

Virus, materiales naturales: Aplicaciones en nanotecnología

Diana Caballero Hernández

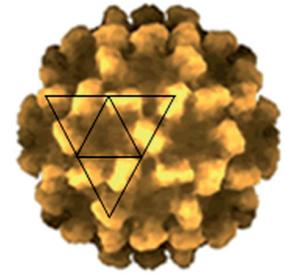
Facultad de Ciencias Biológicas, UANL
decaballero@hotmail.com

Leonardo Chávez Guerrero

CIIDIT, FIME-UANL
guerreroleo@hotmail.com

RESUMEN

Por su tamaño, la mayoría de los virus se encuentran dentro del rango de estudio de la nanotecnología (<100 nm) por lo que pueden considerarse nanopartículas orgánicas. Los virus poseen características particulares como estructura modular, simetría y capacidad de autoensamblaje, además, las estructuras virales exhiben patrones simples y geométricos que buscan minimizar la energía empleada para su construcción. Por lo tanto, los virus pueden ser explotados con propósitos específicos en diversas áreas de la nanomedicina y ciencia de los materiales. El presente trabajo tiene como propósito informar de manera general sobre los avances en la aplicación de virus en Nanotecnología.



PALABRAS CLAVE

Nanotecnología, virus, bioplantillas, ciencia de los materiales.

ABSTRACT

Most viruses belong to the nanoscale range (<100 nm) thus they can be considered organic nanoparticles. Viruses possess particular characteristics such as modular structure, symmetry and self-assembly capability that can be manipulated for specific purposes in the fields of nanomedicine and materials science. This paper is intended for the general public; here we present an overview of the main advances in the application of virus in nanotechnology.

KEYWORDS

Nanotechnology, virus, biotemplates, materials science.

INTRODUCCIÓN

Los virus ocupan un lugar importante en la conciencia pública como agentes causales de enfermedades en animales y plantas. Los virus están detrás de enfermedades humanas como la rabia, sarampión, viruela, gripe y algunos tipos de cáncer, han originado epidemias con impacto histórico (guerras, migración, etc.) como la Gripe Española de 1918 y en la actualidad la epidemia de SIDA, es tal su importancia como agentes patógenos que su potencial en el desarrollo tecnológico fue ignorado hasta épocas recientes. El término virus, del latín virus que significa “viscoso” o “veneno”,¹ fue utilizado por primera vez a finales del siglo XIX por el científico Martinus Beijerinck quien lo empleó para designar a los

agentes causantes del virus del mosaico del tabaco cuya presencia no era detectable por los métodos tradicionales debido a su tamaño. Los virus son entidades que parecen existir al margen de la vida pero dependen de ésta para su reproducción y función ya que los virus se originan mediante un proceso de auto-replicación que tiene lugar en el interior de una célula huésped e involucra el secuestro de la maquinaria molecular de la célula para la síntesis de componentes virales seguidos por su ensamblaje. En el debate continuo respecto a si los virus son seres vivos o no-vivos la posición que se adopte dependerá de la definición misma de vida, pero es indudable que sus características las acercan más al dominio de lo no-vivo ya que a diferencia de los organismos vivos los virus no poseen actividad metabólica, lo que significa que están en un estado de equilibrio térmico con el ambiente, aún más, los virus poseen la capacidad de cristalizarse, demostrado en 1935 por W. Stanley,² este descubrimiento puso de manifiesto que las partículas virales son entidades geométricas e idénticas entre sí (figura 1), una cualidad más próxima a la materia inorgánica que a los seres vivos.³

