

Biomoléculas autoensambladas sobre superficies de oro con aplicaciones en la nanotecnología

Autoría principal

Dr. Rudy Martín Trasanco¹, Dr. Darío González Abradelo¹, Dr.C. Roberto Cao Vázquez¹.

Otros autores

Dr. Franz-Peter Montforts², Dra. Sabine Schlecht³, Lic. Manuel Antuch Cubillas¹.

Colaboradores

Dr. Roberto Cao Milán¹, Dra. Alicia M. Díaz García¹, MSc. Andy Hernández Montoto¹, Bessy V. Cutiño-Ávila¹, Dra. Ana Margarita Esteva⁴, Dr. Raymundo Cea⁵, Dr. Paul-Ludwig M. Noeske⁶, MSc. Alberto del Monte-Martínez⁷, Dr. Jorge O. González-Bacerio⁷, Dra. Viviana Figueroa-Espi⁸.

Entidad ejecutora principal

¹Laboratorio de Bioinorgánica. Facultad de Química. Universidad de La Habana.

Entidades participantes

²Instituto de Química Orgánica, Universidad de Bremen, Alemania.

³Departamento de Química Analítica e Inorgánica. Universidad Justus-Liebig, Giessen, Alemania.

⁴Departamento de Química Analítica. Facultad de Química. Universidad de La Habana.

⁵Instituto de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México.

⁶Fraunhofer-Institute for Manufacturing Technology and Applied Materials Research, Universidad de Bremen, Alemania.

⁷Laboratorio de Tecnología Enzimática, Centro de Estudio de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana.

⁸Laboratorio de Nanobiotecnología y Liberación de Biomoléculas, Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE), Universidad de La Habana.

Autor para correspondencia

Dr. Rudy Martín Trasanco

E-mail: rudy@fq.uh.cu

Dr. Darío González Abradelo

E-mail: dgabra-delo@fq.uh.cu

Laboratorio de Bioinorgánica, Facultad de Química, Universidad de La Habana, Zapata y G, 10400, La Habana.

Tel: 8792145.

Aporte científico de cada autor al resultado

✓ Dr. Rudy Martín Trasanco (30 %): El autor es uno de los ejecutores principales del proyecto de investigación relativo a la Propuesta de Premio. Es Profesor del Departamento de Química General de la Facultad de Química, UH, e investiga en el Laboratorio de Bioinorgánica. Es autor principal de dos de los artículos científicos que sustentan la propuesta de Premio. Parte de los resultados incluidos en esta propuesta de premio constituyeron el cuerpo fundamental de su Tesis de Doctorado en Química, titulada: Autoensamblaje de derivados de compuestos de Ru(II) con deuteroporfirina-IX sobre oro. Su

Tesis Doctoral fue defendida en el 2013 y escogida por el Tribunal Nacional de Química para ser propuesta a Mejor Tesis Doctoral en Ciencias Exactas y Naturales.

- ✓ Dr. **Darío González Abradelo** (30 %): El autor es también ejecutor principal de este proyecto de investigación. Es Profesor del Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química, UH, e investiga en el Laboratorio de Bioinorgánica. Es autor principal de tres de los artículos científicos y coautor de otros dos artículos que sustentan la propuesta de Premio. Parte de los resultados incluidos en esta propuesta de premio constituyeron el cuerpo fundamental de su Tesis de Doctorado en Química, titulada: Inmovilización supramolecular de lacasa sobre superficies de oro modificadas con derivados de L-tirosina. Su Tesis Doctoral fue defendida en el 2013 y escogida por el Tribunal Nacional de Química para ser propuesta a Mejor Tesis Doctoral en Ciencias Exactas y Naturales. Fue el tutor de una Tesis de Di-iploma que sustenta los resultados de investigación aquí incluidos.
- ✓ Dr. **Roberto Cao Vázquez** (20%): Este autor es miembro del Laboratorio de Bioinorgánica, de la Facultad de Química, UH. Fue fundador del Laboratorio y su Jefe hasta el año 2012. Contribuyó directamente con ideas y diseño de metodologías de síntesis de los sistemas tratados en esta propuesta de Premio. Es el coautor para la correspondencia de varios de los artículos presentados y ha sido coautor en el resto.
- ✓ Dr. **Peter-Franz Montfort** (10%): Este autor es el director del Instituto de Química Orgánica de la Universidad de Bremen en Alemania donde se sintetizaron los diferentes derivados de porfirinas mencionados en esta propuesta. El Dr. Montfort contribuyó directamente en la estrategia de síntesis de los diferentes derivados de porfirinas así como en la caracterización de los mismos. El equipamiento disponible en su laboratorio resultó imprescindible para el éxito del trabajo aquí presentado. El Dr. Montfort es autor para la correspondencia de uno de los artículos presentados y co-autor de otro.
- ✓ Dra. **Sabine Schlecht** (5 %): Esta autora es la Jefa del Departamento de Química Analítica e Inorgánica de la Universidad Justus-Liebig, en Giessen, Alemania. Es autora para la correspondencia de una de las publicaciones presentadas en la propuesta de Premio y ha contribuido directamente con ideas y diseño de metodologías de síntesis de los sistemas tratados.
- ✓ Lic. **Manuel Antuch Cubillas** (5%): Este autor contribuyó directamente al avance de algunos resultados experimentales que se presentan, fundamentalmente en la formación del biocátodo, y es autor principal de una de las publicaciones que sustentan la propuesta. Esos resultados formaron parte de su Tesis de Diploma, que fue defendida en el año 2013.

