Revista de la Societat Catalana de Química, núm. 24 (2025), p. 27-39
Filial de l'Institut d'Estudis Catalans

ISSN: 2013-9853 DOI: 10.2436/20.2003.01.158
https://revistes.iec.cat/index.php/RSCQ

Estructures no canòniques del DNA: dels fonaments estructurals fins a les aplicacions químiques

Non-canonical DNA structures: From structural building blocks to chemical applications

Anna Aviñó,[1, 2] Arnau Domínguez[1, 2] i Raimundo Gargallo[3]

[1] *Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC). Departament de Tensioactius i Nanobiotecnologia. Grup de Química d'Àcids Nucleics*

[2] *Centro de Investigación Biomédica en Red - Bioingeniería, Biomateriales y Biomedicina (CIBER-BBN)*

[3] *Universitat de Barcelona. Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica*

Resum: Els àcids nucleics són presents en nombrosos processos biològics i han esdevingut unes peces imprescindibles en el camp biomèdic. A més, les seves aplicacions s'estan expandint cap a noves àrees com la nanotecnologia i el diagnòstic. Moltes d'aquestes aplicacions aprofiten la capacitat dels àcids nucleics per adoptar estructures espacials diverses, algunes de les quals difereixen extraordinàriament de la ben coneguda hèlix doble. El present treball explora aquestes estructures alternatives, conegudes com a *no canòniques*, destaca les aplicacions que tenen en l'àmbit químic i ofereix una visió general de les investigacions realitzades en aquesta àrea.

Paraules clau: DNA triple, DNA quàdruple, G-quàdruple, *i-motif*, anàlisi química.

Abstract: Nucleic acids are present in numerous biological processes and have become essential parts in the biomedical field. In addition, their applications are expanding into new areas such as nanotechnology and diagnostics. Many of these applications take advantage of the ability of nucleic acids to adopt diverse spatial structures, some of which differ remarkably from the well-known double helix. This article explores these alternative (or non-canonical) structures, highlights their applications in the chemical field and provides an overview of the research carried out in this area.

Keywords: Triplex DNA, quadruplex DNA, G-quadruplex, i-motif, chemical analysis.

Introducció

L'àcid desoxiribonucleic (DNA) és una molècula d'importància fonamental per al desenvolupament de la vida, tal com la coneixem. La imatge que habitualment s'associa al DNA és la de dues molècules associades en una hèlix doble, com es va proposar el 1953 [1]. El DNA, però, té una sèrie de característiques que el fan adient per construir d'altres estructures. En aquest context, el present treball té per objectiu apropar al lector potencial les característiques fonamentals i les aplicacions més recents d'una sèrie d'estructures diferents de l'hèlix doble. Aquestes estructures —bàsicament les hèlixs triples, l'estructura G-quàdruple i l'estructura *i-motif*— s'anomenen *no canòniques* perquè difereixen de l'hèlix doble, la imatge estandarditzada del DNA. En aquest article, primerament es descriuen els fonaments químics i estructurals del DNA i dels seus components bàsics, seguidament es presenten les estructures no canòniques i s'aprofundeix en les seves característiques químiques i finalment es descriuen una sèrie d'aplicacions especialment en l'àmbit químic i de diagnòstic.

Correspondència: Raimundo Gargallo
Universitat de Barcelona. Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica
Facultat de Química. C. de Martí i Franquès, 1-11. 08028 Barcelona
Tel.: +34 934 039 116
A/e: *raimon_gargallo@ub.edu*

Fonaments químics i estructurals del DNA

Una de les característiques químiques més importants del DNA és que és un polímer format per monòmers, anomenats *nucleòtids*, enllaçats covalentment entre si. Els nucleòtids, al seu torn, estan constituïts per tres components (una base nitrogenada, un sucre i un grup fosfat) enllaçats químicament. La naturalesa polimèrica del DNA es fonamenta en la unió química entre el sucre d'un nucleòtid i el grup fosfat del següent. Les cadenes que contenen entre vint i vuitanta nucleòtids s'anomenen *oligonucleòtids* i es poden crear d'una manera molt eficient en fase sòlida al laboratori emprant sintetitzadors automàtics.

Les bases nitrogenades del DNA poden ser de dos tipus pel que fa al nombre d'anells aromàtics que les formen: les piri-

midíniques, constituïdes per un sol anell, i les puríniques, que consten de dos anells (figura 1*a*). Les bases pirimidíniques són la citosina (C) i la timina (T), mentre que les bases puríniques són l'adenina (A) i la guanina (G). Totes les bases nitrogenades són elèctricament neutres en un medi aquós de pH 7. No obstant això, mentre que la citosina i l'adenina presenten característiques bàsiques (amb valors de pK_a dels respectius àcids conjugats al voltant de 3-5), la guanina i la timina tenen característiques àcides (amb valors de pK_a de les pròpies bases entre 9 i 10). Com s'explicarà més endavant, les característiques àcid-base de les bases nitrogenades tenen un paper fonamental en l'estabilització de les estructures tridimensionals del DNA i, per tant, en les seves funcions biològiques i en les seves aplicacions tecnològiques.

La naturalesa fonamentalment aromàtica de les bases nitrogenades, juntament amb el fet que siguin elèctricament neutres a pH 7, fa que aquestes siguin poc polars. Per això, quan una molècula de DNA es troba dissolta en un medi polar (com pot ser una solució aquosa en la qual hi hagi dissolts ions), les bases nitrogenades tendeixen a evitar la interacció amb el solvent i, per contra, a afavorir la interacció amb altres bases nitrogenades. Com es descriurà posteriorment, aquest fet té conseqüències en el plegament tridimensional de les molècules de DNA.

Una cadena de DNA es descriu utilitzant la seqüència de nucleòtids que la formen, començant per l'extrem 5′ i acabant per l'extrem 3′. A l'exemple de la figura 1*b* s'ha representat la seqüència 5′-TAA-3′. Com que el sucre i el fosfat són comuns a tots els nucleòtids, la identitat de la cadena de DNA realment és definida per la seqüència de bases nitrogenades. Aquesta seqüència, denominada també *estructura primària* del DNA, tindrà conseqüències importants en el comportament *in vivo* i *in vitro* de la cadena de DNA. Així, per exemple, el contingut relatiu de bases nitrogenades i la seva disposició en l'estructura primària influiran enormement sobre l'estructura tridimensional, denominada *estructura secundària*, finalment adoptada per la cadena.

Les bases nitrogenades poden interaccionar amb certs ions metàl·lics. En general, els grups funcionals de les bases nitrogenades poden formar enllaços covalents coordinats amb els ions metàl·lics anomenats «tous» (denominació associada a la teoria de Pearson [2]). Els ions «tous» es caracteritzen per tenir càrregues elèctriques relativament petites i radis atòmics relativament grans, com és el cas dels ions metàl·lics dels elements de transició, com Pt, Au, Ag, Cu... La formació d'enllaços covalents entre un ió metàl·lic i una base nitrogenada repercuteix extraordinàriament en el plegament de la molècula