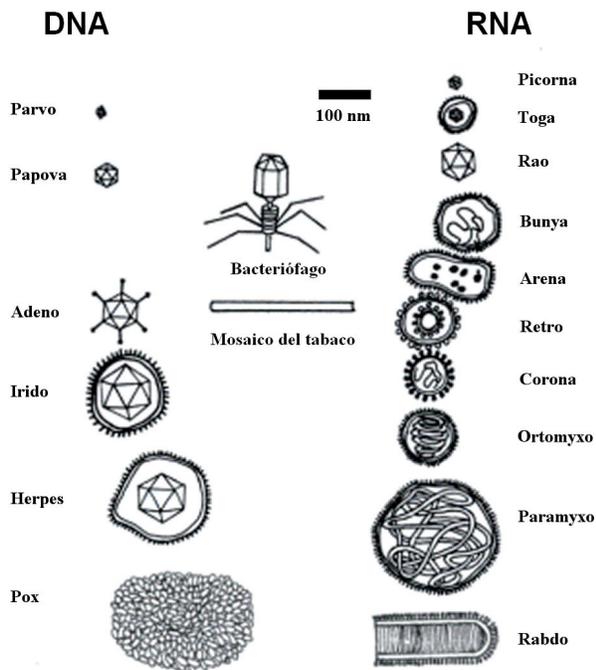
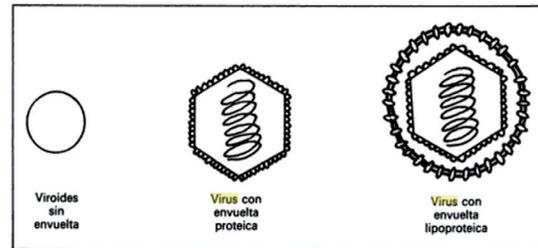


Fig. 1. Se muestran los diversos tipos de virus clasificados en base a ADN o RNA. Se muestra la escala de tal manera que se pueden comparar entre sí.

CARACTERÍSTICAS FÍSICAS

Tamaño y estructura. Los virus son entidades muy pequeñas que no se pueden observar al microscopio óptico, exhiben un rango relativamente amplio de tamaños que van de los 20 a los 800 nm, y están compuestos por proteínas y ácidos nucleicos. Los ácidos nucleicos constituyen el genoma, el cual contiene toda la información necesaria para dirigir la replicación de los virus en el interior celular; el genoma está encerrado en una cubierta proteica conocida como cápside. Para la mayoría de los virus el genoma más la cápside constituyen el virión (partícula viral infectiva), pero algunos virus poseen también una cubierta lipídica (figura 2). La cápside tiene dos funciones importantes, por un lado la protección del genoma y en segundo lugar el reconocimiento y anclaje a una célula hospedera en la cual se pueda replicar el virus. Los virus pueden clasificarse de acuerdo a la organización molecular de sus cápsides.



(a)



This photograph shows a viral particle from influenza A. The photo was taken by Cynthia Goldsmith, 1981, and obtained from the Public Health Image Library.

(b)

Fig. 2. Se muestran las posibles envolturas que pueden presentar los virus. En (b) se muestra un virus (Influenza A) visto con un microscopio electrónico.

Simetría de los virus

Las formas simétricas, se ven iguales desde cualquier ángulo de rotación o visto como una imagen espejo. La simetría de los virus es producto del ordenamiento de moléculas de proteínas asimétricas para formar la cápside. Los virus pueden mostrar simetría helicoidal o icosaédrica; en los virus con simetría helicoidal el genoma está enrollado en forma de una hélice alrededor de la cual se ordenan copias de una proteína formando una cápside alargada (figura 3). Los virus con geometría icosaédrica consisten en un genoma cubierto por un caparazón construido a partir de moléculas de proteína ordenadas como un icosaedro (figura 3). Para construir un icosaedro a partir de proteínas idénticas el número mínimo de moléculas requeridas es de tres por cara triangular, lo que da un total de

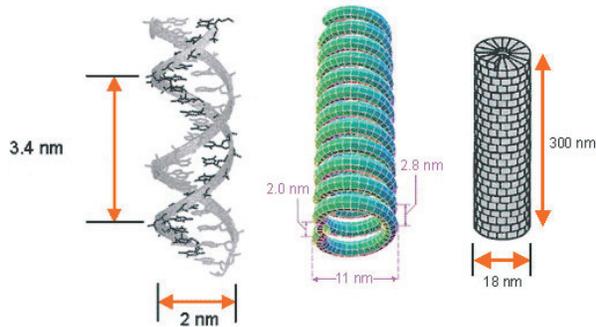


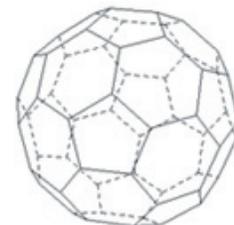
Fig. 3. Se muestra el ADN que se enrolla para dar lugar a la creación de virus en forma helicoidal.

