



SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE PARTÍCULAS PSEODOVIRALES DE ROTAVIRUS FUNCIONALIZADAS CON NANOPARTÍCULAS

Germán Plascencia-Villa, Laura A. Palomares y Octavio Tonatiuh Ramírez

Instituto de Biotecnología/U.N.A.M., Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, CP 62210, Cuernavaca, Morelos.
Tel. (55) 56227617, Fax (777) 3138811, germanpv@ibt.unam.mx, tonatiuh@ibt.unam.mx

Palabras clave: nanobiotecnología, rotavirus, nanobiomateriales.

Introducción. Los virus han demostrado su utilidad como plataforma en nanotecnología, materiales y medicina, ya que forman macroestructuras altamente ordenadas, simétricas y homogéneas que pueden ser utilizadas como templado para la síntesis de nanobiomateriales. Al ser coexpresadas en forma recombinante las proteínas VP2 y VP6 de rotavirus forman partículas pseudovirales de 70 nm. El centro formado por VP2 sirve como base para la capa externa de VP6, que posee afinidad por diversos iones metálicos y ha servido como templado para sintetizar nanopartículas metálicas (2). Por lo cual es posible modificar químicamente las partículas pseudovirales de rotavirus para impartirles nuevas funciones al sintetizar *in situ* nanopartículas metálicas con diversas propiedades.

Metodología. Las partículas pseudovirales VP2/VP6 se produjeron a través del sistema células de insecto-baculovirus. Purificación por cromatografía de intercambio iónico (Q-Sepharose, Amersham) y de exclusión en gel (HW65F, TOSOH). Funcionalización con AgNO_3 , HAuCl_4 , K_2PtCl_4 y CoCl_2 , utilizando NaBH_4 como reductor. Caracterización por espectroscopía UV-Vis, distribución de tamaño por dispersión de luz dinámica (ZetasizerNano, Malvern) y microscopía de transmisión electrónica (EM900 Zeiss).

Resultados y discusión. Las partículas pseudovirales VP2/VP6 purificadas del sobrenadante del cultivo poseen 70 nm de diámetro (ZetasizerNano) y estructura idéntica al virus nativo (1).

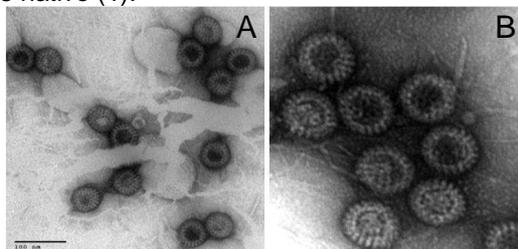


Fig. 1. Microscopía electrónica de partículas pseudovirales VP2/VP6. A. 100000x. B. 250000x.

La capa externa formada por VP6 posee sitios de unión de metales formados por los aminoácidos N250-E315-H316 que sirven para la síntesis *in situ* de nanopartículas utilizando NaBH_4 como catalizador (2).

Al final de la reacción el espectro UV-Vis mostró resonancia de plasmón característicos para

nanopartículas metálicas de Ag^0 ($\lambda_{\text{max}}=390\text{nm}$) y Au^0 ($\lambda_{\text{max}}=536\text{nm}$). Las nanopartículas de Ag poseen un diámetro promedio de 5.8 nm, mientras que las de Au son de 6.5 nm, también se observaron algunas partículas de hasta 18 nm. Las nanopartículas de platino fueron monodispersas con promedio de 3.5 nm y las nanopartículas bimetalicas de CoPt están en el rango de 4-7nm. En todos los casos la conjugación se dio en la superficie de las partículas pseudovirales VP2/VP6 sin afectar su estabilidad o provocando desensamblaje de las macroestructuras.

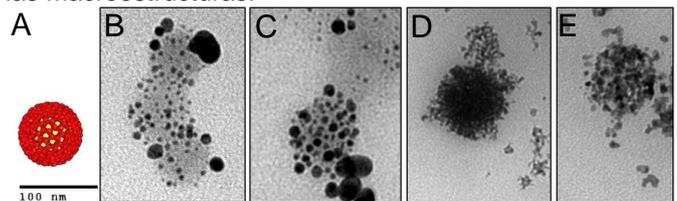


Fig. 2. Microscopía electrónica de partículas pseudovirales VP2/VP6 funcionalizadas. (A) modelo partícula VP2/VP6 y barra de escala, (B) plata, (C) oro, (D) platino y (E) CoPt.

Las propiedades magnéticas de las partículas funcionalizadas con CoPt se confirmaron mediante un sistema de separación magnético.

Las partículas pseudovirales al ser funcionalizadas poseen potenciales aplicaciones como contenedores moleculares en nanoelectrónica, catálisis, diagnóstico y medicina.

Conclusiones. Las partículas pseudovirales de rotavirus producidas en forma recombinante y purificadas poseen afinidad por diversos compuestos inorgánicos. Se demostró su utilidad como templado multifuncional para sintetizar diferentes tipos de nanopartículas metálicas y magnéticas conjugadas en la superficie externa de las partículas pseudovirales de rotavirus.

Agradecimientos. CONACyT-Morelos MOR-2004-C02058. DGAPA-UNAM IN224409, CONACyT 171180. Unidad de Microscopía INSP. Apoyo técnico M.C. Ruth Pastor.

Bibliografía. 1. Libersou S, Siebert X, Ouldali M, Estrozi LF, Navaza J, Charpilienne A, Garnier P, Poncet D, Lepault J. Geometric mismatches within the concentric layers of rotavirus particles: a potential regulatory switch of viral particle transcription activity (2008). *J Virol*, Vol. 82, 2844-2852.

2. Plascencia-Villa G, Saniger JM, Palomares LA, Ramírez OT. Use of recombinant rotavirus VP6 as multifunctional template for the synthesis of nanobiomaterials functionalized with metals (2009). *Biotechnol Bioeng*, sometido.