Acerca de la contribución de las instituciones: Los resultados de esta investigación fueron obtenidos, en su mayor parte, en el Laboratorio de Bioinorgánica (LBI) de la Facultad de Química de la Universidad de la Habana, institución donde se gestaron e iniciaron los proyectos de investigación. Otra parte importante de los resultados de investigación se deben al apoyo obtenido del Instituto de Química Orgánica, de la Universidad de Bremen, y del Departamento de Química Analítica e Inorgánica, de la Universidad Justus-Liebig, en Alemania. Esas instituciones contribuyeron con financiamiento, insumos, acceso a laboratorios y equipamiento especializado no disponible en Cuba, lo que resultó imprescindible para la caracterización de los sistemas por varias técnicas como la Resonancia Magnética Nuclear, la Espectroscopia de Masas por Ionización Secundaria, Espectroscopia Foelectrónica por rayos-X, Microscopia de Transmisión Electrónica y Dispersión Dinámica de la Luz, así como en la publicación en artículos científicos de los sistemas descritos a continuación.

Resumen

La presente Propuesta de Premio describe los resultados científicos más relevantes obtenidos por el Laboratorio de Bioinorgánica (LBI) en los últimos seis años de trabajo en el novedoso campo de los nano-materiales, específicamente en la síntesis y modificación de nano-partículas y superficies de oro con biomoléculas. Las monocapas auto-ensambladas (SAMs) de biomoléculas, sobre superficies de oro, permite modificar las propiedades químico-físicas de la interface y, en ese sentido, prometen ser excelentes candidatos en el diseño racional de dispositivos con una funcionalidad determinada. La investigación abordada en la presente propuesta está dirigida a la obtención de superficies de oro modificadas, a escala nano-métrica, con biomoléculas como las porfirinas y la enzima lacasa, como potenciales detectores de óxido nítrico en el primer caso, y para el diseño y construcción de bioceldas de combustibles y biorremediación, en el segundo. Una vía expedita para la obtención de SAM sobre oro, es mediante su interacción con compuestos modificados con grupos tioles o disulfuros.

En este trabajo se describe la metodología para la modificación y posterior auto-ensamblaje sobre superficies de oro de compuestos de Ru(II) con deuteroporfirina-IX, con potenciales aplicaciones en la detección electroquímica del óxido nítrico (NO) y la lacasa, una enzima oxidoreductasa con potenciales aplicaciones en la construcción de bioceldas de combustibles y en la construcción de sistemas de biorremediación de compuestos ligninolíticos.