60 para un icosaedro; ejemplos representativos de este tipo de cápside serían los virus satélite del mosaico del tabaco o el virus del herpes. Un grupo muy importante de virus con cápside icosaédrica es el de los bacteriófagos con cola, la estructura de estos virus consta de una cola unida a una cabeza, la cual contiene el genoma (figura 1). Además de la forma de su cápside, los virus también presentan una topografía diversa de su superficie, donde podemos encontrar cañones, depresiones, crestas, protuberancias y espinas.

Los grupos de virus con geometría icosaédrica tienen cápsides compuestas por subunidades de proteínas, el más pequeño consta de 60 de estas subunidades. Estas subunidades están ordenadas en la forma más simétrica posible, formando una esfera de pentágonos y hexágonos. Con esta breve descripción es fácil que al lector le venga a la mente la molécula más simétrica conocida, la cual dio

inicio a los estudios y aplicaciones intensivos en la nanotecnología, nos referimos al famoso fullereno o C60.⁴ En la figura 4 (a) se pueden observar los pentágonos y hexágonos de los que se compone esta forma geométrica (C60). Esta estructura da forma a un balón de fútbol, como se puede apreciar en la figura 4 (b) el cual deja ver su geometría casi esférica. De esta manera podemos ver que virus y fullerenos poseen simetrías similares.

Alejándonos un poco de la geometría euclidiana y entrando en la geometría fractal, podemos ver que el triángulo de Sierpinski⁵ se puede adaptar muy bien para describir los motivos superficiales de un virus. Las protuberancias que muestran algunos virus en su cápside siguen patrones triangulares como se ve en figura 5 (a-c). El número de protuberancias puede aumentar (figura 5 (c)) siguiendo patrones similares (fractales) para obtener el mejor diseño estructural al menor costo. Al dibujar triángulos pequeños dentro de uno mayor, como se muestra en la figura 5 (c), se puede formar un icosaedro con la unión de 20 triángulos equiláteros, que al final es muy parecida al triángulo de Sierpinski, como se ve en la figura 5(d), esta particularidad estructural le confiere propiedades de óptimo empaquetamiento a las estructuras naturales.



(a)



(b)

Fig. 4. Fullereno compuesto por pentágonos rodeados de hexágonos (a), la cual es la forma más simétrica conocida, similar a la de un balón de fútbol (b)

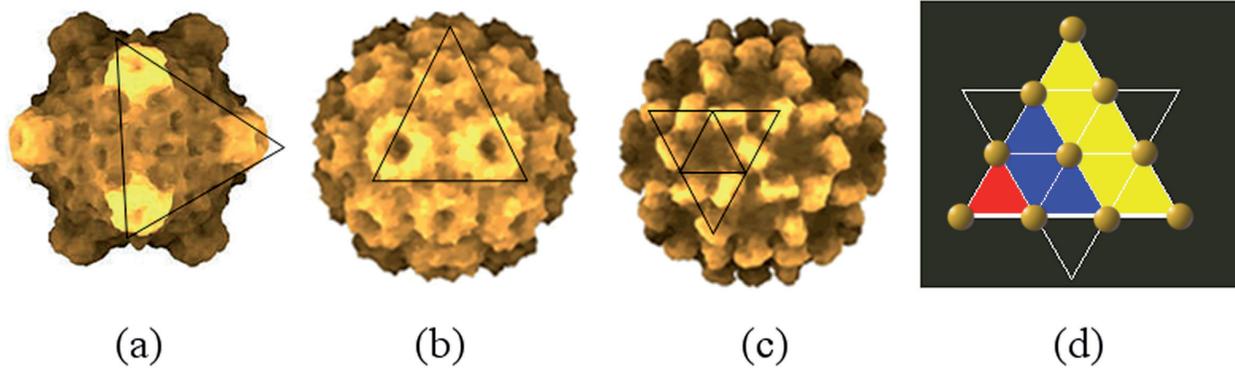


Fig. 5. Los virus que se podrían caracterizar mediante geometría fractal (a-c), debido a su simetría. La figura mostrada en (d) se compone de triángulos pequeños contenidos en triángulos más grandes, se puede formar un icosaedro si se unen sus lados y se eliminan dos triángulos para formar una estructura cerrada.

