

Partículas tipo virus y su potencial aplicación en bionanotecnología

Rubén Darío Cadena Nava*

RESUMEN: Los virus son nanopartículas que existen en la naturaleza y pueden causar desastres agrícolas, grandes pérdidas económicas e incluso la muerte de seres humanos, sin embargo, también pueden ser usados en aplicaciones tecnológicas y médicas. Las partículas tipo virus están constituidas por una cápsula de proteínas virales ordenadas simétricamente sin su material genético, éstas pueden contener como cargo algún fármaco o información genética en forma de ADN o ARN, enzimas o nanopartículas metálicas. Estas nanopartículas al carecer de su material genético infeccioso pueden ser usadas potencialmente en nanomedicina para el desarrollo de nuevas terapias. Las terapias a base de partículas tipo virus pueden permitir el envío dirigido de fármacos donde sea requerido de una manera segura y eficiente y, por consiguiente, habría una disminución en las dosis requeridas y en los efectos secundarios.

PALABRAS CLAVE: partículas tipo virus, cápsula de proteínas virales, nanomedicina.

ABSTRACT: The viruses are nanoparticles that exist in the nature; they can cause agricultural disasters and large economic losses, and even death of humans. However, they can be used in technological and medical applications. The virus-like particles are constituted by a capsule of viral proteins symmetrically arranged, without his genetic material, containing a drug as cargo or genetic information in the form of DNA or RNA, enzymes or metallic nanoparticles. These nanoparticles lacking off its infectious genetic material can be potentially used in nanomedicine to improve the efficiency of drug delivery and can help to develop new therapies. Therapies based on virus-like particles may allow targeted drug delivery where it is required in a safety and efficient way, and therefore would be a decrease in the required dose and side effects.

KEYWORDS: virus-like particles, capsule of viral proteins, nanomedicine.

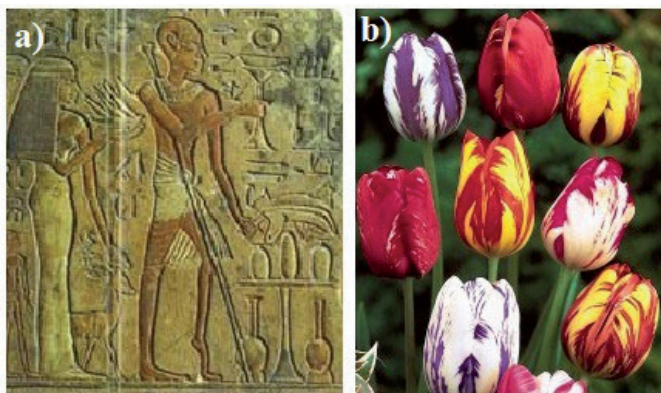
Introducción

La palabra virus proviene del latín que significa toxina o veneno. Podemos definir un virus como un agente infeccioso nanoscópico que sólo puede multiplicarse dentro de una célula, y si se encuentra aislado de su célula huésped es inofensivo o inerte, por lo cual se le ha considerado como la frontera entre la vida y lo inerte. Los virus pueden ocasionar grandes desastres, por ejemplo la muerte de aves en granjas avícolas debido a la gripe aviar, la muerte de

* Universidad Nacional Autónoma de México. Centro de Nanociencias y Nanotecnología. Km 107 Carretera Tijuana-Ensenada. CP. 22800. Ensenada, B.C. México. Correspondencia: (rcadena@cnyun.unam.mx).

El autor agradece el financiamiento otorgado por el Proyecto PAPIIT- IA100314, UNAM, para el uso del microscopio electrónico de transmisión (TEM). Por el excelente apoyo de Francisco Ruiz para la obtención de las imágenes del virus CCMV y VLPs por medio del JEOL JEM-2010 (TEM).

FIGURA 1. a) Grabado egipcio en donde se muestra el sacerdote Remsi con la pierna izquierda afectada por el virus de la polio; b) Tulípanes holandeses infectados por el virus TBV que produce efectos multicolores en las flores.



Fuente: Figuras modificadas a partir de las referencias (Remsi y Tulipomanía).

personas debido a virus como el de la hepatitis B, el de la inmunodeficiencia adquirida (VIH) o el del papiloma humano (HPV) por mencionar algunos. Sin embargo, podemos utilizarlos a nuestro favor mediante el entendimiento de sus propiedades físicoquímicas y estructurales; de tal manera, es posible construir nanopartículas que conservan algunas de las propiedades y características del virus original pudiendo ser utilizadas en diversas aplicaciones en bionanotecnología.

