



ACADEMIA DE CIENCIAS
DE LA
REGIÓN DE MURCIA

BIONANOTECNOLOGÍA, HOY Y MAÑANA

Discurso del Académico de Número
Ilmo. Sr. D. Juan Carmelo Gómez Fernández
leído en la Sesión Solemne de Apertura de Curso
del Consejo de Academias
el día 12 de noviembre de 2009

Murcia
2009

BIOTECNOLOGÍA, HOY Y MAÑANA

Todos los derechos reservados

Queda prohibida, salvo excepción prevista en la Ley, cualquier forma de reproducción, distribución, comunicación pública y transformación de esta obra sin contar con autorización del titular de propiedad intelectual. La infracción de los derechos mencionados puede ser constitutiva de delito contra la propiedad intelectual (arts. 270 y ss. del Código Penal).

© Academia de Ciencias de la Región de Murcia, 2008

I.S.B.N.: 978-84-613-5781-9

D.L.: MU-2387-2009

Bionanotecnología,

hoy y mañana.

Juan Carmelo Gómez Fernández

Academia de Ciencias de la Región de Murcia

Índice

1.-¿Que es la Bionanotecnología?	8
2.-Biomateriales.	13
3.-Nanotransportadores.	15
4.-Nanoliposomas.	16
5.-Nanococleatos.	22
6.-Bionanomecánica.	23
7.-Ejemplos de estructuras de nanomotores biomoleculares.	26
7.1.- Quinesinas.	26
7.2.-Propiedades químico-mecánicas de las quinesinas.	28
7.3.-Aplicación de los motores de la quinesina.	30
8.-Motores rotatorios.	36
8.1.-ATP sintasas.	36
8.2.-Estructura de las ATP sintasas.	36
8.3.-Propiedades quimiomecánicas del motor F_1	37
8.4.-Propiedades quimiomecánicas del rotor F_o	40
8.5.-Aplicaciones de las ATP sintasas.	43
8.6.-Bacteriorrodopsina.	45
9. Motores flagelares bacterianos.	48
10.-Conclusión.	53
11.-Bibliografía básica.	54

Excmo. Señor Presidente de la Comunidad Autónoma,

Excmo Sr Presidente de la Academia

Dignísimas autoridades,

Ilma. Sra. y Señores Académicos,

Compañeros y amigos,

Señoras y Señores:

Es para mí un honor y un placer el pronunciar este discurso que inaugura el curso 2009-2010 de las Academias de la Región de Murcia.

El vertiginoso desarrollo de las ciencias ha alumbrado una nueva rama del saber que se encuentra en la frontera del conocimiento humano, la Bionanotecnología, también llamada Ingeniería Biomolecular. Destaca esta nueva rama, tanto por sus aportaciones a la ciencia e incidencia en el desarrollo tecnológico, como por su carácter altamente interdisciplinario y polifacético donde convergen diferentes enfoques provenientes de la Biología, la Química, la Física y la Ingeniería.

El hombre precisa máquinas cada vez más sofisticadas y ha habido quien ha propuesto que en vez de partir de cero se empleen “máquinas moleculares” preexistentes que pueden ser encontradas en toda célula viva: moléculas de DNA, proteínas o enzimas. La utilización de estas máquinas moleculares “pre-existentes”, o su uso como puntos de partida para nuevos diseños, y de otras construcciones basadas en biomoléculas, es una derivación de la nanotecnología, llamada Bionanotecnología.

1.-¿Que es la Bionanotecnología?

La Bionanotecnología se origina de la fusión entre la Nanotecnología y la Biotecnología. Por un lado la Nanotecnología es la construcción y modelado de la materia manipulando átomo por átomo y con aplicación en la ingeniería y fabricación a escala nanométrica. Por el otro, la Biotecnología aprovecha diversas funcionalidades derivadas de procesos biológicos para aplicaciones específicas sin que importen los detalles moleculares y atómicos de las biomoléculas que llevan a cabo dichos procesos. Como híbrido entre ambas ciencias, la Bionanotecnología se define como la ingeniería y fabricación

aplicada al diseño y modificación de los detalles atómicos de maquinarias y dispositivos moleculares basados en biomoléculas (ácido desoxirribonucleico -ADN-, proteínas, lípidos y carbohidratos) para que lleven a cabo funciones específicas a nivel nanométrico.

Para tener idea de las dimensiones de dichas construcciones es necesario decir que un nanometro es la milmillonésima parte de un metro. Si comparáramos un nanometro con un metro sería como comparar una moneda con el diámetro de la Tierra! La capacidad de visualización y manipulación de diminutos átomos y moléculas se logra con instrumentos y técnicas sofisticadas y refinadas de microscopia, cristalografía, espectroscopia y modelado informático.

De inmensa importancia ha sido el desarrollo de la tecnología del ADN recombinante en la expansión de la Bionanotecnología, ya que ha permitido modificar y producir en gran escala de forma barata y rápida las “bionanomáquinas” y biomateriales necesarios para la Bionanotecnología. Como el ADN posee toda la información necesaria para generar una proteína funcional (la gran mayoría de las “bionanomáquinas”

están compuestas de proteínas), es decir contiene secuencias de ácidos nucleicos que codifican para los aminoácidos de una proteína, basta con alterar y editar las secuencias del ADN para modificar una proteína particular con precisión atómica y así optimizar su funcionamiento y propiedades o generar nuevas y novedosas máquinas de proteína las cuales son producidas en gran cantidad a partir de sustratos baratos al crecer la célula con el gen en particular.

Además de optimizar y modificar las biomoléculas a escala nanométrica para aplicaciones específicas, la Bionanotecnología se ha adentrado en nuevos caminos y consolidado como un área altamente interdisciplinaria. Fusionándose con la ciencia de materiales ha desarrollado novedosos materiales híbridos entre compuestos inorgánicos y bioorgánicos, superando así la tradicional separación entre estos dos tipos de materiales y borrando las fronteras entre la materia viva y la inanimada.

Existe una inmensa variedad de herramientas de ingeniería que han sido usadas en las últimas décadas y se encuentran en un estadio maduro de desarrollo. Entre ellas

podemos mencionar el diseño robusto, resistencia de materiales, método de elementos finitos o “robot motion planning”. De esta manera, si se estudia una bacteria como *Escherichia coli* que se supone que es una célula sencilla, por ser procariótica, nos encontramos con un diseño que supera en mucho con sus soluciones, el mínimo necesario para su funcionamiento. Los sistemas biológicos han desarrollado complejos mecanismos de regulación, aún en situaciones donde soluciones más simples podrían ser suficientes. Pero aún en la bacteria *Escherichia coli*, con su simplicidad, es posible encontrar la más alta ingeniería.

La resistencia de materiales se puede estudiar con las cápsulas virales. Los virus, como por ejemplo el del herpes, toleran grandes variaciones de pH, salinidad y presiones internas de hasta 100 atmósferas. Todo ello los hacen candidatos ideales como nanocontenedores para transporte de medicamentos en el cuerpo humano. La fabricación de cápsulas virales es actualmente un área de rápido desarrollo entre los nuevos materiales.

La flexibilidad molecular debe ser considerada a la hora de predecir interacciones moleculares. Muchos métodos usados

sólo calculan movimientos locales. Pero movimientos de grandes amplitudes son comunes en plegamiento (cambio configuracional) de proteínas. “Robot motion planning” es un problema clásico de robótica y consiste en hallar movimientos viables de robots articulados en espacios llenos de obstáculos. El objetivo es encontrar la configuración de energía mínima en la superficie de la energía potencial de la proteína.

