

INVESTIGACIÓN  
QUÍMICA



K. B. Uribe<sup>a, b, \*</sup>

E. López-Martínez<sup>b</sup>



A. L. Cortajarena<sup>b, c</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Universidad del País Vasco UPV/EHU, 48940, Leioa

<sup>b</sup> Centro de Investigación Cooperativa en Biomateriales (CIC biomaGUNE), Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Paseo de Miramón 194, 20014, Donostia-San Sebastián.

<sup>c</sup> Ikerbasque, Basque Foundation for Science, Plaza de Euskadi 5, 48009, Bilbao.

C-e: [alcortajarena@cicbiomagune.es](mailto:alcortajarena@cicbiomagune.es)

ORCID: 0000-0002-4502-4853

ORCID: 0000-0001-7345-4423

ORCID: 0000-0002-5331-114X

Recibido: 03/11/2022

Aceptado: 09/06/2023

\* Estos autores han contribuido por igual en este trabajo

# Desarrollo de bionanoherramientas innovadoras mediante ingeniería de híbridos proteína-nanomaterial

Kepa B. Uribe , Elena López-Martínez   
y Aitziber L. Cortajarena 

**Resumen:** Las proteínas de repetición son biopolímeros naturales ampliamente estudiados en el desarrollo de nuevas herramientas nanotecnológicas. La simplicidad de sus secuencias y la robustez de sus estructuras permiten el desarrollo de andamios versátiles y adaptables para un buen número de funciones. Además, la generación de híbridos proteína-nanomaterial eleva las posibilidades a un nuevo ámbito que ha comenzado a explorarse recientemente. En la presente revisión hemos actualizado algunos de los avances realizados en el campo, particularmente con las proteínas de repetición CTPR (del inglés Consensus Tetratricopeptide Repeats), y descrito mediante ejemplos el potencial de estos sistemas en diversas aplicaciones tecnológicas y biomédicas.

**Palabras clave:** Proteínas de repetición, ingeniería de proteínas, andamios proteicos, híbridos funcionales, nanomateriales, multifuncionalidad, herramientas terapéuticas.

**Abstract:** Repeat proteins are natural biopolymers that have been widely studied in the development of new nanotechnological tools. The simplicity of their sequences and the robustness of their structures allow the development of versatile and adaptable scaffolds for a number of functions. In addition, the generation of protein-nanomaterial hybrids raises the possibilities to a new level that has only just begun to be explored. In the present review we have updated some of the advances made in the field, particularly with CTPR repeat proteins, and described by means of examples the potential of these systems in various technological and biomedical applications.

**Keywords:** Repeat proteins, protein engineering, protein scaffolds, functional hybrids, nanomaterials, multifunctionality, theranostic tools.

## Introducción

El desarrollo de nuevas herramientas bionanotecnológicas ofrece formas innovadoras de abordar los retos emergentes en diferentes ámbitos de la Ciencia. A menudo inspiradas en la Naturaleza, estas herramientas han evolucionado vertiginosamente mediante el diseño, el control y la modificación de biomoléculas. De entre todas estas (ver siguiente comentario), las proteínas resultan particularmente de interés por su versatilidad y variedad de funciones, ya que permiten diseñar nuevas herramientas *ad hoc* adaptando proteínas ya conocidas o creando nuevas desde cero. Asimismo, los avances realizados en la secuenciación de genes, la cristalografía y la microscopía electrónica, así como el desarrollo de la biología computacional, han impulsado el potencial de las

proteínas, y particularmente las proteínas “ingenierizadas”, en un amplio número de campos de estudio.<sup>[1]</sup>

Las proteínas son biomoléculas elementales comunes a todos los seres vivos que se constituyen como un collar de cuentas uniendo covalentemente sus diferentes piezas elementales o aminoácidos. Las características fisicoquímicas únicas de cada componente determinarán que cada secuencia presenta un paisaje energético único, que determinará su disposición tridimensional, *i.e.* su estructura, y en último término, determinará su función biológica.<sup>[2]</sup> Alteraciones de un único componente de la cadena polipeptídica pueden hacer variar drásticamente su funcionalidad, siendo esta la base molecular de enfermedades tan comunes como la hipercolesterolemia familiar,<sup>[3]</sup> o la forma de optimizar nuevas variantes de interés.<sup>[4]</sup> Existe, pues, una estrecha relación

entre secuencia-estructura-función en las proteínas que representa un gran atractivo a la hora de elegir las como base o andamiaje sobre el que diseñar con aproximaciones *bottom-up* nuevas nanoherramientas. Además, las proteínas presentan propiedades de biocompatibilidad y biodegradabilidad excepcionales que las hacen ideales para el desarrollo de aplicaciones no solo tecnológicas sino también biomédicas.