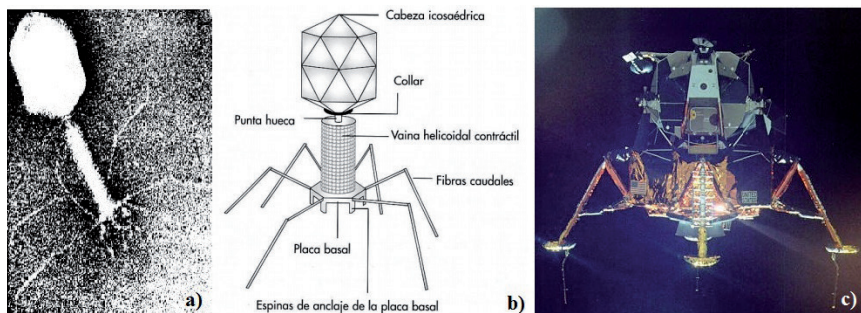
Los virus

La virología es una rama de la biología que se encarga del estudio de los virus. La historia nos muestra registros de los estragos ocasionados por los virus a través del tiempo, por ejemplo en los grabados egipcios se puede observar la imagen del sacerdote Remsi con la pierna izquierda deformada debido al virus de la polio (figura 1a). Por otra parte, durante el siglo XVII, Holanda sufrió una crisis económica debido a la “tulipomanía”, euforia y posterior decaimiento por comprar tulípanes holandeses afectados por el virus del mosaico del tulipán (TBV), que cambia la apariencia de los tulípanes produciendo líneas o bandas multicolores en sus pétalos (figura 1b).

Los virus están presentes en todos los reinos de la naturaleza, hay virus que infectan animales, plantas, hongos, y bacterias. Los virus que infectan bacterias se llaman bacteriófagos. Es importante mencionar que el origen y avance de la biología molecular se debe a los bacteriófagos pues estas nanopartículas han servido para entender la célula a nivel molecular.

Básicamente, un virus está constituido por una cápside que contiene en su interior el material genético (ácidos nucleicos). La cápside está formada por proteínas simétricamente ordenadas, para el caso más simple se trata de

FIGURA 2. a) Micrografía electrónica del fago T4; b) estructura del fago T4; c) cápsula espacial Apolo.



Fuente: Imágenes modificadas a partir de las referencias (T4 y Apolo).

un solo tipo de proteína y de material genético que puede ser ADN o ARN. Los virus pueden tomar formas esféricas o de rodillo, o más complejas. Típicamente, el tamaño de los virus está en el rango de 17 a 400 nm, por lo cual no pueden ser observados por el ojo humano o con un microscopio óptico, sólo pueden ser visualizados con la ayuda de microscopios electrónicos o de fuerza atómica.

Un ejemplo de un virus en forma de rodillo o barra es el virus de mojado del tabaco (TMV, por sus singlas en inglés); los bromovirus son un ejemplo típico de virus esféricos que infectan algunos tipos de frijol como el caupí. También, existen virus con estructuras complejas como algunos bacteriófagos, un caso especial es el fago T4 cuya morfología es muy parecida a la cápsula espacial Apolo que llegó a la luna en 1966 (figura 2).

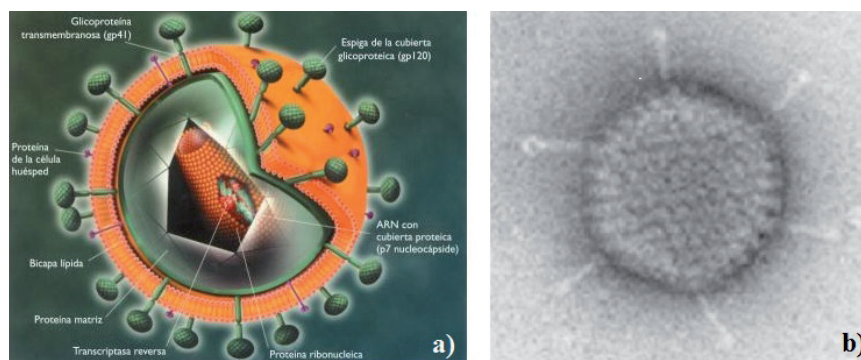
La mayoría de los virus que infectan a los animales poseen una envoltura formada por lípidos y proteínas que sobresalen desde la cápside viral y atraviesan la membrana de lípidos, semejante a un erizo de mar, a estas proteínas en forma de filamentos se les llama espículas. Ejemplos típicos de estos tipos de virus los constituyen el virus del VIH (figura 3a), y los adenovirus (figura 3b); estos últimos no poseen envoltura. A los virus que no poseen envoltura se les denomina virus desnudos.

