



PRODUCCIÓN DE NANOVECTORES POR AUTOENSAMBLAJE DE LÍPIDOS ANFIPÁTICOS PARA ACARREO DE ÁCIDOS NUCLEICOS EN CÉLULAS EUCARIOTAS.

Roberto Caballero González, Genoveva Hernández Padrón, Giselle S. Camacho Banda & Luz M. López Marín, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Juriquilla, 76230 Querétaro, México. E-mail: lmlm@unam.mx

Palabras clave: nanopartículas, liposomas, autoensamblaje molecular.

Introducción. El uso de genes como fármacos representa una de las técnicas con mayor potencial para el tratamiento de enfermedades. Conocido como terapia génica, el proceso se basa en la transferencia de ácidos nucleicos a fin de corregir la expresión de genes implicados en la patología de una enfermedad. La introducción de material genético desnudo ha resultado poco eficaz, inclusive con el uso de métodos físicos para permeabilizar células (1). Actualmente, la manera más eficaz de introducir ácidos nucleicos a células eucariotas es el uso de virus defectuosos, en los que un gen terapéutico ha sido introducido. Sin embargo, estas construcciones han presentado problemas colaterales graves, difícilmente previsible, limitando el uso de esta técnica.

El objetivo global de este trabajo es diseñar y producir nanovectores para encapsulamiento y liberación de ácidos nucleicos en células eucariotas. Por su versatilidad y facilidad de producción basada en el autoensamblaje molecular, bicapas de lípidos anfipáticos fueron seleccionadas para tal fin, y su obtención es presentada en este trabajo.

Metodología. Liposomas multilaminares fueron preparados por autoensamblaje en solución tamponada de fosfatos con una mezcla de fosfolípidos, colesterol y di-O-acil 3-trimetilamonio-propano, y extruídos a través de membranas de 100 y/o 220 nm para obtener vesículas unilaminares. La calceína, sustancia fluorescente ácida, fue utilizada como un modelo de encapsulamiento de moléculas ácidas (2). Células inmortalizadas HEK 293 fueron utilizadas para explorar la liberación de calceína. Los liposomas fueron purificados por exclusión molecular en Sephadex G25. Los métodos de caracterización de los sistemas incluyeron análisis de dispersión de luz, microscopías electrónica y confocal, espectroscopías FTIR y Raman.

Resultados. Los lípidos anfipáticos seleccionados comprenden fosfolípidos y colesterol y el lípido sintético di-O-acil 3-trimetilamonio propano, de carácter catiónico. La preparación de vesículas unilaminares por el método de extrusión generó partículas nanométricas con una alta uniformidad de tamaño, como puede observarse por análisis de la dispersión de luz dinámica (Fig. 1). Almacenadas a 4°C, dichas nanopartículas permanecieron estables por periodos de 8 días.

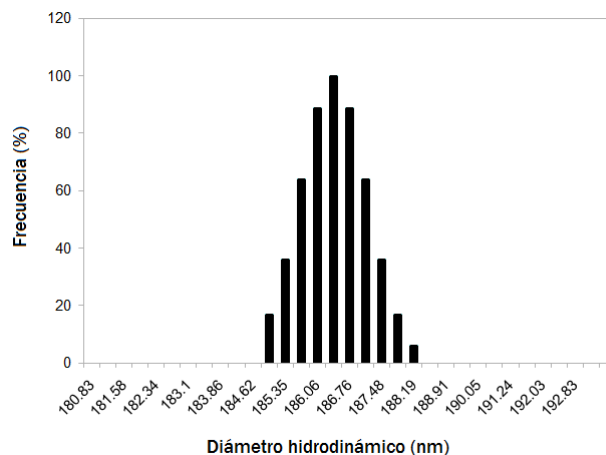


Fig. 1. Análisis de la dispersión de luz dinámica (DLS) de liposomas unilaminares preparados por el método de extrusión.

La preparación de estas estructuras en presencia de calceína 200 μ M generó vesículas fluorescentes, que fueron separadas del material no encapsulado mediante cromatografía de exclusión molecular. El uso de estas partículas, de carga catiónica, permitió la introducción de calceína, molécula impermeable en membranas biológicas, dentro de células HEK 293 en cultivo.

Conclusiones. Liposomas catiónicos fueron preparados por autoensamblaje molecular, y utilizados para liberar eficientemente moléculas impermeables ácidas dentro de una célula eucariota. Trabajos en curso se enfocan a explorar el autoensamblaje de las bicapas de nanopartículas de cerámica, a fin de producir liposomas estabilizados (3), generando así nanovectores híbridos más robustos, capaces de brindar mayor simpleza para el encapsulamiento de biomoléculas.

Agradecimiento. A la Dra. Susana Vargas (CFATA, UNAM) por apoyo técnico.

Bibliografía.

1. Al-Dosari, M. S., Gao, X. (2009) *AAPA J.* 11 (4): 671-681.
2. Zarnitsyn, V. G., Kamaev, P. P., Prausnitz, M. R. (2007) *Technol. Cancer Res. Treat.* 6 (5): 433-442.
3. Pompattananangkul, D., Zhang, L., Olson, S., Aryal, S., Obonyo, M., Vecchio, K., Huang, C. M., Zhang, L. (2011) *J. Am. Chem. Soc.* (Epub ahead of print).