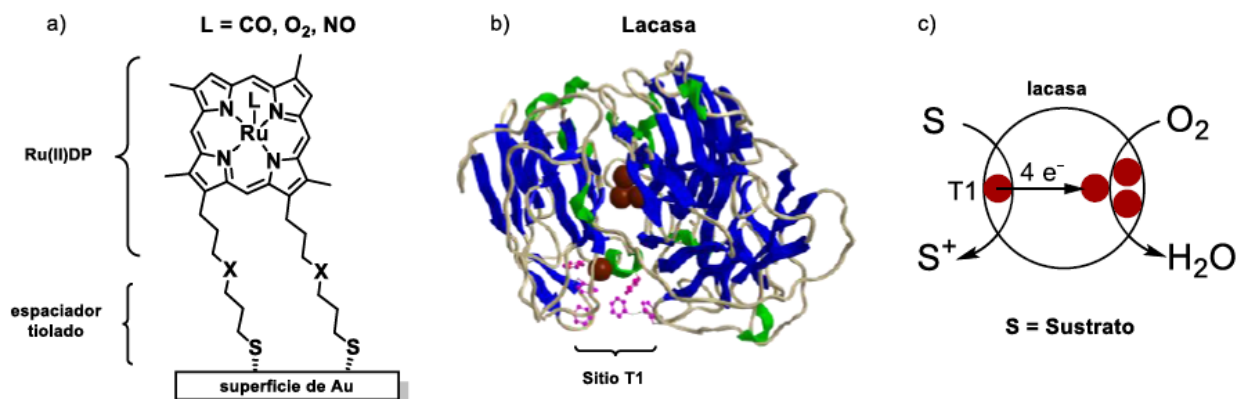
Los resultados se incluyen en 7 publicaciones científicas, 6 de ellas referenciadas en la Web de la Ciencia, entre las que se encuentran artículos en revistas especializadas el campo de la Química y la nanotecnología. Adicionalmente, esta investigación realiza una importante contribución a la formación de profesionales, lo que se evidencia en las dos Tesis Doctorales en Química defendidas en el 2013.

Comunicación Corta

Introducción

El desarrollo de la Nanotecnología se ha visto acelerado en los últimos años debido al interés que despiertan sus diferentes aplicaciones. En ese marco, el empleo de biomoléculas resulta de importancia, debido a que se encuentran en la misma escala de tamaño de los propios dispositivos manométricos, su alta especificidad funcional y su abundancia en la naturaleza. Entre los conceptos más importantes en la Nanotecnología se encuentra el de auto-ensamblaje, que expresa que aquellos sistemas compuestos por moléculas que se reconocen molecularmente, pueden asociarse repetitivamente sin necesidad de la acción de una fuerza externa al medio. El auto-ensamblaje se ha utilizado en la modificación de superficies de electrodos, superficies planas o nano-partículas de distintos materiales. El metal blando más estudiado es el oro, sobre el cual se obtienen monocapas auto-ensambladas (self-assembled monolayers, SAM) de compuestos tioles con gran facilidad y un alto grado de compactación. El Laboratorio de Bioinorgánica de la Facultad de Química de la Universidad de La Habana ha obtenido resultados, en años recientes, en la inmovilización de biomoléculas sobre superficies de oro. Se ha inmovilizado con éxito enzimas como la catalasa, la superóxido dismutasa y la xantina oxidasa.¹ En la

actualidad, parte de nuestros esfuerzos se encuentran dirigidos al auto-ensamblaje de biomoléculas con aplicaciones en el campo de los biosensores, las bioceldas de combustibles, así como la biorremediación; ello a partir de la construcción de sistemas derivados de porfirinas naturales y la enzima peroxidasa lacasa.



Esquema 1. a) Biosensor electroquímico basado en las propiedades de la Ru(II)DP(CO) para coordinar moléculas de interés biológico. b) Enzima lacasa. Se destacan los residuos aromáticos cercanos al Cu del sitio T1. c) Ciclo catalítico de la lacasa. La reacción de oxidación ocurre en el sitio T1 y la reducción de O₂ en el centro trinuclear de Cu.

Los compuestos de porfirínicos, con Ru(II) coordinado en el interior del macrociclo, poseen elevada afinidad por especies de relevancia biológica como O₂, CO y NO.² Ello los distingue como excelentes candidatos en el diseño y preparación de biosensores electroquímicos de esas especies. La dimetilésterdeuteroporfirina-IX (DMEDP), que se obtiene en abundancia de la sangre de vacuno, se tomó como producto de partida para la coordinación del Ru(II), evitando los costosos procedimientos de síntesis de porfirinas reportados en la literatura. Este aspecto resulta ser una novedad que avala a la presente propuesta de premio.