Recientemente, los virus y partículas tipo virus (VLPs) han recibido gran atención en el área de la bionanotecnología, que es la aplicación de la tecnología y biología a escalas moleculares que van de 1 a 100 nm. Las proteínas virales pueden estar organizadas formando estructuras simétricamente ordenadas a escala nanométrica, llamadas cápsides, por lo cual, recientemente han sido de gran interés en nanotecnología y nanomedicina.

Partículas tipo virus

Lo interesante de algunos virus es que éstos pueden ser reconstituidos en laboratorio a partir de sus componentes, es decir, al mezclar el material genético y proteínas del virus en un tubo de ensayo, podemos formar

FIGURA 3. a) Virus del VIH en donde se muestra su estructura; b) micrografía electrónica de un adenovirus.

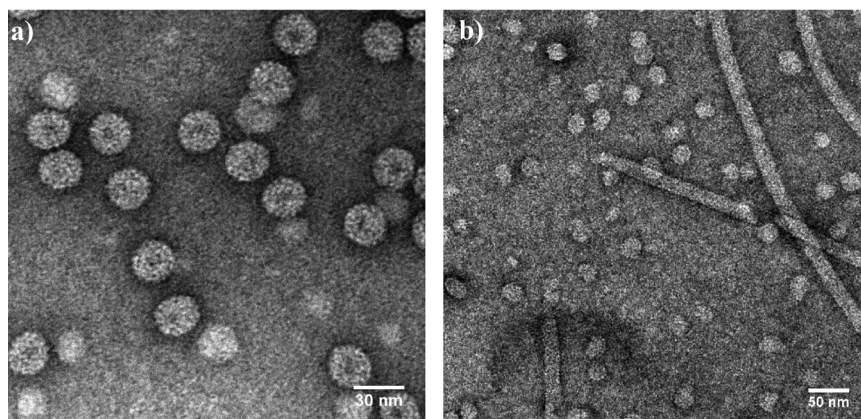


Fuente: Imágenes modificadas a partir de las referencias (VIH y adenovirus).

nuevamente nanopartículas infecciosas idénticas al virus original. Un buen ejemplo es el virus del moteado amarillo del caupí (CCMV).

Las proteínas que forman la cápside de un virus pueden tener la capacidad de autoensamblarse en diferentes estructuras; por ejemplo, las proteínas de las cápside del CCMV en diferentes condiciones de pH y concentración de sal pueden autoensamblarse en diferentes estructuras, tales como cápsides vacías, similares al virus original pero sin su genoma, y nanotubos (figura 4) (Lavelle *et al.*, 2009). Es importante definir que una partícula tipo virus es una estructura formada por proteínas virales simétricamente ordenadas en ausencia de su material genético, es decir, las cápsides pueden estar

Figura 4. Micrografías electrónicas del virus CCMV y de VLPs en forma de tubos y cápsides obtenidas al ensamblar las proteínas del cápside del virus CCMV.



Fuente: Imágenes obtenidas por el autor.

vacías o encapsidando algún tipo de molécula o material genético diferente al del virus original.

VLPs en nanotecnología y nanomedicina

Las partículas tipo virus (VLPs) pueden ser usadas como moldes o andamios para la síntesis de nanomateriales, por ejemplo, la afinidad de las proteínas virales hacia moléculas metálicas nos puede permitir la fabricación de nanopartículas metálicas, magnéticas, o para encapsidar y estabilizar nanopartículas (Evans *et al.*, 2008). Por mencionar un caso, se ha reportado el encapsulamiento de nanopartículas de oro funcionalizadas, usando proteínas de la cápside de un virus de planta, llamado virus mosaico del bromo (BMV) (Aniagyei *et al.*, 2008).