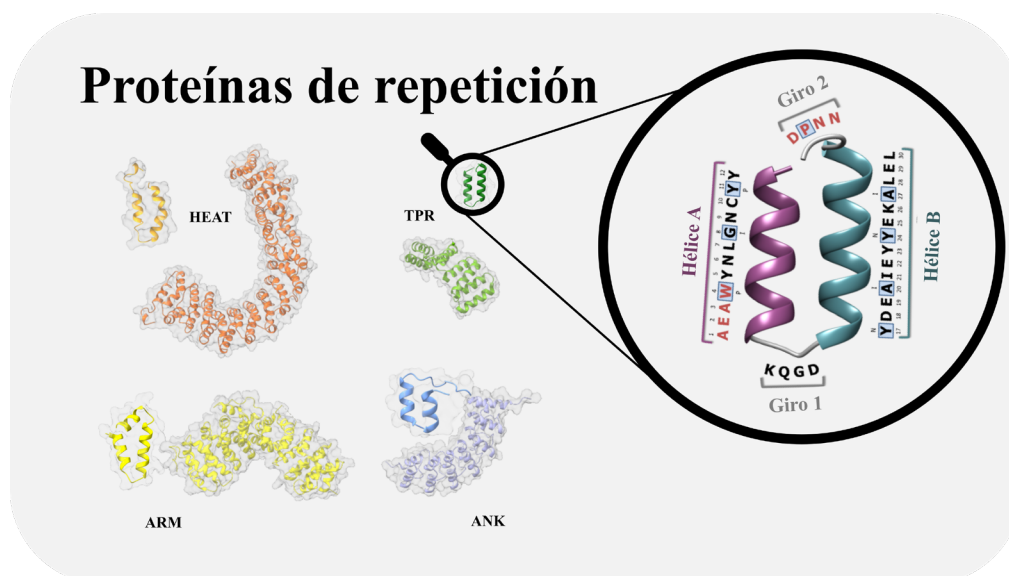
## Proteínas de repetición: diseño y funcionalidad

Un grupo de proteínas con alto interés nanotecnológico lo componen las proteínas de repetición<sup>[5]</sup> (Figura 1). Estas son proteínas no globulares que presentan secuencias cortas de aminoácidos (18-47 aminoácidos) repetidas en tándem y que en su contexto fisiológico están involucradas en interacciones proteína-proteína.<sup>[6]</sup> El número de estas repeticiones puede ser variable de unas proteínas a otras, así como la naturaleza/secuencia de las repeticiones, pero en todos los casos las secuencias de repetición forman un motivo estructural básico que contiene toda la información para su plegamiento o disposición tridimensional. La concatenación de secuencias da lugar a la formación de unidades de repetición con estructuras extendidas definidas, altamente estables en diferentes medios.<sup>[7]</sup> Además, uno de los principales atractivos que ofrecen las proteínas de repetición a la hora de generar nuevas nanoherramientas consiste en el diseño de proteínas mediante la arquitectura por bloques. Este tipo de construcción consiste en la concatenación de módulos o "bloques" en la misma cadena, formados por un número limitado de repeticiones de secuencia única que les confieren

propiedades independientes de estabilidad, funcionalidad o de interacción con otros módulos. De esta manera relativamente sencilla se pueden formar proteínas quiméricas multifuncionales ensamblando diferentes módulos funcionales en la misma secuencia-estructura.<sup>[5]</sup>

De entre las diferentes familias de proteínas de repetición, resultan de especial interés la formada por las proteínas TPR (del inglés *Tetratricopeptide Repeat*) por su estudio y desarrollo en la bionanotecnología. Estas proteínas contienen el motivo TPR o de repetición tetratricopeptídico compuesto por 34 aminoácidos que codifican un motivo estructural en forma de hélice-giro-hélice<sup>[8, 9]</sup> (Figura 1). La repetición en tándem de secuencias TPR promueve la formación de una estructura característica en forma de superhélice.<sup>[10, 11]</sup> Por alineamiento de cientos de motivos TPR naturales se obtuvo una secuencia TPR consenso o CTPR, que ha permitido el diseño sistemático de proteínas sintéticas de longitud variable (~1-18 nm).<sup>[12]</sup> Además, el análisis detallado de las estructuras cristalinas de estas proteínas ha ayudado a comprender el papel de los distintos aminoácidos, concluyendo que solo unos pocos aminoácidos hidrofóbicos altamente conservados están involucrados en el mantenimiento del motivo estructural y abriendo la posibilidad de modificar a demanda más del 75% de su secuencia.

