	32.5	0	2	0	0.5	524	68.3	1270	46.7	99.4	43.4	2.1	9.9	1
Exp133	35	0	2	0	0.5	533	70.7	69.27	61	2.1	17.5	350	16	0.412
Exp134	6	0	2	0	0.5	539	81.0	269.6	84.6	29.9	8.2	4262	7.1	0.455
Exp135	7	0	2	0	0.5	526	57.7	97.47	91.5	3.584	7.4	4362	1.1	0.532
Exp136	8	0	2	0	0.5	529	57.9	109.4	94	3.767	6	0	0	0.484
Exp137	9	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp138	10	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0	0	0	0	0	0	1
Exp139	11	0	2	0	0.5	541	86.1	311.8	89	34.65	11	0	0	0.548
Exp140	12	0	2	0	0.5	537	80.0	246.8	86.1	23.47	9.9	4048	4.1	0.518
Exp141	13	0	2	0	0.5	524	59.6	114.6	87.8	4.065	12.2	0	0	0.611
Exp142	14	0	2	0	0.5	521	53.2	54.4	60.6	364.4	28.9	3.101	5.8	0.699
Exp143	15	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp144	16	0	2	0	0.5	530	81.3	129.2	73.3	2.95	18.4	3212	8.2	0.93
Exp145	17	0	2	0	0.5	527	58.6	222.5	80.4	3364	10.3	3.842	9.2	0.612
Exp146	18	0	2	0	0.5	523	66.2	87.26	78.4	3.231	19.8	4344	1.8	0.876
Exp147	19	0	2	0	0.5	521	50.8	199.1	49.2	42.23	40.3	3.288	7.2	0.795
Exp148	20	0	2	0	0.5	533	93.6	126	71.8	2.96	21.4	3386	6.9	0.945
Exp149	21	0	2	0	0.5	519	54.3	551.8	72.4	31.02	20.9	3.096	6.7	0.903
Exp150	22	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp151	23	0	2	0	0.5	524	61.7	202.5	100	0	0	0	0	0.272
Exp152	24	0	2	0	0.5	531	66.5	200.7	76.8	30.88	17.7	1.933	5	0.287
Exp153	25	0	2	0	0.5	531	68.9	184.7	48.8	39.45	36.1	2.298	11.5	0.874
Exp154	26	0	2	0	0.5	527	62.3	102.5	83.6	2.764	12.3	3390	4.1	0.996
Exp155	27	0	2	0	0.5	533	90.1	204.7	85	22.57	13.9	4865	1.1	0.586

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp156	28	0	2	0	0.5	525	60.4	100.8	78.4	14.89	10.5	3.311	8.3	0.584
Exp157	29	0	2	0	0.5	526	66.3	142.2	79.2	2722	1.2	2.808	9.6	0.796
Exp158	30	0	2	0	0.5	531	88.1	175.3	76.5	2.96	15.6	21.73	5	0.985
Exp159	31	0	2	0	0.5	528	66.8	103	73.6	2.485	13.4	14.26	10.2	1
Exp160	32	0	2	0	0.5	527	65.8	217.7	75.4	2.442	9.8	26.14	9.6	1
Exp161	33	0	2	0	0.5	534	80.6	332.2	81.1	25.67	7.3	2.99	6.7	0.584
Exp162	34	0	2	0	0.5	526	66.6	241	74.8	23.83	10.4	2.503	8.5	0.974
Exp163	35	0	2	0	0.5	533	84.4	392.4	88.1	25.11	8.9	4545	3	0.585
Exp164	36	0	2	0	0.5	560	89.8	409.8	100	0	0	0	0	0.01
Exp165	37	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp166	38	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp167	39	0	2	0	0.5	527	73.8	103.9	51.1	611.3	27.2	2.48	10.7	0.998
Exp168	40	0	2	0	0.5	526	61.7	184.3	80.7	29.14	15.6	4030	3.7	0.537
Exp169	41	0	2	0	0.5	532	86.8	444.8	94.5	34.47	3.5	4750	2	0.581
Exp170	42	0	2	0	0.5	527	79.3	853.4	97.2	27.56	2.8	0	0	0.547
Exp171	43	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp172	44	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp173	45	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp174	46	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp175	47	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp176	48	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp177	49	0	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp178	50	0	2	0	0.5	529	79.6	591.8	94.3	33.19	5.2	5181	0.5	0.546
Exp179	0	1	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp180	0	2	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp181	0	3	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp182	0	4	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp183	0	5	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp184	0	6	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp185	0	7	2	0	0.5	532	81.6	164.6	87.8	30.93	10.1	4688	2.1	0.39
Exp186	0	8	2	0	0.5	536	69.5	98.84	94.2	4.185	5.8	0	0	0.463

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp187	0	9	2	0	0.5	529	53	93.49	100	0	0	0	0	0.423
Exp188	0	10	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp189	0	11	2	0	0.5	522	80	178	73.3	30.5	26.7	0	0	0.512
Exp190	0	12	2	0	0.5	532	87.6	185.6	86.4	21.4	11.1	4279	2.4	0.553
Exp191	0	13	2	0	0.5	530	74	156.8	83.4	26.41	13.6	4305	3	0.487
Exp192	0	14	2	0	0.5	529	80.3	156.7	79.4	21.41	12.8	3.34	5.9	0.565
Exp193	0	15	2	0	0.5	527	73.7	108.3	100	0	0	0	0	0.461
Exp194	0	16	2	0	0.5	522	94.9	93.61	94.9	3.58	5.1	0	0	0.49
Exp195	0	17	2	0	0.5	548	88.4	148.1	83	24.6	13.6	4283	3.4	0.473
Exp196	0	18	2	0	0.5	527	78.8	217	74.5	37.35	25.5	0	0	0.498
Exp197	0	19	2	0	0.5	522	82	96.99	100	0	0	0	0	0.432
Exp198	0	20	2	0	0.5	525	68.5	144.7	74	24.44	17.7	4.4	6.4	0.517
Exp199	0	21	2	0	0.5	552	76.1	164.9	94.2	29.6	5.8	0	0	0.278
Exp200	0	22	2	0	0.5	549	73.9	237.3	96.3	28.33	3.7	0	0	0.287
Exp201	0	23	2	0	0.5	533	57.9	254.8	90.9	33.09	8	4718	1.1	0.452
Exp202	0	24	2	0	0.5	540	62	229.4	95	20.83	3.6	4844	1.4	0.429
Exp203	0	25	2	0	0.5	531	59.3	139.7	86.1	26.5	13.9	0	0	0.528
Exp204	0	26	2	0	0.5	537	63.6	193.5	90.8	29.83	7.8	4487	1.4	0.435
Exp205	0	27	2	0	0.5	544	68	168.8	89	24.73	9.7	4941	1.2	0.464
Exp206	0	28	2	0	0.5	535	59.4	185	83.8	30.14	12.7	4372	3.6	0.462
Exp207	0	29	2	0	0.5	545	71.3	273	86.2	39.82	13.8	0	0	0.46
Exp208	0	30	2	0	0.5	534	60	137.7	85.2	21.44	14.8	0	0	0.472
Exp209	0	31	2	0	0.5	534	60.6	246.7	91.5	25.79	8.5	0	0	0.521
Exp210	0	32	2	0	0.5	533	59.8	149	100	0	0	0	0	0.28
Exp211	0	33	2	0	0.5	536	61.8	317.1	92	39.22	8	0	0	0.339
Exp212	0	34	2	0	0.5	540	83.1	310.8	92.2	23.96	7.8	0	0	0.536
Exp213	0	35	2	0	0.5	538	61.8	157.3	94.6	26.27	5.4	0	0	0.273
Exp214	0	36	2	0	0.5	551	74.7	283.5	88	41.67	9	4406	3	0.432
Exp215	0	37	2	0	0.5	547	76	155.7	91.9	22.9	8.1	0	0	0.393
Exp216	0	38	2	0	0.5	541	76.7	166.5	85.6	26.52	14.4	0	0	0.444
Exp217	0	39	2	0	0.5	538	67.4	337.1	92.2	46.3	7.8	0	0	0.307

