

Daniel Martínez Flores, Karla Yarentzi Contreras de la Torre y Luis Alfonso Vaca Domínguez

El mundo nanoscópico de los virus a través de la luz

Los virus, a pesar de ser sistemas biológicos pequeños acelulares, desempeñan roles fundamentales en los ecosistemas y la medicina. Investigarlos no ha sido una tarea fácil; sin embargo, utilizando las propiedades de la luz en técnicas de microscopía avanzada, como la microscopía de superresolución, STORM, hemos podido adentrarnos en el mundo nanoscópico de los virus y comprender su complejidad estructural y funcional.

Introducción

Los virus son entidades biológicas infecciosas acelulares que carecen de procesos metabólicos y maquinaria para sintetizar proteínas, por lo que tampoco poseen la capacidad de replicarse por sí mismos. Los virus llevan a cabo funciones de gran importancia en el mundo que nos rodea, y sólo una pequeña porción de la diversidad viral causa enfermedades. Por ejemplo, los virus participan en el control natural de las poblaciones para limitar su sobrecrecimiento, como es el caso de los fagos con las bacterias, y en los ciclos nutrimentales de los ecosistemas, aumentando la productividad y su funcionamiento en general. En el ámbito médico, se han utilizado para el desarrollo de vacunas, antivirales y tratamientos como la terapia génica. Además, mediante transferencia de genes o mutaciones, los virus pueden modificar el genoma del hospedador, creando variación y biodiversidad genética. Así, los virus desempeñan funciones que van desde las más sencillas, como formar parte de los microbiomas, hasta las más complejas, en términos evolutivos.

Los virus pueden presentar distintos grados de complejidad. En esencia, están compuestos por un genoma de ADN o ARN, de cadena simple o doble –lineal o circular–, protegido por una cápside formada por proteínas. En algunos casos, la cápside se encuentra rodeada por una bicapa lipídica derivada del hospedador, denominada envoltura. De acuerdo con la presencia o ausencia de esta envoltura, los virus se clasifican como envueltos o no envueltos. A partir de esta estructura básica, la diversidad viral se manifiesta en la amplia variedad de tamaños, formas, geometrías y composiciones moleculares que presentan.



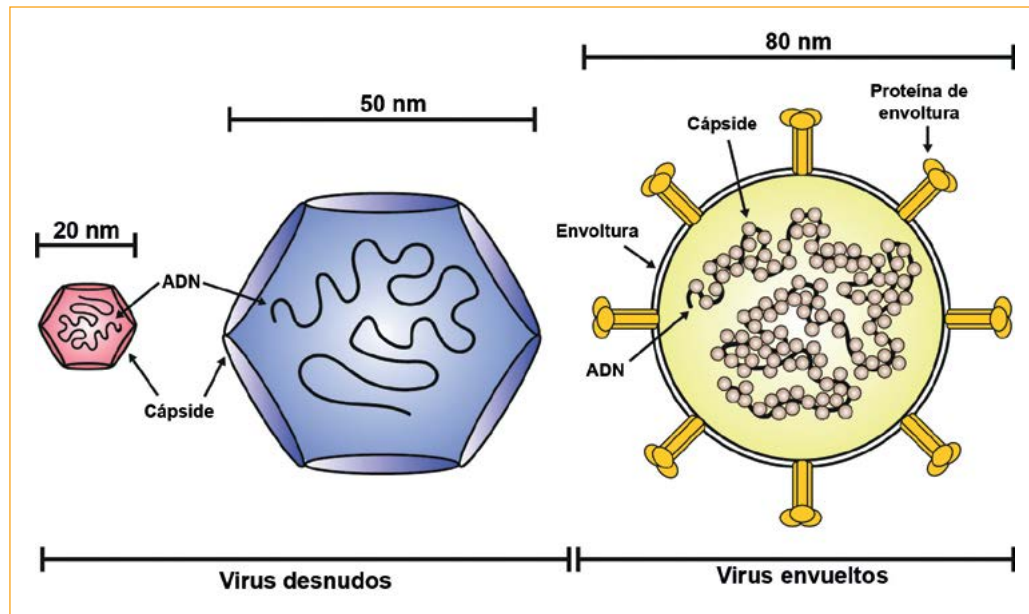


Figura 1. Características estructurales y componentes de los virus.