En la figura 5 (a-b) se muestra un virus con 3 “motivos” y en figura 5 (c) uno con 9 motivos, tres en cada una de las esquinas de un triángulo isósceles. Los virus podrían aumentar el número de motivos adscritos a los triángulos hasta donde sea necesario y físicamente posible, lo destacado de este comportamiento es que se pueden aplicar las reglas de la geometría fractal.

Es por lo anterior que el triángulo de Sierpinski se adapta bastante bien a la forma en que los virus decoran sus aristas, donde los motivos son las proteínas. También vale la pena mencionar que este arreglo triangular de los virus tiene similitud con arreglos matemáticos, específicamente con el triángulo de Pascal, el cual sirve para el desarrollo de binomios.⁵ Los virus han tenido miles o tal vez millones de años para seleccionar el mejor arreglo el cual resulta ser el arreglo fractal, en donde se pueden acomodar tantos motivos como sean necesarios sin perder la simetría que los caracteriza.

Autoensamblaje de los virus

Las cápsides se ensamblan a partir de muchas moléculas de una o varias proteínas distintas en un proceso espontáneo. En 1957 Fraenkel-Conrat y Williams,⁶ descubrieron que las partículas virales pueden formarse *in vitro* a partir de sus subunidades purificadas sin información adicional que dirija este ensamblaje, lo que indica que la partícula viral está en un estado de mínima energía y por lo tanto representa el ordenamiento preferido para los componentes involucrados. Las fuerzas moleculares que dirigen el ensamblaje de

las partículas virales incluyen las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, muy raramente enlaces covalentes. En términos biológicos esto significa interacciones proteína-proteína, proteína-ácido nucleico y proteína-lípido.

VIRUS EN NANOMEDICINA

Los virus son nanopartículas con una estructura modular conformada por subunidades proteicas que se ensamblan en forma espontánea para formar contenedores, cápsides, que protegen y transportan el genoma de un virus, esto lo logran mediante estrategias muy precisas que, sin embargo, pueden ser desacopladas de sus propiedades patológicas para su aprovechamiento tecnológico.⁷ Los virus son capaces de depositar en forma muy eficiente material genético a células huésped, lo que se ha explotado para la corrección genética de enfermedades hereditarias monocigóticas, así como para el tratamiento de enfermedades complejas como el cáncer, ya que los virus por sus características son excelentes vehículos de nanopartículas selectivas de células tumorales.⁸⁻¹⁰ Es posible ensamblar virus (ya sea naturalmente o mediante manipulación genética) como contenedores no infecciosos carentes de material genético llamados VLPs (virus-like particles, por sus siglas en inglés), en los cuales se puede reemplazar la carga viral natural con un amplio rango de cargas sintéticas.¹¹ También es posible manipular las subunidades que conforman a una partícula viral, los bloques de construcción, ya sea genética y/o químicamente sin afectar la estructura general, lo que representa una fuente de recursos muy amplia

para aplicaciones materiales y farmacéuticas.¹² Por su naturaleza simétrica y homogénea, los virus pueden ser utilizados como preformas o bioplantillas para metalización o el crecimiento de minerales, lo que resulta en bloques de construcción metalizados o mineralizados. También pueden ser utilizados como nanocajas para contener sustancias, lo cual se puede emplear para la liberación de medicamentos en áreas específicas del cuerpo.¹³

SUPERFICIES VIRALES CON APLICACIONES EN NANOTECNOLOGÍA

Actualmente es posible modificar la superficie de la cápside viral, ya sea genética y/o químicamente, lo cual permite la síntesis de materiales en el exterior de la cápside.

