

SÍNTESIS DE NANOBIMATERIALES USANDO COMO TEMPLADO LA PROTEÍNA VP6 DE ROTAVIRUS

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

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

Palabras clave: nanobiotecnología, rotavirus, nanobiomateriales.

Introducción. En la nanobiotecnología convergen la biotecnología y las nanociencias, para diseñar y construir materiales y dispositivos en escala nanométrica, teniendo como base o templado biomoléculas (1). Las proteínas virales se pueden utilizar como templado para sintetizar nanobiomateriales, aprovechando su capacidad de autoensamblaje en macroestructuras de tamaño y forma definidos, y que pueden ser funcionalizados por modificación química (1). La proteína VP6 de rotavirus presenta polimorfismo estructural, en fibras (tubos de 45 o 70nm de diámetro) de varios micrómetros de largo (2), que pueden ser utilizados para sintetizar nanobiomateriales (nanoalambres y nanotubos).

Metodología. La proteína VP6 se produjo a través del sistema células de insecto-baculovirus, y se purificó por cromatografía de intercambio aniónico (Q-Sepharose Fast Flow, Amersham) y de exclusión en gel (HW65F, TOSOH). Los túbulos de VP6 se funcionalizaron por reducción química en medio acuoso, con AgNO_3 o HAuCl_4 (1mM), utilizando $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ (2mM) o NaBH_4 (1mM) como reductores, y se caracterizaron por espectroscopía UV/VIS, dispersión de luz dinámica (Zetasizer Nano, Malvern) y microscopía electrónica (EM900, Zeiss).

Resultados y discusión. La proteína recombinante VP6 purificada adoptó forma tubular. Al funcionalizarla se obtienen depósitos metálicos (plata u oro) unidos a residuos específicos de la superficie proteica. Estos nanobiomateriales poseen propiedades ópticas monitoreadas durante su síntesis. El espectro de absorción UV/VIS muestra la aparición de resonancia de plasmón de depósitos metálicos sintetizados (Ag^0 , Au^0). La máxima absorbancia de Ag^0 se obtuvo a $\lambda=430\text{nm}$, para Au^0 a $\lambda=530\text{nm}$.

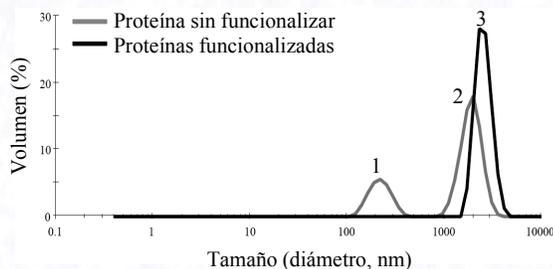


Fig. 1. Distribución del tamaño de túbulos de proteína VP6 por volumen mediante dispersión de luz dinámica.

Las proteínas sin funcionalizar se distribuyen en dos poblaciones (Fig.1) de 224nm (Pico 1) y 1940nm (Pico 2), y las funcionalizadas en una de 2560nm (Pico3). No se observó desestabilización o desensamblaje de los tubulos debido a la funcionalización.

Por microscopía electrónica se observó que utilizando $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ hay mineralización sobre toda la superficie de los

túbulos (Fig. 2), mientras que con NaBH_4 se formaron depósitos metálicos discretos sobre los túbulos, siendo más eficiente la deposición de Ag que la de Au (Fig.3 A y B).

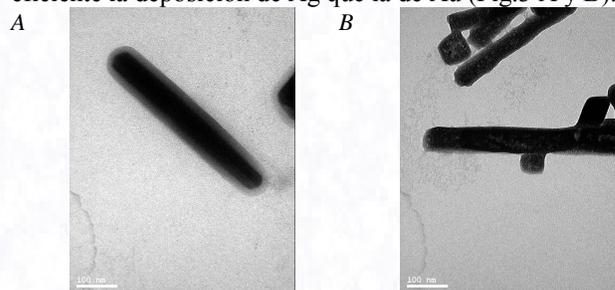


Fig. 2. Microscopía electrónica. Nanotubos funcionalizados con plata (A) y oro (B), $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ como reductor. 140000X.

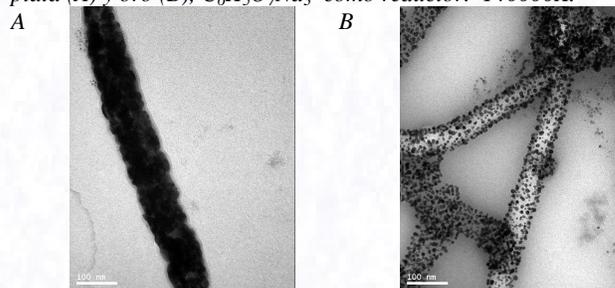


Fig. 3. Microscopía electrónica. Nanotubos funcionalizados con plata (A) y oro (B), NaBH_4 como reductor. 140000X.

Se sintetizaron nanotubos de 45nm de diámetro al funcionalizar con plata+ $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ y oro+ NaBH_4 , mientras que al utilizar oro+ $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ y plata+ NaBH_4 se obtienen tubos de aproximadamente 75nm de diámetro.

Conclusiones. La proteína VP6 de rotavirus se autoensambla en estructuras tubulares con diámetro de 75 o 45nm. Ocurrió formación de depósitos de plata sobre VP6 con ambos reductores ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ y NaBH_4), con oro se obtuvieron pequeños depósitos y mineralización de la superficie. Después de la funcionalización los túbulos mantuvieron su estructura. Se demostró por primera vez la utilidad de los túbulos de VP6 recombinante como templado para la síntesis *in vitro* de nanobiomateriales. Además, los túbulos sintetizados son de dimensiones superiores a las reportadas hasta ahora en cuanto a diámetro y longitud.

Agradecimientos. CONACyT-Morelos MOR-2004-C02058. Beca 171180. Dr. Abel Moreno (IQ-UNAM). Unidad de Microscopía IBt/UNAM. Apoyo técnico M.C. Ruth Pastor.

Bibliografía.

1. Flynn CE, Lee SW, Peelle BR, Belcher AM. Viruses as vehicles for growth, organization and assembly of materials (2003). *Acta Materialia*, Vol. 51, 5867-5880.
2. Lepault J, Petitpas I, Erk I, Navaza J, Bigot D, Dona M, Vachette P, Cohen J, Rey F. Structural polymorphism of the major capsid protein of rotavirus (2001). *EMBO J*, Vol. 20, 1498-1507.