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp218	0	40	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp219	0	41	2	0	0.5	540	76.4	209.7	100	0	0	0	0	0.261
Exp220	0	42	2	0	0.5	551	71	182.8	86.5	27.25	13.5	0	0	0.494
Exp221	0	43	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp222	0	44	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp223	0	45	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp224	0	46	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp225	0	47	2	0	0.5	528	66.5	152.9	67.4	25.88	20.5	4.621	12.1	0.605
Exp226	0	48	2	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp227	0	49	2	0	0.5	532	69	196.7	72	28.4	18.8	5.309	5.2	0.567
Exp228	0	50	2	0	0.5	530	78.1	183.7	72.1	17.38	16.3	3.57	6.3	1
Exp229	0	1	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp230	0	2	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp231	0	3	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp232	0	4	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp233	0	5	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp234	0	6	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp235	0	7	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp236	0	8	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp237	0	9	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp238	0	10	0	2	0.5	561	87.1	177.3	87.2	31.06	12.8	0	0	0.404
Exp239	0	11	0	2	0.5	559	79.9	130.7	93.4	23.5	96.6	0	0	0.284
Exp240	0	12	0	2	0.5	547	73.6	129.6	92.6	22.56	7.4	0	0	0.283
Exp241	0	13	0	2	0.5	547	73.2	175.7	92.3	27.96	7.7	0	0	0.312
Exp242	0	14	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp243	0	15	0	2	0.5	545	72.9	163	100	0	0	0	0	0.45
Exp244	0	16	0	2	0.5	559	81	165.8	89.5	30.82	10.5	0	0	0.288
Exp245	0	17	0	2	0.5	560	88	241.9	89.1	38.73	10.9	0	0	0.413
Exp246	0	18	0	2	0.5	545	70	197.2	88.7	27.63	11.7	0	0	0.501
Exp247	0	19	0	2	0.5	548	73.4	164	90.6	30.48	9.4	0	0	0.301
Exp248	0	20	0	2	0.5	545	75.6	149.7	88.9	32.15	11.1	0	0	0.312

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp249	0	21	0	2	0.5	549	74.9	226.2	83.3	43.67	16.7	0	0	0.437
Exp250	0	22	0	2	0.5	548	75	172.2	92.1	24.53	7.9	0	0	0.299
Exp251	0	23	0	2	0.5	570	92.2	177.7	94.5	31.04	5.5	0	0	0.262
Exp252	0	24	0	2	0.5	547	75.1	196.6	91.5	27.05	8.5	0	0	0.326
Exp253	0	25	0	2	0.5	545	75.7	186.3	90	30.38	10	0	0	0.314
Exp254	0	26	0	2	0.5	546	76.9	231.9	96	27.6	4	0	0	0.326
Exp255	0	27	0	2	0.5	558	83	249	86.3	35.28	10.9	4478	2.8	0.457
Exp256	0	28	0	2	0.5	553	82	167.8	92.9	21.88	7.1	0	0	0.313
Exp257	0	29	0	2	0.5	563	83.3	341.7	90.8	52.8	9.2	0	0	0.365
Exp258	0	30	0	2	0.5	560	83.3	223.2	88.2	30.42	7.9	4466	3.8	0.435
Exp259	0	31	0	2	0.5	553	81.8	248.9	88.8	29.59	8.5	4608	2.7	0.429
Exp260	0	32	0	2	0.5	575	89.4	173.2	92.1	24.59	7.9	0	0	0.306
Exp261	0	33	0	2	0.5	552	80.5	187.7	98.3	4930	1.7	0	0	0.422
Exp262	0	34	0	2	0.5	552	81.7	247.5	91.8	34.53	8.2	0	0	0.335
Exp263	0	35	0	2	0.5	574	91.2	180.8	100	0	0	0	0	0.267
Exp264	0	36	0	2	0.5	566	85.5	186.5	89.5	25.86	8.3	4651	2.2	0.441
Exp265	0	37	0	2	0.5	558	83.4	241.5	88.4	28.82	11.6	0	0	0.51
Exp266	0	38	0	2	0.5	570	87.8	216.3	85.9	26.69	11.5	4484	2.6	0.498
Exp267	0	39	0	2	0.5	566	86.2	301.4	89.8	36.47	10.2	0	0	0.48
Exp268	0	40	0	2	0.5	565	88.7	183.5	89.6	25.04	10.4	0	0	0.461
Exp269	0	41	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp270	0	42	0	2	0.5	549	79.6	268.3	87.2	35.6	12.8	0	0	0.504
Exp271	0	43	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp272	0	44	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp273	0	45	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp274	0	46	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp275	0	47	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp276	0	48	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp277	0	49	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp278	0	50	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp279	10	0	0	2	0.5	528	54.7	43.8	86.3	721.4	13.7	0	0	0.446

