



**TURUN
YLIOPISTO**

Matemaattis-luonnontieteellinen
tiedekunta

DNA-pohjaiset nanojohtimet

Alexi Leppänen

Kemia
LuK-tutkielma
Laajuus 6 op

18.04.2024

Turku

Turun yliopiston laatujärjestelmän mukaisesti tämän julkaisun alkuperäisyys on tarkastettu
Turnitin OriginalityCheck -järjestelmällä.

LuK-tutkielma

Oppiaine: Kemia

Tekijä(t): Aleksi Leppänen

Otsikko: DNA-pohjaiset nanojohtimet

Ohjaaja(t): Professori Tuomas Lönnberg

Sivumäärä: 19 sivua

Päivämäärä: 18.04.2024

DNA-pohjaiset nanojohtimet ovat merkittävä edistysaskel nanoteknologian kehityksessä, tarjoten mahdollisuuden rakentaa tulevaisuuden elektronisia laitteita pienemmässä mittakaavassa ja hyödyntää niitä biologisessa ympäristössä. DNA:n kyky muodostaa spesifisiä ja ennustettavia rakenteita on ominaisuus, jota voidaan hyödyntää nanokokoisten johtimien valmistamisessa. Näitä nanokokoisia johtimia voidaan puolestaan hyödyntää signaalien välittäjinä ja tallentimina.

Näiden DNA-pohjaisten nanojohtimien valmistuksessa hyödynnetään bottom-up-menetelmää, jossa rakenteet järjestäytyvät itsestään pienemmistä osasista. Menetelmässä rakenteita voidaan muodostaa joko liuoksessa tai höyryfaasidiffuusiolla. Tällä menetelmällä saadaan valmistettua hyvin spesifisiä rakenteita haluttuihin tarkoituksiin. Bottom-up-menetelmällä DNA:han liitetään metalli-ioneja, kuten hopeaioneja tai nikkeli-ioneja, jotka mahdollistavat hyvän sähkönjohtavuuden DNA:ssa. Nämä metalli-ionit voivat koordinoitua DNA:n selkärankaan eli fosfodiesterisidoksiin tai muodostaa kelaatteja emäsparien väliin. Metallioneilla muokatun DNA:n sähkönjohtavuus on verrattavissa perinteisiin puolijohteisiin.

DNA-pohjaisia nanojohtimia voidaan hyödyntää muun muassa sensoriteknologiassa, jossa niitä voitaisiin käyttää esimerkiksi DNA:n mutaatioiden havainnointiin. Toinen käyttökohte näille nanojohtimille olisi nanoelektronikassa. DNA-origamitekniikka on menetelmä, jossa DNA-pätkistä taitellaan suurempia kaksi- ja kolmiulotteisia kokonaisuuksia. DNA-origamitekniikan avulla voitaisiin valmistaa nanolaitteita metallisoidusta DNA:sta (M-DNA). DNA-nanojohtimien kanssa on kuitenkin vielä haasteita, jotka vaikeuttavat niiden hyödyntämistä laajemmin. Keskeisiä ongelmia, jotka pitää ratkaista ovat muokatun DNA:n valmistuskustannukset, DNA-nanojohtimien stabiilisuuden parantaminen, sekä laajempien kokonaisuuksien, DNA-origamien, muodostaminen DNA-nanojohtimista. Näiden haasteiden ylittäminen tulee olemaan avainasemassa tulevaisuuden nanoteknologian kehittämisessä.

Avainsanat: DNA-nanojohdin, Ni-DNA, nanolaite, nukleiinihappo, metalli-ioni

Sisällysluettelo

1	JOHDANTO	4
2	NANOLAITTEET JA -JOHTIMET.....	5
3	DNA-NANOLAITTEET JA -JOHTIMET.....	6
3.1	DNA-NANOJOHTIMIEN VALMISTAMINEN	7
3.1.1	<i>Hopeaioneilla seostettu DNA.....</i>	<i>9</i>
3.1.2	<i>Nikkeli-ioneilla seostettu DNA</i>	<i>12</i>
3.2	DNA-NANOJOHTIMIEN SÄHKÖNJOHTAVUUS.....	13
4	NANOJOHTIMIEN KÄYTTÖKOHTEET	16
5	HAASTEITA JA ONGELMIA.....	16
6	TULEVAISUUS	17

1 Johdanto

DNA:n tutkimus on vuosikymmenten ajan valottanut sen monipuolisia rooleja biologisissa prosesseissa, kuten geneettisen informaation säilyttämisessä ja välittämisessä. Watsonin ja Crickin vuonna 1953 raportoima DNA:n kaksoiskierteisen rakenteen mullistava löytö merkitsi käännekohtaa geneettisen materiaalin ymmärtämisessä^[1]. Siitä seurasi useiden vuosikymmenten tutkimukset DNA:n fysikaalisiin ja kemiallisiin ominaisuuksiin, kuten mahdollisiin elektroninsiirto-ominaisuuksiin^[2-4]. Vaikka DNA on ensisijaisesti tunnettu geneettisenä materiaalina, sen ainutlaatuinen rakenteellinen järjestys herättää kysymyksiä siitä, voiko se toimia myös sähköisenä johtimena.

Varhaiset tutkimukset, kuten Eleyin ja Spiveyn vuonna 1962^[2], esittivät DNA:n pinottujen emäsparien väliset $\pi - \pi$ vuorovaikutukset mahdollisena mekanismina varauksen kuljetukselle. Lisäksi Barton et al.^[3] tutkimus fluoresenssin sammuttamiseen viittaa varauksen siirtoon virittyneen donorin ja lähellä olevan akseptorin välillä molekyylissä.

Nämä löydökset vihjailivat DNA:n kykyyn toimia sähköä johtavana molekyylitason johtimena. Kuitenkin tutkimus, jossa Wilson E. et al.^[4] johtivat sähkövirtaa mika-levyn pinnalle kiinnitettyjen DNA-juosteiden läpi, esitti DNA:n eristävänä materiaalina, kun taas Porath D. et al.^[5] tutkimus osoitti DNA:n olevan puolijohde, jolla on merkittävä kaista-aukko eli energiaero johtavien ja eristävien tilojen välillä puolijohteen elektronirakenteessa.

Näiden löydösten epäjohdonmukaisuudet korostavat DNA:n sähköisten ominaisuuksien monimutkaisuutta, jolloin mielenkiinnon kohteeksi nousee metalleilla seostettu DNA eli M-DNA. M-DNA:ta on alettu tutkimaan lähes välittömästi DNA:n löytämisen jälkeen ja se voi avata uusia näkökulmia DNA:n käyttöön nanoteknologiassa^[6].

Tämä uusi tutkimussuunta ei ainoastaan tarjoa mahdollisuutta parempaan ymmärrykseen DNA:n sähköisistä ominaisuuksista vaan avaa myös polkuja uudentyyppisten, biologisen ja elektronisen maailman rajapinnassa toimivien nanolaitteiden kehittämisen.

2 Nanolaitteet ja -johtimet

Nanolaitteet ovat molekyylitason laitteita, jotka koostuvat useista erilaisista johtimista ja rakenteista. Nanolaitteet hyödyntävät usean eri tieteenalan, kuten fysiikan ja kemian, käytäntöjä ja menetelmiä^[7]. Nanolaitteiden etuja ovat niiden kyky nopeasti kerätä tai syrjäyttää elektroneja nanotason rakenteissa ja herkkyys fysikaalisen, kemiallisen tai biologisen ympäristön muutoksille.

