



## **Ponencia sobre el artículo “Biosensores de grafeno para patógenos bacterianos y virales”**

Karen Aletse Lazcano Valente

Licenciatura en Biotecnología, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

[karenlazcano59@gmail.com](mailto:karenlazcano59@gmail.com)

### **Resumen**

Se muestra una ponencia basada en el artículo "Graphene biosensors for bacterial and viral pathogens" por Jiang et al., 2020 [1].

**DOI: 10.13140/RG.2.2.21136.43529**

### **Introducción**

**Sesión 140**

La palabra patógenos, hace referencia a microorganismos (incluyendo bacterias, virus, hongos, etc.) y parásitos que causan infecciones en organismos. Entre los cuáles las bacterias y los virus son los más comunes y más dañinos. Ellos infectan humanos, plantas y animales de varias formas, puede ser por la comida, aire o agua, y están estimados que son responsables de más de 15 millones de muertes en el mundo por año. Por ejemplo, el virus responsable de la COVID-19 ha causado no sólo cientos de miles de muertes, sino que también ha impactado en la economía mundial. Por otro lado, este acontecimiento nos ha llamado la atención para que respetemos la naturaleza y protejamos el medio ambiente. Por otro lado, también refleja la importancia de la detección oportuna y precisa de patógenos para un rápido aislamiento y tratamiento.

Las técnicas tradicionales para el análisis de patógenos, como PCR y ELISA, son altamente sensibles y duraderos, pero tiene laboriosos procesos de pruebas, tratamiento previo que requiere mucho tiempo, y la necesidad de equipo y personal profesional. Como resultado, es necesario desarrollar técnicas analíticas alternativas para un monitoreo rápido, sensible y continuo en tiempo real de los patógenos.

El biosensor es un tipo de dispositivo analítico que integra el reconocimiento biológico con detectores fisico-químicos para la detección de analitos. Gracias a su rendimiento superior como alta selectividad y sensibilidad, bajo coste, alta eficiencia, miniaturización, etc., hasta la fecha, los biosensores han sido ampliamente desarrollados y aplicados en seguridad alimentaria, monitoreo ambiental y diagnóstico clínico.

### **Grafeno**

El grafeno, es un nanomaterial de carbono bidimensional de un átomo de espesor con entramado hexagonal de panal, se aisló del grafito por primera vez en 2004. Desde entonces, el grafeno y sus derivados han atraído una amplia atención debido a las propiedades ópticas

únicas, la excelente conductividad, la excelente resistencia mecánica y las vastas superficies específicas. Se consideran un material revolucionario en el futuro y tienen importantes perspectivas de aplicación en la ciencia de materiales, energía, biosensing, biomedicina y administración de medicamentos.

### **Preparación del grafeno**

Una de las más comunes es la exfoliación micromecánica, que utiliza la fricción y el movimiento relativo entre el grafito y los objetos para producir una fina capa de grafeno. Este método tiene un bajo costo y un funcionamiento sencillo, y es capaz de obtener grafeno con una estructura cristalina intacta. Sin embargo, sólo es adecuado para investigaciones científicas básicas y es difícil de lograr producción y aplicación a gran escala debido a la incontabilidad del tamaño, la forma y las capas del grafeno.

Para la síntesis por medio de óxido-reducción del grafeno primero se tiene que someter al grafito a un proceso de oxidación, para romper las fuerzas intermoleculares (Fuerzas de Van der Waals), por medio de la unión de grupos funcionales (hidroxilos, éteres y epóxidos) en los dominios aromáticos. En el segundo paso es la reducción, en este proceso la conductividad eléctrica se recupera por la reducción, en la cual hay una eliminación de los grupos funcionales y la restauración de los enlaces de carbono  $sp^2$ . A su vez esta eliminación aumenta la hidrofobicidad del grafeno reducido presentándose como un sólido negro precipitado. En este paso hay dos métodos: química y térmica. El primero implica el uso de agentes reductores que permiten la eliminación de los grupos funcionales agregados en la oxidación. La térmica permite la exfoliación y reducción directamente por la descomposición por la rápida expansión de los gases que ejercen presión sobre las capas provocando la separación de los grupos funcionales oxigenados.

La síntesis de grafeno por CVD se basa en gases orgánicos de carbono como el metano y el etanol y aunque actualmente es caro e imperfecto, se cree que es el método más prometedor para la producción industrializada de grafeno.

### **Propiedades del grafeno**

Desde este punto de vista atómico, el grafeno es el material más delgado que jamás se haya podido obtener: una lámina de grafeno está formada por una sola capa de átomos de carbonos enlazados, y tiene un espesor de tan sólo  $3,35 \text{ \AA}$  (es decir,  $3,35 \times 10^{-10} \text{ m}$ ). Por todo ello, el grafeno se trata de un material muy ligero de peso: la densidad del grafeno es de tan sólo  $0,77 \text{ mg/m}^2$ . Así, dada su bajísima densidad se podrían cubrir grandes extensiones de terreno empleando una capa de grafeno que pesase tan sólo unos pocos gramos.