Cada vez es más común usar estas herramientas en la comprensión de la última frontera del conocimiento: la vida. Los sistemas biológicos nos llevan millones y millones de años en desarrollo y complejidad. La Bionanotecnología pretende hacer uso de este conocimiento para resolver problemas fundamentales, tales como la cura de enfermedades, el desarrollo de formas limpias de obtener energía y agua, la fabricación de materiales más resistentes y livianos o el desarrollo de procesadores más veloces.

Algunos de los usos de la Bionanotecnología pueden parecer, sin duda, muy futuristas, pero 80 años atrás los viajes espaciales eran algo del futuro, y para algunos casi imposibles y, sin embargo, el hombre viaja hoy al espacio.

Dentro de la Bionanotecnología vamos a incluir aquí como ejemplo, tres modalidades, los biomateriales que, mediante inspiración en la naturaleza son sintetizados para ser compatibles con los tejidos vivos, los nanoliposomas que son vesículas lipídicas autoensambladas y que se pueden utilizar como vehículos transportadores y la Bionanomecánica, que trata del aprovechamiento de motores biológicos y de la construcción de motores diseñados por el hombre imitando a la naturaleza.

2.-Biomateriales.

Los biomateriales son materiales biológicamente inertes, que se implantan en un sistema o tejido para repararlo o sustituirlo de forma permanente.

Aunque se han venido utilizando numerosos materiales desde muy antiguo, tales como madera, metales (sobre todo oro y plata) o cristal nos vamos a referir aquí a materiales biocompatibles nanotecnológicos que tendrían la capacidad de estar en contacto con fluidos biológicos sin despertar reacciones en ellos, tales como precipitaciones de proteínas o coagulación sanguínea.

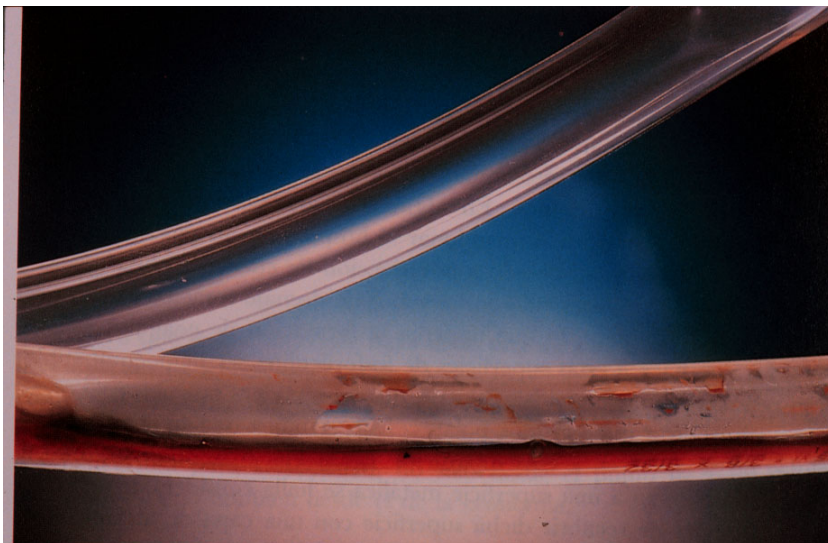


Fig. 1. Catéteres que han estado en contacto con sangre humana. El de arriba se había tratado previamente para recubrirlo con fosforilcolina, según el método de Chapman (ver texto).

Uno de estos materiales se desarrolló tras observarse que los eritrocitos o plaquetas no son objetivo del sistema del complemento ni resultan opsonizados en la sangre. Analizados los lípidos de su membrana celular se comprobó que en la monocapa externa tienen fosfolípidos anfotéricos, como fosfatidilcolina y esfingomielina, mientras que en la interna tienen fosfolípidos con carga negativa como fosfatidilserina y fosfatidilinositol. Se comprobó mediante la preparación de

vesículas lipídicas artificiales, que cuando estaban compuestas por fosfolípidos anfotéricos como fosfatidilcolina, no se producía adhesión de proteínas séricas, a diferencia de lo observado cuando se incorporaban fosfolípidos con carga negativa como fosfatidilserina que atraen una gran cantidad de proteínas del suero sanguíneo.

Tomando estas observaciones como base, Chapman desarrolló una cubierta para materiales plásticos o de vidrio, de uso médico, en los que se realizaba un recubrimiento con fosforilcolina, lo que produce efectos espectaculares. Este recubrimiento se usa hoy en día en biomateriales tales como implantes dentales, catéteres, lentillas oculares, prótesis óseas, resultando muy biocompatibles.

3.-Nanotransportadores.

Dentro de la Bionanotecnología, hay un capítulo importante que es el de los nanotransportadores, especialmente como vehículos de fármacos. La mayoría de los fármacos se han formulado para suministrarse por vía oral o por inyección, que no son siempre los más eficaces para una terapia dada, pero el uso de estos nuevos vehículos permite nuevas opciones de

administración para ciertos fármacos o incluso biomoléculas como proteínas o ácidos nucleicos.

Entre los actuales sistemas de nanotransportadores, nos encontramos con nanoliposomas, micelas poliméricas, nanopartículas, dendrímeros, niosomas, y nanocristales. En el apartado siguiente nos centraremos en los nanoliposomas, como ejemplo de nanotrasnportadores biológicos, contruidos con biomoléculas.

4.-Nanoliposomas.

Los liposomas están compuestos de una o más capas de lípidos, y se autoensamblan a partir de una suspensión acuosa de lípidos que tengan tendencia a dar bicapas. Pueden también llevar otras moléculas como proteínas o polímeros. Si el liposoma contiene varias capas se denomina multilamelar (MLV, de multilamellar vesicles); si solo contiene una capa puede ser SUV (small unilamellar vesicles); si se obtiene por sonicación y LUV (large uilamellar vesicles) si se obtienen por extrusión a través de membranas de poro definido o por evaporación de disolventes orgánicos, u otros procedimientos.

Los liposomas son, quizás, los nanotransportadores más estudiados y más explotados y se vienen utilizando desde hace más de 40 años y tienen cada vez más aplicaciones en la industria biotecnológica y en la médico-farmacéutica. Presentan grandes ventajas sobre otros nanotransportadores como su capacidad de encapsular materiales tanto liposolubles como hidrosolubles, la posibilidad de producirse a escala industrial, con un precio asequible y la posibilidad de remitirlos a tejidos específicos. Estos transportadores pueden proteger de la degradación a las sustancias encapsuladas frente a radicales libres, iones metálicos, pH o enzimas. Especialmente importante es la posibilidad de direccionar estos nanoliposomas a tejidos específicos, bien por medio de incorporarles anticuerpos específicos o por medio de modular su tamaño para que puedan llegar a diferentes sitios dentro del organismo o modular su composición lo que les hace más o menos duraderos una vez dentro del organismo.

El término nanoliposoma se introdujo en los últimos 4-5 años para referirse a vesículas lipídicas en la nanoescala, esto es

con tamaño de nanómetros, y concretamente en el rango de 10 a 100 nanómetros.