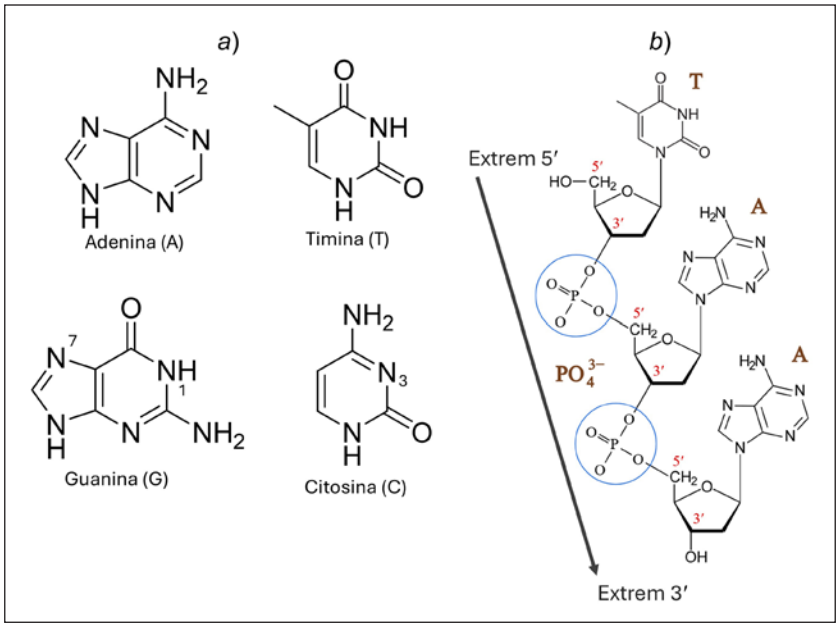

Figura 1. *a*) Bases nitrogenades que es troben habitualment al DNA. En els casos de la guanina i la citosina, s'han assenyalat els àtoms de nitrogen que intervenen en la formació de les estructures G-quàdruple i *i-motif*, respectivament. *b*) Representació de la seqüència 5′-TAA-3′ on es descriuen les bases, els sucres i els grups fosfat implicats, els enllaços fosfodièster i la direccionalitat de la cadena. Reproduït (amb canvis) de Wikimedia Commons (G3Pro), sota llicència CC BY-SA 3.0 (*https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/deed.ca*).

de DNA i en la seva estructura tridimensional. Per exemple, la interacció de compostos de platí utilitzats en tractaments anticancerígens modifica les bases nitrogenades del DNA i, per tant, la seva estructura *in vivo*.

D'altra banda, els ions metàl·lics «durs» són aquells que tenen càrregues elèctriques relativament grans i radis atòmics relativament petits; per exemple, els ions Mg^{2+} o Ca^{2+}. Aquests ions «durs» interaccionen electroestàticament amb els grups fosfat de la molècula de DNA, que estan carregats negativament a pH 7. La interacció d'aquests cations amb els grups fosfat ajuda a reduir la forta repulsió que es pot generar quan aquests darrers es troben físicament propers en les estructures plegades del DNA. Així doncs, i en general, aquestes estructures plegades són més estables en solucions aquoses que tenen forces iòniques relativament elevades.

Aparellaments de les bases nitrogenades

Les interaccions més importants dins de les estructures de DNA, que són la base de la formació d'estructures secundàries, són les formades per les bases nitrogenades mitjançant ponts d'hidrogen. Cada base nitrogenada disposa de grups donadors i acceptors de ponts d'hidrogen, fet que permet que, en condicions adequades de solvent, força iònica i temperatura, puguin interaccionar entre elles. Els aparellaments més coneguts, i que estabilitzen l'hèlix doble, són els formats per guanines amb citosines, a través de tres ponts d'hidrogen, i per adenines amb timines, estabilitzats per dos ponts d'hidrogen (figura 2*a*) [1]. Tanmateix, les bases nitrogenades poden aparellar-se d'altres maneres, i cadascun d'aquests aparellaments alternatius pot donar lloc a estructures secundàries diferents.

Els aparellaments alternatius es coneixen com a *aparellaments de tipus wobble*. Per exemple, una guanina pot interaccionar amb una timina i formar un parell G:T (figura 2*b*). Alguns dels aparellaments *wobble* més importants estan constituïts per bases de tipus purínic. Aquestes bases, l'adenina i la guanina, poden formar ponts d'hidrogen per una altra de les seves cares, diferent de la cara de Watson-Crick, i donar lloc als anomenats *enllaços de Hoogsteen* (figura 2*b*) [3], uns enllaços que permeten l'aparellament tant de purines amb purines com de purines amb pirimidines, i que es troben presents en estructures com ara les hèlixs triples o quàdruples.

Com ja s'ha comentat, un dels factors que expliquen l'estabilitat de l'hèlix doble és la formació d'enllaços químics per pont d'hidrogen entre les bases nitrogenades d'un dels segments de l'hèlix i les bases nitrogenades de l'altre segment. Un altre factor que ajuda al manteniment de l'estructura de l'hèlix doble és l'apilament de bases nitrogenades que s'hi produeix. Aquest

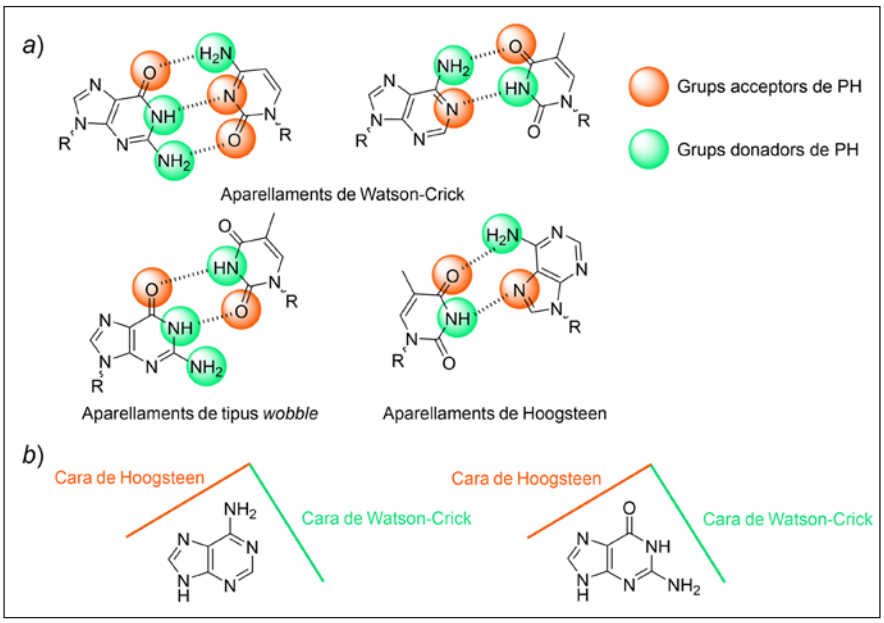

Figura 2. Aparellaments de les bases nitrogenades. *a*) Tipus d'aparellaments amb els grups acceptors i donadors de ponts d'hidrogen ressaltats en taronja i en verd, respectivament. *b*) Cares de Hoogsteen i de Watson-Crick de les bases púriniques per on es formen els ponts d'hidrogen. Elaboració pròpia.

apilament afavoreix que les bases nitrogenades, que són components poc polars del DNA, es trobin allunyades de l'ambient polar proporcionat per l'aigua i els ions que té dissolts.

Encara que el dibuix típic d'una hèlix doble preveu l'existència de dos segments independents (o cadenes) de nucleòtids que formen l'hèlix doble, pot donar-se el cas que els dos segments pertanyin a una sola molècula de DNA. En el primer cas, es produeix el plegament dit *intermolecular*, que implica dues molècules de DNA independents. En el segon cas, es produeix el plegament anomenat *intramolecular*, és a dir, d'una sola molècula sobre si mateixa, que dona lloc a l'estructura anomenada *forqueta* (*hairpin*, en anglès).

Un cop presentats els fonaments químics i estructurals del DNA, es descriuen a continuació algunes estructures no canòniques, com ara les hèlixs triples o quàdruples.

Hèlixs triples

Les hèlixs triples es formen quan un oligonucleòtid (que habitualment es denomina TFO, de l'anglès *triplex-forming oligonucleotide*) s'aparella al solc major d'una hèlix doble en una regió rica de purines i pirimidines [4]. Com ja s'ha descrit, l'hèlix doble sobre la qual se situa aquest tercer segment de nucleòtids pot ser el resultat del plegament intramolecular d'una sola cadena de DNA (una forqueta), o bé provenir de la interacció de dues cadenes independents de DNA. De la mateixa manera, el tercer segment de nucleòtids pot formar part d'una cadena independent de DNA, o bé d'alguna o de totes les cadenes que constitueixen la cadena doble. Així doncs, una hèlix triple pot ser el resultat del plegament intramolecular d'una sola cadena de DNA, o bé de la interacció de dues o tres cadenes independents.