Nanolaitteiden ja -johtimien valmistuksessa käytetään yleisesti joko top-down tai bottom-up -menetelmää. Perinteisiä synteettisiä nanolaitteita ja -johtimia, kuten piikiekköjä, valmistetaan tyypillisesti top-down -menetelmällä litografisia ja/tai NEMS-teknologioita hyödyntäen (NEMS = nanoelektromekaaninen systeemi)^[8]. Menetelmässä hajotetaan isompia rakenteita ja osia pienemmäksi valon- tai elektronisäteiden avulla, jolloin niistä saadaan luotua nanorakenteita. Tällä menetelmällä Taiwan Semiconductor Manufacturing Company (TSMC) valmisti 16 nm:n kokoisia transistorin^[9] ja Park et al. valmistsivat elektronisuihkulitografialla pii-nanojohtimen, jolla voidaan mitata liuoksen kemiallisia muutoksia, kuten pH:ta^[10]. Menetelmällä on kuitenkin heikkouksia, kuten kustannukset ja massatuotannolliset ongelmat^[8,11]. Menetelmällä ei myöskään ole mahdollista valmistaa biomolekyyleistä, kuten DNA:sta, nanolaitteita tai -johtimia.

Suotuisampi vaihtoehto biomolekyylipohjaisten nanolaitteiden tai -johtimien valmistamiseen on bottom-up -menetelmä, jossa itsejärjestäytyvät molekyylit muodostavat rakenteita, kuten kiteitä, nanohiukkasia tai molekyylikomplekseja, atomi tai molekyyli kerrallaan kiinteässä olomuodossa tai liuoksessa^[8]. Itsejärjestäytymisen voimat voivat olla kemiallisia tai fysikaalisia, kuten vety- tai koordinaatiosidoksia tai sähköstaattisia vuorovaikutuksia.

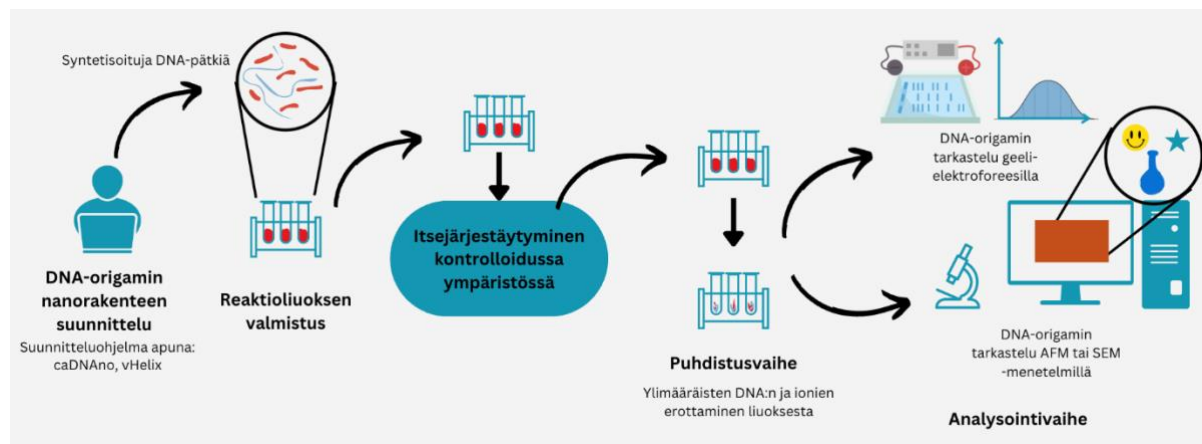
Tällä menetelmällä on valmistettu monia nanolaitteita, kuten piinanojohtimia, hiilinanoputkia, polymeerejä ja nukleiinihappoja^[12-15]. Biomolekyylit, erityisesti DNA, ovat lupaavia materiaaleja nanolaitteiden valmistukseen, sillä niistä voidaan muodostaa hyvin eri tavoin toimivia rakenteita^[16]. Menetelmällä on suuri potentiaali tulevaisuuden nanoteknologiassa, etuna ovat muun muassa pienemmän mittakaavan nanolaitteet, helppo muokattavuus, sekä rakenteiden hyvin spesifinen muodostaminen. Puolestaan vaikeutena on toistettavuus, massatuotanto, sekä integrointi laajempiin järjestelmiin.

3 DNA-nanolaitteet ja -johtimet

DNA on jo pitkään ollut tutkimuksen kohteena nanoteknologiassa^[17]. Nukleotidien järjestyksen helppo muokkaaminen ja DNA:n kierteen vankka rakenne tekevät siitä mahdollisen kohteen nanolaitteeksi. DNA-molekyyliä pystytään helposti muokkaamaan atomitasolla erilaisten entsyymien, kuten ligaasien, nukleaasien tai transferaasien, avulla^[18]. Helppo muokattavuus mahdollistaa monien erilaisten nanolaitteiden valmistamisen, yleensä DNA-origamitekniikkaa hyödyntäen.

DNA-origamitekniikka on menetelmä, jossa yksijuosteisesta DNA-pätkästä taitellaan erilaisia kaksi- tai kolmiulotteisia rakenteita useiden lyhyiden DNA-oligonukleotidien kanssa^[19] (Kuva 1). Näiden kaksi- tai kolmiulotteisten rakenteiden suunnittelu on kuitenkin hankalaa ja hidasta ilman suunnittelussa auttavaa ohjelmistoa. Menetelmällä on onnistuttu valmistamaan DNA:sta useita erilaisia rakenteita, kuten palloja ja keittopulloja^[20]. DNA-origamitekniikalla luotuja nanorakenteita on hyödynnetty monilla tavoilla, kuten lääkkeiden kuljettimena, biosensorina ja nanoelektronikassa^[21–23].

Nanoelektronikassa DNA-origamitekniikalla voidaan rakentaa DNA:sta virtapiirejä ja muita haluttuja rakenteita. Rakenteiden muodostamisessa voitaisiin hyödyntää litografisilla menetelmillä valmistettuja DNA-muotteja ja erilaisia pintakiinnitysprosesseja^[22]. Näihin muotteihin voitaisiin sijoittaa DNA-pätkiä ja muodostaa haluttu rakenne. Virtapiiri tällaisesta DNA-rakenteesta saataisiin sijoittamalla siihen metalli-ioneja. DNA-rakenteeseen voitaisiin sijoittaa myös puolijohteita, jolloin virtapiiriin saataisiin transistoreja. Näihin virtapiireihin voitaisiin liittää vielä esimerkiksi loogisia portteja laajentamaan toimintaa.



Kuva 1. DNA-origamin valmistusmenetelmä

Zadegan et al.^[23,24] valmistivat kolmiulotteisen DNA-origamilla muodostetun DNA-laatikon, joka toimii tavallisena loogisena porttina, sekä sumeana loogisena porttina. Loogisten porttien systeemiä voidaan hallita DNA-oligonukleotideilla, jotka muuttavat DNA-origamin rakennetta. Tämä aiheuttaa häiriötä fluoresenssi-resonanssi-energiansiirrossa (FRET), joka havaitaan kasvaneena

fluoresenssiemissiona. Näiden loogisten porttien tilaa seurattaisiin mitattavasta FRET-signaalista, joka voidaan tulkita arvona 0 ja 1 väliltä^[23,24].

Muita DNA-pohjaisia nanolaitteita on myös kehitetty, kuten nanokytkin ja DNA-pinsetit. Liedl et al.^[25] valmistivat DNA-nanokytkimen sytosiinirikkaasta DNA:sta. Tässä DNA-pätkässä esiintyy herkästi pH:n muutoksesta tapahtuvaa muuntautumista epäjärjestyneen- ja i-motif-konformaation välillä. Nanokytkimen fluoresoivaa signaalia voidaan toistuvasti kytkeä päälle ja pois protonien konsentraatiota muuttamalla. Samanlaisella mekanismilla toimivaa DNA-pohjaista nanokytkintä on käytetty avaruudellisten ja pH-muutoksien kartoittamiseen elävissä soluissa^[26].

DNA-nanolaitteet pystyvät myös toimimaan entsyymien tai DNA:n aktivoimana^[27,28]. DNA-pinsetit toimivat aktivoitavana nanolaitteena, joka avautuu ja sulkeutuu tietyn DNA-pätkän lisäämisen seurauksena. Del Grosso et al. osoittivat entsyymipohjaisessa DNA-nanolaitteessa pH-herkän DNA-nanokytkimen avautumisen ja sulkeutumisen vasteena entsyymiaktiivisuuteen. Nanokytkimen avautuminen tapahtui protoneita kuluttavalla glutationi-S-transferaasilla ja sulkeutuminen protonia tuottavalla ureaasilla.