Los nanoliposomas se preparan mediante sonicación o extrusión a través de membranas con 100 nanómetros de tamaño de poro. Estos nanoliposomas se preparan mediante dispersión de fosfolípidos o mezclas de lípidos, que se resuspenden en un medio acuoso formando vesículas multilamelares, con muchas capas concéntricas, tipo cebolla. Estos liposomas multilamelares tienen un tamaño de micrómetros, y se pueden usar como tales, pero para formar nanoliposomas se someten a la sonicación o a la extrusión, entre otras técnicas, formándose liposomas unilamelares. Los nanoliposomas son muy útiles para el direccionamiento específico dentro del organismo a un tejido determinado, usando anticuerpos específicos que reconocen proteínas propias de las células diana. Son además ventajosos, con respecto a otros tipos de liposomas para determinadas aplicaciones, debido a su tamaño, como se verá más tarde. Las aplicaciones más representativas, de los nanotransportadores en general, y de los nanoliposomas en particular, las podemos

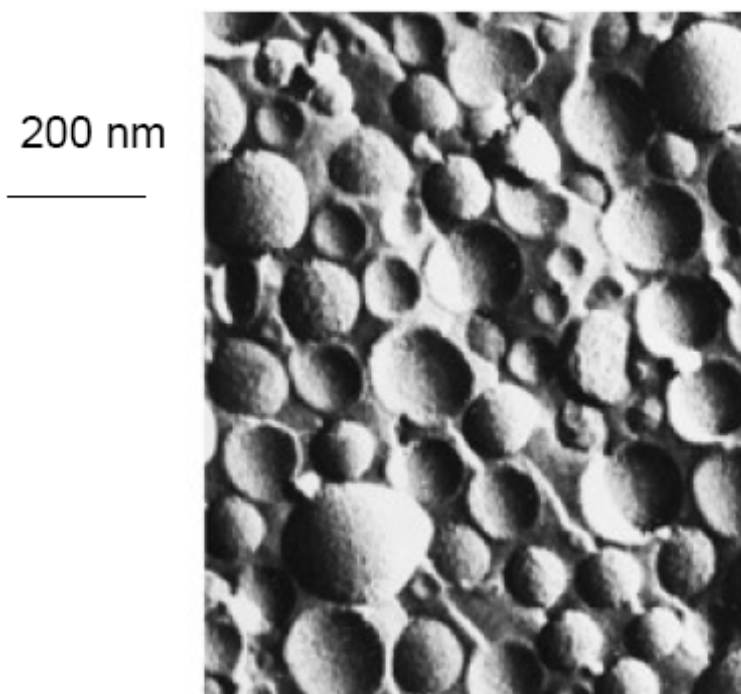


Fig. 2. Microscopía tras criofractura y réplica de liposomas extrusionados a través membranas de policarbonato con poros de 100 nm.

encontrar en: a) en encapsulamiento de fármacos, b) en diagnóstico por imagen de enfermedades, c) en encapsulación y direccionamiento específico a órganos o tejidos específicos de fármacos, d) en vacunas, actuando como adyuvantes, e) en encapsulamiento de nutrientes, f) en transfección celular actuando como transportadores de genes, g) en la preparación de sangre artificial y h) en la vehiculación de cosméticos.

En una de las aplicaciones actualmente más extendidas que es la de transporte fármacos, las ventajas que ofrecen los nanoliposomas residen en: a) permitir una reducción en la frecuencia de la administración de fármacos, lo que constituye una mayor comodidad para el paciente; b) proteger de la degradación a los fármacos encapsulados mejorando la farmacocinética; c) disminuir la toxicidad de determinados fármacos al quedar confinados dentro del liposoma, con lenta liberación, y quedar muy limitada la concentración libre en sangre. Las vías más utilizadas para la administración de liposomas, son: a) la intravenosa; b) la dérmica; c) la parenteral; d) la nasal; e) la intraarticular; f) la ocular. Las más utilizadas son las dos primeras.

Con respecto a la vía intravenosa, la mayoría de los liposomas inyectados son fagocitados. Las células fagocíticas profesionales que integran el sistema retículo endotelial en hígado, bazo y médula ósea, son las que principalmente llevan a cabo la fagocitosis terminando los liposomas en los fagolisosomas donde son digeridos y los fármacos liberados. De esta manera estos fármacos van a llegar a donde se ocultan

muchos microorganismos infecciosos que han seguido el mismo camino y quedan allí protegidos de los antibióticos que están en sangre. Este es el caso de microorganismos responsables de enfermedades tales como bacterias (brucelosis, tuberculosis, salmonelosis, clamidiasis, entre muchas otras), protozoos (p. ej. toxoplasmosis, malaria, tripanosomiasis) y hongos (p. ej. candidiasis, criptococosis, esporotricosis). Se ha demostrado la gran efectividad de los antimicrobianos encapsulados en liposomas para tratar algunas de estas enfermedades.

También puede tratarse de esta manera enfermedades que estén centradas en el hígado, como tumores hepáticos.

La fagocitosis viene precedida por la opsonización de los liposomas, por medio de inmunoglobulinas, proteínas del complemento y otras que facilitan su reconocimiento por los fagocitos. Si se pretende que los liposomas puedan interaccionar con otros órganos o tejidos, se habrán utilizar liposomas resistentes a la opsonización como sucede cuando se incorporan otras moléculas como polietilenglicoles. También se dificulta la fagocitosis cuando los nanoliposomas son de muy pequeño tamaño y con una membrana no fluida, lo que se consigue con

fosfolípidos que contengan ácidos grasos saturados y con colesterol.

Si se inyectan, intravenosamente, nanoliposomas del tamaño más pequeño y se consigue que no se fagociten fácilmente por el sistema retículo endotelial, es cuando se puede diseñar un direccionamiento a otros órganos y tejidos, por ejemplo mediante incorporación de anticuerpos específicos contra otras células.

5.-*Nanococleatos.*

Una variedad muy interesante de nanotransportadores emparentada con los nanoliposomas son los nanococleatos, que no tienen carácter de vesículas formadas por membranas con estructura de bicapa y con forma esférica, sino forma de cigarrillos con tamaños que pueden estar en la escala nanométrica (nanococleatos). Están formados por lípidos con carga negativa (es muy típico fosfatidilserina) y un catión divalente como el del calcio. Forman estructuras multicapas muy estables que son un sólido continuo de bicapa lipídica, enrollado en forma de espiral con poco o ningún espacio acuoso interno. Los cocleatos pueden transportar sustancias hidrofóbicas, hidrofílicas, con carga

positiva o negativa o neutras. Se vienen utilizando profusamente para administrar proteínas, péptidos y ADN para vacunas, ingeniería genética o terapia génica. Se han usado mucho para administración oral de sustancias que pueden degradarse en el aparato digestivo. Son capaces de cubrir sabores u olores no agradables y de proteger muy eficazmente sustancias lábiles. También por vía parenteral, los nanococleatos en proteger muy eficazmente a las sustancias encapsuladas.

Por ejemplo, se están usando cocleatos que contienen anfotericina B para el tratamiento de infecciones fúngicas, tanto por vía oral como parenteral.