La disposició espacial del segment TFO de nucleòtids respecte de l'hèlix doble també presenta una gran variabilitat. Per facilitar la nomenclatura, s'ha adoptat la regla general consistent a comparar el sentit d'aquest tercer tram respecte al del tram de nucleòtids, pertanyent a l'hèlix doble, que sigui més ric en bases de tipus purínic. Així, les hèlixs triples es classifiquen en paral·leles (figura 3*a*) i antiparal·leles (figura 3*c*). En les primeres, el segment TFO se situa de forma paral·lela al segment de l'hèlix doble ric en bases purina i, per tant, tenen el mateix sentit 5′ → 3′ de les seves cadenes. En canvi, en les hèlixs triples antiparal·leles, el segment TFO té un sentit oposat al del tram de l'hèlix doble ric en purines.

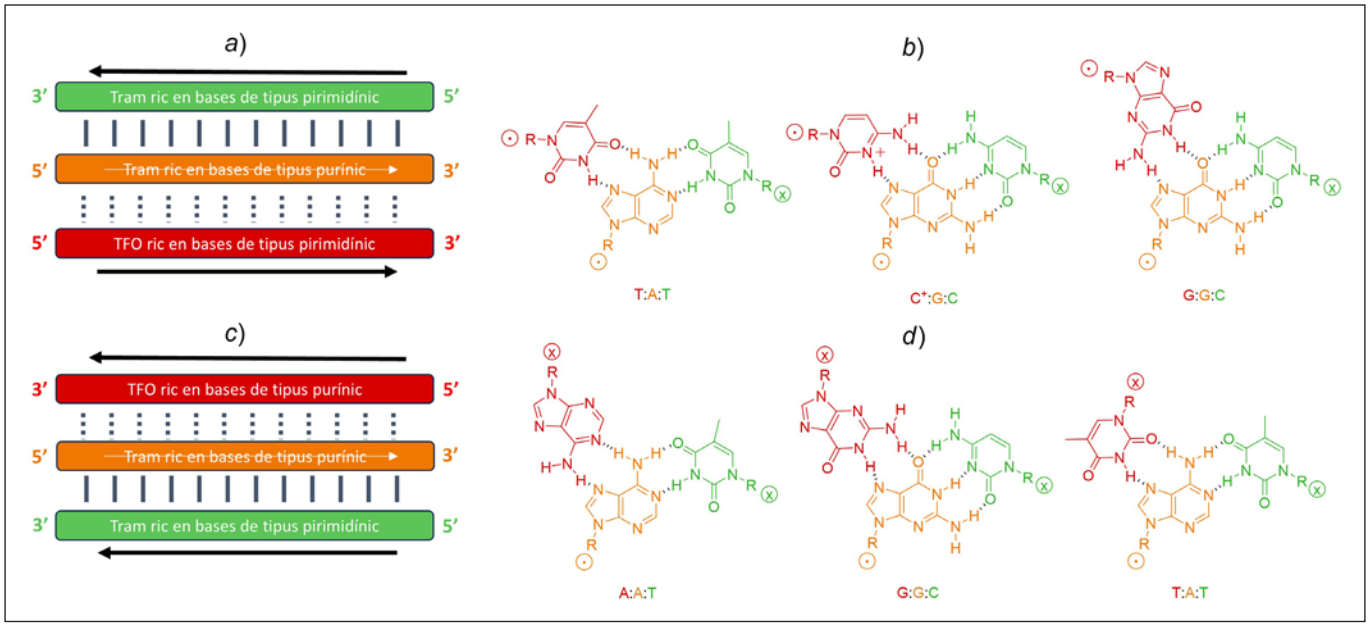

Figura 3. Estructura de les hèlixs triples. *a*) Esquema general d'una hèlix triple paral·lela, i *b*) ponts d'hidrogen formats entre les bases dels tres trams de DNA en aquesta hèlix. *c*) Esquema general d'una hèlix triple antiparal·lela, i *d*) ponts d'hidrogen formats entre les bases dels tres trams de DNA en aquesta hèlix. En *a* i en *c*, les línies contínues indiquen la formació de ponts d'hidrogen entre el tram ric en bases de tipus purínic i pirimidínic, que dona lloc a l'hèlix doble, mentre que les línies discontínues indiquen els ponts d'hidrogen entre el TFO i l'hèlix doble, i que donen lloc a l'estructura triple. En tots els casos, els colors verd, taronja i vermell es refereixen als trams rics en bases de tipus pirimidínic i de tipus purínic i al TFO, respectivament. Les fletxes indiquen el sentit de la cadena, de 5′ a 3′. Elaboració pròpia.

El tercer tram, el formador de l'estructura triple, s'uneix a la cadena doble de manera que aquesta estructura es manté gràcies a la formació dels anomenats *triplets* de bases nitrogenades (figures 3*b* i 3*d*). Concretament, les bases formadores de l'estructura doble es mantenen unides per enllaços per pont d'hidrogen de tipus Watson-Crick, mentre que les bases del TFO s'uneixen a una de les bases del parell Watson-Crick mitjançant enllaços per pont d'hidrogen de tipus Hoogsteen.

La formació d'hèlixs triples antiparal·leles es produeix en un rang ampli de valors de pH, incloent-hi pH neutre. En canvi, la formació d'hèlixs triples paral·leles es produeix en major extensió en valors de pH propers a 5, ja que requereix la protonació de la base nitrogenada citosina (el pK_a de la qual és de l'ordre de 4,7 a 25 °C i amb forces iòniques moderades) i que és un requisit indispensable per a la formació d'alguns enllaços per pont d'hidrogen de tipus Hoogsteen (figura 3*b*). Les estructures triples poden modificar-se químicament tot incorporant en l'estructura primària de la sonda bases modificades com la 8-aminoguanina, amb l'objectiu d'augmentar l'estabilitat de l'estructura final [5].

La formació d'hèlixs triples paral·leles és fàcilment observable mitjançant experiments de fusió. Així, la fusió d'una estructura triple paral·lela monitorada mitjançant l'espectroscòpia d'absorció molecular produirà un increment de l'absorbància en dos passos: el primer, a temperatures baixes, a causa de la separació del TFO de l'hèlix doble, i un segon, a temperatures més altes, a causa de la ruptura de l'hèlix doble romanent després de la ruptura de l'hèlix triple. Es pot donar el cas en què només s'apreciï una sola transició, pel fet que l'estructura triple esdevingui tan estable respecte de l'increment de la temperatura que es trenqui al mateix temps que l'hèlix doble.

Tanmateix, la formació d'hèlixs triples antiparal·leles no és fàcilment observable mitjançant experiments de fusió. Això es deu al fet que la ruptura dels ponts d'hidrogen entre la tercera cadena i l'hèlix doble, amb el consegüent alliberament de la primera, amb prou feines produeix canvis en l'absorció. En aquest cas, s'han d'utilitzar altres tècniques per detectar la formació de l'estructura triple antiparal·lela, com l'espectroscòpia de dicroisme circular, o bé l'electroforesi en gel o capil·lar.

Aplicacions de les hèlixs triples en diagnosi i en química

Tot i les aplicacions de les hèlixs triples en el camp de la mutagènesi dirigida o en la teràpia antisentit, aquestes estructures s'han utilitzat més recentment amb èxit en el camp dels biosensors i, en concret, en la identificació de seqüències relacionades amb malalties o seqüències pertanyents a diversos patògens.