DNA-nanolaitteiden käyttökohteita voidaan laajentaa myös proteiinien tai DNA-aptameerien avulla. Näillä voidaan kiinnittyä haluttuun kohdeproteiiniin tai molekyyliin. Esimerkkinä tästä on DNA-nanolaite, joka rakennettiin DNA-aptameereista. Nämä aptameerit voivat spesifisesti kiinnittää tai vapauttaa trombiinin, veren hyytymiseen osallistuvan entsyymin.^[29] Tässä DNA-nanolaitteessa trombiinin kiinnittyminen tai vapauttaminen voidaan aktivoida operaattori-DNA-molekyyliellä. DNA-proteiinikonjugaatteja on myös laajasti käytetty biosensoreissa, nanolaitteissa ja immuunimäärityksessä^[21].

3.1 DNA-nanojohtimien valmistaminen

DNA:n monimuotoiset rakenteet, kuten A-, B- ja Z-DNA, ovat motivoineet tutkijoita kehittämään DNA-pohjaisia nanomateriaaleja. Watson-Crick-emäsparit, AT ja GC, ovat perusta DNA:lle ja geneettiselle informaatiolle. Näiden Watson-Crick-emäsparien välisten vetysidosten korvaaminen eri sidoksilla, kuten kovalenttisilla sidoksilla ja koordinaatiosidoksilla, ovat olleet haasteena geneettisen informaation laajentamisessa ja DNA-nanoteknologiassa.

DNA on itsessään hyvin huonosti sähköä johtava materiaali ja toimii pikemminkin eristeenä. Metallionien, kuten kullon, hopean ja nikkelin, seostaminen DNA:han on keino, joka parantaa huomattavasti sähköjohtavuutta.^[30] Metallionien seostamisessa emäsparien väliset vetysidokset korvautuvat osittain tai kokonaan metallioneilla. Metallionien sitoutuminen DNA:n emäksien kanssa luo uudenlaisia rakenteita, jotka mahdollistavat sähköjohtavuuden lisäksi monia muita ominaisuuksia, kuten sensorelementtinä toimimisen.

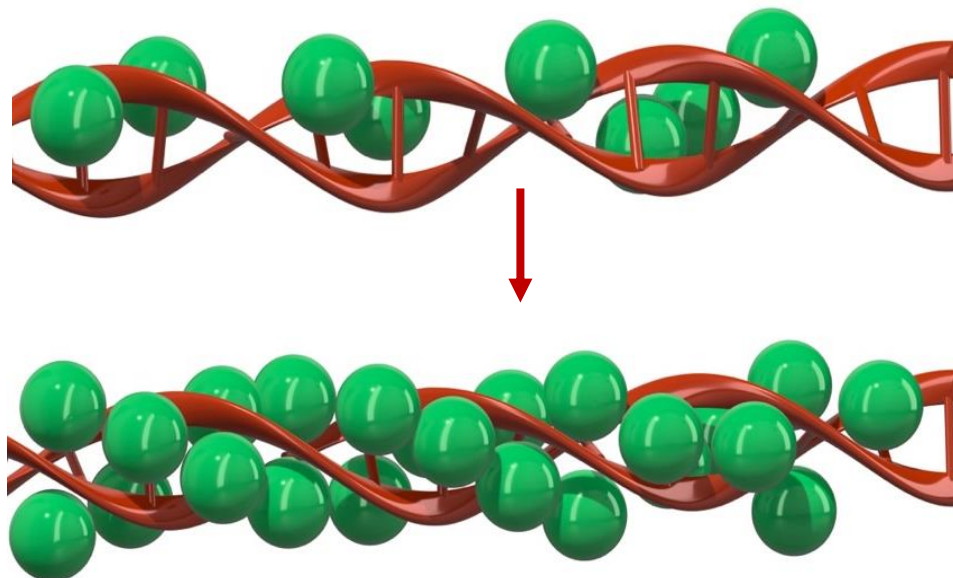
Metallioneja voidaan liittää myös DNA:n selkärankaan eli fosfodiesterisidoksiin (Kuva 2), mikä mahdollistaa vankemman rakenteen ja tarjoaa biokemiallista vakautta. Nanojohtimia, joissa

metalli-ionit ovat kiinnittyneet DNA:n selkärankaan voidaan valmistaa kolmella yleisellä tavalla: (1) metalli-ionien liuoksessa, (2) elektroninen pinnoitus, sekä (3) kaksivaiheinen metallisointi. Metallionien liuoksessa positiivisesti varautuneet metalli-ionit voivat kiinnittyä DNA:n negatiivisesti varautuneeseen selkärankaan. Elektronisessa pinnoituksessa metalli-ionit pelkistetään hiukkasiksi, jolloin ne kelatoituvat eli muodostavat kompleksiyhdisteitä DNA:n fosfaattiryhmien kanssa. Kaksivaiheisessa metallisoinnissa pelkistäviä aineita, kuten aldehydejä, käytetään metallien pelkistämiseksi, jonka jälkeen ne voivat kiinnittyä DNA:han.^[31]

Eidelshtein et al.^[32] valmistivat kaksivaiheisella metallisoinnilla DNA-nanojohtimen. He valmistivat ensin hopeahiukkasia pelkistämällä AgNO_3 :a sitruunahapon ja NaBH_4 :n kanssa liuoksessa. Tämän jälkeen hopeahiukkaset päällystettiin kymmenestä adenosiinistä koostuvalla oligonukleotidilla (dA_{10}), joka auttaa stabiloimaan hiukkaset liuoksessa ja estää kasautumista. Hopeahiukkasilla päällystettyä oligonukleotidiä inkuboitiin huoneenlämmössä neljän päivän ajan guaniini- ja sytosiinirikkaan poly(dG)-poly(dC) DNA:n kanssa natriumfosfaattipuskuriliuoksessa. Hauduttamisen jälkeen hopeahiukkasten kiinnittyminen DNA:han todettiin röntgenfotoelektronispektroskopiolla (XPS) ja rakenteelliset muutokset atomivoimamikroskoopilla (AFM). DNA-pätkän rakenteessa huomattiin selkeä pientymisen hopeahiukkasten kiinnittymisen seurauksena, mutta DNA:n todettiin olevan huomattavasti vankempi verrattuna tavalliseen DNA:han. Tutkijat myös selvittivät pyörivän dikroismin (CD) avulla, että hopeahiukkaset pystytään poistamaan DNA:sta ditiotreitolin (DTT) käsittelyllä.

Syntetisoidun hopeapäällysteisen DNA-pätkän todettiin myös olevan vastustuskykyinen DNAasi I:n hajoitukselle, toisin kuin tavallinen DNA. Hopean integrointi DNA:han antaa uusia fyysisiä ominaisuuksia sekä biokemiallista vakautta, joka tarjoaa paljon mahdollisuuksia tällaiselle nanojohtimelle.

Edellä mainittua metallien seostamista DNA:n selkärankaan on tutkittu paljon, mutta metallionien välisestä johtavuudesta ja yhteydestä tässä tapauksessa ei tiedetä paljoa. Toisin on M-DNA:ssa, jossa metalli-ionit ovat kiinnittyneet DNA:n keskelle emäsparien väliin. Tällaisessa tapauksessa muodostuu sähköä johtava käytävä DNA:n rakenteen läpi kuten nähdään nikkeli-ioneilla ja hopeaioneilla seostetussa DNA:ssa.^[33–35] Tämä metalli-ionien kiinnittyminen DNA:n emäspareihin on merkittävää, sillä se mahdollistaa elektronien siirtymisen molekyylien läpi tavalla, joka muistuttaa perinteisiä johtimia, mutta erittäin pienessä mittakaavassa ja biologisesti yhteensopivalla tavalla.