Así, gracias a la alta flexibilidad de secuencia y a las propiedades intrínsecas que ofrecen las proteínas CTPR, se han diseñado un número considerable de módulos funcionales de tamaño y actividad variable (Figura 2). Inspirándonos en la función biológica de las proteínas TPR naturales, se han diseñado nuevos módulos para el reconocimiento biomolecular de ligandos seleccionados. Estos andamios exponen regiones o secuencias específicas que facilitan la interacción



**Figura 1.** Las proteínas de repetición están formadas por secuencias cortas de aminoácidos cortas en las que se repite el mismo motivo estructural. De la repetición en tándem de estas secuencias se pueden diseñar andamios proteicos robustos aptos para el desarrollo de nuevas bionanoherramientas. Algunas de las proteínas de repetición utilizadas como andamiaje molecular son las repeticiones HEAT (en naranja), TPR (en verde), armadillo (ARM en amarillo), o las anquirinas (ANK en azul). En muchos casos, los módulos comparten una estructura básica en forma de hélices unidas por un giro corto, como es el caso de las proteínas TPR. En el detalle de la imagen se pueden apreciar la secuencia consenso y los residuos conservados (indicados en fondo azul) que definen la estructura típica del motivo TPR.

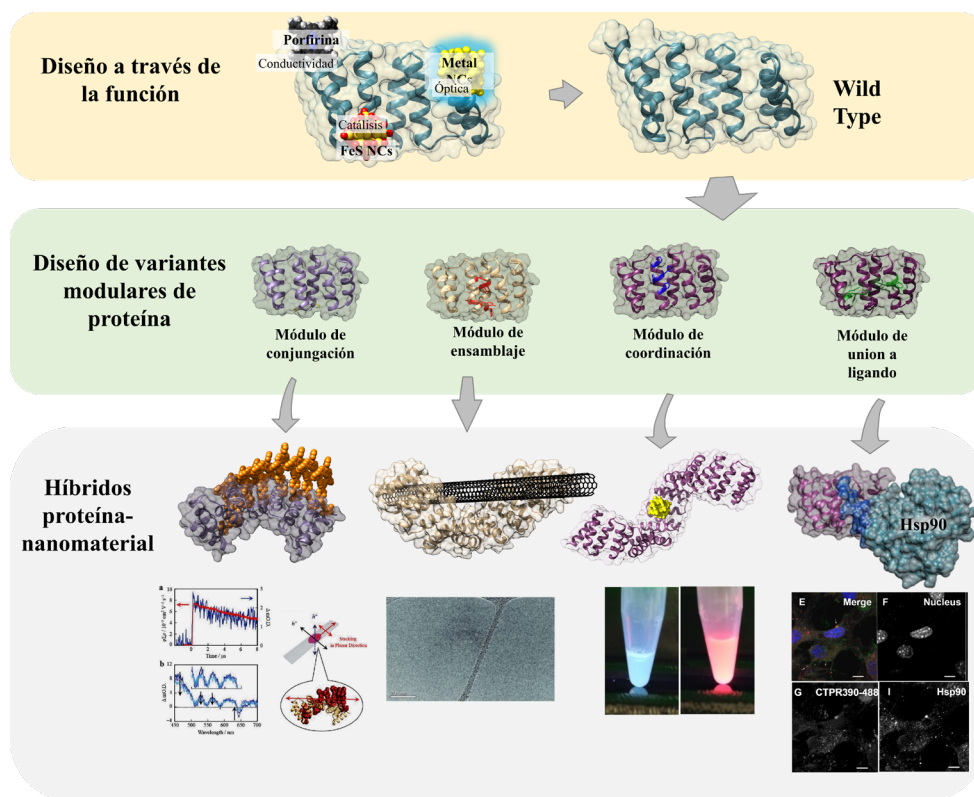
proteína-proteína o proteína-péptido,<sup>[13-16]</sup> y se han probado eficaces en aproximaciones tan diversas como el diseño de bioinhibidores con acción terapéutica o el desarrollo de nuevas modalidades en microscopía de superresolución.<sup>[17]</sup> Adicionalmente, la capacidad de las proteínas CTPR para autoensamblarse de manera ordenada mediante interacciones intermoleculares “cabeza-a-cola” y “lado-a-lado”<sup>[18]</sup> ha sido explotada para el desarrollo de módulos que generan complejos supramoleculares en forma de películas finas ordenadas,<sup>[19, 20]</sup> o nanotubos proteicos<sup>[21]</sup> con interés en el diseño de biomateriales avanzados. Recientemente, en base al entorno molecularmente confinado que aporta la cara cóncava de la proteína, junto con la rigidez y la alta estabilidad que ofrecen los andamios CTPR, se ha comenzado a vislumbrar el potencial de las proteínas CTPR en el diseño de nuevos biocatalizadores.<sup>[22]</sup>