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp280	20	0	0	2	0.5	535	64.3	43.24	75.4	405.7	24.6	0	0	0.391
Exp281	30	0	0	2	0.5	528	57.3	276.6	86.4	45.99	13.6	0	0	0.347
Exp282	40	0	0	2	0.5	528	60.2	304.8	77.6	62.42	22.4	0	0	0.46
Exp283	50	0	0	2	0.5	567	85.7	479.6	93	95.46	7	0	0	0.266
Exp284	1	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp285	2	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp286	3	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp287	4	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp288	5	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp289	6	0	0	2	0.5	545	71	163.1	79.4	31.85	20.6	0	0	0.473
Exp290	7	0	0	2	0.5	536	61.5	166.6	80	22.57	13.9	4.49	6.1	0.557
Exp291	8	0	0	2	0.5	545	74.8	130	80.3	23.5	19.7	0	0	0.499
Exp292	9	0	0	2	0.5	532	57.8	197.3	88.2	21.9	10	4246	1.9	0.564
Exp293	11	0	0	2	0.5	529	57	87.33	91	3.75	9	0	0	0.574
Exp294	12	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp295	13	0	0	2	0.5	529	54.2	80.97	91.8	3.29	8.2	0	0	0.487
Exp296	14	0	0	2	0.5	532	54	92.69	94.5	2.98	5.5	0	0	0.481
Exp297	15	0	0	2	0.5	529	54.1	84.29	93.3	3.18	6.7	0	0	0.475
Exp298	16	0	0	2	0.5	529	53.6	166.2	93.8	2.56	5.8	4369	0.4	0.482
Exp299	17	0	0	2	0.5	527	54.4	77.81	93	1.9	7	0	0	0.49
Exp300	18	0	0	2	0.5	532	54.8	95.29	94.9	3.052	5.1	0	0	0.428
Exp301	19	0	0	2	0.5	528	53.4	89.07	94.2	2.93	5.8	0	0	0.477
Exp302	21	0	0	2	0.5	528	54.2	99.5	100	0	0	0	0	0.456
Exp303	22	0	0	2	0.5	528	54.6	99.3	94.4	2.69	5.6	0	0	0.461
Exp304	23	0	0	2	0.5	528	53.7	245.5	84.3	37.14	10.6	3980	5.1	0.504
Exp305	24	0	0	2	0.5	524	53.7	99.16	93.2	2.72	5.5	4752	1.3	0.467
Exp306	25	0	0	2	0.5	524	53.5	107.4	90.3	17.57	7.6	4797	2.2	0.456
Exp307	26	0	0	2	0.5	526	54	122.5	96.5	4020	3.5	0	0	0.498
Exp308	27	0	0	2	0.5	529	54.4	282.1	82	40	16.7	4457	1.3	0.551
Exp309	28	0	0	2	0.5	529	54.7	128.8	93.7	3.14	6.3	0	0	0.541
Exp310	29	0	0	2	0.5	529	54.9	254.9	90	28.91	6.9	4109	3.1	0.5

ID	CONDICIONES EXPERIMENTALES ( <i>Inputs</i> )					RESULTADOS DE CARACTERIZACIÓN ( <i>Outputs</i> )								
	% ETOH <sup>a</sup>	% METOH <sup>b</sup>	C NaOH <sup>c</sup>	C KOH <sup>d</sup>	C Oro <sup>e</sup>	SPR <sup>f</sup>	FWHM <sup>g</sup>	SZ <sup>h</sup> 1	%	SZ 2	%	SZ 3	%	PDI <sup>i</sup>
Exp311	31	0	0	2	0.5	532	54.3	145	84.7	27.03	15.3	0	0	0.495
Exp312	32	0	0	2	0.5	528	54.9	271.4	82.4	36.88	11.9	4556	5.7	0.455
Exp313	33	0	0	2	0.5	527	56.9	295.3	88.1	28.4	9.5	4487	2.4	0.524
Exp314	34	0	0	2	0.5	531	72.9	4870	44.6	890.4	35.1	81.64	12.3	0.854
Exp315	35	0	0	2	0.5	531	55.2	144.1	92.9	21.36	7.1	0	0	0.498
Exp316	36	0	0	2	0.5	531	55.9	169	90.9	25.06	9.1	0	0	0.47
Exp317	37	0	0	2	0.5	529	54.1	171.2	90.5	22.59	9.5	0	0	0.478
Exp318	38	0	0	2	0.5	531	57.2	138.7	87.7	19.95	12.3	0	0	0.565
Exp319	39	0	0	2	0.5	527	54.7	156.4	84.5	28.14	15.5	0	0	0.509
Exp320	41	0	0	2	0.5	526	55.2	143.7	85.6	23.1	14.4	0	0	0.569
Exp321	42	0	0	2	0.5	525	56	146.7	84.1	21.11	15.9	0	0	0.581
Exp322	43	0	0	2	0.5	531	58.6	221.4	55.9	2940	37.7	18.93	6.5	0.848
Exp323	44	0	0	2	0.5	533	59.8	252.4	79.2	20.8	11.6	3861	9.3	0.568
Exp324	45	0	0	2	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	1.0
Exp325	46	0	0	2	0.5	531	59.1	206.1	71.7	2488	15.1	19.35	13.2	0.84
Exp326	47	0	0	2	0.5	535	68	186.9	82.7	22.89	17.3	0	0	0.527
Exp327	48	0	0	2	0.5	535	64.2	233.6	76.7	22.9	16.1	4299	7.2	0.9
Exp328	49	0	0	2	0.5	536	67.1	192.6	52.8	1239	36.2	23.2	11	0.921

<sup>a</sup> porcentaje en volumen de EtOH

<sup>b</sup> porcentaje en volumen de MetOH

<sup>c</sup> concentración de NaOH en mM

<sup>d</sup> concentración de KOH en mM

<sup>e</sup> concentración de Au en mM

<sup>f</sup> longitud de onda en nm de la posición de la banda de SPR

<sup>g</sup> ancho de banda a media altura en nm

<sup>h</sup> radio hidrodinámico de NP en nm

<sup>i</sup> índice de polidispersidad

# APÉNDICE B: ESQUEMAS DE POSICIONAMIENTO DE GRAPAS EN ARISTAS Y VÉRTICES DEL CUBO DE DNA ORIGAMI

## SECUENCIAS DEL GENOMA DE M13MP18 QUE CONFORMAN LAS ARISTAS:

Arista 1: AATGCTACTACTATTAGTAGAATTGATGCCACCTTTTCAGCTCGCGCCCCAAATGAAAATATAGCTAAACAGGTTATTGACCATTTGCGAAATGATCTAATGGTCAAACCTAAATCTACTCGTTCGCAGAATTGGGAATCAACTGTTATATGGAATGAAA