Els biosensors basats en les hèlixs triples de DNA plantegen la hibridació d'una seqüència d'àcid nucleic (l'anàlit) que ha de ser detectada per una sonda bioreceptora (com ara una forqueta) ancorada al biosensor. El reconeixement selectiu d'aquesta sonda en la formació d'aquesta estructura d'hèlix triple proporcionarà un senyal analític en el biosensor directament proporcional a la quantitat d'anàlit. Seguint aquesta disposició, s'han posat a punt biosensors que han esdevingut eines avançades per detectar seqüències específiques d'àcids nucleics amb una gran sensibilitat i amb límits de detecció superiors als mètodes clàssics, que es basen en la formació d'hèlixs dobles entre l'anàlit i la sonda. Aquest element addicional de reconeixement de les hèlixs triples s'ha explotat amb èxit en la identificació de seqüències, com ara els micro-RNA, o en el reconeixement del grau de metilació en mostres per a la detecció del càncer fent servir biosensors basats en la ressonància del plasmó superficial (*surface plasmon resonanc*e, SPR). A més, aquesta tecnologia també s'ha emprat en altres biosensors de tipus fotònic, de tipus electroquímic o basats en xips per detectar seqüències de patògens amb límits de detecció molt baixos, i d'una manera ràpida, en diverses mostres reals de pacients. Per exemple, investigadors catalans han participat en la detecció del fong *Pneumocistis jirovecii* [6] i, més recentment, del virus SARS-CoV-2 [7] mitjançant l'ús de sensors basats en les hèlixs triples. Aquesta tècnica permet la detecció directa d'RNA viral sense necessitat de PCR (de l'anglès *polymerase chain reaction*, reacció en cadena de la polimerasa), utilitzant sondes tipus forqueta dissenyades per reconèixer seqüències específiques del genoma del SARS-CoV-2.

Com ja s'ha comentat, la formació de les hèlixs triples paral·leles requereix la protonació de les bases citosina presents en el TFO. Per això, l'estabilitat de l'hèlix triple resultant depèn extraordinàriament del pH del medi. Enllaçant químicament molècules fluorescents i desactivadors de la fluorescència en els extrems adients de les seqüències de DNA, es pot crear un sensor fluorescent, el senyal del qual depèn del pH. Aquest ti-

pus de sensor s'ha emprat per a mesures en el medi cel·lular [8]. Les estructures triples paral·leles també s'han fet servir per dissenyar sensors per detectar ions metàl·lics i altres molècules essencials en processos industrials i mediambientals. Per exemple, s'han dissenyat dispositius a escala nano basats en hèlixs triples per detectar ions Cu^{2+} mitjançant reaccions catalitzades per enzims basats en DNA [9].

Hèlixs quàdruples: l'estructura G-quàdruple

Les estructures G-quàdruple (*G-quadruplex*) es formen en trams de DNA particularment rics en bases guanina. Aquests trams poden pertànyer a una o a més d'una molècula de DNA. Així com els blocs bàsics que formen les hèlixs dobles són els parells de bases A·T i C·G, el bloc bàsic que manté les estructures G-quàdruple és l'anomenada *tètrada*, formada per la interacció, mitjançant enllaços per pont d'hidrogen de tipus Hoogsteen, de quatre bases guanina (figura 4*a*).

Una característica singular de les estructures G-quàdruple, que no es troba en les hèlixs dobles o triples, és la presència de cations metàl·lics dins de l'estructura, com ara Na^+, K^+ o NH_4^+, entre d'altres. En el cas de cations de radi petit, com és el cas del catió Na^+, aquest es col·loca al mig de cada tètrada, interaccionant amb els grups ceto de les quatre bases que la formen. En canvi, en el cas de cations de mida més gran, com ara el catió K^+, aquest es col·loca entre dues tètrades, interaccionant amb les vuit bases nitrogenades. Ateses aquestes restriccions geomètriques, s'ha observat que el catió K^+ és el que produeix una estabilització més gran de l'estructura G-quàdruple quan es produeix l'augment de la temperatura. Més endavant veurem que aquesta coordinació pot aprofitar-se per al desenvolupament de sensors adients per a la determinació de cations metàl·lics basats en el plegament d'aquestes estructures.

Igual que l'hèlix doble, les estructures G-quàdruple tenen forma d'hèlix, però, a diferència d'aquella, que està formada per dos segments de DNA, les estructures G-quàdruple estan

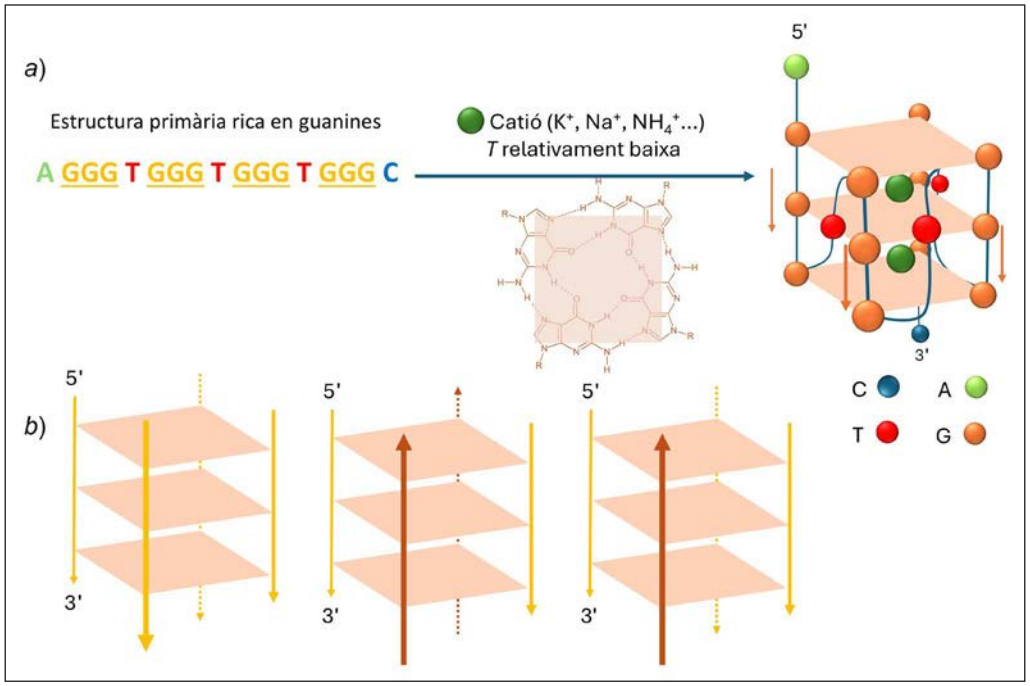

FIGURA 4. *a*) Esquema del procés de formació d'una estructura G-quàdruple. Un segment ric en bases guanina, com el que es mostra a l'esquerra, pot plegar-se per donar lloc a aquesta estructura mitjançant la formació d'agrupacions planes de quatre bases guanina (tètrada, representada com un quadre de color taronja). A la dreta es presenta una possible estructura G-quàdruple formada per l'apilament de tres tètrades. Els cercles de color blau, verd clar, vermell i taronja indiquen les bases citosina, adenina, timina i guanina, respectivament. Els cercles de color verd fosc representen els cations intercalats entre les tètrades. Les fletxes de color taronja indiquen la polaritat de cada tram de tres guanines segons l'esquema de la figura 1*b*. *b*) D'esquerra a dreta, tres exemples de conformacions: paral·lela, antiparal·lela i híbrida. S'han omès els bucles per simplicitat. Atès que tots quatre segments de guanines de l'estructura mostrada al panell *a* s'orienten de la mateixa manera, aquesta conformació és G-quàdruple paral·lela. Elaboració pròpia.

constituïdes per quatre segments de DNA. Aquests poden pertànyer a la mateixa molècula de DNA, a dues o, fins i tot, a quatre molècules diferents; d'aquesta manera donen lloc a les estructures G-quàdruple de tipus monòmer, dímer o tetràmer, respectivament. A més, els quatre segments que formen l'estructura G-quàdruple poden orientar-se segons una conformació de tipus paral·lela, antiparal·lela o, fins i tot, a partir d'una barreja de les dues (conformació 3+1 o híbrida) (figura 4*b*). El fet que una mateixa seqüència de DNA rica en guanines adopti una conformació o una altra depèn de les condicions del medi, com ara la concentració o la naturalesa del catió metàl·lic inserit entre les tètrades. Un altre aspecte que cal considerar en la geometria de les estructures G-quàdruple és la disposició i la llargada de les bases en els bucles que connecten les tètrades, que poden ser de diversos tipus (diagonal, lateral o, fins i tot, de tipus hèlix de vaixell, *propeller*). Aquesta disposició pot afectar la manera com els lligands interaccionen amb les estructures G-quàdruple.

