

Puces à ADN et photolithographie – récents progrès sur la synthèse d'acides nucléiques à très haut débit et extension du champ des possibles

Jory Lietard

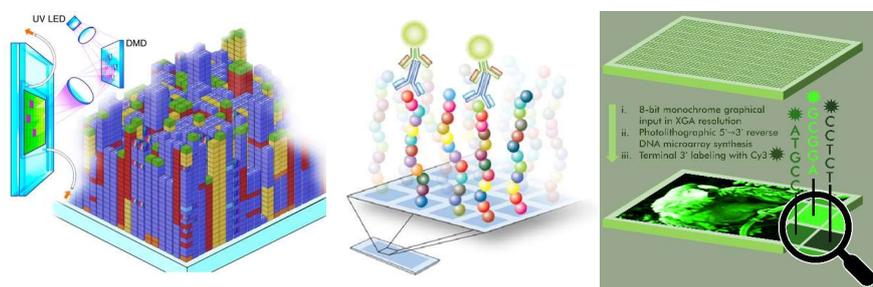
Faculty of Chemistry, University of Vienna, Josef-Holaubek-Platz 2, 1090 Vienna, Austria
jory.lietard@univie.ac.at

Les puces à ADN sont des plateformes extrêmement utiles pour étudier et explorer le champ d'interactions entre acides nucléiques, protéines et petites molécules. La fabrication de ces puces par photolithographie est une méthode de choix en ce qu'elle permet de préparer des bibliothèques de séquences très complexes : plus de 780000 séquences uniques synthétisées en parallèle et sur la même surface. Comme la synthèse d'acides nucléiques par photolithographie est *in situ*, elle exploite la chimie au phosphoramidite des méthodes de synthèse plus conventionnelles et, de fait, est capable d'accueillir la même palette de nucléosides et de modificateurs et offre ainsi une grande variété dans la synthèse d'oligonucléotides. Atteindre une telle diversité structurale au sein d'une seule puce permet d'étudier ces interactions à très haut débit, un niveau inaccessible à d'autres voies de synthèse.

Par exemple, nous avons récemment adapté le processus de fabrication de puces à ADN à l'ARN¹, créant ce faisant la seule approche de fabrications de puces à ARN à haute densité, et les bibliothèques d'ARN ainsi produites ont servi à identifier la préférence pour des séquences bien particulières de certaines enzymes reconnaissant et dégradant l'ARN². En outre, nous avons intégré 2'F-ANA, un analogue de nucléoside précieux dans la conception d'oligonucléotides à visée thérapeutique, sous la forme de bibliothèques d'analogues d'oligonucléotides sur puces afin d'accélérer le processus d'identification de médicaments potentiels.

Parallèlement, nous utilisons la puissance de synthèse brute de la photolithographie pour des applications plus portées sur la nanotechnologie. En particulier, nous tirons avantage de la fluorescence sur puces pour façonner des images moléculaires faites uniquement d'ADN et jusqu'en 256 couleurs^{3,4}. Ces images peuvent être chargées de pixels supplémentaires content de l'ADN en série L, orthogonal à son énantiomère naturel D, permettant ainsi de dissimuler un message sous la forme de L-ADN, une technique aussi connue en sciences de l'information sous le nom de stéganographie⁵. Nous touchons aussi aux sciences de l'information en étudiant le stockage de l'information numérique sur ADN^{6,7}.

Cet exposé a ainsi pour but de présenter un nouveau champ d'investigation pour les puces à oligonucléotides, bien au-delà de leur usage traditionnel pour interroger l'expression des gènes, entre recherche biomédicale, chimie bioorganique et nanobiotechnologie.