Arista 2: CTTCCAGACACCGTACTTTAGTTGCATATTTAAAACATGTTGAGCTACAGCATTATATTCAGCAATTAAGCTCTAAGCCATCCGCAAAAATGACCTCTTATCAAAGGAGCAATTAAGGTAAGTACTCTCTAATCCTGACCTGTTGGAGTTTGCCTCCGGTCT

Arista 3: GGTTCGCTTTGAAGCTCGAATTAACACGCATATTTGAAGTCTTTCGGGCTTCCTCTTAATCTTTTGGATGCAATCCGCTTTGCTTCTGACTATAATAGTCAGGGTAAAGACCTGATTTTTGATTTATGGTCATTCTCGTTTTCTGAACTGTTTAAAGCA

Arista 4: TTTGAGGGGATTCAATGAATATTTATGACGATTCGCGAGTATTGGACGCTATCCAGTCTAAACATTTTACTATTACCCCTCTGGCAAACCTCTTTTGGAAAAGCCTCTCGCTATTTTGGTTTTTATCGTCGCTGGTAAACGAGGGTTATGATAGTG

Arista 5: TTGCTCTTACTATGCCTCGTAATTCCTTTTGGCGTTATGTATCTGCATTAGTTGAATGTGGTATTCCTAAATCTCAACTGATGAATCTTTCTACCTGTAATAATGTTGTTCCGTTAGTTTCGTTTTATTAACGTAGATTTTTCTTCCCAACGCTCCTGACTG

Arista 6: GTATAATGAGCCAGTTCTTAAATCGCATAAGGTAATTCACAATGATTAAAGTTGAAATTAACCATCTCAAGCCCAATTTACTACTCGTTCGTTGTTCTCGTCAGGGCAAGCCTTATTCACCTGAATGAGCAGCTTTGTTACGTTGATTTGGGTAATG

Arista 7: AATATCCGGTCTTGTCAAGATTACTCTTGATGAAGTTCAGCCAGCCTATGCGCCTGGTCTGTACACCGTTCATCTGTCTCTTTCAAAGTTGGTCAGTTCGGTTCCTTATGATTGACCGTCTGCGCCTCGTTCGGCTAAGTAACATGGAGCAGGTCCG

Arista 8: CGGATTTTCGACACAATTTATCAGGCGATGATACAAATCTCCGTTGTACTTTGTTTCGCGCTTGGTATAATCGCTGGGGTCAAAGATGAGTGTTTTAGTGTATTCTTTTGCCTCTTTCGTTTTAGTTGGTGCCTTCGTAGTGGCATTACGTATTTTACC

Arista 9: CGTTTAAATGAAACTTCCTCATGAAAAGTCTTTAGTCTCAAAGCCTCTGTAGCCGTTGCTACCCCTCGTTCGGATGCTGTCTTTCGCTGCTGAGGGTGACGATCCCGCAAAGCGGCTTTAACTCCCTGCAAGCCTCAGCGACCGAATATATCGGTTA

Arista 10: TCGCTGGGCGATGGTTGTTGTCATTGTTCGGCGCAACTATCGGTATCAAGCTGTTTAAAGAAATTCACCTCGAAAGCAAGCTGATAAACCGATACAATTAAGGCTCCTTTTGGAGCCTTTTTTTTGGAGATTTTCAACGTGAAAAAATTATTATTCGCAAT

Arista 11: TCCTTTAGTTGTTCTTTCTATTCTCACTCCGCTGAAACTGTTGAAAGTTGTTTAGCAAAATCCCATACAGAAAATTCATTTACTAAGCTCTGAAAAGACGACAAAATTTAGATCGTTACGCTAACTATGAGGGCTGTCTGTGGAATGCTACAGGCGTT

Arista 12: GTAGTTTGTACTGGTGACGAAACTCAGTGTACGGTACATGGGTTCCATTATGGGCTTGCTATCCCTGAAAATGAGGGTGGTGGCTCTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGTTACTAAACCTCCTGAGTACGGTGATACACCTA

Arista 13: TTCCGGGCTATACTTATATCAACCTCTCGACGGCACTTATCCGCTGGTACTGAGCAAAACCCCGTAATCCTAATCCTTCTCTTGGAGGTTCTAGCCTCTTAATACTTTTCATGTTTCAGAATAATAGGTTCCGAAATAGGCAGGGGGCATTAACTGT

Arista 14: TTATACGGGCACTGTTACTCAAGGCACTGACCCCGTTAAAACCTTATTACCAGTACACTCCTGTATCATCAAAGCCATGTATGACGCTTACTGGAACGGTAAATTCAGAGACTGCGCTTTCCATTCTGGCTTTAATGAGGATTTATTGTTTGTGAATAT

Arista 15: CAAGGCCAATCGTCTGACCTGCCTCAACCTCCTGTCAATGCTGGCGCGGCTCTGGTGGTGGTCTGGTGGCGGCTCTGAGGGTGGTGGCTCTGAGGGTGGCGGTTCTGAGGGTGGCGGCTCTGAGGGAGGCGGTTCCGGTGGTGGCTCTGGTTCGGGTC

Arista 16: ATTTTGTATTATGAAAAGATGGCAAACGCTAATAAGGGGGCTATGACCGAAAATGCCGATGAAAACGCGCTACAGTCTGACGCTAAAGGCAAACCTGATTCTGTCTGCTACTGATTACGGTGTCTGCTATCGATGTTTCATTGGTGACGTTTTCCGGCCTTGC

Arista 17: TAATGGTAATGGTGTACTGGTGATTTTCTGGCTCTAATTCACCTTTAATGAATAATTTCCGTCATATTTACCTTCCCTCCCTCAATCGGTTGAATGTGCGCCTTTTGTCTTTGGCGCTGGTAAA

Arista 18: CCATATGAATTTTCTATTGATTGTGACAAAATAAACTTATTCGGTGGTGTCTTTGCGTTTCTTTTATATGTTGCCACCTTTATGTATGATTTTCTACGTTTGCTAACATACTGCGTAATAAGGAGTCTTAATCATGCCAGTCTTTTGGGTATTCGGT