En el medi biològic, es troben trams de DNA rics en guanina que poden formar estructures de tipus G-quàdruple en regions promotores d'alguns gens (com ara *c-myc*, *kras* o VEGF) i en els extrems dels telòmers. En tots dos casos, s'ha proposat que les estructures G-quàdruple poden tenir un paper important en la regulació de la reproducció i la mort cel·lulars i, per tant, sembla que aquestes estructures estan relacionades amb el metabolisme d'alguns tipus de càncer i amb l'envelliment [10, 11]. Per això, des del punt de vista químic, és important poder dissenyar, preparar i avaluar d'una manera analítica molècules que puguin interaccionar de forma selectiva amb aquestes dianes terapèutiques de G-quàdruple.

Finalment, cal destacar que molts aptàmers presenten l'estructura G-quàdruple. Aquests compostos són oligonucleòtids dissenyats amb una estructura tal que pugui reconèixer i inhibir dianes terapèutiques com ara proteïnes. Un dels aptàmers més estudiats que presenta aquesta estructura ha estat l'aptàmer de trombina (*thrombin binding aptamer*, TBA), que reconeix i inhibeix aquest enzim, amb un efecte anticoagulant [12].

Aplicacions de les estructures G-quàdruple

Tal com hem comentat, les estructures G-quàdruple són presents en nombroses seqüències biològicament rellevants. El fet de poder trobar molècules que, d'una manera específica, reconeguin aquestes estructures permet impedir i controlar diversos processos com, per exemple, l'expressió de certs oncogens [13]. Així doncs, s'estan sintetitzant noves molècules per poder interaccionar amb certes estructures G-quàdruple d'una forma selectiva, moltes de les quals es troben en fase clínica. La majoria d'aquestes molècules contenen anells aromàtics grans que poden establir interaccions de tipus π-π amb les diverses tètrades de l'estructura G-quàdruple. Aquestes molècules, a més, tenen substituents alquilats o espaiadors hidrofílics per millorar la solubilitat, la unió específica o l'entrada cel·lular. En són exemples les acridines, les quindolines, les quinazolones, les quinolones o les fenantrolines [14]. Recentment, s'ha comprovat l'existència d'estructures G-quàdruple en els gens d'alguns virus. La utilització de lligands selectius d'aquestes estructures ha ajudat a entendre la seva funció dintre del cicle viral i a poder-los modificar; és, per tant, una nova estratègia antiviral molt prometedora [15].

Com en el cas de les hèlixs triples, les estructures G-quàdruple poden tenir ús en l'anàlisi química, com ara en el disseny de biosensors per a la determinació de cations metàl·lics [16]. Aquesta aplicació està basada en el plegament d'aquestes estructures en presència de cations metàl·lics específics. Així, les interaccions entre aquestes estructures i els cations es poden utilitzar per generar senyals mesurables, ja sigui a través de fluorescència, colorimetria, electroquímica o altres tècniques.

En el cas de les mesures fluorimètriques, cal recordar que el DNA pràcticament no és fluorescent. En les seqüències riques en guanina, s'etiqueten covalentment els seus extrems 5′ i 3′ amb fragments moleculars que tinguin propietats relacionades amb la fluorescència. Per exemple, es pot etiquetar la seqüència de DNA en el seu extrem 5′ amb un fragment fluorescent que emeti radiació d'una longitud d'ona determinada. Al seu torn, s'etiqueta també la seqüència a l'extrem 3′ amb un altre fragment fluorescent que absorbeixi la llum emesa pel primer fragment, emetent a una segona longitud d'ona. Aquest fenomen s'anomena *transferència d'energia de ressonància de Förster* (FRET, *Förster resonance emission transfer*). Com que el plegament del polímer depèn de la naturalesa i de la concentració del catió, la proximitat entre els dos fragments fluorescents dependrà d'aquest.

És conegut que metalls pesants, com el plom (Pb^{2+}) i el mercuri (Hg^{2+}), són cations particularment rellevants per la seva

toxicitat i la seva acumulació en el medi ambient i en els organismes vius. Així, s'han descrit sensors per determinar Pb^{2+} i Hg^{2+} basats en els canvis de fluorescència de seqüències marcades [17]. Altres tècniques que s'han fet servir per originar un senyal analític són les electroquímiques [18, 19] o les colorimètriques [20] o, fins i tot, una combinació d'aquestes [21]. Les estructures G-quàdruple també s'han aplicat per a la detecció d'altres ions metàl·lics —com Cd^{2+} [22], Cu^{2+} [23] i Zn^{2+} [24]— en mostres biològiques i mediambientals. Una de les aplicacions més prometedores de les estructures G-quàdruple és la seva utilització *in vivo* per a la detecció i el monitoratge de metalls dins d'organismes vius [25].

Hèlixs quàdruples en seqüències riques en citosina: l'estructura *i-motif*

A diferència de les estructures G-quàdruple, que es formen en segments rics en bases de tipus guanina, les estructures de tipus *i-motif* es constitueixen en trams de DNA rics en bases de tipus citosina [26]. Com d'altres estructures, aquests trams poden pertànyer a una o diverses molècules de DNA. En l'estructura *i-motif*, el bloc bàsic que manté aquesta estructura és el parell de bases $C{\cdot}C^+$, format per una base citosina neutra (C) i una altra base citosina protonada en la posició N3 (C^+).

Com en el cas d'altres estructures, el parell de bases es manté unit per l'existència de ponts d'hidrogen (figura 5).

El nom tan característic d'aquesta estructura, *i-motif*, prové del fet que es pot considerar que està formada per la intercalació, de manera antiparal·lela, de dues hèlixs dobles paral·leles [27], així que potser es podria anomenar *motiu de DNA intercalat*.

Els efectes polimèrics i el pK_a

Una curiositat de l'estructura *i-motif* és la forta dependència de la seva estabilitat amb el pH del medi, fet que fa molt atractiva aquesta estructura des del punt de vista de les seves aplicacions en química. Pel que fa a la base nitrogenada citosina, l'àcid conjugat d'aquesta té un valor de pK_a al voltant de 4,7 a 25 °C i forces iòniques moderades. Per això, només una petita porció de bases citosina es troba en la seva forma protonada per damunt de pH 6,7, aproximadament. Aquesta situació canvia radicalment quan es consideren seqüències de DNA riques en bases citosina, com ara la mostrada a la figura 6. En aquest cas, la proximitat de les bases fa que sigui entròpicament favorable la formació dels parells de bases $C{\cdot}C^+$, cosa que no succeeix quan es treballa amb solucions de la base lliure, sense formar part d'una cadena de DNA. A més, aquesta proximitat espacial afavoreix l'aparició d'interaccions hidrofò-