La superficie del virus del mosaico del chícharo (CPMV) se usó como preforma o bioplantilla para la síntesis de materiales. Este es un virus icosaédrico de 30 nm de longitud que se ensambla mediante 60 proteínas idénticas como subunidades. La cápside es estable para un rango de condiciones, soporta temperaturas de hasta 50°C y pH 3-10, además de diferentes solventes (acuoso/mezclas orgánicas). La superficie de la cápside del CPMV puede ser decorada químicamente con los aminoácidos lisina, cisteína, tirosina, ácido aspártico o glutámico usando agentes orgánicos. Esto se hace con el fin de generar diversos grupos funcionales en la superficie.¹⁴ Con el mayor entendimiento de las interacciones que suceden en la interfaz de las subunidades proteicas

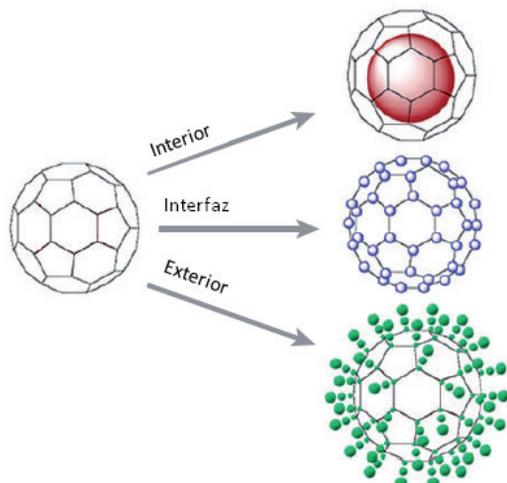


Fig. 6. Se muestra la simetría de un virus y las 3 partes principales que lo componen, las cuales pueden ser usadas en la síntesis de materiales.

es posible manipular las condiciones para inducir el autoensamblaje hacia arquitecturas controladas. Estas nuevas estructuras pueden usarse para formar la cápside viral de manera artificial o para formar tubos, hojas y cascarones (shells) que pueden tener cientos de subunidades. La figura 6 muestra las 3 posibilidades que ofrece la manipulación de un virus, ya sea usando el interior como reactor o el exterior por su forma.

CÁPSIDES VIRALES COMO NANOREACTORES MOLECULARES

Los virus empaican su material genético en el interior de la cápside, por lo que se le puede considerar un contenedor molecular; las cápsides pueden ser empleadas como nanoreactores para llevar a cabo reacciones a nivel molecular en la síntesis de nanomateriales.¹⁵

Se ha reportado la síntesis de polioxometalatos usando el interior de una cápside de un virus CCMV como reactor. Esto se logra controlando la apertura de los poros en la cápside viral, lo cual se consigue regulando el pH de la solución en el reactor. Los virus vacíos no infectivos se incuban en una solución que contiene el ion tungstenato (WO_4^{2-}) a un pH 6.5, después los virus se lavan hasta llegar a un pH 5, con este sencillo cambio de las condiciones en la solución, los poros de las proteínas contenidas en la cápside se cierran. Una vez que el tungsteno se encuentra en el interior de la cápside, el ambiente propicia la formación de cadenas para

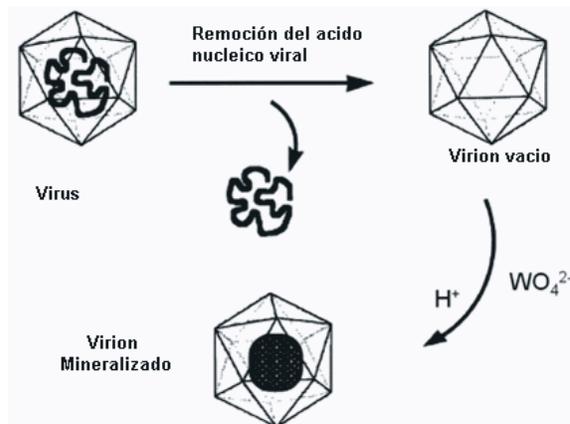


Fig. 7. Procedimiento para obtener nanocristales de tungsteno dentro de un virión.

que finalmente se promueva la cristalización y así formar nanocristales con un diámetro de 6.7 nm. En la figura 7 se muestra el procedimiento de manera esquemática y la reacción característica para la formación de polioxometalatos.