La lacasa, por otro lado, es una peroxidasa que acopla la oxidación de sustratos polifenólicos a la reducción de dioxígeno molecular. Debido a ello, una de las aplicaciones más novedosas de la lacasa es su empleo como componente catódico para la reducción bioelectrocatalítica de dioxígeno, uno de los retos más significativos en la fabricación de bioceldas de combustible.³ Las lacasas son capaces de oxidar diversos sustratos no polifenólicos a través del sitio T1 de la enzima. Esa característica ha permitido el empleo de la lacasa en el tratamiento de aguas residuales contaminadas con desechos ligninolíticos.⁴ Luego del proceso de biorremediación, no es posible recuperar la enzima para ciclos posteriores, lo que conlleva a la necesidad de su inmovilización sobre diversos soportes que permitan su separación de forma sencilla. Las nano-partículas constituyen los soportes que ofrecen la mayor relación área/volumen y, por tanto, son el sistema más atractivo para efectuar la inmovilización.

¹Villalonga, Cao and Frago, *Chem. Rev.*, 2007, **107**, 3088-3116.

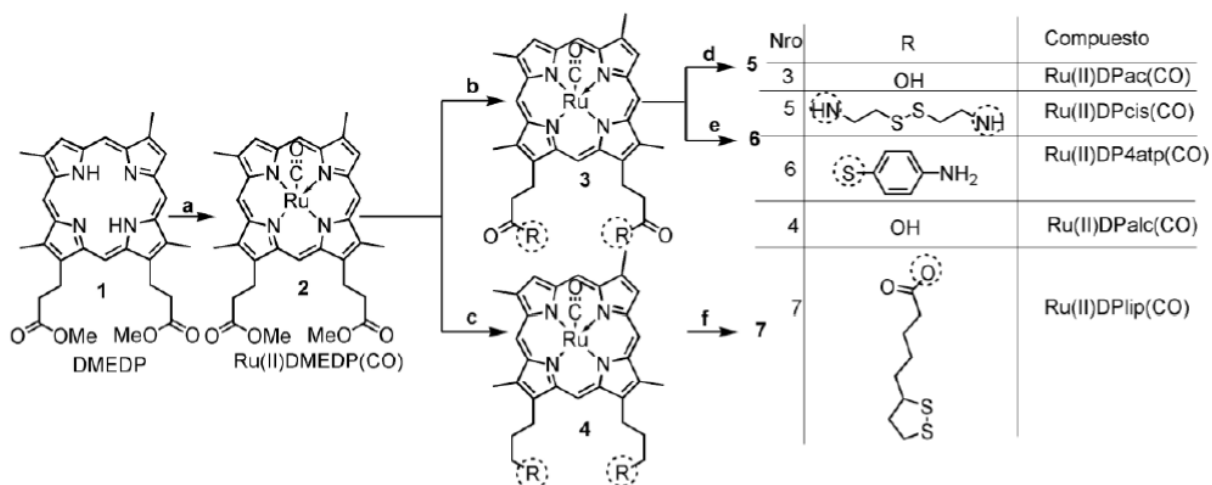
²Kadish, Caemelbecke and Royal, *Electrochemistry of Metalloporphyrins in Nonaqueous Media part-2* Elsevier Science, New York, 2000.

³Meredith and Minter, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 2012, **5**, 157-179.

⁴Fernández-Fernández, Sanromán and Moldes, *Biotechnol. Adv.*, 2013, **131**, 405-412.

Resultados y Discusión

La primera parte de este trabajo aborda la formación de un biosensor para la detección selectiva de CO, O₂ y NO, a partir de SAM de Ru(II)DP(CO) sobre electrodos de oro. Para la obtención de los diferentes derivados tiolados o disulfuros de Ru(II)DP(CO), para propiciar la formación de las SAM, se aprovechó la presencia del grupo éster en los residuos 13,17-bis-(2-metoxicarboniletil), a partir de cual se obtuvieron los grupos carboxilo o hidroxilo correspondientes (**3** y **4** esquema 1). La introducción de grupos carboxilo permitió acoplar la cistamina y 4-aminotiofenol, mientras que la presencia de los grupos hidroxilo permitió el acoplamiento del ácido lipoico. En el caso del derivado de 4-aminotiofenol (4-ATP), la reacción entre el ácido carboxílico de la Ru(II)DPac(CO) (**3**) y el 4-ATP, tuvo lugar a través el grupo tiol y generó el derivado tioléster como producto principal de la reacción. La obtención de ese producto, permitió estudiar su auto-ensamblaje sobre oro a través del grupo amino, lo cual ha sido escasamente abordado en la literatura científica, resultando un aspecto novedoso en esta propuesta. La selección de los diferentes espaciadores se realizó considerando los siguientes aspectos: a) presencia de grupos disulfuros en lugar de tioles, b) longitud de la cadena alifática, c) número de átomos de azufre capaces de interactuar con la superficie de oro, y d) carácter aromático y/o alifático de la molécula espaciadora. Las estrategias de síntesis empleadas en la preparación de los derivados de la Ru(II)DP(CO) se muestran en el **esquema 1**.