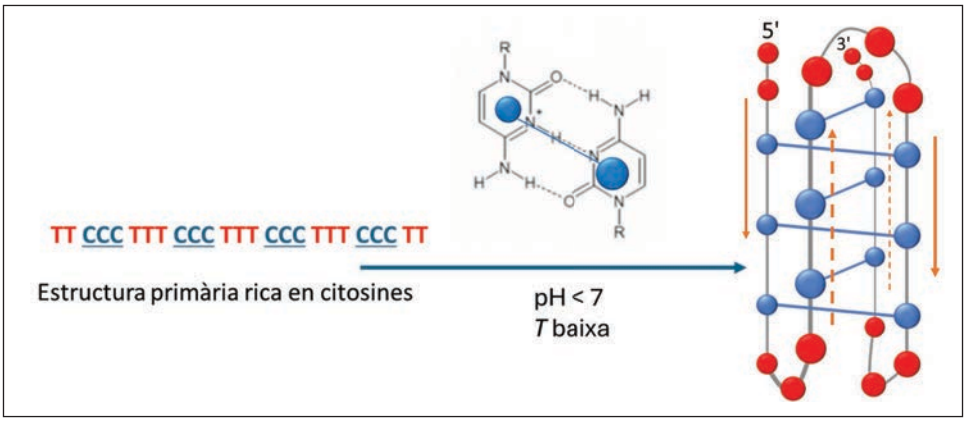

Figura 5. Esquema de la formació d'una estructura *i-motif* a partir de la seqüència rica en citosines. Un segment de DNA ric en bases citosina (es mostra a l'esquerra de la figura) pot plegar-se per donar lloc a l'estructura anomenada *i-motif* en condicions de pH relativament àcid i de temperatura baixa. El bloc fonamental de l'estructura és el parell de bases $C{\cdot}C^+$, on C indica una base citosina neutra i C^+, una base citosina protonada en la posició N3. Addicionalment, la naturalesa i el nombre de les bases nitrogenades situades en els bucles de l'estructura poden modificar-ne extraordinàriament l'estabilitat. Les fletxes indiquen la polaritat (5′ → 3′) de la cadena en cada tram. Adaptat de «Rapid and highly efficient separation of i-motif DNA species by CE-UV and multivariate curve resolution», *Anal. Chem.* [en línia], 2023, 95, p. 15189-15198, <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.3c01730>, sota una llicència Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) (*https://creativecommons.org/licenses/by/4.0*).

biques entre parells de bases i els sucres d'aquestes que ajuden a l'estabilització de l'estructura. En aquest sentit, es pot observar que el pK_a de les citosines en el si de les cadenes de DNA riques en aquestes bases es desdobla en dos valors aparents, un cap a 6,3 i l'altre, cap a 3,7 (aquests valors són aproximats i depenen de la seqüència considerada, figura 6).

En química, no és habitual observar dos valors tan diferents de pK_a per a un mateix grup funcional. En el cas de les estructures *i-motif*, el pK_a del grup imino de la citosina (4,7, aproximadament) es pot desdoblar en dos valors diferents degut a la formació del parell C·C$^+$ i a la conseqüent protonació en dos passos de les dues bases que el constitueixen. Al diagrama de concentracions de la figura 6 s'observa també que, en un interval de pH entre 4 i 6, aproximadament, no hi ha cap equilibri àcid-base a causa de l'extraordinària fortalesa del parell de bases C·C$^+$, tant respecte de la protonació de la base neutra que participa en el parell, com respecte de la desprotonació de la base protonada a la posició N3.

Un altre aspecte dels equilibris àcid-base presents en una seqüència rica en bases citosina és el fort pendent observat en les transicions degudes a la protonació o a la desprotonació, i que no es veuen en el cas dels monòmers, com passa amb la citosina (figura 6), o dels àcids orgànics habituals al laboratori químic. Aquest fort pendent es deu a l'efecte cooperatiu originat pel caràcter polimèric de la molècula. La formació d'un parell C·C$^+$ afavoreix que es constitueixin parells veïns en la mateixa molècula, cosa que no succeeix quan es treballa amb monòmers. A efectes pràctics, això implica que no hi ha un valor únic de pK_a per a cada equilibri àcid-base en el cas dels polímers, sinó una variació. És per això que es parla de valors de pK_a aparents, encara que a la bibliografia també s'esmenta el concepte de valors de pH de semitransició (p$H_{1/2}$).

Com a aclariment, val a dir que els valors dels pK_a aparents de les citosines en el si de l'estructura *i-motif* depenen en gran manera de l'estructura primària, és a dir, de la seqüència concreta de nucleòtids que es consideri. Aquesta influirà sobre la naturalesa i la llargada dels bucles que connecten els trams de citosina i, també, sobre la possibilitat de formació de parells de bases diferents als C·C$^+$ (com ara G·C, A·T o T·T). És a dir, la seqüència tindrà una gran influència sobre l'estructura secundària que s'hagi adoptat finalment i sobre la seva estabilitat. S'estan duent a terme molts esforços de recerca per aconseguir estructures de tipus *i-motif* estables en condicions

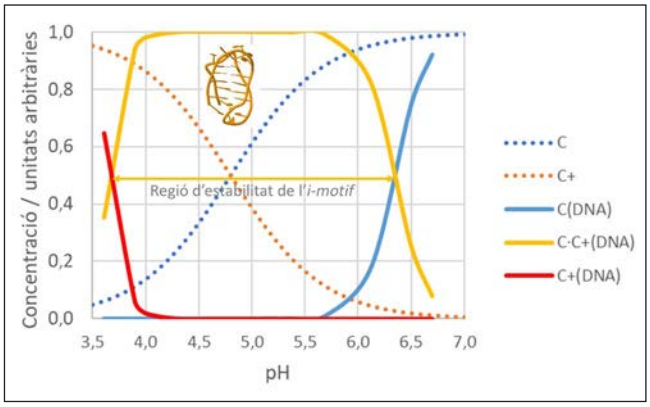

FIGURA 6. Equilibris àcid-base de la base nitrogenada citosina i d'aquesta en el si d'una seqüència de DNA. La citosina lliure té un sol valor de pK_a al voltant de 4,7. En canvi, en el si d'una seqüència rica en citosines, s'observen dos valors de pK_a aparent; en aquest exemple, 6,3 i 3,7 [28]. La regió d'estabilitat de l'*i-motif* es pot definir com el rang de pH existent entre els dos valors de pK_a aparent. Aquests valors i la regió d'estabilitat de l'*i-motif* dependran de la seqüència analitzada i de la temperatura i la força iònica a les quals es porta a terme l'estudi. Elaboració pròpia.

fisiològiques de temperatura i força iònica, amb la intenció de fer-les servir en camps tecnològics diferents [29, 30].

Aplicacions de les estructures de tipus i-motif

Igual que les altres estructures que s'han presentat en aquest treball, el plegament observat en l'estructura *i-motif* pot tenir ús en àmbits diversos, com ara la nanotecnologia o l'anàlisi química [31]. Per exemple, el plegament de l'*i-motif* s'ha fet servir per construir nanomotors capaços d'obrir i tancar diafragmes a nivell molecular [32]. En el camp de l'anàlisi química, l'aplicació més evident és el mesurament del pH. Com en el cas de les estructures G-quàdruple, una cadena rica en citosines es pot etiquetar covalentment en els seus extrems 5′ i 3′ amb fragments moleculars que tinguin propietats relacionades amb la fluorescència. Com que el plegament del polímer depèn del pH, la proximitat entre els dos fragments fluorescents dependrà d'aquest pH. Així, s'han desenvolupat mètodes analítics que relacionen la ràtio dels senyals emesos pels dos fragments amb el pH del medi, fins i tot cel·lular [33, 34].

Amb la intervenció de nanopartícules d'or, s'ha proposat fer servir el plegament de l'estructura *i-motif* per desenvolupar un sensor colorimètric de glucosa [35]. Un altre exemple de l'ús de les nanopartícules, de la tecnologia FRET i del plegament de les estructures *i-motif* ha estat la determinació dels nivells d'ATP en lisosomes en cèl·lules [36].