6.-*Bionanomecánica.*

Corría el año 1966, la 20th Century Fox encargó a Richard Fleischer la película Viaje Fantástico, protagonizada por Stephen Boyd y Raquel Welch. En esta película, actuarán las Fuerzas de Defensa Combinada Miniaturizada, un proyecto ultra secreto que se basa en la miniaturización de objetos y personas con propósitos de defensa. Un equipo militar y médico subirá a bordo del submarino *Proteus*, el cual será reducido al tamaño microscópico y lanzado en el torrente sanguíneo de una

persona que sufre un coágulo en su cerebro, con el propósito de llegar al cerebro y eliminar este coágulo que le está matando. Esta película podría considerarse un ejemplo de sueño científico que la Bionanotecnología podría hacer realidad sin necesidad de embarcar a personas miniaturizadas.

En las dos últimas décadas se ha realizado un gran progreso en el campo de la Biología Molecular alcanzándose un conocimiento detallado de muchos procesos y sistemas biológicos de trascendental relevancia. Entre estos sistemas están las familias de proteínas que regulan movimientos y que han atraído la atención de biólogos, químicos y físicos. Estas proteínas son capaces de responder a ciertos estímulos biológicos produciendo como reacción movimientos programados, similares a muchas máquinas inventadas por el hombre y que usamos cada día. Estas máquinas biológicas moleculares desempeñan papeles esenciales en una gran variedad de procesos biológicos en las células vivas.

Entre estas proteínas nos encontramos con algunas que se encuentran en el citoplasma tales como miosinas, quinesinas y dineínas. Estas proteínas se agrupan en agregados

supramoleculares que se mueven a lo largo de rutas lineales formadas por filamentos de actina o microtúbulos y transportan substratos a costa de la hidrólisis de ATP que se utiliza como combustible. El flagelo es un enorme conjugado proteico que controla el movimiento natatorio de las bacterias. La ATP sintasa es un tipo diferente de máquina molecular que sintetiza e hidroliza ATP a través de su movimiento rotatorio.

También conocemos otras máquinas biológicas capaces de generar diversos tipos de movimientos, todos ellos en base a hidrólisis de nucleósidos trifosfato, como son los casos de las chaperoninas, capaces de ayudar a que las proteínas consigan su estructura espacial adecuada o los ribosomas que se mueven a lo largo del RNA mensajero durante el proceso de la traducción en que se biosintetizan las proteínas. También las helicasas se mueven a lo largo de las hebras de DNA catalizando las modificaciones de su estructura espacial.

La existencia de estas sofisticadas máquinas ha atraído la atención de numerosos investigadores que se proponen la fabricación de nanomáquinas semibiológicas que utilicen, al

menos en parte, moléculas biológicas y sean capaces de realizar labores programadas al llegarles el estímulo adecuado.

7.-Ejemplos de estructuras de nanomotores biomoleculares.

Estudiaremos como primer ejemplo, dentro de este apartado, a las quinesinas.

7.1.- *Quinesinas*.- Son motores moleculares que se mueven a lo largo de microtúbulos y que se descubrieron en 1985. Entre sus funciones está el transporte intramolecular de orgánulos subcelulares, complejos proteicos y ARNs mensajeros y también el participar en movimientos de los cromosomas y huso cromático durante la mitosis y la meiosis, procesos que permiten la división celular. Las quinesinas se mueven sobre unos raíles moleculares que son los microtúbulos.

Los microtúbulos son estructuras huecas formadas por agregados proteicos con un diámetro de 24 nanómetros (24×10^{-9} metros) y con una periodicidad estructural de 8 nanómetros. Están formados por asociaciones de protofilamentos y estos a su vez por el ensamblaje de cabeza con cola de dos subunidades

proteicas básicas que son la α -tubulina y la β -tubulina. Los microtúbulos tienen polaridad, con su extremo + y su extremo -. Las quinesinas se mueven unidireccionalmente sobre los microtúbulos, siempre en dirección + a -. Un motor de quinesina puede generar fuerzas de unos 10 pN. Una molécula de quinesina se movería a una velocidad de 800 nm/s. Esto quiere decir, que si su longitud es de 20 nm, recorre por segundo una distancia equivalente a 40 veces su longitud. Si eso lo trasladáramos a un vehículo automóvil de 5 metros de longitud, recorriendo 40 veces su longitud por segundo, iría a una velocidad de 720 Km/h, comparable a la de un avión reactor.

Las quinesinas, por su parte, son una superfamilia, que se puede subdividir en hasta 14 clases diferentes, dependiendo de la disposición del motor. Entre las clases de quinesinas más extendidas en los diferentes tejidos y las diferentes células, están las denominadas convencionales que constan de dos cadenas pesadas (de 120 kDa) de 80 nm de longitud y conectadas a través de sus extremos C-terminales con 2 cadenas ligeras (64 kDa). Cada cadena pesada tiene una estructura de bastoncillo

compuesta por 2 cabezas globulares y un tallo en abanico y con un dominio proteico con funciones de motor en el extremo amino-terminal. Este motor porta ATP enlazado y es capaz de enlazarse a los microtúbulos. La mayoría de las quinesinas poseen dos cabezas globulares como las descritas, pero también existen otras tubulinas con una sólo cabeza globular,

7.2.-Propiedades químico-mecánicas de las quinesinas.

Las quinesinas con una sola cabeza, tienen un ciclo catalítico durante el que en una primera etapa el ADP está unido fuertemente a la cabeza del enzima y enlazado a un microtúbulo. A continuación se libera el ADP y eso hace que se enlace aún más fuertemente al microtúbulo. En la siguiente etapa, el ATP se enlaza al conjugado quinesina/microtúbulo. Este enlace ocurre rápidamente y hace que aumente la estabilidad del conjugado. Inmediatamente, tiene lugar un cambio estructural que provoca el movimiento de la quinesina. El movimiento de quinesinas con dos cabezas, implica que los dos dominios motores se enlazan y se disocian del microtúbulo, de forma alternativa. Las quinesinas se mueven a lo largo de lmicrotúbulo con etapas de 8 nanometros, en los que hidroliza una molécula

de ATP. Al enlazarse a ADP, la quinesina se adhiere inmediatamente a un microtúbulo. Entonces, el ADP se disocia de cualquiera de las dos cabezas para dar un estado de



Fig. 3. Estructura molecular de la quinesina (PDB: 3KIN) con dos cabezas.

transición, donde una cabeza vacía está enlazada fuertemente al microtúbulo en una conformación tal que puede impedir que la segunda cabeza, que va conjugada a ADP, pueda adherirse al microtúbulo. En la siguiente etapa, el ATP, se enlaza rápidamente a la cabeza unida al microtúbulo y que tiene vacío

el sitio de enlace de nucleótidos.y a continuación ocurre su hidrólisis formándose un complejo quinesina-ADP-fosfato inorgánico. A continuación, se une al microtúbulo la otra cabeza y seguidamente se libera su ADP y se forma un complejo en el que la quinesina tiene sus dos dominios unidos al microtúbulo. Esta transición permite a las dos cabezas de quinesina un avance de 8 nanómetros entre sucesivas subunidades de tubulina. Para completar el ciclo, la cabeza que va más retrasada se libera después de la liberación de fosfato inorgánico y avanza sobre el microtúbulo. Mediante la repetición de este ciclo, la quinesina camina a lo largo del microtúbulo de forma unidireccional.

7.3.-Aplicación de los motores de la quinesina.