Esquema 2. Grupos espaciadores (R) y estrategia de síntesis de los diferentes derivados de Ru(II)DP(CO). (a) Ru₃(CO)₁₂, C₆H₆, reflujo (53%); (b) KOH(5 M), THF, reflujo (96%); (c) THF, LiAlH₄, reflujo (79%); (d) THF, NEt₃, ClCO₂iBu, -15 °C, cistamina, (55%); (e) THF, NEt₃, ClCO₂iBu, -15 °C, 4-aminotiofenol, (75%); (f) THF, NEt₃, ácido lipoico, C₆H₅COCl, DMAP, 0 °C (75%).

Los derivados de Ru(II)DP(CO), con los brazos espaciadores de cistamina y ácido lipoico (compuestos **5** y **7**, respectivamente), se auto-ensamblaron sobre los electrodos de oro a través de los grupos disulfuros, mientras que el derivado del 4-ATP (**6**) lo hizo a través del grupo amino. Las monocapas auto-ensambladas de esos compuestos fueron caracterizadas por las técnicas de voltametría cíclica (VC) y espectroscopia fotoelectrónica por rayos-X (XPS). Mediante VC de desorción reductiva en medio básico, de la SAM de **5** y **7**, se obtuvieron valores de potenciales de reducción de -0.92 y -1.02 V, respectivamente. El valor de -1.02 V indicó una mayor estabilidad de la monocapa de **7** respecto a la de **5**, resultado de la mayor longitud de la cadena alifática

del ácido lipoico respecto a la de la cistamina, además del mayor número de átomos de azufre en el primero. Mediante XPS se comprobó la formación del enlace Au-S en ambas monocapas al registrarse la señal del S2p_{3/2} en 162.0 eV.

La formación de SAM del compuesto **6** resultó ser, inicialmente, a partir de la interacción entre el grupo amino y la superficie de oro según los estudios realizados mediante XPS y VC. Mediante VC de desorción reductiva, de la SAM de este compuesto, luego de 24 de auto-ensamblado, se registraron dos picos catódicos en -0.84 V y -0.69 V. Al cabo de varios días, se observó que el pico en -0.84 V disminuyó su intensidad, mientras que el de -0.69 V, la aumentó. Mediante un estudio comparativo de desorción reductiva, de la SAM de moléculas de derivados del 4-ATP, y análogos funcionales de este, se comprobó que la señal en -0.84 V correspondió con la desorción de la monocapa auto-ensamblada a través del grupo amino, y la señal en -0.69 V, a través del grupo tiol (**Figura 1a**). Ese resultado permitió concluir que, en el caso del compuesto **6**, las SAM experimentan un reordenamiento donde el S del tioléster es reemplazado por el grupo amino del 4-ATP contiguo, con la formación de una amida y el correspondiente enlace del S liberado con el oro (**Figura 1b**). Adicionalmente, se comprobó mediante espectroscopia RMN-¹³C que, ese reordenamiento fue catalizado por la superficie de oro. A partir de la caracterización de SAM del compuesto **6** se obtuvieron dos resultados totalmente novedosos: 1) por primera vez en la literatura se reportó el empleo de la técnica de VC de desorción reductiva para estudiar la formación de SAM a partir de la interacción entre grupos aminos y la superficie del oro, y 2) es la primera vez que se reporta en la literatura el reordenamiento descrito anteriormente.⁵