Conclusions

Tot i que la investigació sobre hèlixs triples, G-quàdruple i estructures de tipus *i-motif* s'ha centrat principalment en les seves implicacions biològiques i biomèdiques, hi ha un interès creixent per les seves aplicacions tecnològiques. Aquestes estructures presenten canvis conformacionals en resposta a variacions de les condicions ambientals, com ara el pH, la concentració de cations i la presència d'anàlits específics de DNA o RNA. Aquestes propietats s'han aprofitat per desenvolupar interruptors d'encesa/apagada binaris a nivell molecular, entre altres aplicacions.

En química, una de les aplicacions més explorades és la detecció d'anàlits en condicions nanoscòpiques, combinant transicions conformacionals amb tècniques espectroscòpiques. A més, s'estan duent a terme esforços significatius per modificar els components fonamentals del DNA i l'RNA, incloent-hi les bases nitrogenades i la columna vertebral de sucre-fosfat, per avaluar-ne l'impacte en l'estabilitat estructural, la conformació i les interaccions amb dianes terapèutiques. Aquests avenços posen de manifest el potencial expansiu de les estructures de DNA no canòniques tant en la recerca fonamental com en l'aplicada.

Agraïments

La recerca sobre aquestes estructures a la Secció de Química Analítica de la Universitat de Barcelona és duta a terme actualment en el marc del projecte PID2023-146465NB-I00, finançat pel Ministeri de Ciència, Investigació i Universitats (MCIN/AEI/10.13039/501100011033), i del projecte «A way of making Europe», finançat pel Fons Europeu de Desenvolupament Regional (FEDER).

Referències

[1] Watson, J. D.; Crick, F. H. C. «Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid». *Nature* [en línia], 171 (1953), p. 737-738. <https://doi.org/10.1038/171737a0>.

[2] Pearson, R. G. «Hard and soft acids and bases». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 85 (1963), p. 3533-3539. <https://doi.org/10.1021/ja00905a001>.

[3] Hoogsteen, K. «The structure of crystals containing a hydrogen-bonded complex of 1-methylthymine and 9-methyladenine». *Acta Crystallogr.* [en línia], 12 (1959), p. 822-823. <https://doi.org/10.1107/S0365110X59002389>.

[4] Eritja, R. «Nucleic acids triple helices». A: Eritja, R. (ed.). *Nucleic acids chemistry*: *Modifications and conjugates for biomedicine and nanotechnology*. Berlín: Walter de Gruyter GmbH, 2021, p. 187-230.

[5] Aviñó, A.; Huertas, C. S.; Lechuga, L. M.; Eritja, R. «Sensitive and label-free detection of miRNA-145 by triplex formation». *Anal. Bioanal. Chem.* [en línia], 408 (2016), p. 885-893. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-9180-6>.

[6] Calvo-Lozano, O.; Aviñó, A.; Friaza, V.; Medina-Escuela, A.; Huertas, C. S.; Calderón, E. J.; Eritja, R.; Lechuga, L. M. «Fast and accurate pneumocystis pneumonia diagnosis in human samples using a label-free plasmonic biosensor». *Nanomaterials* [en línia], 10 (2020), art. 1246. <https://doi.org/10.3390/nano10061246>.

[7] Aviñó, A.; Cuestas-Ayllón, C.; Gutiérrez-Capitán, M.; Vilaplana, L.; Grazu, V.; Noé, V.; Balada, E.; Baldi, A.; Félix, A. J.; Aubets, E.; Valiuska, S.; Domínguez, A.; Gargallo, R.; Eritja, R.; Marco, M.-P.; Fernández-Sánchez, C.; Martínez de Fuente, J.; Ciudad, C. J. «Detection of SARS-CoV-2 virus by triplex enhanced nucleic acid detection assay (TENADA)». *Int. J. Mol. Sci.* [en línia], 23 (2022), art. 15258. <https://doi.org/10.3390/ijms232315258>.

[8] Yang, M.; Zhang, X.; Liu, H.; Kang, H.; Zhu, Z.; Yang, W.; Tan, W. «Stable DNA nanomachine based on duplex–triplex transition for ratiometric imaging instantaneous pH changes in living cells». *Anal. Chem.* [en línia], 87 (2015), p. 5854-5859. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b01233>.

[9] Liu, J.; Lu, Y. «A DNAzyme catalytic Beacon sensor for paramagnetic Cu^{2+} ions in aqueous solution with high sensitivity and selectivity». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 129 (2007), p. 9838-9839. <https://doi.org/10.1021/ja0717358>.

[10] Figueiredo, J.; Mergny, J.-L.; Cruz, C. «G-quadruplex ligands in cancer therapy: Progress, challenges, and clinical perspectives». *Life Sci.* [en línia], 340 (2024), art. 122481. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2024.122481>.

[11] Neidle, S. «Quadruplex nucleic acids as novel therapeutic targets». *J. Med. Chem.* [en línia], 59 (2016), p. 5987-6011. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.5b01835>.

[12] Aviñó, A.; Fàbrega, C.; Tintoré, M.; Eritja, R. «Thrombin binding aptamer, more than a simple aptamer: Chemically modified derivatives and biomedical applications». *Curr. Pharm. Des.* [en línia], 18 (2012), p. 2036-2047. <https://doi.org/10.2174/138161212799958387>.