Si se ensamblara el conjunto quinesina-microtúbulo fuera de la célula, se podría aplicar este sistema para confeccionar transportadores moleculares. Se han utilizado ya dos aproximaciones diferentes para ensamblar sistemas de este tipo. En uno de ellos, se fijan moléculas de quinesina a la superficie de un soporte y los microtúbulos se moverán empujados por las cabezas de las quinesinas. En esta aproximación se puede visualizar el movimiento, simplemente mediante el uso de un

microscopio óptico, puesto que los microtúbulos son suficientemente grandes para este medio de observación. Otro método consistiría en dejar que las quinesinas “caminen” sobre una pradera de microtúbulos inmovilizados sobre una superficie. En este caso se precisa un marcaje fluorescente de las quinesinas para poder visualizarlas. Puesto que las quinesinas se mueven de forma unidireccional siguiendo la polaridad de los microtúbulos se puede utilizar a las quinesinas para llevar cargas moviéndose en este sistema. También se podría hacer que fueran los microtúbulos los que transportaran cargas, y lo pueden hacer unidireccionalmente siguiendo la dirección marcada por las cabezas de quinesina. Se ha demostrado que los microtúbulos pueden transportar objetos variados en estos nanocircuitos. Entre estos objetos podemos citar como ejemplos microchips de silicio, bolitas de cristal, partículas de oro y bolitas de poliestireno.

Para conseguir unos nanotransportadores eficaces es necesario poder ejercer el control del movimiento y de la dirección. Cuando el movimiento corre a cargo de microtúbulos impulsados por moléculas de quinesina pegadas a una

superficie, el extremo del microtúbulo busca mediante movimiento browniano el contacto con la siguiente cabeza de enzima. Para poder controlar la dirección que ha de seguir el microtúbulo, se han construido soportes en los que se excavan canales para guiar y confinar el movimiento. Un avance aún más significativo, ha sido el construir canales cerrados. Estos canales pueden contener bifurcaciones y Dekker consiguió un procedimiento para guiar los microtúbulos hacia una u otra rama. Empleó para ello, campos de fuerza externos que hacen que el extremo del microtúbulos se doble en la dirección que interese. Estos campos pueden ser eléctricos, magnéticos, o de flujo. En un experimento se utilizaron filamentos marcados con un fluoróforo rojo y otros con un fluoróforo verde. Estos microtúbulos se movían a través de un conducto en Y, recubierto de motores de quinesina pegados a la superficie basal. El movimiento se podía seguir mediante un microscopio. Al llegar a la bifurcación se podía hacer que los filamentos fueran hacia una u otra rama, en función de un campo eléctrico que se aplicaba a través de un canal perpendicular a la dirección del movimiento, precisamente en el punto de la bifurcación. De esta

manera se podía decidir que los marcados en rojo fueran a un lado y los marcados en verde a otro. También se han usado campos magnéticos para guiar a los filamentos que iban modificados, en este caso, con pequeñas partículas magnéticas.

Los filamentos pueden transportar una gran diversidad de materiales, tales como partículas de oro, bolitas de poliestireno y de vidrio o moléculas de ADN. Los microtúbulos tendrían que ser modificados, en este caso, para que se pudieran enlazar con la carga. Un método que se ha demostrado eficaz es, por ejemplo, es colocarles anticuerpos contra la carga. Eso se ha utilizado para transportar partículas víricas del mosaico del tabaco y proteínas específicas. El microtúbulo que lleva pegados anticuerpos puede captar proteínas de la disolución, lo que puede ser útil, por ejemplo para capturar estas proteínas con fines de purificación o detección y análisis. También se han usado microtúbulos cubiertos con oligonucleótidos de DNA de una sola hebra, con el fin de que se hibride muy específicamente con su DNA diana en disolución. También es posible transportar nanopartículas de oro lo que podría servir para crear circuitos eléctricos.

Para controlar la movilidad general del sistema se emplea la modulación de la concentración de ATP en la disolución, o la de otros cofactores necesarios. La concentración de ATP se puede controlar si se usa ATP enjaulado que es inactivo y que se puede activar mediante luz ultravioleta junto a glucosa y hexoquinasa que lo pueden gastar. De esta manera, mediante destellos de luz ultravioleta se generan fases de alta movilidad que pueden durar varios minutos. Si se añaden al sistema hexoquinasa o ATP se puede conseguir una respuesta en pocos segundos. También mediante el control de la temperatura, se puede conseguir el acelerar o desacelerar el movimiento.

Una audaz aplicación de estos sistemas sería una nanomáquina diseñada para separación de moléculas componentes de una disolución.

En esta nanomáquina se podría analizar una gota de sangre, de forma que microtúbulos que llevaran adheridos anticuerpos específicos contra una proteína concreta, y que se deslizarían sobre una pradera de quinesinas pegadas a la superficie basal, pudieran captar la proteína diana y dirigirla hacia un detector que analizaría el sistema, para ir

posteriormente a una cámara de purificación y detección o a una cámara de liberación y concentración de una carga determinada. Los últimos avances en el campo de los motores biomoleculares han dejado claro que los podemos usar para impulsar componentes en nanocircuitos y que podemos usar proteínas como interfases específicas con determinados materiales. Se puede controlar la organización de sofisticados sistemas y los componentes de origen biológico se pueden autoensamblar. Disponemos de diversos procedimientos para modular su movimiento mediante controles eléctricos, magnéticos, químicos o mecánicos. Sin embargo aún quedan muchas etapas que cubrir antes de que estos sistemas puedan ser explotados como nanomáquinas plenamente funcionales y útiles.

A continuación examinaremos un nuevo tipo de nanomotor biológico: los motores rotatorios.

8.-Motores rotatorios.

Dentro de los motores rotatorios examinaremos tanto las ATP sintasas como los flagelos bacterianos.

8.1.-ATP sintasas.

Son una de las máquinas moleculares más sofisticadas en sistemas biológicos. Las ATP sintasas son ubicuas en todos los tipos de células de mamíferos y requieren un gradiente de protones para la síntesis de ATP. Las ATP sintasas pueden funcionar también como ATPasas y si se les suministra ATP pueden generar un gradiente de protones. El tipo de estructura se ha conservado a través de la evolución, aunque hay algunas variaciones con respecto al número de subunidades.

8.2.-Estructura de las ATP sintasas.

Las ATP sintasas bacterianas, de cloroplastos y mitocondriales son grandes complejos proteicos que contienen dos grandes dominios llamados F_0 y F_1 . Ambos dominios actúan como motores que pueden estar impulsados por protones o por ATP respectivamente. Walker y sus colaboradores resolvieron la estructura cristalina de las ATP sintasas mediante difracción de rayos X y este logro contribuyó a aclarar los cambios conformacionales asociados a la hidrólisis de ATP o al flujo de protones. Puesto que las partes F_0 y F_1 pueden disociarse y reasociarse de forma reversible, se han podido estudiar sus rotaciones de forma independiente.

8.3.-Propiedades quimiomecánicas del motor F_1 .