## Híbridos CTPR y sus aplicaciones en nanotecnología

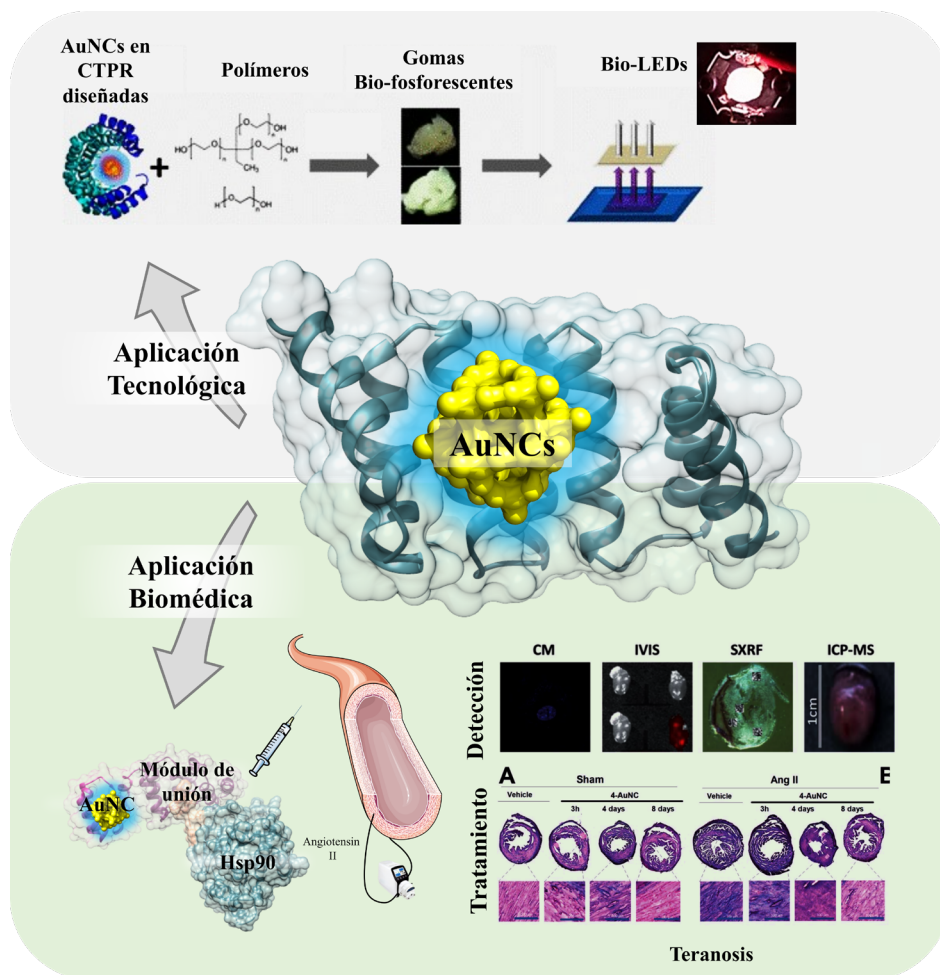
Otro de los grandes avances en la generación de herramientas bionanotecnológicas innovadoras surge de la adquisición de

un nuevo nivel de complejidad al combinar las proteínas con otros elementos funcionales y/o nanomateriales.<sup>[23]</sup> Mediante el diseño de proteínas basado en estructura, una estrategia de diseño simple y versátil que se sustenta en el conocimiento acumulado sobre estructuras de proteínas y la intuición fisicoquímica,<sup>[24]</sup> se han construido híbridos con diferentes elementos funcionales para aplicaciones tecnológicas (Figura 2).