En el campo de la medicina, los virus tienen gran potencial en el área de la nanomedicina. La nanomedicina es la aplicación de la nanotecnología en la medicina haciendo uso de novedosas propiedades de los materiales desde el punto de vista físico, químico y biológico a escala nanométrica. El uso potencial de las VLPs en nanomedicina se está enfocando en la detección, prevención, diagnóstico y para mejorar las terapias de tratamiento de enfermedades como el cáncer.

La aplicación potencial de las VLPs como vacunas es atractiva, debido a considerarlas un sistema seguro a diferencia de las vacunas basadas en virus atenuados o inactivados, no hay riesgo de desarrollar enfermedades en individuos vacunados porque estas nanopartículas carecen del material genómico necesario para producir una infección viral. Además, estudios en laboratorio han demostrado que algunos tipos de VLPs pueden ser utilizados para generar respuestas antitumorales (McKee *et al.*, 2012), y contra el cáncer de piel (Avogadri *et al.*, 2010).

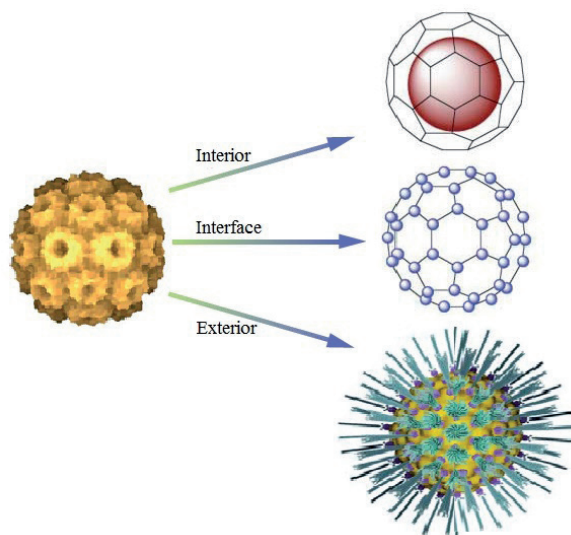
Es importante mencionar que las dos primeras vacunas preventivas contra el cáncer están basadas en VLPs, una es para prevenir el virus de la hepatitis B (VHB) asociada con el carcinoma hepatocelular (Buonaguro *et al.*, 2011) y, la segunda, para prevenir el virus del papiloma humano VPH asociado con el carcinoma cervical (No *et al.*, 2011). Actualmente, estas vacunas basadas en VLPs están comercializadas en todo el mundo por Merck and Co., Inc. Recombivax HB (VHB) y Gardasil (VPH) y Engerix de GlaxoSmithKline (VHB) y de Cervarix (VPH).

También se ha demostrado que las VLPs pueden servir para proteger su cargo, por ejemplo ácidos nucleicos, en particular las cápsides del virus de planta CCMV son capaces de proteger ARN heterólogo (Cadena-Nava *et al.*, 2012) y, además, pueden ser utilizadas para el envío de genes en células mamarias (Azizgolshani *et al.*, 2013), por lo cual éste sería un buen sistema para la protección y transporte de genes. Adicionalmente, las partículas derivadas de virus de plantas presentan la ventaja de ser biocompatibles al no generar una respuesta inmune (Kaiser *et al.*, 2007).

Diseño de cápsides virales para el envío dirigido

El conocimiento fisicoquímico de los virus, su estructura y composición, en particular de las proteínas que forman las cápsides, puede permitir la capacidad de manipular las proteínas estructurales de algunos virus para sintetizar VLPs con las características requeridas. Por medio de la ingeniería de proteínas, a través de mutaciones sitio dirigidas, es posible llevar a cabo la bioconjugación química de la cápside. La modificación de las VLPs se puede realizar en el exterior de la cápside del virus, en el interior de ésta y en la interfase, tal y como se muestra en la imagen de la figura 5, esta capacidad y versatilidad de poder manipular las VLPs es de gran interés para realizar el envío dirigido hacia la célula que presenta el problema, y de esta manera sólo poder entrar a la célula deseada y liberar en su interior el material genético, fármaco, nanopartícula o molécula requerida, permitiendo que la terapia sea más eficiente sin provocar efectos secundarios o nocivos. Otro aspecto importante en el desarrollo de las VLPs, es la interacción de las proteínas que forman la cápside con las moléculas que se desean encapsidar, por caso, se ha demostrado que las interacciones electrostáticas juegan un papel primordial en el autoensamble de algunos virus (Cadena-Nava *et al.*, 2012), por lo cual es indispensable tomar en cuenta las interacciones electrostáticas entre el cargo y las proteínas virales para la síntesis de VLPs con potencial terapéutico.

