



## NANOHIBRIDOS DE CITOCROMO P450 Y NANOPARTICULAS DE CdS

Eduardo Torres, Christof M. Niemeyer, UAM-Cuajimalpa, Tel. 55166733 ext 115, etorres@correo.cua.uam.mx.

*Palabras clave: nanobiotecnología, P450, fotocatalisis.*

**Introducción.** Una rama particularmente interesante de la nanotecnología es la combinación de nanomateriales con estructuras biológicas (ADN, proteínas, lípidos, carbohidratos), para producir los llamados bionanomateriales. Esta rama es recientemente conocida como nanobiotecnología, la cual ha abierto un gran campo de investigación científica y tecnológica (1).

El propósito del presente trabajo fue evaluar las capacidades catalíticas del nanobiomaterial compuesto de la enzima P450 y de nanopartículas de CdS, activando con luz ultravioleta en lugar de peróxido de hidrógeno.

**Metodología.** Las nanopartículas fueron sintetizadas de acuerdo a lo reportado (2). EL citocromo P450152A1 fue producido recombinantemente conteniendo una polihistidina en el amino terminal para facilitar la interacción con la nanopartícula. Se ensayó la hidroxilación de ácido mirístico por el nanohíbrido irradiando con luz UV a 365 nm, longitud a la cual la nanopartícula genera especies oxigenantes reactivas. Para fines de comparación se determinó la actividad catalítica de la enzima libre utilizando 0.1 mM de peróxido de hidrógeno.

**Resultados y discusión.** La generación de radicales hidroxilo y superóxidos por las nanopartículas de CdS activaron al citocromo P450, el cual fue capaz de catalizar la oxidación del ácido mirístico. Los productos generados fueron los mismos que los producidos por la enzima libre, indicando que el nanoconjugado es igualmente selectivo que la enzima libre. La actividad catalítica del nanohíbrido fue 10 veces menor que la enzima libre (13.5 min<sup>-1</sup>) cuando se utilizó una relación 1 a 1 entre la enzima y la nanopartícula. Se determinó que no existían problemas asociados a daño estructural de la enzima, problemas difusionales o de flexibilidad, ya que la enzima libre y el nanohíbrido mostraron la misma actividad catalítica utilizando ambos H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Se determinó que la cantidad de radicales generados por la nanopartícula era la limitante dado que disminuir la relación enzima-nanopartícula a 1:15, pudieron igualarse las actividades catalíticas de ambas especies (tabla 1).

Tabla 1. Actividades específicas a diferentes relaciones del nanohíbrido P450-CdS

Relación P450-CdS	Actividad específica, min <sup>-1</sup> .
1:1	5.6
1:5	7.5
1:10	8.5
1:15	13.5
1:20	14.1

La principal ventaja en el uso del nanohíbrido es el control del progreso de la reacción por luz. Es decir, es posible

iniciar y detener la reacción apagando y encendiendo la luz UV (figura 1). De esta manera, se hipotizó que la estabilidad de la enzima hacia la inactivación por peróxido de hidrógeno pueda ser mejorada. A continuación, se determinó la estabilidad operacional del nanohíbrido mediante el cálculo del Número Total de Recambio (NTR, moles de sustrato transformado por mol de enzima utilizado)

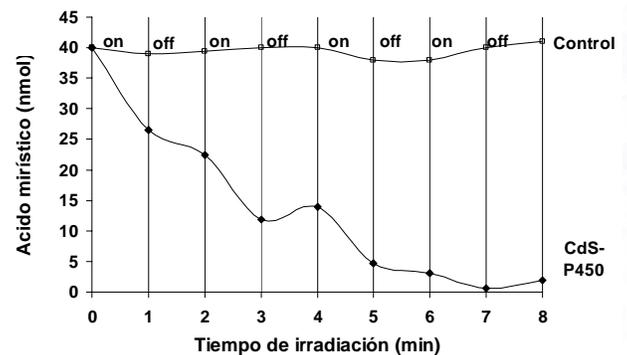


Fig.1. Hidroxilación controlada por luz del ácido mirístico catalizada por el nanohíbrido P450-CdS.

Sin embargo, el cálculo de NTR mostró que la enzima libre con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> fue operacionalmente más estable que el nanohíbrido P450-CdS. Después de 10 ciclos de reacción, el nanohíbrido alcanzó un NTR de 470, reteniendo el 40% de su actividad original; mientras que la enzima libre alcanzó un NTR de 1177 y mantuvo el 70% de su actividad inicial. La menor estabilidad fue probablemente debida al calor generado por la irradiación (2).

**Conclusiones.** El nanohíbrido P450-CdS es catalíticamente activo mediante la irradiación con luz ultravioleta, la cual puede controlar el progreso de la reacción por el apagado y encendido de la lámpara. Mientras que fue posible mantener actividades catalíticas y selectividades iguales a las de la enzima libre, la estabilidad operacional del nanohíbrido fue menor que la enzima activada por peróxido de hidrógeno.

**Agradecimiento.** CONACYT-UAM, Repatriación 2007.

### Bibliografía.

- Niemeyer, C. M. and C. A. Mirkin. (2004). *NanoBiotechnology: Concepts, Methods and Applications*, Wiley-VCH, Weinheim.
- Torres, E., Rajendran, V., Niemeyer, C.M. (2007). Activity and Stability of CdS Quantum Dot-Cytochrome P450 Nanohybrids. *J. Biotechnol.* Aceptado para publicación.