En el caso de las proteínas CTPR, se han evaluado diferentes regiones potencialmente susceptibles para su funcionalización específica y dirigida o para la generación de diferentes áreas con actividades pre-definidas. Los extremos terminales de las proteínas CTPR exponen secuencias únicas para su modificación puntual, y de esta manera modificando diferencialmente ambos extremos se puede conseguir funcionalizar superficies de manera ordenada con, por ejemplo, nanopartículas de oro.<sup>[29]</sup> Asimismo, los giros entre hélices generan un patrón secuencial bien definido que habilita la funcionalización de moléculas y nanomateriales (p. ej. porfirinas, nanopartículas de oro) de manera ordenada y orientada, lo cual habilita un transporte electrónico eficiente.<sup>[26, 28, 30]</sup> De especial interés para la formación de los híbridos resulta la cara cóncava o interior del solenoide, ya que facilita la



**Figura 2.** La versatilidad en el diseño de las proteínas CTPR permite el desarrollo *ad hoc* de bionanoherramientas. Mediante ingeniería de proteínas se modifican aquellas regiones o aminoácidos clave del andamio proteico y se van adaptando a las necesidades de la nueva funcionalidad que se quiere implementar (variantes modulares). Posteriormente, la combinación con otros elementos funcionales y/o nanomateriales darán lugar a la formación de híbridos con características funcionales únicas. Finalmente, la combinación de diferentes módulos o variantes funcionales en la misma proteína posibilita la construcción de híbridos multifuncionales avanzados. Imágenes adaptadas con permiso bajo licencia Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY-NC-ND) de las ref. <sup>1</sup> y ref. <sup>25</sup>, y adaptadas con permiso de las ref. <sup>26</sup>, ref. <sup>27</sup> y ref. <sup>28</sup>. Copyright 2021 American Chemical Society, Copyright 2021 Wiley-VCH GmbH, Copyright 2016 The Royal Society of Chemistry, Copyright 2018 Elsevier Ltd, y Copyright 2017 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, respectivamente.



**Figura 3.** Los CTPR-AuNCs son un ejemplo de híbridos proteína-nanomaterial con múltiples utilidades. Por un lado, debido a sus propiedades fotolumínicas, los híbridos CTPR-AuNC se pueden aplicar para su desarrollo tecnológica mediante la fabricación de biomateriales como filtros de color en dispositivos LED, que sustituyen a los actuales basados en tierras raras. Estos dispositivos mostraron una durabilidad superior a las 800 horas<sup>39</sup>. Por otro lado, los híbridos CTPR-AuNCs también pueden diseñarse como una herramienta teranóstica y aplicarse en el tratamiento y detección de enfermedades como la fibrosis cardíaca<sup>40</sup>. En este caso, la inhibición funcional de la fibrosis sustenta la actividad terapéutica mientras que la detección o seguimiento del híbrido se realiza mediante fluorescencia (microscopía confocal, IVIS) o por la naturaleza metálica del AuNC (SXRF, ICP-MS). Imágenes adaptadas con permiso bajo licencia Creative Commons Attribution 4.0 (CC BY-NC-ND) de la ref. <sup>1</sup> y adaptadas con permiso de la ref. <sup>39</sup>. Copyright 2021 American Chemical Society, Copyright 2020 American Chemical Society, respectivamente.

coordinación de diferentes elementos (p. ej. nanotubos de carbono, C60-fullerenos)<sup>[28, 31]</sup> o la generación *in situ* de nanomateriales, amoldando con precisión las funciones resultantes de los híbridos proteína-nanomaterial.<sup>[25, 32, 33]</sup>

Entre los híbridos proteína-nanomaterial desarrollados resultan particularmente interesantes aquellos constituidos por híbridos CTPR-nanoclústeres de oro (CTPR-AuNC) (Figura 3). Estos son un conjunto de híbridos donde el AuNC se genera *in situ* sobre el andamio de CTPR previamente diseñado a través de la introducción de aminoácidos de coordinación como histidinas, o cisteínas en su cara cóncava, de forma que se controla la especificidad de la coordinación metálica, y la posterior reducción y estabilización de NC.<sup>[34, 35]</sup> Los AuNC (5-25 átomos) en su mayoría se generan confinados en el interior rígido de la proteína y el entorno molecular, junto con el procedimiento de síntesis, moldean su formación así como