■ **Microscopía electrónica: revelando el mundo invisible de los virus**

Debido a su tamaño nanoscópico, los virus difícilmente pueden ser observados mediante un microscopio óptico convencional. El primer virus descubierto fue el virus del mosaico de tabaco (TMV) en 1892 (Ivanowski, 1892), pero no fue sino hasta 1935 cuando se publicaron las primeras micrografías del TMV (Stanley, 1935) y en 1939 se convirtió en el primer virus en ser observado por microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) (Kausche y cols., 1939), un tipo de microscopía que emplea electrones, con la resolución suficiente para observar virus.

El primer microscopio de TEM fue desarrollado en 1930 y destacaba por tener una resolución mucho mayor que los microscopios ópticos de la época. Años después se introdujo la tinción negativa, la cual permitió contrastar la muestra con el fondo y detectar virus en muestras líquidas, arrojando información sobre la morfología, simetría y el arreglo de la cápside. Gracias al progreso en TEM se logró el descubrimiento de virus de importancia clínica como los adenovirus, enterovirus, paramyxovirus y reovirus, entre otros.

La TEM moderna tiene el poder resolutivo suficiente para permitirnos ver hasta las estructuras

biológicas más pequeñas, como los virus. Es ampliamente utilizada para analizar la ultraestructura de los virus y conocer nuevos aspectos del ciclo viral en una célula infectada.

Actualmente TEM sigue siendo el estándar de oro para visualizar la estructura viral; no obstante, una de las limitaciones de TEM es que requiere utilizar muestras fijadas y no vivas, lo cual nos aleja de observar a los virus en sus condiciones más nativas y dinámicas. También resulta complicado identificar proteínas individuales en virus mediante TEM, por lo que es difícil determinar qué proteínas están formando las estructuras nanoscópicas observadas.

■ **Microscopía óptica y fluorescencia: iluminando el mundo oculto de los virus**

La microscopía óptica es una excelente herramienta para observar sistemas biológicos en un ambiente dinámico, ya que no es necesario fijar la muestra y permite visualizar fenómenos dinámicos. Se trata de una técnica que no es invasiva y no daña al espécimen. Sin embargo, posee importantes limitaciones que restringen la visualización de muestras a escalas nanométricas.

En todas las técnicas de microscopía existe un límite inferior en cuanto al tamaño de los detalles que

pueden ser discernidos, llamado límite de resolución espacial. Si la muestra es menor a este límite, entonces no puede ser vista con claridad. En el caso de la microscopía óptica esto se debe a que la luz viaja en forma de onda y por lo tanto solamente puede ser enfocada en regiones determinadas cuyo tamaño no sea inferior a la mitad de la longitud de onda de la luz. De esta manera, la resolución espacial en la microscopía óptica se encuentra limitada por la longitud de onda de la luz, y los detalles a menores distancias no pueden ser distinguidos. Éste es un principio físico y no está asociado al tipo de microscopio de luz utilizado. El límite de difracción de la luz aplica para microscopios sencillos de epifluorescencia, así como para modernos microscopios confocales.

Hace algunos años, pensar en observar virus empleando microscopía de luz hubiera parecido inimaginable. Sin embargo, la microscopía de fluorescencia (un tipo de microscopía óptica) ha revolucionado nuestra manera de observar el mundo nanoscópico de los virus.

La microscopía de fluorescencia es una técnica clave para los científicos que estudiamos los sistemas vivos e incluso aquellos que se consideran “no vivos”, como los virus. Esta técnica nos permite visualizar estructuras y procesos biológicos con una alta especificidad y sensibilidad, conservando las propiedades biológicas de la muestra. Su principal herramienta es el uso de fluoróforos, moléculas que tienen la capacidad de emitir luz cuando son excitadas por una fuente de luz. Los fluoróforos pueden emplearse para realizar el marcaje específico de proteínas, ácidos nucleicos como el ADN o el ARN, así como otros componentes estructurales como las membranas lipídicas en los virus.