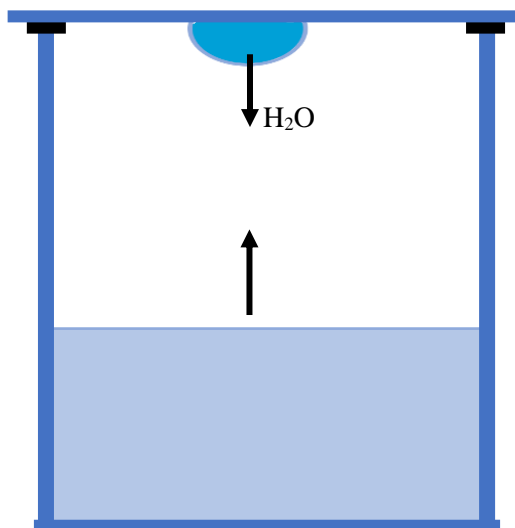


Kuva 2. Metallionien kiinnittyminen DNA:n selkärankaan.

3.1.1 Hopeaioneilla seostettu DNA

Kondo et al.^[35] valmistivat hopeaioneilla seostetun DNA-pätkän, jossa hopeaionit ovat korvanneet emäsparien väliset vetysidokset. He onnistuivat kiteyttämään hopea-DNA-nanojohtimia muutamassa päivässä liuoksesta, joka sisälsi DNA:ta $d(\text{GGACT}(\text{BrC})\text{GACTCC})$, hopeanitraattia, kaliumnitraattia, 3-morfolinopropaanisulfonihappoa (pH 7,0), spermiiniä ja 2-metyyli-2,4-pentaanidiolia. Kiteytys toteutettiin 298 K lämpötilassa riippuvan pisaran höyryfaasidiffuusiolla. Menetelmässä kiteytettävä aine, esimerkiksi nukleiinihappo, on liuotettuna veteen, jonka pH ja ionivahvuus on säädetty. Pieni pisara tätä kiteytettävää ainetta sisältävää vettä asetetaan reaktioastian kanteen (Kuva 3). Reaktioastian pohjalle laitetaan ns. antiliuotinta (2-metyyli-2,4-pentaanidioli), johon kiteytettävä aine liukenee huonosti. Ajan kuluessa sekä vettä että antiliuotinta höyrystyy kiteytyskammioon ja sitten taas tiivistyy sekä pisaraan että astian pohjalle, jolloin antiliuotintien pitoisuus pisarassa hiljalleen nousee ja kiteyttävän aineen liukoisuus alenee, joka johtaa hitaaseen M-DNA:n kiteytymiseen pisarassa.^[36]

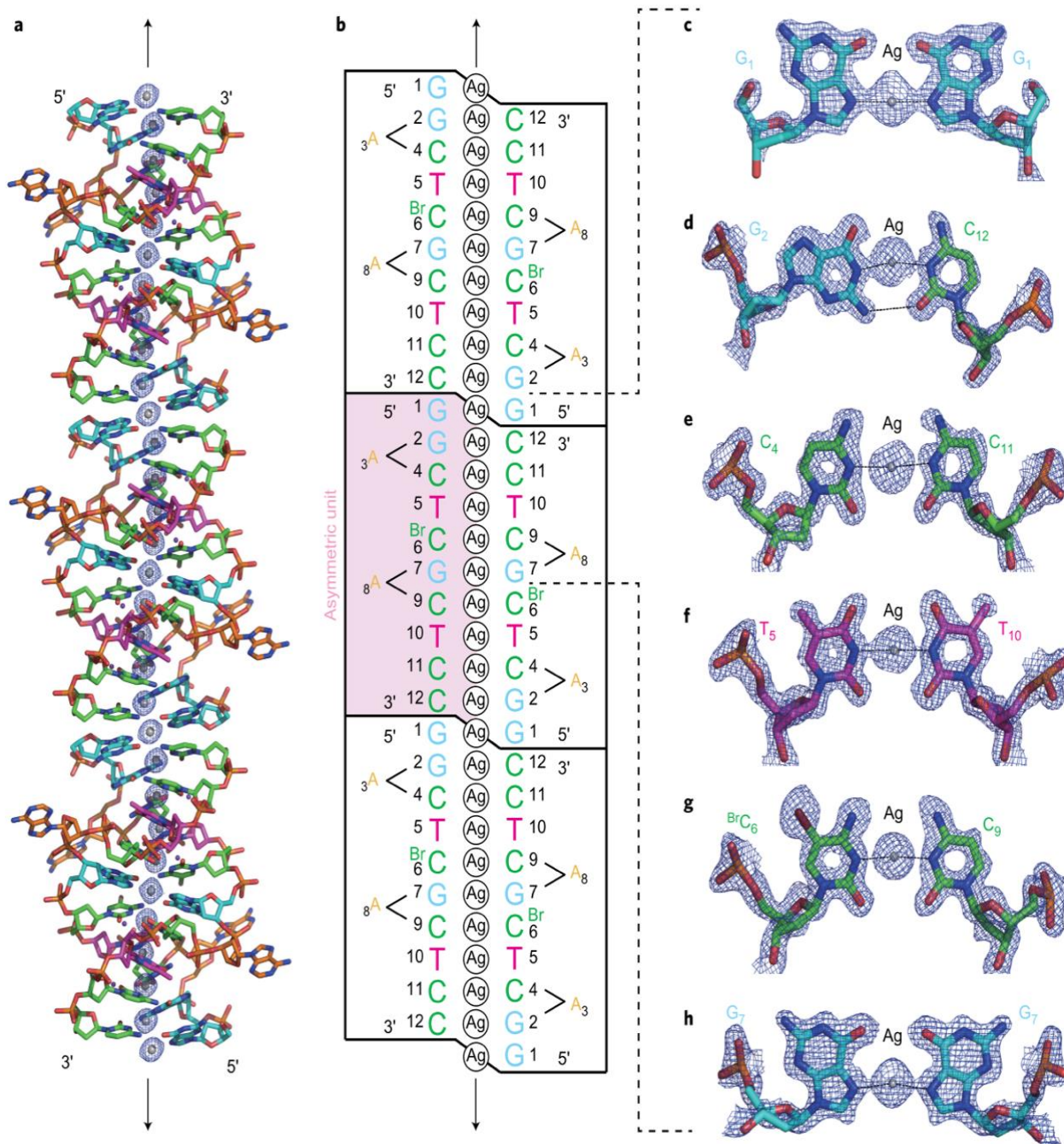
Kondo et al. onnistuivat saamaan 0,08-0,1 mm kokoisia kiteitä. Kiteissä kaksikierteiset DNA-pätkät sisälsivät pelkästään hopeaionien ja emäsparien välisiä sidoksia, joissa hopeaionit ovat liittyneet emäsparien typpiatomeihin kiinni (Kuva 4c-h). Näille nanojohtimille tuli halkaisijaksi noin 2 nm ja pituudeksi 0,1 mm. Hopea-DNA-nanojohtimet olivat kiinnittyneet toisiinsa heikosti muutamien molekyylien välisten sidoksien avulla muodostaen kiderakenteen (Kuva 5).



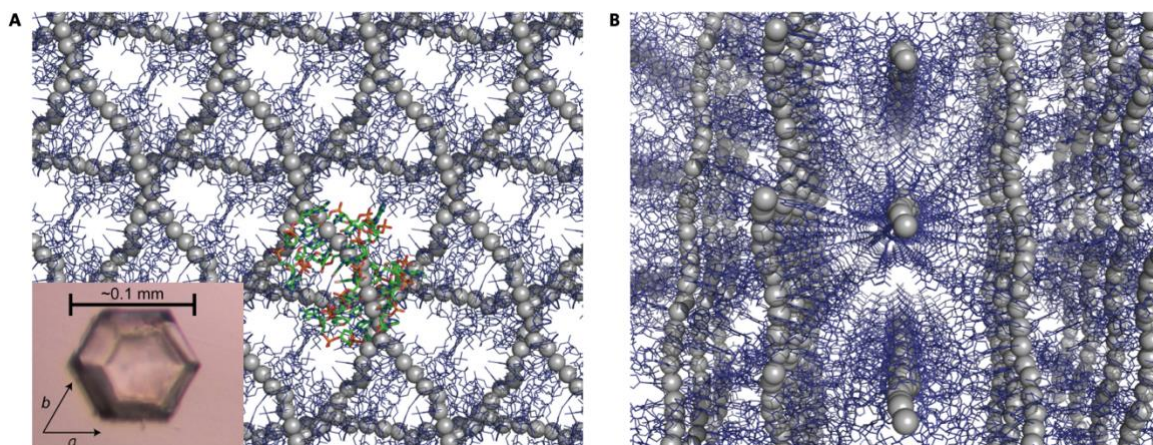
Kuva 3. Riippuvan pisaran höyryfaasidiffuusio. Ilmaviiniin reaktioastian kanteen laitetaan pisara kiteytettävää ainetta ja reaktioastiaan antiliuosta. Ajan kuluessa tapahtuu höyrystymistä ja tiivistymistä, jolloin pisaraan alkaa muodostua M-DNA kiteitä.