El movimiento rotario de las ATP sintasas se sugirió primeramente por Boyer y más tarde apoyada por las estructuras de alta resolución obtenidas por Walker. Yoshida consiguió observar directamente la rotación del motor de F_1 mediante una microsonda fluorescente. El dominio F_1 es hidrosoluble y la modalidad bacteriana contiene 5 tipos de subunidades. Las subunidades α y β se disponen como los gajos de una naranja alternándose ambos tipos. Cada dos subunidades participan en la formación de un sitio catalítico. En el centro de este hexámero se encuentra una cavidad en la que se mueve la subunidad γ que actúa como el eje del motor. La subunidad γ se conecta con el

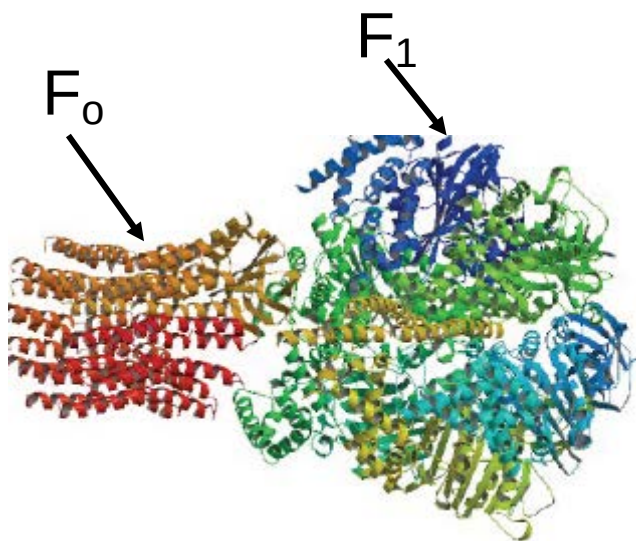


Fig. 4. Estructura molecular de ATP sintasa. (PDB:1QO1).

dominio F_0 a través de la subunidad δ . La estructura cristalina deducida para la parte F_1 indica que las 3 subunidades α adoptan una estructura idéntica para todas ellas, mientras que las 3 β tienen estructuras notablemente diferentes que van cambiando en función de su interacción con la subunidad axial central, es decir la γ . La estructura cristalina indica que una de los sitios catalíticos tiene enlazado un ATP, otro un ADP y un fosfato inorgánico y otro no contiene nucleótidos. Se considera que esta estructura es en realidad una foto instantánea de un motor

rotatorio. La subunidad γ es asimétrica y al rotar, dependiendo de qué parte contacte con un sitio catalítico dado, hará que este adopte una de las tres conformaciones: *cerrada* que tiene ATP unido, *fuerte* que tiene unido ADP y fosfato inorgánico y *suelta* que está vacía o contiene ADP y fosfato inorgánico débilmente unidos.

De estas estructuras y de diversos estudios cinéticos se deduce un mecanismo rotatorio, mediante el que las tres subunidades β se alternan en sus estructuras durante el ciclo catalítico. En este ciclo, una subunidad β pasaría por enlazar ADP y fosfato inorgánico (conformación *abierta*), a continuación pasaría a la conformación *cerrada* que seguiría enlazando ADP y fosfato inorgánico y finalmente a la *fuerte* en la que se formaría ATP, a partir del ADP y el fosfato inorgánico. El paso de la conformación fuerte a la abierta, que terminaría el ciclo, es el que requerirá aporte energético para producir la liberación de ATP. Nótese que es la liberación de ATP y no su síntesis, lo que requiere el aporte energético. Este caso atípico dentro de los procesos enzimáticos conocidos se puede explicar

porque en la conformación fuerte del centro catalítico, la interacción de la proteína con ADP y fosfato inorgánico, rebaja la energía de activación de la síntesis de ATP, como demostró Boyer. La rotación de la subunidad γ , de 120° cada vez, hace que las subunidades β vayan cambiando de conformación, y en todo momento cada subunidad β tendrá una de las 3 conformaciones mencionadas. Esto es lo que Boyer denominó funcionamiento en revólver.

8.4.-Propiedades quimiomecánicas del rotor F_o .

La ATP sintasa necesita flujo de protones para poder sintetizar ATP. El flujo de protones provoca la rotación del dominio F_o que a su vez hace girar la subunidad γ . Esta rotación será la que haga cambiar secuencialmente la conformación de las subunidades β , de *abierta* a *cerrada* y de esta última a *fuerte*. De esta manera cada rotación de 120° da lugar a la síntesis de 1 ATP, y una rotación completa de F_o de 360° producirá 3 ATPs. F_o es una proteína transmembrana formada por una asociación de subunidades. Las subunidades c , que son doce, son las que rotan, mientras que las subunidades a y b permanecen estáticas.

En concreto las a interaccionan con las c . Por otra parte, las subunidades b ligan las subunidades a con el dominio F_1 . Las subunidades de F_0 están empotradas en la bicapa fosfolipídica de la membrana y con su rotación mueve el eje que constituye la subunidad γ engranándose ambos sistemas rotatorios a través de la subunidad ϵ .

La energía que se precisa para que tenga lugar esta rotación proviene de la cadena transportadora de electrones presente en la membrana interna mitocondrial, la membrana tilacoidal de los cloroplastos o la membrana plasmática de bacterias. En el caso de la mitocondria, la cadena transportadora de electrones oxida substratos reducidos como NADH o $FADH_2$ provenientes de oxidaciones que tienen lugar en rutas catabólicas celulares y da lugar al transporte contra gradiente de protones desde la matriz mitocondrial al espacio intermembranar. Se origina así un gradiente que tiene dos componentes, uno osmótico debido a la diferencia de concentraciones a uno y otro lado de la membrana interna mitocondrial y otro eléctrico debido a la diferencia de potencial eléctrico, por la carga positiva de los protones. El

gradiente quimiosmótico de protones, como lo llamó Mitchel, es pues una forma de almacenamiento energético que se usará posteriormente para hacer girar la ATP sintasa y producir síntesis de ATP.

La forma en que los protones pasan a través de F_o y originan la rotación, se ha deducido de las estructuras cristalográficas y de experimentos de mutagénesis dirigida. Los protones pasan a través de un canal que queda entre las subunidades *c* y las subunidades *a* y *b*. Cada subunidad *c* contiene un residuo de aspartato que en ausencia de protones están interaccionando con un residuo con carga positiva en la parte estática de F_o (subunidad *a*). Cuando llegan los protones rompen la interacción que mantiene sujetas a las subunidades *c*, pues se protona el residuo aspartato y entonces se produce un desplazamiento llegando una nueva subunidad *c*, que a su vez se vuelve a protonar. Sucesivos movimientos van provocando el giro rotatorio en el sentido de las agujas del reloj. El protón proveniente del espacio intermembranar, viaja en una especie de tiovivo, hasta dar una vuelta completa que concluye con su liberación hacia la matriz mitocondrial. Ese movimiento

rotatorio, provoca el del eje γ que provoca, a su vez, la catálisis de la síntesis de ATP.

8.5.-*Aplicaciones de las ATP sintasas.*

El movimiento rotatorio de las ATP sintasas genera un par motor de 80-100 pN nm, lo que indica una eficiencia próxima al 100% de eficiencia en la conversión energética de la hidrólisis de ATP al movimiento rotatorio de F_1 . Es por ello por lo que la aplicación de ATP sintasas a máquinas artificiales es un tema fascinante.