Existen múltiples maneras de aprovechar la fluorescencia según los diferentes tipos de microscopía. Algunos ejemplos son la microscopía de epifluorescencia y confocal, técnicas convencionales que están limitadas en resolución y donde objetos menores a 200 nm (como los virus) serían imposibles de observar. Sin embargo, la microscopía de superresolución permite incrementar entre 10 y 20 veces la resolución espacial de la microscopía de luz convencional, facilitando la observación de estructuras de 20 nm o menos.

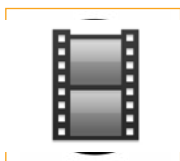


■ Microscopía de superresolución: reconstruyendo virus una molécula a la vez

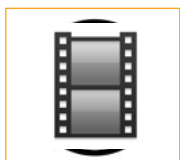
■ La microscopía de superresolución representa un conjunto de técnicas que han revolucionado la biología al romper la llamada “barrera de difracción” de la luz (Jacquemot y cols., 2020). Con la microscopía de superresolución, los científicos podemos seguir de cerca el proceso de infección, desde el momento en que un virus se adhiere a la membrana celular, hasta su entrada y replicación dentro de la célula. Esto no sólo ayuda a entender mejor cómo los virus logran evadir el sistema inmunológico, sino que también permite identificar puntos críticos en su ciclo de vida que podrían ser vulnerables a nuevos tratamientos antivirales.

Cada técnica de microscopía de superresolución tiene sus propias características y aplicaciones. Pero particularmente una de ellas ha llevado a los científicos a superar los límites de resolución en algo que pareciera inimaginable. Esta técnica es la microscopía de reconstrucción óptica estocástica (STORM), la cual localiza moléculas fluorescentes individuales en múltiples imágenes para reconstruir una imagen de alta resolución, una molécula a la vez.

La técnica STORM ha revolucionado la virología al permitir la visualización de proteínas individuales en virus, revelando su organización con una alta precisión. Con STORM, podemos encender y apagar



Video 1



Video 2

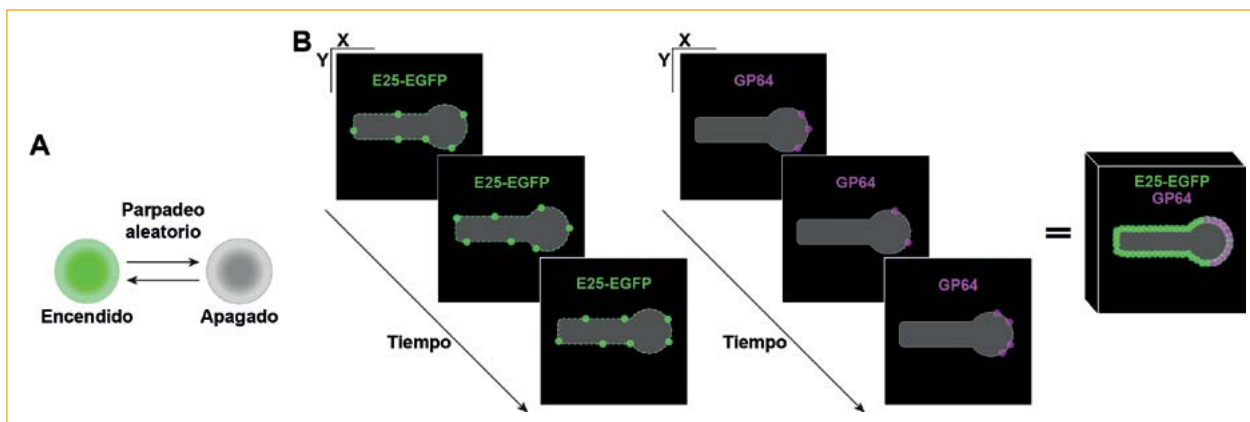


Figura 2. Fundamento de la técnica de STORM (A) y su uso en la localización de proteínas estructurales individuales para la reconstrucción de un mapa de distribución de proteínas estructurales individuales en virus (B). Véanse también los videos 1 y 2.

fluoróforos individuales de forma aleatoria. Al adquirir imágenes en el tiempo de estos pasos de encendido y apagado (llamados parpadeos), es posible reconstruir la distribución espacial de proteínas virales de interés con gran precisión, molécula por molécula, tal y como se ejemplifica en la **Figura 2** (Videos 1 y 2).