Hopea-DNA-nanojohdin koostuu kahdentoista nukleotidiparin pituisista pätkistä eli dodekameeriduplekseista. Dodekameeridupleksin ulkopuolella roikkuvat 5'-päiden guaniinit muodostavat keskenään dupleksien välisiä G-Ag-G-emäspareja (Kuva 4b, c). Tällä tavoin vierekkäiset dodekameeridupleksit liittyvät yhteen pitkäksi metalli-DNA-nanojohtimeksi, jonka keskellä kulkee hopeaionien keskeytymätön, yksiulotteinen jono. Tällaisessa dodekameeridupleksissa neljä adeniinia on kääntynyt DNA:n kaksoiskiirteen ulkopuolelle muodostaen sidoksia toisien hopea-DNA-nanojohtimen kanssa. Nämä DNA:n kiirteen ulkopuoliset adeniinit mahdollistavat kolmiulotteisten kiderakenteiden muodostumisen.

Jokaisella metallisoituneella emäsparilla on eri varausaste. Tymiineillä T-Ag-T on -I varausaste, kun taas G-Ag-C on neutraali ja C-Ag-C-, sekä G-Ag-G-emäsparin varausaste on +I. Näiden kaikkien varauksien summa dodekameeridupleksissa on +IV. Hopeaionit ovat M-DNA:ssa kukin +I varauksella.^[35]



Kuva 4. Hopea-DNA-nanojohtimen rakenne. **a**, hopea-DNA-dodekameeri. Rakenteessa nukleosidien hiilet ovat värjätty seuraavasti: G vaaleansinisellä; C vihreällä; T pinkillä ja A oranssilla. Muut atomit ovat värjätty seuraavasti: N tummansinisellä; O punaisella; P oranssilla ja Ag hopealla. **b**, pelkistetyssä rakennekuvassa näkyy miten kolme hopea-DNA-dodekameeria on liittynyt yhteen. **c-h**, tarkennetut rakenteet emäspareista, joihin hopeaioni on sitoutunut. Kuva on kopioitu laatijan luvalla lähteestä^[35].

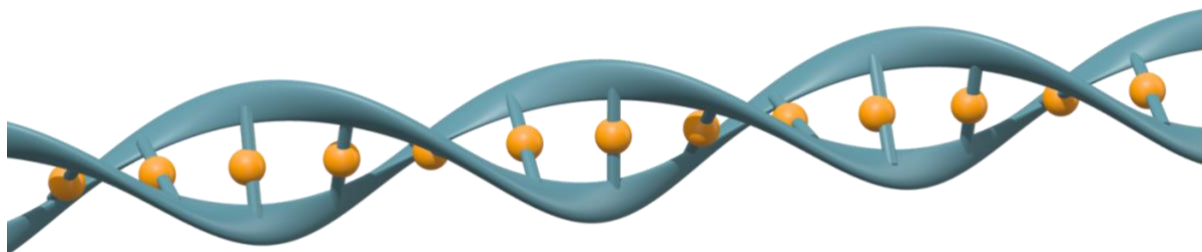


Kuva 5. Hopea-DNA-nanojohtimen kiderakenne. **A**, Kuva on kristallografisen *c*-akselin suunnasta. Ag hopeisina palloina; DNA tummansinisenä (paitsi yksittäinen dodekameeridupleksi, joka näkyy värillisenä). C vihreällä; N sinisellä; O punaisella ja P oranssilla. Alakulman kuva on yksittäisestä kiteestä. **B**, Kuva kristallografisen *a*-akselin suunnasta. Kuva on kopioitu laatijan luvalla lähteestä^[35].

Kondo et al. tutkivat vielä onnistuisiko tällaisen hopea-DNA-nanojohtimen valmistus liuoksessa. He suorittivat DNA-dodekameerin titrauksen hopeaioneilla ja seurasivat hopea-DNA-nanojohtimen muodostumista NMR-spektrometrisesti. Liuoksesta havaittiin vahvaa nukleiinihappojen iminoprotonien resonanssia, kun hopeaionien mooliosuus saavutti 2 ekv, joka viittaa C-Ag-C metalloituneiden emäsparien ja sitä kautta kaksoiskierteen muodostumiseen. Resonanssia ei enää havaittu, kun hopeaionien mooliosuus ylitti 10 ekv. hopeaionien sitoutuessa kaksoiskierteen muihin emäspareihin. Tämä antaa vahvaa uskoa siihen, että myös liuokseen olisi myös muodostunut hopea-DNA-nanojohtimia.^[35]

3.1.2 Nikkeli-ioneilla seostettu DNA

Metalleilla seostettuja DNA-nanojohtimia voidaan valmistaa myös kahdenarvoisista metalli-ioneista, kuten Ni(II), Zn(II) ja Co(II). Aich P. et al.^[37] valmistivat metallisoitua DNA:ta (M-DNA) liuoksessa nikkeli-ioneista (Kuva 6). Pieniä määriä nikkelikloridia (NiCl_2) lisättiin ei-puskuroituun liuokseen, jossa oli lehmän kateenkorvan DNA:ta (1,1 mM). Ni-DNA:n muodostumista seurattiin ottamalla pieniä näytteitä liuoksesta ja mittaamalla niihin lisätyn etidiumbromidin ($\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{BrN}_3$) fluoresenssi. Liuoksen pH:ta seurattiin samalla tarkasti. M-DNA:n muodostumisen seurauksena DNA:sta vapautuu protoneja, jolloin liuoksen pH laskee. Tämän pH:n alenemiseksi liuokseen lisättiin säännöllisesti kaliumhydroksidia (KOH), jotta pH pysyi yli 8,5:ssä. Liuoksessa huomattiin tapahtuvan M-DNA:n muodostumista, kun nikkelikloridia oli lisätty 0,7 mM ja muodostuminen loppui, kun nikkelikloridia oli lisätty 1,8 mM. Tällä tavalla valmistettu Ni-DNA-nanojohdin vastasi rakenteeltaan yllä olevaa hopeaioneilla valmistettua DNA-nanojohdinta, jossa metalli-ionit ovat kelatoituneet DNA:n keskelle emäsparien väliin.



Kuva 6. Havainnollistava rakenne Ni-DNA:sta, jossa nikkeli-ionit ovat kelatoituneet DNA:n emäsparien väliin.

3.2 DNA-nanojohtimien sähkönjohtavuus

DNA on toimiva materiaali nanoelektronisten laitteiden valmistuksessa, mutta kuten aiemmin mainittu, DNA on itsessään huonosti sähköä johtava materiaali ja toimii pikemminkin eristeenä. Jotta DNA:ta voitaisiin hyödyntää nanojohtimena, siitä täytyy tehdä sähköä johtava materiaali seostamalla se metalli-ioneilla, kuten kullalla, hopealla, nikkellillä tai palladiumilla.^[32,37,38] Metallionien on osoitettu sitoutuvan hyvin vahvasti DNA:n emäspareihin korvaten vetysidokset^[38].

DNA-kompleksiin voidaan yleisesti lisätä metalli-ioneja hapetusarvoltaan +II (esim. Ni²⁺), kun pH on yli 8,5. Tällöin guaniinin ja tyymiinin iminoprotonit korvautuvat metalli-ionilla^[37]. Joitakin metalli-ioneja, kuten Hg²⁺ tai Ag⁺, voidaan kuitenkin lisätä jo alemmassa pH:ssa^[32,35,39]. Metallioneilla, kuten Co²⁺ ja Ni²⁺-ioneilla, seostetussa DNA:ssa huomataan erittäin hyvää sähkönjohtavuutta.

