



PROPIEDADES MULTIFUNCIONALES DE LA PROTEÍNA VP6 DE ROTAVIRUS COMO TEMPLADO PARA SINTETIZAR NANOBIMATERIALES

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. La proteína VP6 de rotavirus presenta polimorfismo estructural, se autoensambla en macroestructuras tubulares de 45 o 70 nm de diámetro y varios micrómetros de largo, esferas de 70 nm o trímeros (1). Estas características son aprovechadas para sintetizar nanobiomateriales mediante funcionalización con nanopartículas metálicas, magnéticas o semiconductoras conjugadas en residuos expuestos en la superficie que poseen carga y arreglo para unir los iones metálicos que al ser reducidos formarán las nanopartículas *in situ* obteniendo nanobiomateriales híbridos (2). Los tubos recombinantes de VP6 superan la longitud alcanzada por cualquier templado viral.

Metodología. La proteína VP6 recombinante se produjo a través del sistema células de insecto-baculovirus. La purificación fue por cromatografía de intercambio iónico (Q-Sepharose, Amersham) y de exclusión en gel (HW65F, TOSOH). La funcionalización con AgNO_3 , HAuCl_4 , K_2PtCl_4 , K_2PdCl_4 , FeCl_2 y CoCl_2 , utilizando citrato de sodio o NaBH_4 como reductores. La caracterizaron por espectroscopía UV-Vis, distribución de tamaño por dispersión de luz dinámica (ZetasizerNano, Malvern) y microscopía de transmisión electrónica (EM900 Zeiss).

Resultados y discusión. La expresión recombinante de VP6 produce macroestructuras tubulares que son purificadas del sobrenadante del cultivo. Los tubos de VP6 muestran la superficie con arreglos hexagonales, con un diámetro de 75 nm y una longitud de 1-3.5 μm (ZetasizerNano). Fig. 1.

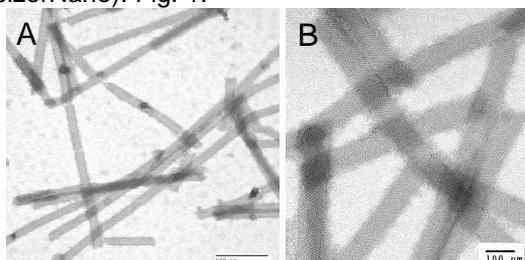


Fig. 1. Microscopía electrónica proteína VP6 preensamblada en macroestructuras tubulares. A. 50000x. B. 100000x.

Los sitios de unión de metales formados por los aminoácidos N250-E315-H316 se ubican en el centro del trímero. Estos residuos con potencial electronegativo unen cationes, que sirven como sitios de nucleación para la formación *in situ* de nanopartículas con la ayuda de agentes reductores (citrato de sodio y NaBH_4). Las propiedades de los nanobiomateriales se controlan con la

cantidad de precursores metálicos, tipo de reductor y tiempo de reacción. Es posible formar una capa delgada metálica de Ag, Au, Pt o Pd, o nanopartículas esféricas discretas con diámetros de 3-9 nm conjugadas en la superficie externa. (Fig. 2).

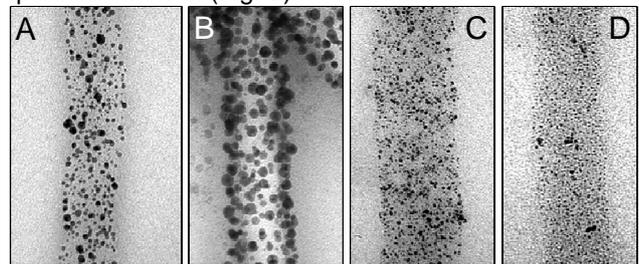


Fig. 2. Microscopía electrónica. Nanotubos funcionalizados con nanopartículas de plata (A), oro (B), platino (C) y paladio (D). El espectro UV-Vis mostró resonancia de plasmón característicos para nanopartículas metálicas de Ag^0 ($\lambda_{\text{max}}=430\text{nm}$) y Au^0 ($\lambda_{\text{max}}=530\text{nm}$). Utilizando mezclas de precursores es posible sintetizar nanopartículas con propiedades magnéticas o semiconductoras: Fe-Pt, Co-Pt, Co-Au y CdS, que poseen una distribución de 4-7 nm de diámetro. Las propiedades magnéticas se verificaron mediante un sistema de separación magnético. Los nanobiomateriales sintetizados tienen potenciales aplicaciones en nanoelectrónica, catálisis y dispositivos ópticos y magnéticos.

Conclusiones. La proteína VP6 de rotavirus ensamblada en tubos de varias micras de largo y diámetro de 75 nm fue eficientemente producida y purificada. Se demostró que VP6 posee afinidad por diversos precursores metálicos y sirve como templado multifuncional para sintetizar nanobiomateriales funcionalizados con una capa metálica delgada o nanopartículas metálicas, magnéticas o semiconductoras conjugadas en la superficie externa de los tubos de VP6.

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

Bibliografía. 1. Lepault J, Cohen J, Rey F. Structural polymorphism of the major capsid protein of rotavirus (2001). *EMBO J*, Vol. 20, 1498-1507.
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.