Esta capacidad para observar proteínas individuales dentro de un virus ha sido crucial para entender cómo éstas interactúan entre sí. Por ejemplo, en el estudio de herpesvirus, STORM ha revelado la organización de las diferentes capas de proteína del virus, incluyendo proteínas asociadas a la envoltura y proteínas que se encuentran entre la cápside y la envoltura (Laine y cols., 2015). STORM también ha ayudado a explicar el ensamblaje del virus de inmunodeficiencia adquirida humana (VIH) y los cambios que sufre durante su maduración (Buttler y cols., 2018). Otros virus de importancia médica para humanos como SARS-CoV-2 e influenza han sido estudiados para obtener información sobre su tamaño y la distribución de sus proteínas estructurales. Estos estudios han permitido demostrar, por ejemplo, que existe una mayor simetría en la distribución espacial de proteínas de la envoltura en el virus de SARS-CoV-2, comparado con el de influenza (McMahon y cols., 2023).

Además de proporcionar información básica sobre la biología de los virus, STORM tiene implicaciones prácticas significativas. Al entender mejor la organización y función de las proteínas virales, los científicos podemos identificar nuevas técnicas para

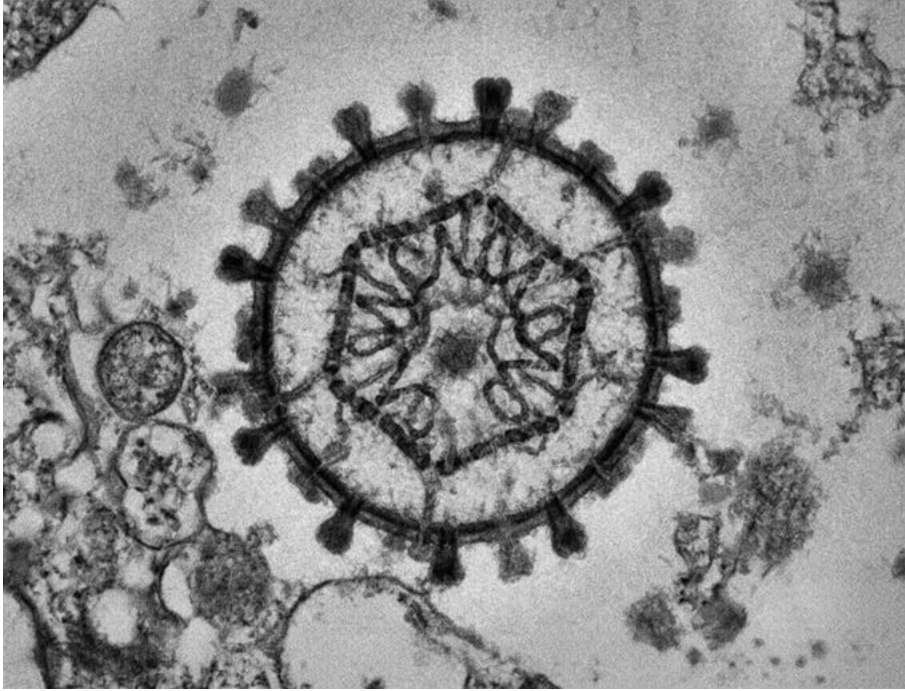
el desarrollo de medicamentos antivirales y diseñar estrategias más efectivas para interferir con el ciclo de vida del virus. Asimismo, el uso de STORM para analizar miles de partículas virales individuales nos permite entender la heterogeneidad morfológica viral, identificar malformaciones virales o virus sin contenido genético (vacíos), estudiar con detalle el anclaje de virus a la célula hospedera y seguir paso a paso la morfogénesis viral.

■ Resolviendo la nanoarquitectura de los baculovirus

■ Nuestro grupo de trabajo es pionero a nivel mundial en el uso de STORM para estudiar la distribución espacial de proteínas estructurales en baculovirus individuales. Los baculovirus son virus que infectan de manera selectiva a insectos.