La conductividad eléctrica y térmica del grafeno está al nivel de los mejores materiales conductores de electricidad y calor que existen. Esto se debe gracias a su particular disposición espacial de los átomos de carbono en el grafeno, y al enlace de tipo covalente que se establece entre ellos, los electrones se pueden desplazar sobre su superficie a una velocidad increíblemente elevada, mayor que en ningún otro material conocido. Investigaciones recientes, han podido medir dicha velocidad arrojando unos resultados sorprendentes: se mueven alrededor de 1000 km/s, tan sólo 300 veces inferior a la velocidad de la luz en el vacío. Por tanto, se puede decir que, en el caso del grafeno, su estructura interna proporciona un camino libre de obstáculos para la rápida circulación de los electrones, que son los que conducen la electricidad.

Entre sus propiedades mecánicas está que es el material con la mayor resistencia mecánica de todos los materiales conocidos en la naturaleza, incluso es mucho más resistente que el más resistente de los aceros. Esta propiedad hace del grafeno, un material de gran utilidad en aquellas aplicaciones donde se requiera de una gran resistencia mecánica y de muy poco peso. El origen de la gran resistencia mecánica que ofrece el grafeno hay que buscarlo en los enlaces covalentes tipo  $\sigma$  que se establece entre los átomos de carbono que conforman su red cristalina.

Además, tiene otras propiedades como su capacidad de reaccionar con otros compuestos. Esta propiedad permite poder combinar el grafeno con otros materiales con objeto de obtener otros nuevos compuestos que tengan diferentes y mejoradas propiedades. Tiene capacidad aislante, se ha descubierto que membranas fabricadas por un compuesto donde interviene el grafeno, en concreto membranas de óxido de grafeno, son impermeables a todos los gases y líquidos conocidos. Ello es debido a que, la estructura interna de estas membranas hechas con óxido de grafeno, presentan una densidad atómica muy alta, que impide el paso de otras moléculas a través de ellas. También tiene propiedades ópticas, ya que es un material que se puede considerar prácticamente transparente, ya que absorbe casi el 2.3% de la intensidad de la luz blanca que llega a su superficie (transmitancia aproximada del 97.7%). Esta propiedad, unida a la extraordinaria flexibilidad que posee el grafeno y su excelente conductividad eléctrica, permite el empleo de este material para la fabricación de circuitos flexibles y transparentes, lo que abre la puerta a su uso en múltiples aplicaciones asociadas a las nuevas tecnologías. Así, el grafeno se está empleando en la actualidad en la fabricación de pantallas táctiles flexibles para dispositivos electrónicos, resultando pantallas de una vida útil casi ilimitada y a un costo de fabricación muy competitivo.

### **Bio-funcionalización del grafeno**

Existen varias estrategias para funcionalizar los nanomateriales a base de grafeno con biomoléculas, que se pueden dividir en dos categorías principales según el principio de interacción: la modificación no covalente y la funcionalización covalente.

Debido a la enorme superficie aromática bidimensional, los materiales de grafeno son capaces de interactuar firmemente con cualquier molécula que contenga anillos aromáticos a través del apilamiento de  $\pi$ - $\pi$ . Por consiguiente, la mayoría de las biomoléculas (por ejemplo, ADN, anticuerpos, etc.) podrían conectarse directamente a la superficie del grafeno. Algunas otras biomoléculas también pueden ser adsorbidas en la superficie del grafeno por diseño estructural especial o modificación de enlaces de moléculas aromáticas como el pireno, la porfirina y sus derivados. La interacción electrostática también desempeña un papel importante en la interfaz entre las biomoléculas y los materiales de grafeno. GO y rGO se cargan negativamente debido a sus grupos que contienen oxígeno, por lo que son capaces de adsorber las biomoléculas con cargas positivas. El grafeno neutro, o incluso GO/rGO negativo, también se puede cargar positivamente mediante la funcionalización de polímeros como el polietileno, la polianilina, etc., por lo tanto, la reticulación electrostática con biomoléculas cargadas negativamente. Además, el grafeno original es conocido por ser hidrófobo, y GO tiene un borde hidrófilo y una base central hidrófoba, de modo que las interacciones hidrofóbicas entre ellos y ciertas biomoléculas que contienen grupos hidrófobos también contribuyen a la unión no covalente de nanocompuestos biomoléculas-grafenos.