sus propiedades. Aunque los módulos de coordinación han demostrado unir covalentemente también otros metales (Ag, Cu)<sup>[35]</sup> y generar híbridos con nuevas funcionalidades,<sup>[36]</sup> los híbridos basados en AuNC forman complejos fotoluminiscentes, tienen la ventaja de ser biocompatibles,<sup>[35]</sup> y la ausencia de este elemento (Au) en los sistemas biológicos favorece su detección.<sup>[37]</sup> En concreto, los últimos estudios realizados en nuestro laboratorio han evidenciado que los híbridos proteína-AuNC exhiben propiedades ópticas únicas en términos de rendimiento cuántico (> 35%) y propiedades de emisión (400-800 nm),<sup>[38]</sup> y por ejemplo han sido implementados con éxito en la fabricación de filtros de conversión de color para su integración en nuevos dispositivos de iluminación biocompatibles (bio-LEDs).<sup>[39]</sup>

Los híbridos proteína-nanomaterial, además, pueden ser concebidos como sistemas multidominio y desarrollar así

nanomateriales multifuncionales de gran interés en campos como la biomedicina (Figura 3). Como se ha constatado recientemente, de la combinación de la acción terapéutica del andamio proteico con las propiedades de los nanomateriales para su detección, se ha desarrollado un híbrido proteína-nanomaterial multifuncional eficaz para el tratamiento y/o monitorización de enfermedades. A modo de prueba de concepto, se ha concebido un híbrido CTPR-AuNC químico capaz de tratar eficazmente la fibrosis cardiaca en modelos animales fusionando un módulo bioinhibidor con efecto anti-fibrótico<sup>[27]</sup> al módulo de coordinación/estabilización de AuNC. Los resultados han validado los objetivos principales de esta aproximación terapéutico-diagnóstico, dado que este híbrido es capaz de reducir drásticamente el área fibrótica así como la hipertrofia cardíaca con una única dosis, al tiempo que se ha conseguido rastrear por diferentes métodos la presencia del nanomaterial de Au en los tejidos tratados, en concreto en los corazones afectados por la fibrosis.<sup>[40]</sup> Así, de la sinergia surgida entre los distintos componentes de los híbridos proteína-nanomaterial se ha demostrado viable la generación de plataformas terapéuticas versátiles de amplio alcance a través de estas aproximaciones. Por lo tanto, virtualmente se pueden implementar nuevas propiedades y modalidades terapéutico-diagnósticas adicionales según diferentes necesidades. De hecho, actualmente trabajamos en el desarrollo de nuevos híbridos para su uso como agentes de contraste en imagen molecular o como agentes radioterapéuticos para el tratamiento del cáncer.

## Conclusiones

Las proteínas de repetición son una clase de biopolímeros que presentan un marco excepcional para el desarrollo de nanoherramientas avanzadas. Sus repeticiones de una secuencia simple favorecen su modificación a demanda a través de aproximaciones racionales y modulares relativamente sencillas y versátiles, permitiendo la incorporación de nuevas funcionalidades específicas y el diseño de proteínas multifuncionales compuestas por diferentes dominios. Además, la formación de complejos híbridos o la incorporación de nanomateriales favorecen la biocompatibilidad y biodegradación de estos elementos potencialmente citotóxicos y extienden las capacidades funcionales de cada componente por separado, presentando estos híbridos nuevas propiedades específicas derivadas, en efecto, de su hibridación. Ejemplo de ello resultan los avances realizados en torno al diseño racional de los módulos de andamiaje CTPR y la síntesis de materiales híbridos complejos cuyo potencial en diversas áreas de interés ha sido demostrada en los últimos años. A futuro, la incorporación de métodos computacionales cada vez más sofisticados,<sup>[41]</sup> la integración de aproximaciones racionales y combinatorias, así como la combinación con nanomateriales mejorados, promoverán el desarrollo de nanoherramientas híbridas con funcionalidades novedosas que permitirán abordar objetivos biomédicos y tecnológicos antes inalcanzables.

## Agradecimientos

Los autores agradecen el apoyo del Consejo Europeo de Investigación (ERC-CoG-648071-ProNANO; ERC-PoC-NIMM-841063; ERC-PoC-Nanolmaging- 101069356) de la Agencia Estatal de Investigación, España (PID2019-111649RB-I00; PDC2021-120957-I00); y del Gobierno Vasco (RIS3-2019222005; BIOEF-BIO21/COV/037). Este trabajo se ha realizado en el marco del Programa de Unidades de Excelencia María de Maeztu de la Agencia Estatal de Investigación de España Subvención MDM-2017-0720 (CIC biomaGUNE). Agradecemos a todos los miembros del grupo de Nanotecnología Biomolecular de CIC biomaGUNE que han contribuido al desarrollo de estos proyectos y de estas líneas de investigación.