[13] Kosiol, N.; Juranek, S.; Brossart, P.; Heine, A.; Paeschke, K. «G-quadruplexes: A promising target for cancer therapy». *Mol. Cancer* [en línia], 20 (2021), art. 40. <https://doi.org/10.1186/s12943-021-01328-4>.
[14] Romano, F.; Di Porzio, A.; Iaccarino, N.; Riccardi, G.; Di Lorenzo, R.; Laneri, S. «G-quadruplexes in cancer-related gene promoters: From identification to therapeutic targeting». *Expert Opin. Ther. Pat.* [en línia], 33 (2023). <https://doi.org/10.1080/13543776.2023.2271168>.
[15] Ruggiero, E.; Zanin, I.; Terreri, M.; Richter, S. N. «G-quadruplex targeting in the fight against viruses: An update». *Int. J. Mol. Sci.* [en línia], 22 (2021), art. 10984. <https://doi.org/10.3390/ijms222010984>.
[16] Yang, H.; Zhou, Y.; Liu, J. «G-quadruplex DNA for construction of biosensors». *TrAC. Trends in Analytical Chemistry* [en línia], 132 (2020), art. 116060. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.116060>.
[17] Khoshbin, Z.; Housaindokht, M. R.; Izadyar, M.; Verdian, A.; Bozorgmehr, M. R. «A simple paper-based aptasensor for ultrasensitive detection of lead (II) ion. *Anal. Chim. Acta* [en línia], 1071 (2019), p. 70-77. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.04.049>.
[18] Ding, J.; Zhang, D.; Liu, Y.; Zhan, X.; Lu, Y.; Zhou, P.; Zhang, D. «An electrochemical aptasensor for Pb2+ detection based on metal–organic-framework-derived hybrid carbon». *Biosensors (Basel)* [en línia], 11 (2020), art. 1. <https://doi.org/10.3390/bios11010001>.
[19] Xu, S.; Chen, X.; Peng, G.; Jiang, L.; Huang, H. «An electrochemical biosensor for the detection of Pb2+ based on G-quadruplex DNA and gold nanoparticles». *Anal. Bioanal. Chem.* [en línia], 410 (2018), p. 5879-5887. <https://doi.org/10.1007/s00216-018-1204-6>.
[20] Sun, H.; Yu, L.; Chen, H.; Xiang, J.; Zhang, X.; Shi, Y.; Yang, Q.; Guan, A.; Li, Q.; Tang, Y. «A colorimetric lead (II) ions sensor based on selective recognition of G-quadruplexes by a clip-like cyanine dye». *Talanta* [en línia], 136 (2015), p. 210-214. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.01.027>.
[21] Xu, N.; Hou, T.; Li, F. «A label-free photoelectrochemical aptasensor for facile and ultrasensitive mercury ion assay based on a solution-phase photoactive probe and exonuclease III-assisted amplification». *Analyst* [en línia], 144 (2019), p. 3800-3806. <https://doi.org/10.1039/c9an00649d>.
[22] Zhou, B.; Chen, Y.-T.; Yang, X.-Y.; Wang, Y.-S.; Hu, X.-J.; Suo, Q.-L. «An ultrasensitive colorimetric strategy for detection of cadmium based on the peroxidase-like activity of G-quadruplex-Cd(II) specific aptamer». *Analytical Sciences* [en línia], 35 (2019), p. 277-282. <https://doi.org/10.2116/analsci.18P248>.
[23] Ge, C.; Luo, Q.; Wang, D.; Zhao, S.; Liang, X.; Yu, L.; Xing, X.; Zeng, L. «Colorimetric detection of copper(II) ion using click chemistry and hemin/G-quadruplex horseradish peroxidase-mimicking DNAzyme». *Anal. Chem.* [en línia], 86 (2014), p. 6387-6392. <https://doi.org/10.1021/ac501739a>.
[24] Guo, Y.; Sun, Y.; Shen, X.; Chen, X.; Yao, W.; Xie, Y.; Hu, J.; Pei, R. «Quantification of Zn(II) using a label-free sensor based on graphene oxide and G-quadruplex». *Analytical Methods* [en línia], 7 (2015), p. 9615-9618. <https://doi.org/10.1039/c5ay01840d>.
[25] Li, C.; Chen, H.; Chen, Q.; Shi, H.; Yang, X.; Wang, K.; Liu, J. «Lipophilic G-quadruplex isomers as biomimetic ion channels for conformation-dependent selective transmembrane transport». *Anal. Chem.* [en línia], 92 (2020), p. 10169-10176. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02222>.
[26] Benabou, S.; Aviñó, A.; Eritja, R.; González, C.; Gargallo, R. «Fundamental aspects of the nucleic acid i-motif structures». *RSC Adv.* [en línia], 4 (2014), p. 26956-26980. <https://doi.org/10.1039/C4RA02129K>.
[27] Mergny, J.-L.; Lacroix, L.; Han, X.; Leroy, J.-L.; Helene, C. «Intramolecular folding of pyrimidine oligodeoxynucleotides into an i-DNA motif». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 117 (1995), p. 8887-8898. <https://doi.org/10.1021/ja00140a001>.
[28] Fernández, S.; Eritja, R.; Aviñó, A.; Jaumot, J.; Gargallo, R. «Influence of pH, temperature and the cationic porphyrin TMPyP4 on the stability of the i-motif formed by the 5′-(C3TA2)4-3′ sequence of the human telomere». *Int. J. Biol. Macromol.* [en línia], 49 (2011), p. 729-736. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.07.004>.
[29] Serrano-Chacón, I.; Mir, B.; Escaja, N.; González, C. «Structure of i-motif/duplex junctions at neutral pH». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 143 (2021), p. 12919-12923. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c04679>.
[30] Mir, B.; Serrano-Chacón, I.; Medina, P.; Macaluso, V.; Terrazas, M.; Gandioso, A.; Garavís, M.; Orozco, M.; Escaja, N.; González, C. «Site-specific incorporation of a fluorescent nucleobase analog enhances i-motif stability and allows monitoring of i-motif folding inside cells». *Nucleic Acids Res.* [en línia], 52 (2024), p. 3375-3389. <https://doi.org/10.1093/nar/gkae106>.
[31] Alba, J. J.; Sadurní, A.; Gargallo, R. «Nucleic acid *i*-motif structures in analytical chemistry». *Crit. Rev. Anal. Chem.* [en línia], 46 (2016), p. 443-454. <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.1143347>.

[32] Xia, F.; Guo, W.; Mao, Y.; Hou, X.; Xue, J.; Xia, H.; Wang, L.; Song, Y.; Ji, H.; Ouyang, Q.; Wang, Y.; Jiang, L. «Gating of single synthetic nanopores by proton-driven DNA molecular motors». *J. Am. Chem. Soc.* [en línia], 130 (2008), p. 8345-8350. <https://doi.org/10.1021/ja800266p>.
[33] Yue, X.; Qiao, Y.; Gu, D.; Qi, R.; Zhao, H.; Yin, Y.; Zhao, W.; Xi, R.; Meng, M. «DNA-based pH nanosensor with adjustable FRET responses to track lysosomes and pH fluctuations». *Anal. Chem.* [en línia], 93 (2021), p. 7250-7257. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c00436>.
[34] Zhou, Y.-J.; Wan, Y.-H.; Nie, C.-P.; Zhang, J.; Chen, T.-T.; Chu, X. «Molecular switching of a self-assembled 3D DNA nanomachine for spatiotemporal pH mapping in living cells». *Anal. Chem.* [en línia], 91 (2019), p. 10366-10370. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b02514>.
[35] Li, W.; Feng, L.; Ren, J.; Wu, L.; Qu, X. «Visual detection of glucose using conformational switch of i-motif DNA and non-crosslinking gold nanoparticles». *Chemistry–A European Journal* [en línia], 18 (2012), p. 12637-12642. <https://doi.org/10.1002/chem.201201914>.
[36] Li, L. L.; Lv, W. Y.; Wang, Y.; Li, Y. F.; Li, C. M.; Huang, C. Z. «DNA logic nanodevices for real-time monitoring of ATP in lysosomes». *Anal. Chem.* [en línia], 93 (2021), p. 15331-15339. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c02829>.

A. Aviñó

A. Domínguez

R. Gargallo

Anna Aviñó és doctora en química per la Universitat de Barcelona. Va fer el doctorat al Consell Superior d'Investigacions Científiques en noves metodologies de síntesi d'oligonucleòtids modificats com a agents terapèutics, amb el doctor Ramon Eritja. Ha dut a terme dues estades postdoctorals a l'estranger i actualment és investigadora sènior al Centro de Investigación Biomédica en Red - Bioingeniería, Biomateriales y Biomedicina (CIBER-BBN) i a l'Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC). La seva expertesa es basa en la síntesi i l'estudi d'estructures secundàries dels àcids nucleics, i en la seva aplicació com a bioreceptors en diferents sistemes diagnòstics. A més, ha treballat en el desenvolupament de nous oligonucleòtids terapèutics basats en inhibició gènica.

Arnau Domínguez és graduat en química per la Universitat de Barcelona (UB). Després dels estudis de grau, va realitzar el Màster de Química Orgànica, també a la UB, que va finalitzar l'any 2021. Tot seguit, es va incorporar al grup de Química d'Àcids Nucleics, dirigit pel doctor Ramon Eritja, a l'Institut de Química Avançada de Catalunya (IQAC-CSIC), on duu a terme la tesi doctoral. La seva recerca se centra en l'estudi d'estructures de DNA d'hèlixs triples per a la detecció de malalties infeccioses, com ara el virus SARS-CoV-2, entre d'altres.

Raimundo Gargallo és professor agregat al Departament d'Enginyeria Química i Química Analítica de la Universitat de Barcelona. Com a investigador, els seus interessos se centren en l'estudi dels equilibris en què intervenen estructures poc conegudes del DNA, i en la interacció d'aquestes estructures amb lligands per tal de desenvolupar mètodes analítics. És coautor de cent deu articles de recerca i de divulgació, així com de revisions. Ha participat en nombrosos projectes de recerca, ha estat director o codirector de tesis doctorals i de treballs de fi de màster i col·labora en el foment de la recerca en el batxillerat.