1. Lietard, J., Ameer, D., Damha, M. & Somoza, M.M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 15257-15261 (2018)
2. Lietard, J., Damha, M.J. & Somoza, M.M. *Biochemistry* **58**, 4389-4397 (2019)
3. Kekić, T & Lietard, J. *Nanoscale*, under review
4. Holz, K., Schaudy, E., Lietard, J. & Somoza, M.M. *Nat Commun* **10**, 3805 (2019)
5. Schaudy, E., Somoza, M.M. & Lietard, J. *Chem. Eur. J.* **26**, 14310-14314 (2020)
6. Antkowiak, P.L. et al. *Nat Commun* **11**, 5345 (2020)
7. Lietard, J. et al. *Nucleic Acids Res.* **49**, 6687-6701 (2021)

DNA microarrays and photolithography – recent progress in high-throughput nucleic acid synthesis and an expanded realm of possibilities

Jory Lietard

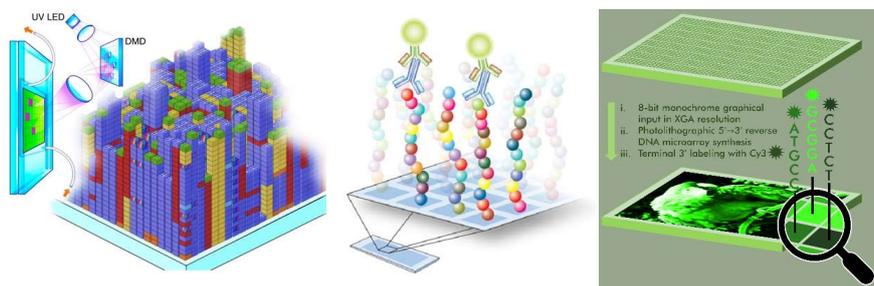
Faculty of Chemistry, University of Vienna, Josef-Holaubek-Platz 2, 1090 Vienna, Austria
jory.lietard@univie.ac.at

Microarrays are powerful platforms to study the extraordinarily vast realm of interactions of DNA, RNA and analogs with nucleic acids, proteins and small molecules. Photolithographic *in situ* synthesis is the ideal approach for large-scale preparation of libraries as >780000 unique sequences can be synthesized in parallel and on the same surface. Phosphoramidite chemistry being at the core of microarray photolithography, the process is as versatile as solid-phase synthesis and can accommodate DNA, RNA, nucleoside analogs and a wide variety of modifiers. Such a structural diversity allows for binding events to be studied in a high-throughput scale inaccessible to any other synthetic method.

We recently adapted the fabrication process of DNA microarrays to RNA¹, making it the only synthetic approach to high-density RNA chips, and such RNA libraries were used to decipher the sequence preference of RNA-processing enzymes². We also started to explore the introduction of 2'-F-ANA, an important nucleoside analog in the field of oligonucleotide therapeutics, into oligonucleotide analogs libraries on microarrays in order to accelerate the process of DNA/RNA drug design and quickly identify potential drug candidates.

In parallel, we are harnessing the full power of photolithography in the field of nanotechnology. In one instance, we are fabricating fluorescent microarrays to assemble DNA-based molecular images with up to 256 colors^{3,4}. These images can be spiked with L-DNA pixels, inaccessible to its natural D enantiomer, making it possible to conceal information in L-DNA format, a technique otherwise known as steganography in IT⁵. In this field, we also participate by working on DNA data storage^{6,7}.

This talk aims at illustrating and demonstrating how our high-density nucleic acid arrays go beyond traditional gene expression purposes and engage in the realm of biomedical research, bioorganic chemistry and nanobiotechnology.



1. Lietard, J., Ameer, D., Damha, M. & Somoza, M.M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **57**, 15257-15261 (2018)
2. Lietard, J., Damha, M.J. & Somoza, M.M. *Biochemistry* **58**, 4389-4397 (2019)
3. Kekić, T & Lietard, J. *Nanoscale*, under review
4. Holz, K., Schaudy, E., Lietard, J. & Somoza, M.M. *Nat Commun* **10**, 3805 (2019)
5. Schaudy, E., Somoza, M.M. & Lietard, J. *Chem. Eur. J.* **26**, 14310-14314 (2020)
6. Antkowiak, P.L. et al. *Nat Commun* **11**, 5345 (2020)
7. Lietard, J. et al. *Nucleic Acids Res.* **49**, 6687-6701 (2021)