De esta manera se vislumbra un vasto campo de aplicaciones para los virus en el área de la nanotecnología, ya que las condiciones que se pueden encontrar dentro de una cápside viral son muy diferentes a las que se presentan bajo condiciones normales de laboratorio, sólo basta pensar en el confinamiento (sistema cerrado) y el espacio reducido de que se dispone para que las reacciones ocurran de tal manera que se puedan formar diversos tipos de compuestos con estructura cristalina o sin ella (amorfos).

CÁPSIDES VIRALES COMO BLOQUES DE CONSTRUCCIÓN PARA MATERIALES Y DISPOSITIVOS

La naturaleza simétrica de la cápside viral, aunada a la disponibilidad de herramientas para modificar el genoma de un virus de forma tal que incorpore material inorgánico en su estructura o aumente su afinidad por este, constituyen los fundamentos para la utilización de virus como bloques para construir materiales y dispositivos.¹³⁻¹⁴

Un ejemplo relevante de este campo de estudio es el virus del mosaico del tabaco (TMV), un virus helicoidal cuya estructura ha sido utilizada como bioplantilla para producir nanocables que a su vez pueden organizarse en estructuras más complejas. Por ejemplo, se ha empleado la deposición de paladio activado en el canal central de TMV para producir nanocables de níquel y cobalto de un micrómetro de longitud.¹⁴

Otro ejemplo claro de los logros en esta área es la reciente creación de una batería de ion-litio por un grupo de investigadores en el Instituto Tecnológico de Massachussets (MIT). El grupo dirigido por la Dra. Angela Belcher¹⁶⁻¹⁷ empleó una estrategia de reconocimiento molecular para adherir materiales electroquímicamente activos a redes de nanotubos de carbono conductores. Para esto manipularon dos genes del virus M13, un bacteriófago inofensivo para los humanos, primero modificaron el gen que codifica para una de las proteínas principales de la cápside

de forma tal que sirviera como bioplantilla para el crecimiento de $\alpha\text{-FePO}_4$ (fosfato de hierro amorfo) y así producir nanocables virales. Posteriormente modificaron un gen para que la proteína viral que codifica tuviera una mayor afinidad por nanotubos de carbono de pared simple (SWNTs, por sus siglas en inglés), los SWNTs sirvieron como preforma para la organización de los virus a través de reconocimiento biomolecular para la formación de un material híbrido con propiedades electroquímicas específicas que pudiera ser utilizado como el cátodo en una batería (figura 8).

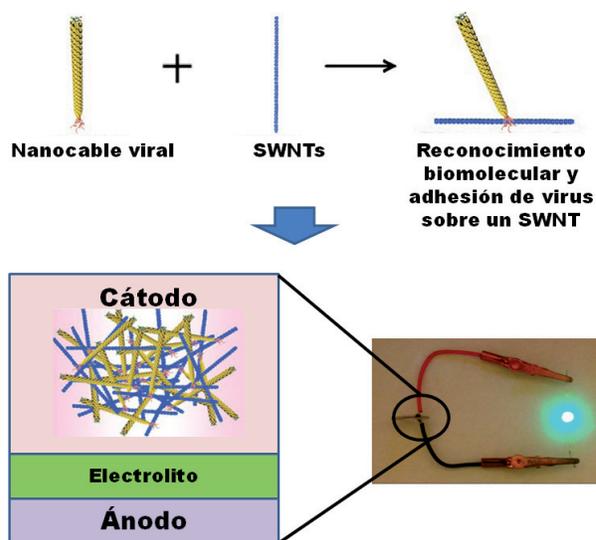


Fig. 8. Diagrama esquemático que muestra los pasos seguidos para la fabricación de cátodos para una batería ion-litio usando virus multifuncionales (sistema de dos genes) y una fotografía que muestra el encendido de un diodo emisor de luz (LED) alimentado por una batería viral. (Adaptado de Lee *et al.*,¹⁷ 2009).