En un trabajo pionero en este campo, Noji, Yoshida y colaboradores, fueron capaces de visualizar el movimiento rotatorio del motor F_1 por el procedimiento de pegarle un fragmento de una proteína fibrosa con marcaje fluorescente, y suministrando energía al motor F_1 . Para ello se enlaza una unidad de biotina al motor F_1 a través de un residuo de cisteína introducido mediante mutagénesis dirigida. El conjugado resultante se conectó a un decámero de histidina en el extremo N-terminal de cada subunidad β . Este motor F_1 , así modificado, se inmovilizó en una placa de vidrio cuya superficie se había

recubierto de ácido nitrilotriacético (Ni-NTA) con una alta afinidad hacia oligómeros de histidina. A continuación se unió a cada subunidad β , utilizando estreptavidina, un fragmento de actina biotinilada marcado con un compuesto fluorescente. Utilizando entonces un microscopio de epifluorescencia se observó que el filamento rota en sentido contrario al de las agujas del reloj cuando se miraba desde el lado de la membrana. El par motor, con la gran carga que tenía que mover este motor, era de 40 pN.nm, que es mucho mayor que los de motores lineales biológicos como miosinas (3-6 pN.nm) y quinesinas (5 pN.nm). Sobre esta base, Montemagno y colaboradores fabricaron un dispositivo formado por una serie de motores F_1 fijos a una superficie y modificados para llevar minipostes de níquel de 1 μm , y consiguieron que la rotación del motor F_1 moviera minihélices motoras unidos a la subunidad γ . La rotación de las nanohélices de transmisión se inicia con la adición de ATP 2 mM. Nótese que si el dominio F_1 tiene una longitud de unos 25 nm, al hacer girar el poste de níquel de 1 μm , es como si una persona de 1,80 metros hiciera girar un

poste de 72 metros de largo. Se puede parar o reiniciar en respuesta a un cambio en la concentración de iones de zinc que se enlazan a un sitio diseñado mediante ingeniería genética y este enlace bloquearía la rotación.

Se han construido varios nanomotores sobre la base de los F_1 , mencionaremos entre ellos el construido por Itoh y colaboradores, mediante el que una vez fijados los dominios F_1 a una superficie, se colocó una partícula magnética a la subunidad γ y mediante la rotación de esta partícula inducida por un electroimán se consiguió síntesis de ATP.

8.6.-*Bacteriorrodopsina*.

Una proteína que es necesario mencionar en cualquier trabajo sobre Bionanotecnología es la bacteriorrodopsina procedente de bacterias halófilas tales como *Halobacterium halobium*. Esta bacteria que pertenece a las arqueobacterias y que están muy alejadas evolutivamente de las células de eubacterias y por supuesto de las células eucariotas, tiene sorprendentemente una proteína en su membrana celular, la mencionada bacteriorrodopsina, que es tremendamente similar a la rodopsina

que se encuentra en los ojos de los vertebrados. Es este un caso de sorprendente convergencia evolutiva. Pues bien, estas bacterias son capaces de vivir en las salinas, donde no pueden hacerlo, por el altísimo potencial osmótico, otras bacterias ni casi ningún otro ser vivo. Por esta razón estas bacterias son fáciles de cultivar sin que se contaminen. Además la proteína en cuestión es muy estable y puede guardarse durante meses sin que pierda actividad. Por tanto esta proteína se puede obtener en grandes cantidades de forma muy económica. La bacteriorrodopsina tiene la capacidad de bombear protones cuando recibe iluminación solar. El gradiente de protones que se forma lo utiliza la bacteria para deshacerse de sales de su interior.

Un experimento realmente original fue el que realizaron Racker y Stoekenius en 1974. Reconstituyeron en liposomas la proteína bacteriorrodopsina conjuntamente con ATP sintasa

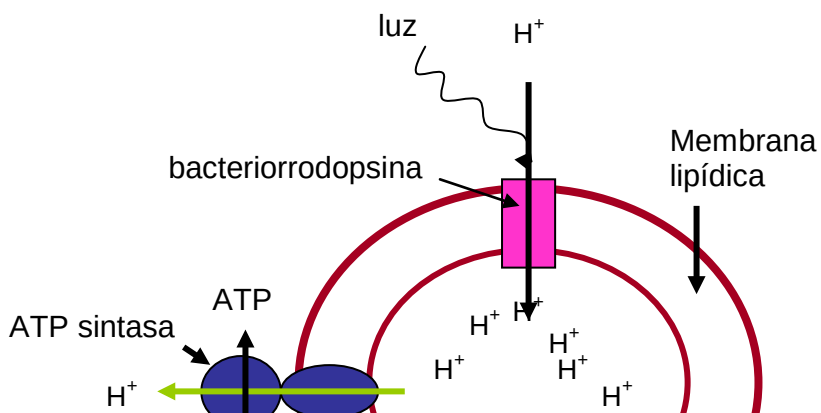


Fig. 5.-Experimento de Racker y Stoekenius, para producir ATP con la energía luminosa, gracias a la reconstitución en una vesícula lipídica de ATP sintasa de mitocondrias de corazón bovino y de bacteriorrodopsina de Halobacterium halobium.

procedente de mitocondrias de corazón bovino. Colocaron estos liposomas en un medio acuoso y añadieron ADP y fosfato inorgánico. Cuando a continuación iluminaron el sistema, observaron la síntesis de ATP. Este experimento fue uno de los que más definitivamente confirmaron que la propuesta de Mitchel de que el gradiente de protones es una forma de almacenar energía era correcta.

Un proyecto que pretende aprovechar esta capacidad de la bacteriorrodopsina de acoplarse con la ATP sintasa, consiste en preparar un sistema sol-gel de vesículas lipídicas estabilizadas (mediante polimerización a partir de triples

enlaces) que contendrían la combinación de Racker y que mediante iluminación produciría ATP fuera de las células que podría ser recogido para su uso industrial.

9. Motores flagelares bacterianos.

Muchas especies de bacterias tales como *Escherichia coli* nadan usando motores rotatorios unidos a filamentos helicoidales llamados flagelos. Este sofisticado motor se encuentra en la envoltura celular y es impulsado por un flujo de iones a través de la membrana citoplasmática. Por tanto, los motores flagelares son diferentes de los lineales que obtienen la necesaria energía de la hidrólisis del ATP y son de la misma familia que los del tipo ATP sintasa. Un motor flagelar puede rotar sus filamentos tanto en el sentido de las agujas del reloj como en el contrario.

El motor flagelar de las bacterias es uno de los objetos más complejos que se pueden encontrar en las bacterias y contiene más de 40 proteínas diferentes. Tiene un diámetro de 40 nm y un filamento de 10 a 13 μm de largo, y está formado por numerosas subunidades proteicas. Entre ellas encontramos

las que forman el filamento, el codo, la juntura, el anillo, el eje, la parte estática y la parte rotatoria. El filamento y el codo trabajan conjuntamente como una hélice para mover las células. El motor está compuesto de una parte rotatoria y una parte estática, y el flagelo está conectado al rotor a través de un eje empotrado en unos anillos. La parte esencial de la maquinaria se denomina el cuerpo basal que comprende tres anillos, mas las partes rotatoria y estática y el filamento. La parte de la máquina que genera el par motor comprende 5 proteínas, MotA, MotB, FliG, FliM, y FliN. Las últimas 3 proteínas se incluyen en lo que se llama los complejos interruptores. El anillo C se compone de 34-35 moléculas proteicas de FliM y FliN, y encima se encuentra un conjugado de los anillos M y S llamados el anillo MS que está formado por 26 moléculas de FliF. El anillo MS está unido al anillo C mediante otro anillo formado por subunidades FliG localizado en la superficie citoplasmática. El rotor FliG transfiere su par motor al anillo MS y mediante este al filamento. El dominio estático se compone de MotA y MotB y están empotrados en la membrana celular. Ocho subunidades de tipos MotA y MotB están ensambladas para rodear el rotor y

formar el dominio estático. Este conjugado hace de canal para protones. Se genera un par motor por la protonación de un residuo de aspartato en Mot. A consecuencia de esta desprotonación cambia la conformación de MotA y se rompe la interacción con residuos con carga positiva en la parte rotatoria (FliG) y se genera el par motor que ocasiona la rotación. El filamento está compuesto por 11 protofilamentos de FliC. Los protofilamentos pueden ser de tipo L o de tipo R, dependiendo de la dirección en la que serpentean: si todos son R, lo hará hacia la derecha y si todos son L hacia la izquierda. Si hay mezcla de R y L, podrá adoptar varias formas helicoidales.