Jian et al. totesivat tutkimuksessaan, että nikkeli-ioneilla seostetun DNA:n ytimen läpi pystytään tehokkaasti johtamaan elektroneja. Tutkimuksissaan he huomasivat nikkeli-ionien kelatoituvan muokatun DNA:n emäsparien väliin korvaamalla guaniinin (G) ja tyymiinin (T) väliset vetysidokset. Sidokset muodostuivat emäksisissä olosuhteissa pH:n ollessa yli 8,5.^[30,37] Sitoutuminen emäsparien kanssa DNA:ssa varmistettiin fluoresoivalla SYBR Green I -värillä. Sitoutumisen varmistamisen perustana oli ajatus, että fluoresoivat väriaineet eivät pääse kiinnittymään DNA:han, jos nikkeli-ioni on kelatoitunut DNA:n emäsparien väliin.^[30]

Tutkijat seostivat DNA- ja M-DNA-molekyylejä monokerrokseksi kullasta valmistetulle elektrodille, jonka jälkeen ne analysoitiin EIS (Electrochemical Impedance Spectroscopy) ja SPM (Scanning Probe Microscopy) -menetelmillä. EIS-menetelmän avulla saatiin selville, että nikkellillä seostetun DNA:n (Ni-DNA) sähkönjohtavuus liuoksessa on noin 20 kertaa parempi tavalliseen DNA:han verrattuna. Tutkimuksissa selvisi myös, että Ni-DNA käyttäytyy puolijohtavan biopolymeerin tavoin.^[30] Samanlaisia tuloksia saatiin myös UV-spektroskopiolla, joka osoitti

energiaraon pienentymisen rajaorbitaalien HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) ja LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) välillä Ni-DNA:ssa. Ni-DNA:ssa elektroni voidaan siis virittää π -tilasta π^* -tilaan pienemmällä energialla kuin tavallisessa DNA:ssa.^[30] Metallionien lisäksi myös emäsparien huomattiin olevan mukana Ni-DNA:n sähkönjohtavuudessa.

Esiin nousi myös mielenkiintoinen ominaisuus DNA:n kaksoiskierteen vaikutuksesta sähkönjohtavuuteen Ni-DNA:ssa. Syklisellä voltammetrialla (CV, Cyclic Voltammetry) analysoitiin yksijuosteisen Ni-DNA:n ja vertailukohteena tavallisen DNA:n itsejärjestäytyneitä monokerroksia. Tuloksista selvisi, että Ni-ssDNA:n (ssDNA, single-stranded-DNA eli yksijuosteinen DNA) sähkönjohtavuus on hyvin samanlainen kuin tavallisen DNA:n. Tämä tarkoittaa, että kaksijuosteinen rakenne on välttämätön hyvän sähkönjohtavuuden kannalta.

Ni-DNA:ssa havaittiin resistanssin kasvavan myös, kun rakenteessa on ei-yhteensopivia emäspareja, esimerkiksi A-G tai T-C. Nämä tulokset sopivat Simmons'n sähkötunnelivaikutuksen malliin, jossa elektronin siirrossa emäsparien välillä nikkeli-ioni-kelaatit käyttäytyvät sähkötunnelivaikutuksen mukaisesti.^[33,40,41] Ni-DNA:n resistanssia R ja sähkötunnelivaikutuksen sähkövirran tiheyttä J voidaan kuvailla kaavoilla (1) ja (2):

$$R \propto J^{-1} \quad (1)$$

$$J = \left(\frac{e^2}{dh^2} \right) (2m\Phi)^{\frac{1}{2}} V_{exp} \left[- \left(\frac{4\pi d}{h} \right) (m\Phi)^{\frac{1}{2}} \right] \quad (2)$$

Kaavassa (2) Φ on jännitesuojuksen korkeus, m on elektronin massa, h on Planckin vakio ja d on emäsparien välinen etäisyys. Yleensä emäsparien etäisyys on noin 0,34 Å. Tällöin Ni-DNA:n resistanssille saadaan kaava (3), jossa β kuvastaa vakiota $\left(\frac{4\pi}{h} \right) (2m\Phi)^{\frac{1}{2}}$:

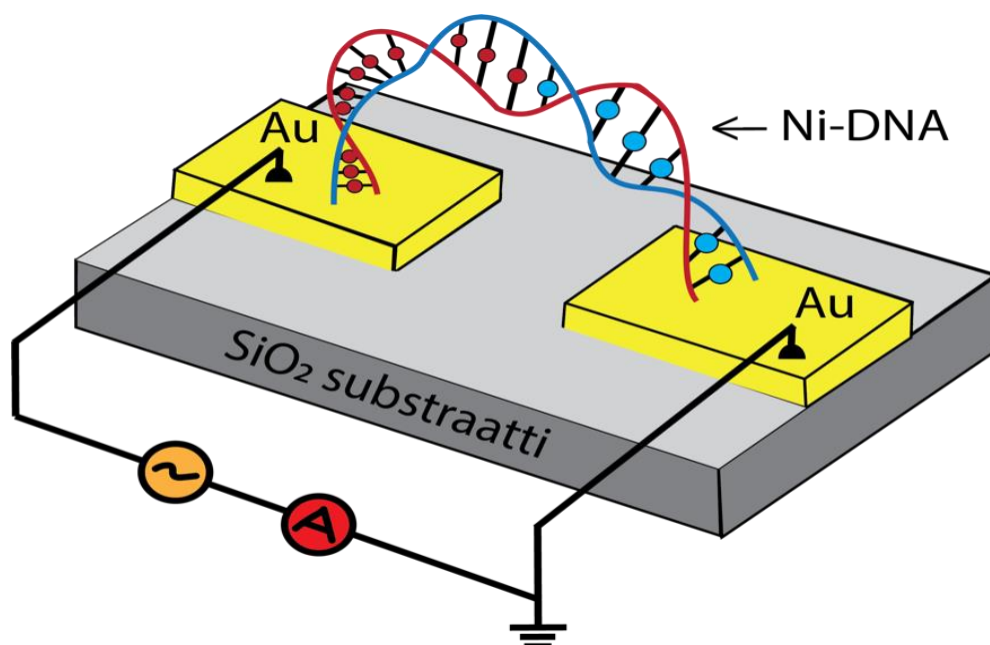
$$R \propto \exp(\beta d) \quad (3)$$

EIS-menetelmällä tehdyllä analyysillä saatiin yhtälöstä ratkaistua $\beta \approx 0,3 \text{ \AA}^{-1}$ ja $\Phi \approx 0,083 \text{ eV}$. Jännitesuojuksen korkeuden arvo eli Φ tarkoittaa kuinka hyvin elektroni pääsee kulkeutumaan materiaalin läpi. Saatu arvo 0,083 eV on hyvin pieni, mikä tarkoittaa, että Ni-DNA:ssa elektroni pääsee kulkeutumaan hyvin metalli-ioneja pitkin. Vertailun vuoksi tavalliseen DNA:n Φ -arvo on noin 166 eV eli huomattavasti suurempi.^[33]

Jian et al.^[42] tutkivat myös Ni-DNA:n sähkönjohtavuutta kuivissa olosuhteissa asettamalla Ni-DNA:n kahden kultaelektrodin väliin. Elektroforeesin avulla Ni-DNA-molekyylit venytettiin ja niistä poistettiin vesi lämmittämällä niitä 80°C uunissa 15 minuutin ajan. Tämän jälkeen Ni-DNA:ta tutkittiin syklisen voltammetrian avulla vaihdellen jännitettä -10 voltista +10 volttiin. Tuloksissa huomattiin

selkeää hystereesiä eli ilmiötä, jossa systeemin tila riippuu aiemmista tiloista ja nykyisestä tilasta, ja kaksi merkittävää negatiivista differentiaaliresistanssia (NDR, Negative Differential Resistance) kohdissa +3,5 V ja -4,7 V. Nämä ovat kohtia, joissa resistanssi laskee jännitteen kasvaessa. Tästä NDR-ilmiöstä voidaan todeta nikkeli-ionien hapetus-pelkistysreaktioiden tapahtuvan M-DNA:ssa. Nikkeli-ionien hapetusasteiden muutokset voivat muuttaa Ni^{2+} ja Ni^{3+} -ionien suhteellisia määriä DNA:ssa. Nikkeli-ionien resistanssin on arveltu vaihtelevan hapetusasteen mukaan.^[42] Tästä syystä nikkeli-ionien eri hapetusasteet voivat vaikuttaa Ni-DNA-nanojohtimen kokonaisresistanssiin.^[43] Tuloksista voidaan myös todeta, että tämä ulkoisesta vaikutuksesta riippuva resistanssinmuutos voi toimia muistinkaltaisena systeeminä Ni-DNA:ssa.