## Bibliografía

- [1] K. B. Uribe, E. Guisasola, A. Aires, E. López-Martínez, G. Guedes, I. R. Sasselli and A. L. Cortajarena, *Acc Chem Res*, **2021**, *54*, 4166-4177.
- [2] C. B. Anfinsen, *Science*, **1973**, *181*, 223-230.
- [3] A. Benito-Vicente, K. B. Uribe, S. Jebari, U. Galicia-García, H. Ostolaza and C. Martín, *Int J Mol Sci*, **2018**, *19*, 1676.
- [4] A. Espasa, M. Lang, C. F. Aguiño, D. Sanchez-deAlcazar, J. P. Fernández-Blázquez, U. Sonnewald, A. L. Cortajarena, P. B. Coto and R. D. Costa, *Nat Commun*, **2020**, *11*, 879.
- [5] S. H. Mejias, A. Aires, P. Couleaud and A. L. Cortajarena, *Adv Exp Med Biol*, **2016**, *940*, 61-81.
- [6] C. Scheufler, A. Brinker, G. Bourenkov, S. Pegoraro, L. Moroder, H. Bartunik, F. U. Hartl and I. Moarefi, *Cell*, **2000**, *101*, 199-210.
- [7] A. L. Cortajarena and L. Regan, *Protein Sci*, **2011**, *20*, 336-340.
- [8] R. S. Sikorski, M. S. Boguski, M. Goebel and P. Hieter, *Cell*, **1990**, *60*, 307-317.
- [9] T. Hirano, N. Kinoshita, K. Morikawa and M. Yanagida, *Cell*, **1990**, *60*, 319-328.
- [10] T. Kajander, A. L. Cortajarena, E. R. Main, S. G. Mochrie and L. Regan, *J Am Chem Soc*, **2005**, *127*, 10188-10190.
- [11] M. Synakewicz, R. S. Eapen, A. Perez-Riba, P. J. E. Rowling, D. Bauer, A. Weiß, G. Fischer, M. Hyvönen, M. Rief, L. S. Itzhaki and J. Stigler, *ACS Nano*, **2022**, *16*, 3895-3905.
- [12] E. R. G. Main, Y. Xiong, M. J. Cocco, L. D'Andrea and L. Regan, *Structure*, **2003**, *11*, 497-508.
- [13] A. L. Cortajarena, F. Yi and L. Regan, *ACS Chem Biol*, **2008**, *3*, 161-166.
- [14] A. L. Cortajarena, T. Y. Liu, M. Hochstrasser and L. Regan, *ACS Chem Biol*, **2010**, *5*, 545-552.
- [15] E. B. Speltz, A. Nathan and L. Regan, *ACS Chem Biol*, **2015**, *10*, 2108-2115.
- [16] A. Diamante, P. K. Chaturbedy, P. J. E. Rowling, J. R. Kumita, R. S. Eapen, S. H. McLaughlin, M. d. I. Roche, A. Perez-Riba and L. S. Itzhaki, *Chem Sci*, **2021**, *12*, 880-895.
- [17] C. Oi, Z. Gidden, L. Holyoake, O. Kantelberg, S. Mochrie, M. H. Horrocks and L. Regan, *Commun Biol*, **2020**, *3*, 458.
- [18] T. Kajander, A. L. Cortajarena, S. Mochrie and L. Regan, *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, **2007**, *63*, 800-811.