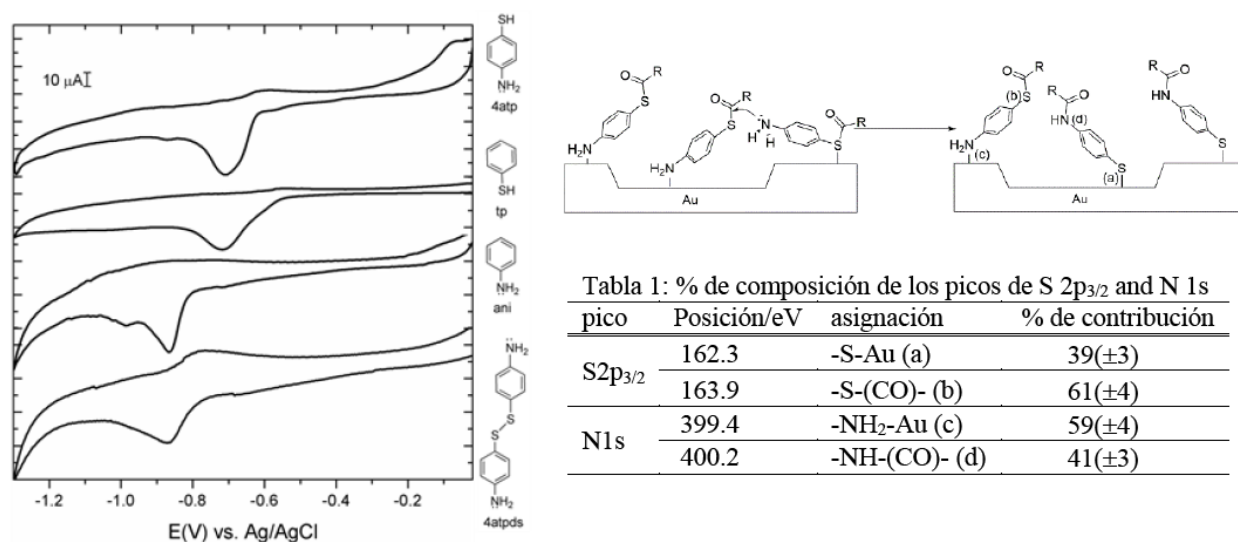
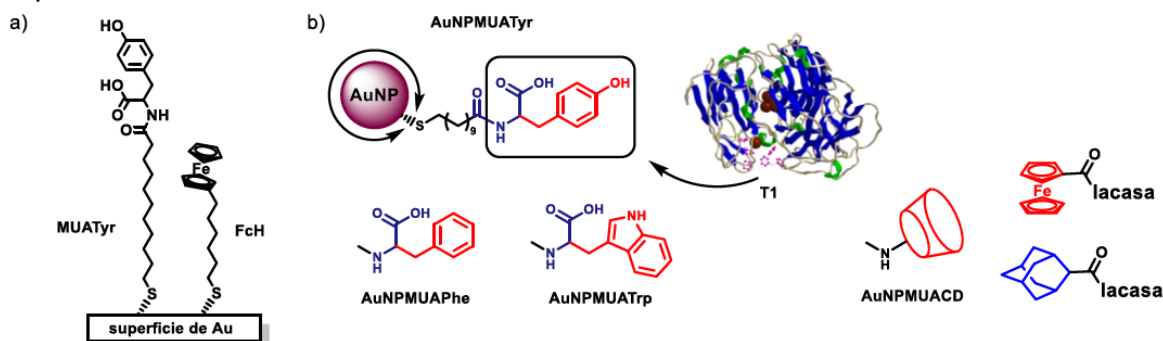


Figura 1. a) voltamogramas de desorción reductiva del 4-ATP y compuestos derivados de este. b) Posible mecanismo del reordenamiento de la SAM del compuesto **6** sobre oro. La tabla 1. muestra la posición de las señales del espectro XPS y el porcentaje de las áreas de cada pico desconvolucionado. Estos resultados evidencian el reordenamiento de la monocapa anteriormente descrito.

⁵Martin, Cao, Montforts and Noeske, *New J. Chem.*, 2013, **37**, 1610-1615.

Las SAMs sobre oro de los compuestos **5**, **6** y **7**, se hicieron interactuar con óxido nítrico (NO●) para evaluar su capacidad detectora frente a esa especie a partir de VC. Los voltamogramas registrados para cada una de las SAM sumergidas en una disolución de NO●, mostraron una señal de reducción en -0.56 V para la SAM de **5**, y en -0.69 V para las de **6** y **7**. Esas señales fueron características de la reducción de NO+ (coordinado al centro de Ru en la porfirina) a NO.⁶ El tiempo de respuesta de los diferentes electrodos frente a NO●, bajo nuestras condiciones de trabajo, varió entre tres y cinco minutos, en dependencia de la SAM empleada.