Flagelo de bacterias Gram-

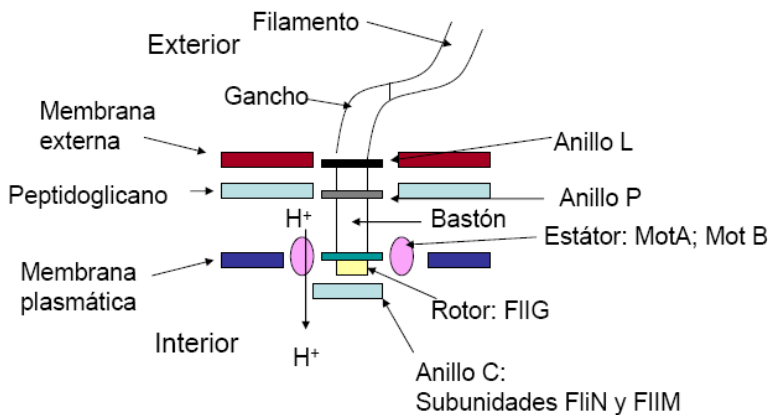


Fig. 6.-Esquema estructural de un flagelo bacteriano

Este motor genera pares motores de 10^3 pN.nm ($250 k_B T$) y puede rotar a velocidades de 100 Hz lo que equivale a la vertiginosa velocidad de 6000 rpm.

Un objetivo de la Biomecánica puede ser el utilizar estos motores para propulsar nanovehículos, buscando una especie de submarino *Proteus* de *Viaje Fantástico*, aunque ello es difícil por que habría que resolver numerosos problemas tales como suministrarle energía de forma continuada. Se ha demostrado, no obstante, que algunas bacterias pueden adherirse a objetos mucho mayores que ellas, tales como bolitas de poli(dimetilsiloxano) de hasta $10\text{ }\mu\text{m}$ y propulsarlas. Sería posible hacerles transportar cargas de un lado a otro. En esta línea, científicos japoneses han puesto a trabajar a bacterias *Mycoplasma mobile* para mover un diminuto motor rotatorio, en forma de rueda dentada, fabricado con material semiconductor. Las bacterias se deslizan por un canal recto que desemboca en otro circular sobre el que gira un rotor de 20 micrometros de

diámetro, al que hacen girar a unas dos revoluciones por minuto. Los investigadores, del Instituto Nacional de Ciencia y Tecnología Industriales Avanzadas dirigidos por Taro Uyeda, utilizaron una especie de bacteria aislada de las agallas de peces, que no afectan a los humanos. La bacteria tiene forma de pera y mide un micrometro de longitud. Se desliza sobre superficies duras, gracias a un mecanismo todavía desconocido, pero que parece basarse en sus proteínas externas, que se enlazarían y desenlazarían con otras proteínas presentes en la superficie. Los motores biológicos moleculares tienen ventajas únicas sobre los artificiales, sin embargo, para las aplicaciones y mientras se entienden mejor los mecanismos de autoensamblaje y autoorganización de las proteínas, conviene desarrollar tecnologías híbridas como este motor, que se alimenta de glucosa y hereda algunas de las propiedades atribuidas habitualmente a los sistemas vivos.

10.-Conclusión.

La Bionanotecnología es una nueva frontera del conocimiento en rápida expansión. Algunas de sus aplicaciones como las de los materiales biocompatibles y los nanoliposomas

ya están en plena explotación. Otros como los biomotores lo estarán mañana.

El pequeño tamaño y la capacidad de trabajo de muchos motores proteicos, les da enormes ventajas sobre otros motores contruidos por el hombre. De la explotación de estos biomotores cabe esperar importantes resultados para la Medicina y la industria, con construcción de sensores y aplicaciones en electrónica e ingeniería en general. La exploración y puesta en explotación de de la tecnología de los biomotores continuará siendo en los años venideros una de las más apasionantes fronteras de la ciencia con un carácter cada vez más interdisciplinar.

11.-Bibliografía básica.

-Biocompatible surfaces based upon the phospholipid asymmetry of biomembranes. Chapman D. (1993) Biochem Soc Trans. 21, 258-262.

- H. Hillaireau and P. Couvreur (2009) Nanocarriers' entry into the cell: relevance to drug delivery. Cell. Mol. Life Sci. 66, 2873–2896.

-M.R. Mozafari, A. Pardakhty , S. Azarmi, J.A. Jazayeri, A. Nokhodchi, A.Omri (2009) Role of nanocarrier systems in cancer nanotherapy. J Liposome Res. May 12. [Epub ahead of print]

- K. Kinbara and T. Aida (2005) Toward Intelligent Molecular Machines: Directed Motions of Biological and Artificial Molecules and Assemblies. *Chem. Rev.* 105, 1377-1400.
- M. G. L. van den Heuvel and C. Dekker (2007) Motor proteins at work for nanotechnology. *Science* 317, 333-336.
- M. G. L. van den Heuvel, C. T. Butcher, S. G. Lemay, S. Diez, C. Dekker (2005) Electrical docking of microtubules for kinesin-driven motility in nanostructures. *Nano Lett.* 5, 235-241.
- M. G. L. van den Heuvel, M. P. de Graaff, C. Dekker (2006) Molecular Sorting by Electrical Steering of Microtubules in Kinesin-Coated Channels. *Science* 312, 910-914.
- H. Itoh, A. Takahashi, K. Adachi, H. Noji, R. Yasuda⁶, M. Yoshida, & K. Kinosita. (2004) Mechanically driven ATP synthesis by F1-ATPase. *Nature* 427, 465-468.
- H. J. Choi, C. D. Montemagno (2005) Artificial organelle: ATP synthesis from cellular mimetic polymersomes. *Nano Lett.* 5, 2538-2542.
- G. Oster, H. Wang and M. Grabe (2000) How Fo-ATPase generates rotary torque. *Phil.Trans. R. Soc. Lond. B* 355, 523-528.
- H. Noji, R. Yasuda, M. Yoshida, K. Kinosita (1997) Direct observation of the rotation of F1-ATPase. *Nature* 386, 299-
- R. K. Soong, G. D. Bachand, H. P. Neves, A. G. Olkhovets, H.G. Craighead, C. D. Montemagno. (2000) Powering an Inorganic Nanodevice with a Biomolecular Motor. *Science* 290, 1555-1558.
- H. C. Berg (2003) The rotary motor of bacterial flagella. *Annu. Rev. Biochem.* 72, 19-54.

-T. Minamino, K. Imada and K. Namba (2008) Molecular motors of the bacterial flagella. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 18, 693–701.

-Y. Hiratsuka, M. Miyata, T. Tada, T. Q. P. Uyeda (2006) A microrotary motor powered by bacteria. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103, 13618-16323.