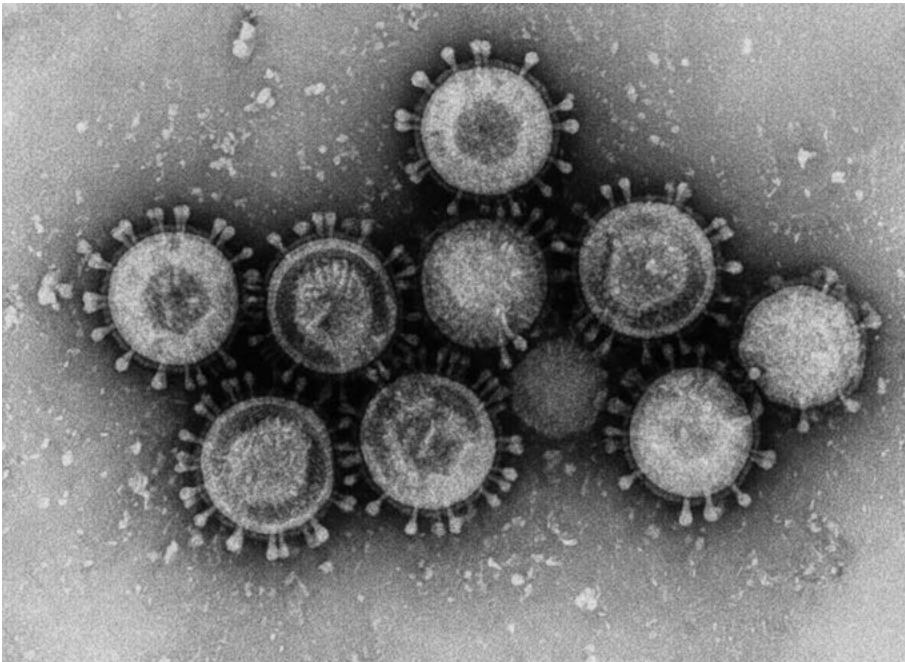
La historia del descubrimiento de los baculovirus está relacionada con el desarrollo de la industria de la seda en China, hace más de 5000 años. En esas épocas la seda era moneda de cambio a nivel mundial (Xeros, 1952).

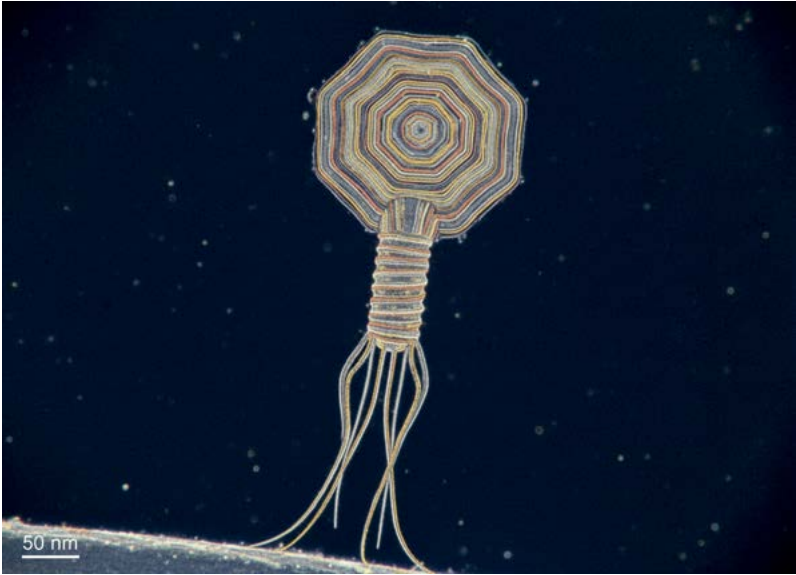
La producción de seda se llevaba a cabo mediante el cultivo de la oruga o gusano de la seda llamado *Bombix mori*. En algunos periodos, los cultivos del gusano eran totalmente destruidos por un enemigo invisible: el baculovirus (Xeros, 1952). Así fue como años después, mediante el uso de la microscopía de TEM, se descubrió que estos virus infectan y matan al gusano de la seda (Xeros, 1952).