Tähän vahvistusta antaa Chu et al.^[43] tekemä tutkimus, jossa he ovat tutkineet Ni-DNA:n toimintaa muistinkaltaisena systeeminä kultaelektrodien avulla (Kuva 7). Ni-DNA:n huomattiin käyttäytyvän memristorin eli muistivastuksen tavoin sen syklisellä voltammetrialla (CV) havaittujen NDR-ilmiöiden perusteella. Muistivastus on sähköinen komponentti, joka säilyttää sähköisen vastusarvon jopa silloin, kun virta katkaistaan. Systeemin jännitettä muuttaessa nikkeli-ionien hapetusasteet muuttuivat, jolloin Ni-DNA:han saadaan tällöin eri määrä Ni^{3+} ja Ni^{2+} -ioneja. Tutkimuksessa huomattiin, että eri hapetusasteisten ionien määrä ei muuttunut ilman ulkoista vaikutusta, tässä tapauksessa jännitettä. Nämä havainnot Ni^{2+} ja Ni^{3+} -ionien määrästä tietyssä suhteessa kuvastavat muistiyksikköä. Tutkimuksen tulokset osoittavat, että Ni-DNA:ta voitaisiin käyttää muistiyksikkönä erilaisissa DNA-pohjaisissa nanolaitteissa.



Kuva 7. Ni-DNA kiinnittyneenä kultaelektrodeihin SiO_2 substraatin pinnalla. Punaiset pallot kuvaavat Ni^{2+} -ioneja ja siniset pallot Ni^{3+} -ioneja.

4 Nanojohtimien käyttökohteet

DNA-pohjaisien nanojohtimien mahdolliset sovellutukset ovat laajat ja moninaiset, ulottuen nanoelektroniikasta terveydenhuoltoon. Yksi mahdollinen käyttö näille olisi terveydenhuollossa tunnistamaan ei-yhteensopivia emäspareja DNA:ssa, jotka voivat johtaa mutaatioihin. Edellisessä kappaleessa mainittiin resistanssin kasvusta Ni-DNA:ssa, kun se sisältää ei-yhteensopivia emäspareja, joihin nikkeli-ionit eivät pääse kiinnittymään. Tästä resistanssin kasvusta voitaisiin havaita mahdollisia haitallisia muutoksia DNA:ssa.^[34] Tätä mekanismia voidaan myös käyttää havaitsemaan tiettyjen lääkeaineiden kiinnittymistä DNA:han.

DNA-nanojohtimien sähköiset ominaisuudet avaavat uusia mahdollisuuksia nanoelektroniikassa. M-DNA, jossa nikkelin ohella muitakin metalleja voidaan käyttää parantamaan sähköön johtavuutta, tarjoaa biologisesti yhteensopivan ja helposti säädeltävän nanojohtimen. M-DNA:ssa kulkevaa sähkövirtaa voidaan muuntaa erilaisten molekyylien, kuten proteiinien, DNA:n ja RNA:n avulla.^[44,45] Täten voidaan tehdä biosensoreita muokkaamalla M-DNA:sta laitteita, joita voidaan käyttää erilaisten DNA:n kanssa vuorovaikuttavien aineiden havainnointiin.

M-DNA:n käyttö nanoelektroniikan muistiyksikkönä avaa uuden mahdollisuuden tiedon tallentamisessa. M-DNA:han voitaisiin tallentaa tietoa erittäin tiiviisti, mikä tarjoaa uskomattoman tiheän muistin perinteisiin puolijohteisiin verrattuna. Tämänkaltainen muisti voisi olla paitsi tehokkaampi, myös energiatehokkaampi ja biohajoava, mikä tukisi kestävästä kehityksestä ja ympäristön suojelua.

5 Haasteita ja ongelmia

DNA-pohjaisilla nanojohtimilla on paljon potentiaalia korvaamaan perinteiset nanolaitteet ja -johtimet, tarjoten mahdollisuuden luoda täysin uudenlaisia nanomittakaavan teknologioita. Kuitenkin, vaikka DNA-pohjaisten nanojohtimien mahdollisuudet ovat suuret, niillä on paljon haasteita, jotka tulee ratkaista ennen kuin ne voivat korvata perinteiset nanoteknologiat.

Keskeisimpiä kehitettäviä asioita DNA-pohjaisissa nanojohtimissa ovat: DNA:n nukleiinihappojärjestyksen muokkaaminen paremman sähköön johtavuuden saamiseksi, DNA-nanojohtimen selkärangan tukeminen kestävämmäksi ja DNA-origamin hyödyntäminen nanolaitteiden valmistamisessa.^[46] Nämä tavoitteet ovat mahdollisia, mutta kehitystä ovat jarruttaneet useat haasteet. Synteettinen DNA on kallista ja itsejärjestytyvien monokerroksien vaikea ja virheetön valmistus ovat ongelmia, jotka pitää ratkaista tulevaisuudessa. Tällä hetkellä DNA-nanojohtimien valmistuksessa hyödynnetään noin 2000–3000 emäsparin pituisia DNA-molekyylejä ja käyttökohteen mukaan pidemmille nanojohtimille on tarvetta.^[43]

DNA-pohjaisia nanojohtimia on valmistettu pääasiallisesti laboratorio-olosuhteissa, eivätkä ne ole nähneet laajempaa käyttöä teollisuudessa. Saadakseen DNA-pohjaiset nanojohtimet laajempaan

käyttöön, esimerkiksi biosensoreiksi terveydenhuollon käyttöön potilaiden lähettyville, täytyisi näitä nanojohtimia- ja laitteita integroida jo olemassa oleviin järjestelmiin. Tällöin ne olisivat helpommin käsiteltävissä ja yhteensopivia olemassa olevien lääketieteellisten laitteiden kanssa.

6 Tulevaisuus

DNA-pohjaiset nanojohtimet ovat kehittyvä ja mullistava nanoteknologian keksintö, jota hyödyntämällä voidaan kehittää elektroniikkaa, materiaaliteknologiaa, lääketiedettä ja monia muita tieteen- ja teollisuudenaloja.

Nanotason elektroniikka hyötyisi DNA-nanojohtimista huomattavasti. M-DNA:n erinomainen sähkönjohtavuus ja ohjelmoitavuus ovat ominaisuuksia, joita hyödyntämällä voitaisiin rakentaa tulevaisuuden nanolaitteita. Näiden nanojohtimien molekyyli-tason tarkka muokkaaminen mahdollistaisi myös hyvin spesifisten nanotason virtapiirien rakentamisen, mikä puolestaan mahdollistaa uudentyyppisten laitteiden valmistamisen. Nämä laitteet voivat olla erittäin pienikokoisia ja energiatehokkaita, ja niillä voi olla kyky vuorovaikuttaa biologisen systeemin kanssa.

Lääketieteessä DNA-nanoteknologian edistyminen voi johtaa entistä täsmällisempiin ja tehokkaampiin hoitomuotoihin. DNA-origamilla valmistettuja nanolaitteita voitaisiin hyödyntää lääkeaineiden kuljettimina ohjaamalla ne sitoutumaan haluttuihin kohdesoluihin vähentäen hoidon sivuvaikutuksia tai kehittää korjaamaan vaurioitunutta hermostoa.