COMENTARIOS FINALES

Los virus constituyen un grupo de entes u organismos con características únicas, como su habilidad de mutar con extrema rapidez para adaptarse a cambios bruscos en las condiciones ambientales. Estas habilidades superan a las de los organismos vivos en muchas de sus funciones, lo cual permite su explotación en la síntesis de materiales nanoestructurados sin entrar en conflictos éticos, como es la experimentación con seres vivos. Miles de años de evolución les han conferido a los virus una estructura simétrica que caracteriza a los objetos formados por la naturaleza, la cual

generalmente es entendida de una manera más apropiada por la geometría fractal que por la geometría euclidiana. La relativa facilidad para obtenerlos en grandes cantidades los hace idóneos como moldes, bioplantillas y vehículos biológicos para su uso en aplicaciones industriales en la escala nanométrica.

REFERENCIAS

1. Armando Aranda Anzaldo. En la Frontera de la vida: Los virus. Fondo de Cultura Económica, 1995. <http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/html/biologia.html>
2. Stanley W. (1935). Isolation of a Crystalline Protein Possessing the Properties of Tobacco-mosaic Virus. *Science* 8, 644-654.
3. Bruinsma RF. (2006). Physics of RNA and Viral Assembly. *Eur. Phys. J. E* 19, 303-310.
4. Kroto H, Heath JR, O'Brien SC, Curl RF, Smalley RE. C60: Buckminsterfullerene. (1985). *Nature* 318, 162-163.
5. Bentley PJ. El libro de las cifras: El secreto de los números. Editorial Paidós, Barcelona, 2008.
6. Fraenkel-Conrat H, Williams RC. (1955). Reconstitution of Active Tobacco Mosaic Virus from its Inactive Protein and Nucleic Acid Components. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 41, 690-698.
7. Douglas T, Young M. (2006). Viruses: Making Friends with Old Foes. *Science* 312, 873.
8. Saini V, Zharov VP, Brazel CS, Nikles DE, Johnson DT, Everts M. (2006). Combination of Viral Biology and Nanotechnology: New Applications in Nanomedicine. *Nanomedicine* 2(3), 200-206.
9. Destito G, Schneemann A, Manchester M. (2009). Biomedical Nanotechnology Using Virus-Based Nanoparticles. *Viruses and Nanotechnology. Curr. Top. Microbiol Immunol* 327, 95-122.
10. Portney NG, Ozkan M. (2006). Nano-oncology: Drug Delivery, Imaging, and Sensing. *Anal Bioanal. Chem.* 384, 620-630.
11. Pattenden LK, Middelberg APJ, Niebert M, Lipin DI. (2005). Towards the Preparative and Large-scale Precision Manufacture of Virus-like Particles. *TRENDS in Biotechnology* 23 (10), 523-529.
12. Arora PS, Kirshenbaum K. (2004). Nano-Tailoring: Stitching Alterations on Viral Coats. *Chem Bio* 11(4), 418-20.
13. Fischlechner M, Donath E. (2007). Viruses as Building Blocks for Materials and Devices. *Angew. Chem. Int. Ed.* 46, 3184-3193.
14. Young M, Willits D, Uchida M, and Douglas T. (2008). Plant Viruses as Biotemplates for Materials and their use in Nanotechnology. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46, 361- 84.
15. Vriezema DM, Comellas-Aragones M, Elemans JA, Cornelissen JJ, Rowan AE, Nolte RJ. 2005. Self-Assembled Nanoreactors. *Chem. Rev.*, 105, 1445-1489.
16. Nam KT, Kim D, Yoo PJ, Chiang C, Meethong N, Hammond PT, Chiang Y, Belcher AM. (2006). Virus-Enabled Synthesis and Assembly of Nanowires for Lithium Ion Battery Electrodes. *Science* 312, 885-888.
17. Lee YJ, Hyun Jung Yi, Kim W, Kang K, Yun DS, Strano MS, Ceder G, Belcher AM. (2009). Fabricating Genetically Engineered High-Power Lithium Ion Batteries Using Multiple Virus Genes. *Science* 324, 1051-1055.