Los baculovirus, en combinación con el cultivo de células de insecto aisladas de la oruga *Spodoptera frugiperda*, han permitido desarrollar un nuevo sistema de expresión de proteínas en células eucariotes. Este sistema es utilizado actualmente para la producción de una gran cantidad de vacunas y proteínas recombinantes de uso médico y biotecnológico, principalmente porque el baculovirus es muy

fácil de manejar a nivel molecular para generar baculovirus recombinantes que expresen proteínas de interés biomédico. Además, los baculovirus producen una gran cantidad de proteína recombinante en las células de insectos en cultivo. Por todo lo anterior, los baculovirus se han utilizado por los últimos 30 años para la producción de proteínas recombinantes de interés biotecnológico y médico. Un sinnúmero de





vacunas modernas se produce en el sistema de expresión de baculovirus y células de insecto en cultivo.

Los baculovirus resultan ser una excelente herramienta para conocer el mundo nanoscópico de los virus con mayor profundidad. Su forma alargada como la de un bastón con un tamaño de entre 250 y 400 nm de largo, su fácil amplificación y purificación a partir de células de insecto en cultivo y la capacidad de manipularlos genéticamente son sólo algunas de las enormes ventajas que ofrece el estudio de estos virus mediante microscopía de STORM.

Nuestro estudio se ha centrado en entender cómo se distribuyen las proteínas estructurales a lo largo de estos virus. Para lograrlo, utilizamos la técnica de STORM, que nos permite observar la disposición de estas proteínas con una alta precisión.

Uno de los hallazgos más interesantes de nuestra investigación es el descubrimiento de que algunas proteínas estructurales de baculovirus se distribuyen de

forma polarizada en el virus, mientras que otras se distribuyen de forma homogénea a lo largo del virus.

Para lograr observar proteínas estructurales mediante STORM, hemos realizado el marcaje de la proteína llamada E25 con una proteína verde fluorescente (EGFP). E25 es una proteína de la que se sabe muy poco; sin embargo, con STORM hemos podido mapear su distribución a lo largo del virus y comenzar a sugerir posibles funciones con base en esta distribución. Además, podemos contrastar su distribución con proteínas de localización y función conocida, como es el caso de la proteína GP64, una proteína que participa activamente en los mecanismos de infección de la célula hospedera y que es bien conocida por tener una distribución polarizada en el baculovirus. Con la técnica de STORM hemos corroborado observaciones previas donde mediante microscopía electrónica (TEM) se había demostrado que la proteína GP64 se localizaba en un polo del baculovirus. Ésta es la primera vez que se puede observar mediante microscopía de luz (en este caso STORM) la distribución polarizada de GP64 ([Figura 3](#) y [Video 3](#)).

Estos descubrimientos no sólo profundizan nuestro conocimiento sobre la biología de los baculovirus, sino que también tienen implicaciones para el diseño de nuevas herramientas biotecnológicas. Comprender la organización nanoscópica de las proteínas en los baculovirus puede ayudar a mejorar su eficiencia como plataformas para la producción de proteínas recombinantes y el desarrollo de nuevas terapias basadas en esta tecnología.

Nuestra investigación destaca la importancia de la microscopía de superresolución en la biología de virus y abre nuevas avenidas para el desarrollo de