La segunda parte del trabajo se centró en la inmovilización de la lacasa sobre la superficie de electrodos y nanopartículas de oro, a través de las interacciones entre el sitio T1 de la enzima y un residuo de L-tirosina (Tyr), en un procedimiento supramolecular. Para ello, fue necesario modificar la Tyr con el ácido mercaptoundecanoico (MUATyr) de manera que, al igual que en el caso de la Ru(II)DP(CO), la presencia del grupo tiol permitiese la formación de SAM sobre las superficies de oro. La presencia de la enzima se comprobó por XPS, a partir del incremento de la señal correspondiente la fotoemisión de los electrones N1s en los 400,36 eV (**Figura 2a**). Se comprobó, asimismo, que las placas de oro recubiertas con la lacasa por vía supramolecular, mostraron actividad peroxidasa. Para ello se empleó la aparición de una banda en UV-vis, correspondiente a la oxidación de ABTS en 420 nm. La inmovilización de lacasa sobre electrodos de oro tuvo como objetivo la reducción bioelectrocatalítica del dióxigeno disuelto en el medio. Esa reacción transcurre normalmente a valores muy elevados de sobrepotencial y requirió de la presencia de 1-ferroceno-6-hexanotiol (Fch), además de MUATyr, en las SAM. El ferroceno en esas SAM mixtas actuó como mediador de la transferencia electrónica en el proceso redox entre la enzima y el electrodo, y se observó la reducción del dióxigeno en los 0.52 V, con una densidad de corriente de 23 $\mu\text{A}/\text{cm}^2$ (**Figura 2b**).⁷ Los resultados obtenidos con el biocátodo de lacasa, son los primeros reportados en nuestro país en el campo de las bioceldas de combustible. Mayores avances en sistemas análogos, permitirán obtener energía renovable y barata en la alimentación de dispositivos electrónicos implantables de dimensiones submicrométricas.



Esquema 3. a) Electrodos de oro modificados con SAM mixtas de FcH y MUATyr. b) Nano-partículas de oro modificadas con diferentes derivados tiolados de aminoácidos, β -ciclodextrina, o lacasa.

⁶Martin, Cao, Esteva and Montforts, *Journal of Porphyrins and Phthalocyanines*, 2009, **13**, 35-40. Kadish, Caemelbecke and Royal, *Electrochemistry of Metalloporphyrins in Nonaqueous Media*, Elsevier Science, New York, 2000.

⁷Antuch, Abradelo and Cao, *New J. Chem.*, 2014, **38**, 386.

Por último, se decidió avanzar en el diseño de nano-partículas de oro que permitieran el auto-ensamblaje directo de lacasa, exclusivamente a partir de interacciones supra-moleculares, con el objetivo obtener un sistema nano-métrico que permitiera emplear la enzima en procesos de biorremediación de aguas residuales. La novedad de ese concepto radica en la posibilidad de maximizar la carga de enzima inmovilizada, al disminuir de manera radical las dimensiones del soporte. Las nano-partículas de oro ofrecen, además de una superficie fácil de modificar por vía química, una elevada estabilidad luego de varios ciclos de precipitación y redispersión. Resultados iniciales se obtuvieron con nano-partículas de oro modificadas con un derivado de ferroceniletildiamina, debido a la presencia de interacciones tanto π - π como por enlaces de hidrógeno en el ligando. Las nano-partículas demostraron fuertes interacciones multivalentes entre sí, pero su limitada solubilidad en agua impidió su uso en la inmovilización de la enzima. El ligando en la superficies de las nano-partículas se cambió por el derivado MUATyr (AuNPMUATyr), ya que la mayor longitud del espaciador, así como la mayor polaridad de la Tyr, resultaron favorables en la inmovilización supra-molecular de lacasa sobre las nano-partículas (**Figura 2c**).⁸ La eficacia de la estrategia supra-molecular conllevó a una mayor actividad enzimática por número de enzima (1.3 veces), mayor estabilidad de la lacasa en el tiempo (**Figura 2d**),