En vista de la alta estabilidad de la unión covalente, los métodos de modificación covalentes tienen una gran importancia para funcionalizar nanomateriales grafenos con biomoléculas. Las superficies de GO y rGO son ricas en grupos funcionales que contienen oxígeno, como los grupos carboxilo e hidroxilo, lo que las convierte en sustratos ideales para inmovilizar biomoléculas que también contienen múltiples grupos funcionales. Es bien sabido que la mayoría de las biomoléculas (como proteínas, enzimas, anticuerpos, péptidos, etc.) contienen numerosos grupos amino, que podrían formar enlaces de amida estables con grupos carboxilo en la superficie de GO o RGO bajo la ayuda de EDC (1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida) y NHS (N-hidroxisuccinimida), anclando biomoléculas a nanomateriales. En cuanto a unas pocas moléculas biológicas sin grupos amino funcionales, como los ácidos nucleicos, la conjugación similar puede lograrse etiquetando un grupo amino en su terminal. Además, vale la pena señalar que la introducción de polianilina mencionada anteriormente no sólo puede mejorar la adsorción física entre biomoléculas y materiales de grafeno, sino también proporcionar grupos amino para su acoplamiento covalente.

### **Sensores de grafeno para detectar virus**

Como es bien sabido, la enfermedad que provoca el COVID-19 es un problema global y que muchos investigadores han intentado hacer una vacuna, así como productos protectores para la atención de salud pública. COVID-19 se forma mediante partículas de envoltura esféricas que encierran un ARN de sentido positivo de una sola cadena asociada con una nucleoproteína dentro de una cápside compuesto de proteína de la matriz como se muestra.

En los últimos años, se ha demostrado que los sensores de grafeno son capaces de detectar y probar de forma avanzada, como la tasa de respiración, la glucosa en sangre y la presión, la temperatura corporal en tiempo real, las pequeñas imágenes de lunares, y las interacciones proteicas y la detección de virus.

Recientemente, un grupo de investigadores de la República de Corea del Sur ha desarrollado con éxito un biosensor basado en transistores que detecta SARS-CoV-2. El primer paso se centró en fabricar y purificar la proteína S, spike o espícula del virus, que es la que le permite “conectarse” con el receptor celular y liberar su genoma en el interior de la célula que va a infectar. Después el biosensor fue fabricado por hojas de grafeno recubiertas de transistor de efecto de campo (FET) con un anticuerpo específico contra la punta de la proteína SARS-CoV-2 o proteína S. Estos nanosensores producen una señal cuando detectan la unión entre el anticuerpo y el antígeno S, es decir, cuando la muestra pertenece a una persona infectada con el virus. Diferentes biomoléculas como ADN, anticuerpos, enzimas y células se han incorporado en la superficie más grande de grafeno para el desarrollo de biosensores.

Además, el grafeno oxidado funcionalizado con curcumina mostró gran biocompatibilidad con las células huésped y altamente eficiente inhibición para el virus respiratorio sincitial (RSV). Este compuesto también se utilizó en imágenes biológicas debido a su baja citotoxicidad, mejor fotoestabilidad y excelente capacidad de focalización tumoral. En otra investigación, se informó sobre la aplicabilidad de los compuestos de GO-curcumin como antibiótico resistente a *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina.

En otro ejemplo se propuso un biosensor electroquímico basado en polímero de grafeno para detectar el virus del dengue en etapa temprana (DENV) y la detección de anticuerpos. Las superficies de polímero GO fueron funcionalizadas por el componente DENV utilizando un proceso de autoensamblado que hace que la superficie del polímero sea más selectiva y sensible al virus.

Se ha demostrado que los nanocompuestos de rGO decorados con nanopartículas de oro se pueden utilizar como una superficie funcionalizada de antígeno para detectar la existencia del antígeno del núcleo del virus de la hepatitis B. Del mismo modo, se propuso un nanocompuesto magnético asistido por ADN para detectar la presencia del virus de la hepatitis C. Esta detección ultrasensible del virus se logró a través de la respuesta de señal electroquímica de los iones de cobre catalizado oxidación de o-fenilendiamina.

## **Conclusión**

El elevado número de propiedades del grafeno, o de los materiales basados en el grafeno, hacen que su rango de aplicaciones sea muy amplio, prácticamente ilimitado. El grafeno es un material muy versátil, una de sus características más importantes es la posibilidad de funcionalizarlo, es decir, introducir grupos reactivos en su estructura. Esto ha hecho que la

aplicación hacia un biosensor sea de gran utilidad para detectar virus con rapidez y eficacia, que en el caso de la pandemia actual es de gran ayuda. Del mismo modo, se requiere más avance e investigación contra el diagnóstico y tratamiento del SARS-CoV-2. Por lo tanto, podemos decir que el grafeno puede tener un papel principal contra COVID-19.

<https://sites.google.com/view/apcmac/conferencias-y-m%C3%B3dulos#h.omqpsjghcuib>

### **Referencia**

[1] Jiang, Z., Feng, B., Xu, J., Qing, T., Zhang, P., Qing, Z., 2020. Graphene biosensors for bacterial and viral pathogens. Biosensors and Bioelectronics. doi: 10.1016/j.bios.2020.112471