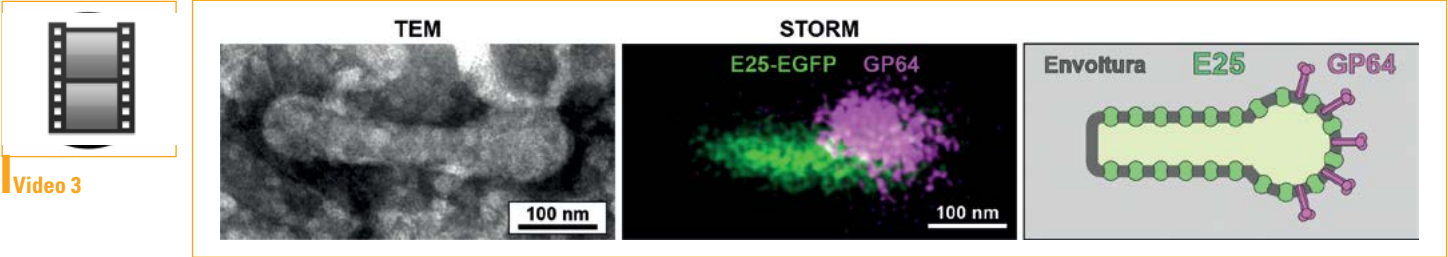


Figura 3. La microscopía de superresolución STORM permite mapear la distribución nanoscópica de proteínas estructurales en partículas individuales de baculovirus. En este caso particular se muestra la distribución polarizada de GP64, así como la distribución homogénea de E25-EGFP. El dibujo de la derecha muestra el modelo y representa la distribución de estas dos proteínas en baculovirus individuales.


Video 3

aplicaciones biotecnológicas basadas en baculovirus. Estamos entusiasmados con los futuros avances que estos hallazgos podrían desencadenar en el campo de la biotecnología y la virología. A medida que la tecnología avanza, sigue prometiendo revelar nuevas perspectivas sobre estos enigmáticos y poderosos agentes infecciosos, ahora visibles gracias a la microscopía de superresolución y, en particular, a los avances en la manipulación de la luz y de superresolución.

Daniel Martínez Flores

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
danielciencias14@gmail.com

Karla Yarentzi Contreras de la Torre

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
karlaycontreras@ciencias.unam.mx

Luis Alfonso Vaca Domínguez

Instituto de Fisiología Celular, UNAM.
lvaca@ifc.unam.mx

Referencias específicas

- Buttler, C. A., N. Pezeshkian, M. V. Fernández, J. Aaron, S. Norman, E. O. Freed *et al.* (2018), “[Single molecule fate of HIV-1 envelope reveals late-stage viral lattice incorporation](#)”, *Nature Communications*, 9(1):1861.
- Ivanowski, D. (1892), “[Concerning the mosaic disease of the tobacco plant](#)”, *Phytopathological Classics*, 7, St. Paul, MN, American Phytopathological Society.
- Jacquemet, G., A. F. Carisey, H. Hamidi, R. Henriques y C. Leterrier (2020), “[The cell biologist's guide to super-resolution microscopy](#)”, *Journal of Cell Science*, 133(11): jcs240713.
- Kausche, G. A., E. Pfankuch y H. Ruska (1939), “[Sichtbarmachung von pflanzlichem Virus im Übermikroskop](#)”, *Naturwissenschaften*, 27(18):292-299.
- Laine, R. F., A. Albecka, S. van de Linde, E. J. Rees, C. M. Crump y C. F. Kaminski (2015), “[Structural analysis of herpes simplex virus by optical super-resolution imaging](#)”, *Nature Communications*, 6(1):5980.
- McMahon, A., R. Andrews, D. Groves, S. V. Ghani, T. Cordes *et al.* (2023), “[High-throughput super-resolution analysis of influenza virus pleomorphism reveals insights into viral spatial organization](#)”, *PLOS Pathogens*, 19(6):e1011484.
- Stanley, W. M. (1935), “[Isolation of a crystalline protein possessing the properties of tobacco-mosaic virus](#)”, *Science*, 81(2113):644-645.
- Xeros, N. (1952), “Cytoplasmic polyhedral virus diseases”, *Nature*, 170:1073. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/1701073a0>.

Lecturas recomendadas

- Aylward, F. y M. Moniruzzaman (2022), “Viral complexity”, *Biomolecules*, 12(8):1-19. Disponible en: <https://doi.org/10.3390/biom12081061>.
- Rohrmann, G. F. (2019), *Baculovirus Molecular Biology* [en línea], 4.^a ed., Bethesda (Maryland), EUA, National Center for Biotechnology Information. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK543458/>, consultado el 13 de febrero de 2026.
- Vázquez, G. y O. Echeverría (2000), *Introducción a la microscopía electrónica aplicada a las ciencias biológicas*, México, Fondo de Cultura Económica.