Arista 19: ATTATTGCGTTTCCCTCGGTTTCCCTCTGGTAACCTTTGTTGCGCTATCTGCTTACTTTTCTTAAAAAGGGCTTCGGTAAGATAGCTATTGCTATTTTCATTGTTTCTTGTCTTATTATTGGGCTTAACCAATCTTGTGGTTATCTCTGATATTAGC

Arista 20: GCTCAATTACCCTCTGACTTTGTTGAGGTTGTTAGTTAATCTCCCGTCTAATGCGCTTCCCTGTTTTTATGTTATTCTCTCTGTAAGGCTGCTATTTTCATTTTGGCTTAACAAAAATCGTTTCTTATTGGATTGGGATAAATAATATGGCT

Arista 21: GTTTATTTTGTAACTGGCAAATTAGGCTCTGGAAAGACGCTCGTTAGCGTTGGTAAGATTGAGGATAAAATTTGAGTGGGTGCAAATAGCACTAATCTTGATTTAAGGCTTCAAACCTCCCGCAAGTCGGGAGGTTGCTAAAACGCTCGCGTTC

Arista 22: TTAGAATACCGGATAAGCCTTCTATATCTGATTTGCTTGTCTATTGGGCGCGGTAATGATTCTCAGATGAAAATAAAACGGCTTGCCTTGTCTCGATGAGTGGGCTACTTGGTTAATAACCCGTTCTTGAATGATAAGGAAAGACAGCCGATTATTGA

Arista 23: TTGGTTTCTACATGCTCGTAAATTAGGATGGGATATTATTTTCTTGTTCAGGACTTATCTATTGTTGATAAACAGGCGCTTCTGCATTAGCTGAACATGTTGTTTATTGTCGTCGCTGGACAGAATTACTTTACCTTTTGTGCGTACTTTATTTCT

Arista 24: CTTATTACTGGCTCGAAAATGCCCTGCGCTAAATTACATGTTGGCGTTGTTAAATATGGCGATTCTCAATTAAGCCCTACTGTTGAGCGTTGGCTTTATACTGGTAAGAATTTGATAACGCATATGATACTAACAGGCTTTTCTAGTAATTATGATT

### POSICIONAMIENTO DE GRAPAS POR ARISTA:

Unión arista 1-24:

5'	AATGCTACTACTATTAGTAGAATTGATGCCAC	<b>CTTTTCAGCTCGCGCC</b>	CCAAATGAAAATATAGCTAAACAG	<b>GTTATTGACCATTTCG</b>	GAAATGTATCTAATGGTCAAAC	<b>AATCTACTCGTTCGCA</b>	GAATTGGGAATCAACTGTTATATGGAATGAAA	3'
3'		<b>GAAAAGTCGAGCGCGG</b>		<b>CAATAACTGGTAAACG</b>		<b>TTAGATGAGCAAGCGT</b>		5'
		A1-24.1  A1-24.2		A1-24.3  A1-24.4		A1-24.5  A1-24.6		
5'		<b>TCATATGCGTTATACA</b>		<b>GCTCAACAGTAGGGCT</b>		<b>AACGCCAACATGTAAT</b>		3'
3'	TTAGTATTAATGATCTTTTTCGGACAAATCAT	<b>AGTATACGCAATATGT</b>	TTAAGAATGGTCATATTTTCGGTTG	<b>CGAGTTGTCATCCCGA</b>	ATTAACCTCTTAGCGGTATAAATG	<b>TTGCGGTTGTACATTA</b>	AAATCCGCTCTCCGTAAGCTCGGTCATTATTCC	5'

Unión arista 2-23:

5'	CTTCAGACACCGTACTTTAGTTGCATATTTA	<b>AAACATGTTGAGCTAC</b>	AGCATTATATTCAGCAATTAAGCT	<b>CTAAGCCATCCGCAAA</b>	AATGACCTCTTATCAAAGGAGCA	<b>ATTAAGGTACTCTCT</b>	AATCCTGACCTGTTGGAGTTGCTTCCGGTCT	3'
3'		<b>TTTGTACAACCTCGATG</b>		<b>GATTCGGTAGGCGTTT</b>		<b>TAATTTCCATGAGAGA</b>		5'
		A2-23.1  A2-23.2		A2-23.3  A2-23.4		A2-23.5  A2-23.6		
5'		<b>TTCTGTCCAGACGACG</b>		<b>TGCAGAACGCGCCTGT</b>		<b>ACAAGAAAAATAAT</b>		3'
3'	TCTTATATTTTCATGGCTGTTTCCATTTTCATT	<b>AGACAGGTCGTCTGC</b>	TGTTATTTGTTGTACAAGTCGATT	<b>ACGTCCTGCGCGACA</b>	AATAGTTGTTATCTATTCAGGACT	<b>FGTTCTTTTATTTATA</b>	GGGTAGGATTAATGCTCGTACATCTTTGGTT	5'

Unión arista 3-22:

5'	GGTTCGCTTTGAAGCTCGAATTAACCGCGAT	<b>ATTTGAAGTCTTTTCGG</b>	GCTTCTCTTAATCTTTTGTATGC	<b>AATCCGCTTTGCTTCT</b>	GACTATAATAGTCAGGTTAAAGAC	<b>CTGATTTTGTATTTAT</b>	GGTCATTCTCGTTTTCTGAACTGTTTAAAGCA	3'
3'		<b>TAAACTTCAGAAAAGCC</b>		<b>TTAGCGGAAACGAAAGA</b>		<b>GACTAAAACTAAAAA</b>		5'
		A3-22.1  A3-22.2		A3-22.3  A3-22.4		A3-22.5  A3-22.6		
5'		<b>AGAACGGGTATTAAC</b>		<b>AGCAAGCCGTTTTTAT</b>		<b>GCCCAATAGCAAGCAA</b>		3'
3'	AGTTATTAGCCGACAGAAAGGAATAGTAAGGT	<b>TCTTGCCCAATAATTG</b>	GTTTCATGGCGTAGTAGCTTTG	<b>TCGTTCCGCAAAAATA</b>	AAAAGTAGCATCCTTAGTAATGGCG	<b>CGGGTTATCGTTCGTT</b>	TAGTCTATATCTTCCGAATAGCCATAAGATT	5'

Unión arista 4-21:

5'	TTTGAGGGGATTCATGAATATTTATGACGA	<b>TTCCGCGAGTATTGGAC</b>	GCTATCCAGTCTAAACATTTTACT	<b>ATTACCCCTCTCTGGCA</b>	AAACTCTTTTGCAAAAGCCTCTC	<b>GCTATTTTGGTTTTTA</b>	TCGTCGTCTGGTAAACGAGGGTTATGATAGTG	3'
3'		<b>AAGCGCTCATACCTG</b>		<b>TAATGGGGAGACCGT</b>		<b>CGATAAAACCAAAAT</b>		5'
		A4-21.1  A4-21.2		A4-21.3  A4-21.4		A4-21.5  A4-21.6		
5'		<b>TCCGGGAGTTTTTGA</b>		<b>TTTTGCACCAGCTAC</b>		<b>GCTAACGAGCGTCTTT</b>		3'
3'	CTTGGCTCCGCAAAATCGCTGGAGGGCTGA	<b>ACGCCCTCATAAATCT</b>	CGGAATTTAGTCTAATCAACGAT	<b>AAAAAGTGGTCTGATG</b>	TTAAAATAGGACTTAGAATGGTTG	<b>CGATTGCTCGCAGAAA</b>	GGTCTCGGATTAACGGTCAATGTTTTATTG	5'

Unión arista 5-20:

5'	TGCTCTTACTATGCCTCGTAATTCCTTTTGG	<b>CGTTATGTTATCTGCA</b>	TAGTTGAATGTGGTATTCCTAAAT	<b>CTCAACTGATGAATCT</b>	TTCTACCTGTAATAATGTTGTTCC	<b>GTTAGTTCGTTTTTAT</b>	AACGCTAGATTTTCTTCCCAACGCTCGACTG	3'
3'		<b>GCAATACATAGACGTA</b>		<b>GAGTTGACTACTTAGA</b>		<b>CAATCAAGCAAAATA</b>		5'
		A5-20.1  A5-20.2		A5-20.3  A5-20.4		A5-20.5  A5-20.6		

5' ACGATTTTTGTTTAA TTACAGAGAGAATAAC CGGGAGAATTAAGTGA 3'  
3' TCGGTATAATAAATAGGGTTAGGTTTATCTT TGTCTAAAACAAATTCAGAGTTTTACTTTTATCGTCGGA AATGTCTCTCTTATTTTATTTTTGTCCCTTCGCGTAATCT GCCCTCTTAATGACTTGTGGACTTGTTCAGTCTCCCATTAAGTCA 5'

Unión arista 6-19:

5' GTATAATGAGCCAGTCTTAAAAATCGCATAAG GTAATTCACATGATTAAAGTTGAAATTAACCATCTCAA GCCCAATTACTACTGTTCTGGTGTTCCTCGTCAGGGCA AGCCTTATCACTGAA TGAGCAGCTTTGTTACGTTGATTTGGGTAATG 3'  
3' CATTAAAGTGTACTAA CTTCCAGTCCGGTCGGA CTTCCAGTCCGGTCGGA TAGACAGGAGAAAGTT TAGACAGGAGAAAGTT CTAAGTGGCAGACGG CTAAGTGGCAGACGG 5'  
5' A6-19.1||A6-19.2 A6-19.3||A6-19.4 A6-19.5||A6-19.6  
5' AGTTAAAGCCCAATAAT AATAGCTACTTTACCG AATAGCTACTTTACCG AGTAGCCGAAACAAG 3'  
3' CGATTATAGTCTCTCTATTGGGTGTTCTTAA TCAATTCGGTGTATTA TCTCGTTCTTTGTTACTTTATCG TTATCGATAGAATGGT TCCGGGAAAAATCTTTTCATTCG CTATTCGGCTTGTTC AATGGTCTTCTTTGGCTCCTTTGCGTTATTA 5'

Unión arista 7-8:

5' AATATCCGGTCTTGTCAAGATTACTCTTGAT GAAGGTGAGCCAGCCTATGCGCCTGGTCTGTACACCGTTC ATCTGTCTCTTTTCAA AGTTGGTCAGTTCGGTTCCTTAT GATTGACCGTCTGCGC CTGTTCCGGCTAAGTAACATGGAGCAGGTCG 3'  
3' CTTCCAGTCCGGTCGGA CTTCCAGTCCGGTCGGA TAGACAGGAGAAAGTT TAGACAGGAGAAAGTT CTAAGTGGCAGACGG CTAAGTGGCAGACGG 5'  
5' A7-8.1||A7-8.2 A7-8.3||A7-8.4 A7-8.5||A7-8.6  
5' AACCTAAAACGAAAGA CATCTTTGACCCCGAG CATCTTTGACCCCGAG GTACAACGGAGATTTG 3'  
3' CCATTTTATGCATTACGGTGATGCTTCCGTGG TTGGATTTTCTTTTCT CCGTTTTCTTATGTGATTTTGTGA GTAGAAAC TGGGGTCTCTAATATGTTTCGCGCTTTGTTT CATGTTCCTCTAAAC ATAGTAGCGGACTATTTAACACAGCTTTAGCC 5'

Unión arista 9-18:

5' CGTTTAAATGAAAACCTCTCTCATGAAAAAGTCT TTAGTCTCTCAAAGCCTCTGTAGCCGTTGCTACCCCTCGTTC CGATGCTGTCTTTTCGG TGCTGAGGGTGACGATCCCGCAA AGCGGCCTTTAACTCC CTGCAAGCCCTCAGCGACCGAATATATCGGTTA 3'  
3' AATCAGGAGTTTCGGA AATCAGGAGTTTCGGA GCTACGACAGAAAGCG TACGACAGGAGAAAGTT TAGACAGGAGAAAGTT TCGCCGGAATTTAGG CTGCAAGCCCTCAGCGACCGAATATATCGGTTA 5'  
5' A9-18.1||A9-18.2 A9-18.3||A9-18.4 A9-18.5||A9-18.6  
5' GACTCCTTATTACGCA CATACATAAAGGTGGC CATACATAAAGGTGGC ACCACGGAATAAGTTT 3'  
3' TTGCCTTATGGGTTTTCTTGACCGTACTAATT CTGAGGAA TAAATGCGT CATAACAATCGTTTGCATCTTTTAT GATATGATTTCCACCCTTGATATATTTCTTTGCGTTTCTG TGGTGCCTATTCAAA TAAAACAGTGTAGTTATCTTTTAAAGTATACC 5'

Unión arista 10-11:

5' TCGGTGGGCGATGGTGTGTCTATTGTCGGCG CAAGTATCGGTATCAA GCTGTTTAAAGAAATTCACCTCGAA AGCAAGCTGATAAACC GATACAATTAAGGCTCCTTTTGG AGCCTTTT TTTGGAG ATTTTCAACGTGAAAAAATTATTATTCGCAAT 3'  
3' GTTATAGCCATAGTT GTTATAGCCATAGTT TCGTTCGACTATTGG TCGTTCGACTATTGG TCGGAAAAAAACCTC TCGGAAAAAAACCTC 5'  
5' A10-11.1||A10-11.2 A10-11.3||A10-11.4 A10-11.5||A10-11.6  
5' AGTTAGCGTAAACGATC GTTAGTAAATGAATTT GTTAGTAAATGAATTT CTTTCAACAGTTTTCAG CTTTCAACAGTTTTCAG 3'  
3' TTGCGGACATCGTAAGGTGTCTGTGCGGAGTA TCAATTCGATTTGCTAG ATTTCAAACAGCAGAAAGGTCGT CAATCATTACTTAAAGACATACCCTAAAACGATTTGTT GAAAGTTG TCAAAGTCT GCCTCACTCTTATCTTTCTTGTGATTTCTC 5'

Unión arista 12-17:

5' GTAGTTTGTACTGGTGACGAAAACCTCAGTGTTA CGGTACATGGGTTCTTATTGGGCTTGCTATCCCTGAAAAAT GAGGGTGGTGGGCTCTGAGGGTGGCG GTTCTGAGGGTGGCG TACTAAACCTCCTGAGTACGGTGATACACCTA 3'  
3' GCCATGTACCCAAAGGA GCCATGTACCCAAAGGA CTCCCACCAGAGACT CTCCCACCAGAGACT CCAAGCTCCCAAGGCT CCAAGCTCCCAAGGCT 5'  
5' A12-17.1||A12-17.2 A12-17.3||A12-17.4 A12-17.5||A12-17.6  
5' CAACCGATTGAGGAG ATTCATTAAGGTGAA ATTCATTAAGGTGAA ATTTGGGAATTAGAGC ATTTGGGAATTAGAGC 3'  
3' AAATGGTCCGGGTTTCTGTTTTCCCGCTGTAA GTTGGCTA ACTCCCTCCTTCCATTATAACTGCCTTTAA TAAGTAATTTCCACTT AATAGTGGCAGTGGCTGAAGTCCG TAAAGCTTAAATCTCGT CCGTCTTCTAGTGGTCACTGGTGAATGGTAAT 5'

Unión arista 13-14:

5' TCCCGGCTATACCTTATATCAACCTCTCGAC GGCCTTATCCGCTGCTACTGAGCAAAACCCCGCTAATC CTAATCTCTCTTTGA GGAGTCTCAGCCTCTTAATACTTT CATGTTTTAGATAAT AGGTTCCGAAATAGGCAGGGGGCATTAACTGT 3'  
3' CCGTGAATAGGCGGAC CCGTGAATAGGCGGAC GATTAGGAAGAGAACT GATTAGGAAGAGAACT GTACAAAAGTCTTATTA GTACAAAAGTCTTATTA 5'  
5' A13-14.1||A13-14.2 A13-14.3||A13-14.4 A13-14.5||A13-14.6  
5' CAGAATGGAAGCGCA AGCGTCATACATGGCT AGCGTCATACATGGCT TAATAAGTTTTAACGG TAATAAGTTTTAACGG 3'  
3' TATAAGTGTGTTTTATTTAGGAGTAATTTCC GTCTTACC TTTCCGCTCAGAGACTTAAATGGCAAGGTCAT TCGCAGTATGTAACCGA AACTACTATGTCTCCTACATGACC ATTATTTCAA AATTTGCC CAGTACGGAACCTATTGTACCGGGCATATT 5'

Unión arista 15-16:

5' CAAGGCCAATCGTCTGACCTGCTCAACCTCC TGTCAATGCTGGCGGC GGCTCTGGTGGTGGTCTGGTGGC GGCTCTGAGGGTGGCGGTTCTGAGG GTGGCGGC TCTGAGGG AGGCGGTTCCGGTGGTGGCTCTGGTCCGGTG 3'  
3' ACAGTTACGCCGCGG ACAGTTACGCCGCGG CCGGACTCCCAAGC CCGGACTCCCAAGC CCGGACTCCCAAGC CACCGCCGAGACTCCC CACCGCCGAGACTCCC 5'  
5' A15-16.1||A15-16.2 A15-16.3||A15-16.4 A15-16.5||A15-16.6  
5' GATAGCAGCACCGTAA CTTTACCGTCAAGT CTTTACCGTCAAGT CCGTATAGCCCTT CCGTATAGCCCTT 3'  
3' CGTTCGGCCTTTGAGTGGTACTTTGGTAG CTATCGCTGTGGCATT AGTCATCGCTGTCTTAGTTCAAAC GGAATTCG CAGTCTGA CATCGCGCAAAAGTAGCCGTAATA SCCAGTAT CCGGGAA TAATCGCAACCGTAGAAAAGTATTAGTTTTA 5'

## SECUENCIAS DE GRAPAS DE ARISTAS:

A15-16.6: CCCTCAGAGCCCCCTT	A13-14.6: ATTATTCTTTTAAACGG	A12-17.6: CCGCCACCATTAGAGC	A10-11.6: CTCCAAAAGTTTCAG
A15-16.5: CGGTCATAGCCGCCAC	A13-14.5: TAATAAGTGAACATG	A12-17.5: ATTTGGGACTCAGAAC	A10-11.5: CTTTCAACAAAAGGCT
A15-16.4: CACCACCGCTCAGACT	A13-14.4: TCAAGAGAACATGGCT	A12-17.4: CAGAGCCAAAGTGAA	A10-11.4: GGTTTATCATGAATTT
A15-16.3: CCTTTAGCTCAGAGCC	A13-14.3: AGCGTCATAGGATTAG	A12-17.3: ATTCATTACCACCTC	A10-11.3: GTTAGTAAAGCTTGTCT
A15-16.2: GCCGCCAGCACCGTAA	A13-14.2: CAGCGCAAAAAGCGCA	A12-17.2: AGGAACCTGAGGGAG	A10-11.2: TTGATACCTAACGATC
A15-16.1: GATAGCAGCATTGACA	A13-14.1: CAGAATGGTAAGTGCC	A12-17.1: CAACCGATATGTACCC	A10-11.1: AGTTAGCGGATAGTTG