DNA-pohjaisten nanojohtimien valmistaminen on myös ympäristöä säästävää. DNA-nanoteknologiassa käytettävä bottom-up-menetelmä vähentää jätteen määrää, sekä energian ja reagenssien kulutusta. DNA-nanojohtimien mahdollinen biohajoaminen ja bioyhteensopivuus tarjoavat mahdollisuuden ympäristöystävälliseen hävittämiseen, joka vähentäisi elektroniikkajätettä.

Kaikesta huolimatta DNA-pohjaisilla nanojohtimilla on vielä pitkä matka käytännön sovelluksiin. Tutkimus ja kehitys jatkuvat, ja niiden myötä tulee vastaan lisää haasteita. Kuitenkin intensiivisen tutkimustyön ja innovaation kautta nanojohtimien potentiaali voi toteutua, mullistaen nykyisen teknologisen maailman tarjoten tehokkaita teknologiaratkaisuja tulevaisuudessa.

- [1] F. Crick, J. D. Watson, *Nature* **1953**, *171*, 737–738.
- [2] D. D. Eley, D. I. Spivey, *Transactions of the Faraday Society* **1962**, *58*, 411–415.
- [3] D. B. Hall, R. E. Holmlin, J. K. Barton, *Nature* **1996**, *382*, 731–735.
- [4] E. K. Wilson, *DNA: Insulator or Wire?*, **1997**.
- [5] D. Porath, A. Bexryadin, S. de Vries, C. Dekker, *Nature* **2000**, *403*, 635–638.
- [6] J. S. Lee, L. J. Latimer, S. Reid, *Biochemistry and Cell Biology* **1993**, *71*, 162–168.
- [7] L. O. Chua, in *Proceedings of the IEEE*, Institute of Electrical and Electronics Engineers Inc., **2003**, 1830–1859.
- [8] B. K. Teo, X. H. Sun, *Journal of Cluster Science* **2006**, *17*, 529–540.
- [9] S.-Y. Wu, C. Lin, M. Chiang, in *IEEE International Electron Devices Meeting*, **2014**.
- [10] I. Park, Z. Li, A. P. Pisano, R. S. Williams, *Nanotechnology* **2010**, *21*, 1–9.
- [11] D. Mijatovic, J. C. T. Eijkel, A. Van Den Berg, *Lab Chip* **2005**, *5*, 492–500.
- [12] Y. Krishnan, F. C. Simmel, *Angewandte Chemie* **2011**, *50*, 3124–3156.
- [13] A. Agarwal, K. Buddharaju, I. K. Lao, N. Singh, N. Balasubramanian, D. L. Kwong, *Sensors and Actuators* **2008**, *145*, 207–213.
- [14] A. Bachtold, P. Hadley, T. Nakanishi, C. Dekker, *Science* **2001**, *294*, 1317–1320.
- [15] A. N. Aleshin, *Advanced Materials* **2006**, *18*, 17–27.
- [16] V. Balzani, A. Credi, M. Venturi, *Nanotoday* **2007**, *2*, 18–25.
- [17] N. C. Seeman, *Trends in Biotechnology* **1999**, *17*, 437–443.
- [18] C. M. Niemeyer, *Current Opinion on Chemical Biology* **2000**, *4*, 609–618.
- [19] C. E. Castro, F. Kilchherr, D. N. Kim, E. L. Shiao, T. Wauer, P. Wortmann, M. Bathe, H. Dietz, *Nature Methods* **2011**, *8*, 221–229.
- [20] D. Han, S. Pal, J. Nangreave, Z. Deng, Y. Liu, H. Yan, *Science* **2011**, *332*, 339–342.
- [21] C. M. Niemeyer, *Chemistry A European Journal* **2001**, *7*, 3188–3195.
- [22] E. P. Gates, A. M. Dearden, A. T. Woolley, *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **2014**, *44*, 354–370.
- [23] R. M. Zadegan, M. D. E. Jepsen, L. L. Hildebrandt, V. Birkedal, J. Kjems, *Small* **2015**, *11*, 1811–1817.
- [24] Y. Amir, E. Ben-Ishay, D. Levner, S. Ittah, A. Abu-Horowitz, I. Bachelet, *Nature Nanotechnology* **2014**, *9*, 353–357.
- [25] T. Liedl, M. Olapinski, F. C. Simmel, *Angewandte Chemie International Edition* **2006**, *45*, 5007–5010.
- [26] S. Surana, S. Modi, Y. Krishnan, in *DNA Computing and Molecular Programming*, **2011**, 22–31.
- [27] B. Yurke, *Nature* **2000**, *406*, 605–608.
- [28] E. Del Grosso, A. M. Dallaire, A. Vallée-Bélisle, F. Ricci, *Nano Letters* **2015**, *15*, 8407–8411.

- [29] W. U. Dittmer, A. Reuter, F. C. Simmel, *Angewandte Chemie International Edition* **2004**, *43*, 3550–3553.
- [30] P. C. Jang Jian, T. F. Liu, C. M. Tsai, M. S. Tsai, C. C. Chang, *Nanotechnology* **2008**, *19*, 1–8.
- [31] G. Cao, C. J. Brinker, *Annual Review of Nano Research*, World Scientific Publishing Company, Singapore, **2008**.
- [32] G. Eidelstein, N. Fardian-Melamed, V. Gutkin, D. Basmanov, D. Klinov, D. Rotem, Y. Levi-Kalisman, D. Porath, A. Kotlyar, *Advanced Materials* **2016**, *28*, 4839–4844.
- [33] S. H. Tseng, P. C. Jangjian, C. M. Tsai, T. M. Cheng, H. L. Chu, Y. C. Chang, W. H. Chung, C. C. Chang, *Biophysical Journal* **2011**, *100*, 1042–1048.
- [34] P.-C. Jangjian, T.-F. Liu, C.-M. Tsai, M.-Y. Li, M.-S. Tsai, S.-H. Tseng, T.-M. Cheng, C.-C. Chang, *Chinese Journal of Physics* **2009**, *47*, 740–747.
- [35] J. Kondo, Y. Tada, T. Dairaku, Y. Hattori, H. Saneyoshi, A. Ono, Y. Tanaka, *Nature Chemistry* **2017**, *9*, 956–960.
- [36] M. A. Dessau, Y. Modis, *Journal of Visualized Experiments* **2010**, *47*, 1–6.
- [37] P. Aich, S. L. Labiuk, L. W. Tari, L. J. T. Delbaere, W. J. Roesler, K. J. Falk, R. P. Steer, J. S. Lee, *Journal of Molecular Biology* **1999**, *294*, 477–485.
- [38] K. Tanaka, M. Shionoya, *Journal of Organic Chemistry* **1999**, *64*, 5002–5003.
- [39] Y. Yuan, M. Gao, G. Liu, Y. Chai, S. Wei, R. Yuan, *Analytica Chimica Acta* **2014**, *811*, 23–28.
- [40] S. o. Kelley, J. K. Barton, *Science* **1999**, 283.
- [41] J. G. Simmons, *Journal of Applied Physics* **1963**, *34*, 2581–2590.
- [42] P. C. Jangjian, T. F. Liu, M. Y. Li, M. S. Tsai, C. C. Chang, *Applied Physics Letters* **2009**, *94*.
- [43] H. L. Chu, S. C. Chiu, C. F. Sung, W. Tseng, Y. C. Chang, W. Bin Jian, Y. C. Chen, C. J. Yuan, H. Y. Li, F. X. Gu, M. Di Ventura, C. C. Chang, *Nano Letters* **2014**, *14*, 1026–1031.
- [44] S. Haupt, M. Berger, Z. Goldberg, Y. Haupt, *Journal of Cell Science* **2003**, *116*, 4077–4085.
- [45] F. Patolsky, G. Zheng, C. M. Lieber, *Nanomedicine* **2006**, *1*, 51–65.
- [46] A. V. Pinheiro, D. Han, W. M. Shih, H. Yan, *Nature Nanotechnology* **2011**, *6*, 763–772.