Figura 5. Esquema de la versatilidad de las VLPs en su modificación exterior, en la interfase y en el interior de la cápside.



Fuente: Imagen modificada a partir de Douglas *et al.*, (2006).

Conclusiones

Los virus son nanopartículas de las cuales podemos aprovechar su modo de acción para el desarrollo de materiales novedosos con aplicaciones en nanotecnología. El conocimiento de la estructura de los virus, la constitución de su cápside, el entendimiento de su autoensamble, la caracterización de sus proteínas estructurales, y el uso de técnicas de biología molecular abren el camino para la síntesis de novedosas partículas tipo virus VLPs, y sus aplicaciones en nanomedicina permitirán el desarrollo de nuevas terapias en beneficio de nuestra sociedad.

Bibliografía

- Aniagyei, S.E., C. DuFort, C. Cheng Kao, B. Dragnea (2008) Self-assembly approaches to nanomaterial encapsulation in viral protein cages, *J. Mater. Chem.*, 18, 3763-3774.
- Avogadri, F., T. Merghoub, M.F. Maughan, D. Hirschhorn-Cymerman, J. Morris, E. Ritter, R. Olmsted, A.N. Houghton, J.D. Wolchok (2010) Alphavirus replicon particles expressing TRP-2 provide potent therapeutic effect on melanoma through activation of humoral and cellular immunity. *PLoS ONE* 5, e12670.
- Azizgolshani, O., R.F. Garmann, R.D. Cadena-Nava, C.M. Knobler, W.M. Gelbart (2013) Reconstituted plant viral capsids can release genes to mammalian cells. *Virology*, 441(1): 12-17.
- Buonaguro L., A. Petrizzo, M.L. Tornesello, F.M. Buonaguro (2011) Translating tumor antigens into cancer vaccines. *Clin. Vaccine Immunol.*, 18: 23-34.
- Cadena-Nava, R.D., M. Comas-García, R.F. Garmann, A.L.N. Rao, C.M. Knobler, W.M. Gelbart (2012) Self-assembly of viral capsid protein and RNA molecules of different sizes: requirement for a specific high protein/RNA mass ratio. *Journal of Virology*, 86(6): 3318-3326.
- Douglas, T., M. Young (2006) Viruses: Making friends with old foes. *Sciences*, 312, 873-875.
- Evans, D.J. . (2008) The bionanoscience of plant viruses: templates and synthons for new materials. *J. Mater. Chem.*, 18: 3746-3754.
- Kaiser, C.R., M.L. F.E. Gillitzer, Ann L. Harmsen, Allen G. Harmsen, Mark A. Jutila, Trevor Douglas, Mark J. Young (2007) Biodistribution studies of protein cage nanoparticles demonstrate broad tissue distribution and rapid clearance in vivo. *International Journal of Nanomedicine*, 2(4): 715-733.
- Lavelle, L., M. Gingery, M. Phillips, W.M. Gelbart, C.M. Knobler, R.D. Cadena-Nava, J. Ruiz-García (2009) Phase diagram of self-assembled viral capsid protein polymorphs. *The Journal of Physical Chemistry B.*, 113(12): 3813-3819.
- McKee, S.J., V.L. Young, F. Clow, C.M. Hayman, M.A. Baird, I.F. Hermans, S.L. Young, V.K. Ward (2012) Viruslike particles and α -galactosylceramide form a selfadjuvanting composite particle that elicits antitumor responses. *J. Control. Rel.* 159, 338-345.

No, J.H., M.K. Kim, Y.T. Jeon, Y.B. Kim YB, Y.S. Song Y.S. (2011) Human papilloma-virus vaccine: Widening the scope for cancer prevention. *Mol. Carcinog.*, 50: 244-253.

Páginas electrónicas

Adenovirus. <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/esp_imagepages/9500.htm>.

Apollo. <http://www.nasa.gov/mission_pages/apollo/#.Uq8xyellhSI>.

Remsi. <<http://microscopiadas.blogspot.mx/2009/03/la-enfermedad-reflejada-en-la-piedra-ii.html>>.

T4. <<http://textbookofbacteriology.net/phage.html>>.

Tulipomanía. <<http://gardenofeaden.blogspot.mx/2012/04/tulip.html>>.

VIH. <<http://www.aids-sida.org/sobrevivir.html>>.