A9-18.6: GGAGTTAAATAAGTTT  
 A9-18.5: ACCACGGAAGGCCGT  
 A9-18.4: GCGAAAGAAAGTGCC  
 A9-18.3: CATAACATACAGCATCG  
 A9-18.2: AGGCTTTGATTACGCA  
 A9-18.1: GACTCCTTAGACTAA  
 A7-8.6: GCGCAGACGAGATTTG  
 A7-8.5: GTACAACGGTCAATC  
 A7-8.4: TTGAAAGAACCCCGAG  
 A7-8.3: CATCTTTGGGACAGAT  
 A7-8.2: AGGCTGGCAGAAAAGA  
 A7-8.1: AACCTAAATGACCTTC

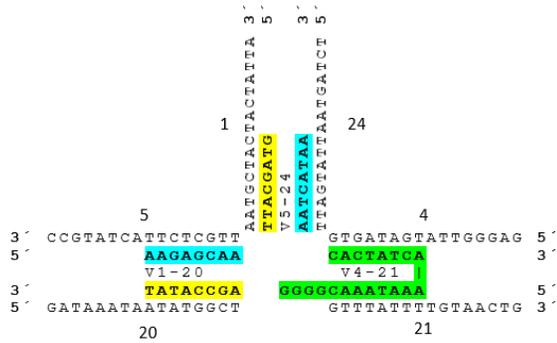
A6-19.6: TTCAGTGAGAACAAAG  
 A6-19.5: AGATAGCCATAAGGCT  
 A6-19.4: GAGTAGTATCTTACCG  
 A6-19.3: AATAGCTAAATTGGGC  
 A6-19.2: AATCATTGCCAATAAT  
 A6-19.1: AGTTAAGTGAATTAC  
 A5-20.6: AATAAACTTAACCTGA  
 A5-20.5: CGGGAGAAGAACTAAC  
 A5-20.4: AGATTCATAGAATAAC  
 A5-20.3: TTACAGAGCAGTTGAG  
 A5-20.2: ATGCAGATTTGTTTAA  
 A5-20.1: ACGATTTTACATAACG

A4-21.6: TAAAAACCGCTCTTT  
 A4-21.5: GCTAACGAAAAATAGC  
 A4-21.4: TGCCAGAGCCAGCTAC  
 A4-21.3: TTTTGCACGGGGTAAT  
 A4-21.2: GTCCAATAGTTTGTAA  
 A4-21.1: TGCGGGAGCTGCGGAA  
 A3-22.6: ATAAATCAGCAAGCAA  
 A3-22.5: GCCCAATAAAAATCAG  
 A3-22.4: AGAAGCAAGTTTTTAT  
 A3-22.3: AGCAAGCCAGCGGATT  
 A3-22.2: CCGAAAGATATTAAC  
 A3-22.1: AGAACGGGCTTCAAAT

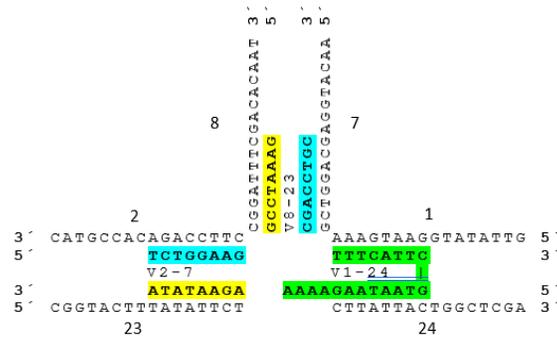
A2-23.6: AGAGAGTAAATAATAT  
 A2-23.5: ACAAGAAACCTTTAAT  
 A2-23.4: TTTGCGGAGCGCCTGT  
 A2-23.3: TGCAGAACTGGCTTAG  
 A2-23.2: GTAGCTCAAGACGACG  
 A2-23.1: TTCTGTCCACATGTTT  
 A1-24.6: TGCGAACGCATGTAAT  
 A1-24.5: AACCCAAAGTAGATT  
 A1-24.4: GCAAAATGGGTAGGCT  
 A1-24.3: GCTCAACATCAATAAC  
 A1-24.2: GGCGCAGGTTATACA  
 A1-24.1: TCATATGCTTCAAAT

### POSICIONAMIENTO DE GRAPAS POR VÉRTICE:

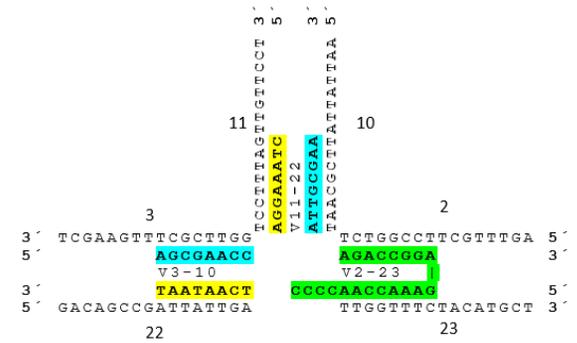
Unión vértice 1-24/4-21/5-20:



Unión vértice 1-24/2-23/7-8:



Unión vértice 2-23/3-22/10-11:







Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

# ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00121

Matrícula: 2223803381

Ordenamiento de nanopartículas de oro en estructuras tipo celda cúbica empleando DNA origami.

En la Ciudad de México, se presentaron a las 17:00 horas del día 14 del mes de enero del año 2025 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. NIKOLA BATINA SKELEDZIJA  
DR. RODOLFO ZANELLA SPECIA  
DR. LEONARDO DAVID HERRERA ZUÑIGA



DAVID EMMANUEL MARTINEZ MIRANDA

ALUMNO

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretario el último, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (QUÍMICA)

DE: DAVID EMMANUEL MARTINEZ MIRANDA

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

**Aprobar**

REVISÓ

MTRA. ROSALIA SERRANO DE LA PAZ  
DIRECTORA DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

*Roman Linares Romero*  
DR. ROMAN LINARES ROMERO

PRESIDENTE

*Batina didda*  
DR. NIKOLA BATINA SKELEDZIJA

VOCAL

*Rodolfo Zanello Specia*  
DR. RODOLFO ZANELLA SPECIA

SECRETARIO

*Leonardo David Herrera Zuñiga*  
DR. LEONARDO DAVID HERRERA ZUÑIGA