- [19] T. Z. Grove, L. Regan and A. L. Cortajarena, *J R Soc Interface*, **2013**, *10*, 20130051.
- [20] D. Sánchez-deAlcázar, S. Velasco-Lozano, N. Zeballos, F. López-Gallego and A. L. Cortajarena, *ChemBioChem*, **2019**, *20*, 1977-1985.
- [21] D. Sanchez-deAlcazar, S. H. Mejias, K. Erazo, B. Sot and A. L. Cortajarena, *Struct Biol*, **2018**, *201*, 118-129.
- [22] I. Rivilla, M. Odriozola-Gimeno, A. Aires, A. Gimeno, J. Jiménez-Barbero, M. Torrent-Sucarrat, A. L. Cortajarena and F. P. Cossío, *J Am Chem Soc*, **2020**, *142*, 762-776.
- [23] A. Freeman, *Biomimetics*, **2017**, *2*, 14.
- [24] V. Nanda and R. L. Koder, *Nat Chem*, **2010**, *2*, 15-24.
- [25] E. Lopez-Martinez, D. Gianolio, S. Garcia-Orrit, V. Vega-Mayoral, J. Cabanillas-Gonzalez, C. Sanchez-Cano and A. L. Cortajarena, *Adv Optical Mater*, **2022**, *10*, 10.
- [26] S. H. Mejias, J. López-Andarias, T. Sakurai, S. Yoneda, K. P. Erazo, S. Seki, C. Atienza, N. Martín and A. L. Cortajarena, *Chem Sci*, **2016**, *7*, 4842-4847.
- [27] R. A. Cáceres, T. Chavez, D. Maestro, A. R. Palanca, P. Bolado, F. Madrazo, A. Aires, A. L. Cortajarena and A. V. Villar, *J Mol Cell Cardiol*, **2018**, *123*, 75-87.
- [28] J. López-Andarias, S. H. Mejías, T. Sakurai, W. Matsuda, S. Seki, F. Feixas, S. Osuna, C. Atienza, N. Martín and A. L. Cortajarena, *Adv Funct Mat*, **2018**, *28*, 1704031.
- [29] S. H. Mejias, P. Couleaud, S. Casado, D. Granados, M. A. Garcia, J. M. Abad and A. L. Cortajarena, *Colloids Surf B Biointerfaces*, **2016**, *141*, 93-101.
- [30] S. H. Mejias, E. López-Martínez, M. Fernandez, P. Couleaud, A. Martín-Lasanta, D. Romera, A. Sanchez-Iglesias, S. Casado, M. R. Osorio, J. M. Abad, M. T. González and A. L. Cortajarena, *Nanoscale*, **2021**, *13*, 6772-6779.
- [31] M. Liutkus, A. López-Andarias, S. H. Mejías, J. López-Andarias, D. Gil-Carton, F. Feixas, S. Osuna, W. Matsuda, T. Sakurai, S. Seki, C. Atienza, N. Martín and A. L. Cortajarena, *Nanoscale*, **2020**, *12*, 3614-3622.
- [32] A. Aires, M. Möller and A. L. Cortajarena, *Chem Mater*, **2020**, *32*, 5729-5738.
- [33] S. H. Mejias, Z. Bahrami-Dizicheh, M. Liutkus, D. J. Sommer, A. Astashkin, G. Kodis, G. Ghirlanda and A. L. Cortajarena, *Chem Commun*, **2019**, *55*, 3319-3322.
- [34] P. Couleaud, S. Adan-Bermudez, A. Aires, S. H. Mejías, B. a. Sot, A. Somoza and A. L. Cortajarena, *Biomacromolecules*, **2015**, *16*, 3836-3844.
- [35] A. Aires, I. Llarena, M. Moller, J. Castro-Smirnov, J. Cabanillas-Gonzalez and A. L. Cortajarena, *Angew Chem Int Ed Engl*, **2019**, *58*, 6214-6219.
- [36] A. Aires, E. Lopez-Martinez and A. L. Cortajarena, *Biosensors*, **2018**, *8*, 110.
- [37] J. Groen, A. Palanca, A. Aires, J. J. Conesa, D. Maestro, S. Rehbein, M. Harkiolaki, A. V. Villar, A. L. Cortajarena and E. Pereiro, *Chem Sci*, **2021**, *12*, 15090-15103.
- [38] A. Aires, A. Sousaraei, M. Möller, J. Cabanillas-Gonzalez and A. L. Cortajarena, *Nano Lett*, **2021**, *21*, 9347-9353.
- [39] A. Aires, V. Fernández-Luna, J. Fernández-Cestau, R. D. Costa and A. L. Cortajarena, *Nano Letters*, **2020**, *20*, 2710-2716.
- [40] A. Aires, D. Maestro, J. Ruiz del Rio, A. R. Palanca, E. Lopez-Martinez, I. Llarena, K. Geraki, C. Sanchez-Cano, A. V. Villar and A. L. Cortajarena, *Chem Sci*, **2021**, *12*, 2480-2487.
- [41] T. Brunette, F. Parmeggiani, P.-S. Huang, G. Bhabha, D. C. Ekiert, S. E. Tsutakawa, G. L. Hura, J. A. Tainer and D. Baker, *Nature*, **2015**, *528*, 580-584.