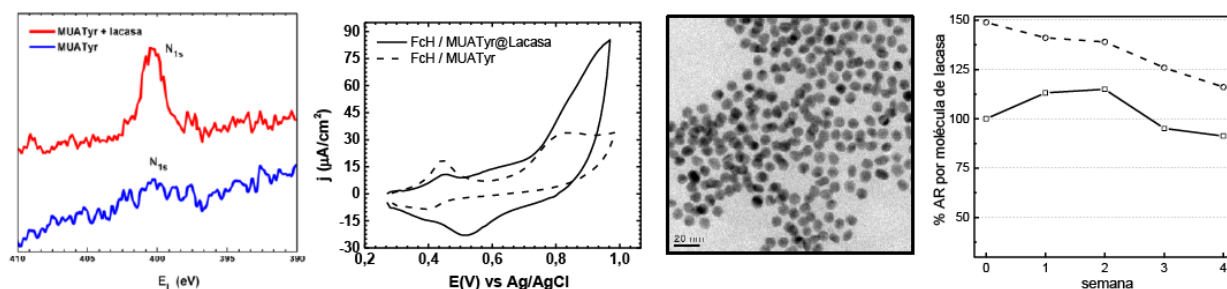


Figura 2. a) Espectros XPS de SAM de MUATyr antes (abajo) y después (arriba) de inmovilizar lacasa. b) Reducción de O₂ en electrodos modificado con lacasa. c) Imagen TEM de AuNPMUATyr@Lac. Escala = 20 nm. d) Actividad residual comparativa en el tiempo por unidad de lacasa entre AuNPMUATyr@Lac (sólido) y AuNPMUATyr@Lac (puntos).

así como ante cambios de temperatura, en comparación con estrategias de inmovilización convencionales como la covalente. Resulta destacable, igualmente, que la inmovilización supra-molecular sobre AuNPMUATyr no necesitó alterar la superficie de la enzima en forma alguna. Otra estrategia de inmovilización sobre las nano-partículas se basó en la formación de complejos de inclusión entre nano-partículas de oro modificadas con un derivado tiolado de β -ciclodextrina (AuNPMUACD) y la lacasa modificada con grupos ferroceno o adamantano en su superficie. La modificación de la lacasa, en esos casos, conllevó a que las nano-partículas que contenían la enzima perdieran el 60 % de la actividad enzimática inicial, al cabo de una semana. La mayor especificidad se logró, asimismo, con el derivado de Tyr, ya que la inmovilización sobre nano-partículas modificadas con otros aminoácidos como la fenilalanina, o el triptófano, mostraron valores de actividad enzimática muy pequeños.

⁸Abradelo, Cao and Schlecht, *RSC Adv.*, 2013, **3**, 21461-21465.

Conclusiones

En el trabajo se describieron los resultados principales de nuestra investigación, dirigida al desarrollo de nuevas estrategias de modificación de superficies de oro con biomoléculas de interés en los campos de biosensores, de las bioceldas de combustible, y la biorremediación. La novedad de los procedimientos reportados, está dada por el empleo de procedimientos de auto-ensamblaje, así como otros conceptos propios de la Química Supra-molecular, en la formación de los sistemas propuestos con la menor complejidad sintética posible. Se demostró que la formación de SAM de Ru(II)DP, sobre electrodos de oro, permitió atrapar NO• y su posterior detección por vía electroquímica. Ese sistema contribuyó, además, al estudio de los procesos que intervienen en la formación de SAM, a partir de la interacción entre grupos aminos y la superficie del oro. Por otra parte, se demostró la posibilidad de inmovilizar la enzima lacasa sobre superficies de oro modificadas con MUATyr, sin necesidad de establecer enlaces covalentes. Esa metodología de inmovilización, orientó el sitio T1 de la enzima hacia las superficies de oro y permitió la reducción bioelectrocatalítica de dioxígeno, lo que constituyó un paso de avance fundamental en el diseño de biocátodos para bioceldas de combustible. La inmovilización supra-molecular de lacasa sobre nanopartículas de oro permitió, asimismo, obtener mayores valores de actividad enzimática, mayor estabilidad en el tiempo, y ante la temperatura; en comparación con otros sistemas basados en la inmovilización covalente.

Publicaciones

- ✓ Abradelo, D. G., Cao, R., Cea, R. (2007): "Self-aggregation of bilayer ferrocenyl termini gold nanoparticles". *Inorg. Chem. Comm.*, 511-513. Factor de Impacto: 2,06. Número de citas: 4.
- ✓ Abradelo, D. G., Díaz, A., Cao, R. (2008): "Electrochemical effects of coordination to Ru(III) anchored on a gold electrode via a self-assembled mercaptoacetate". *Inorg. Chem. Comm.*, 300-302. Factor de Impacto: 2,06. Número de citas: 3.
- ✓ Martin, R., Montforts F-P., Cao, R., Esteva, A.M. (2009) "Interaction of nitric oxide with Ru(II) complexes of deuteroporphyrindimethylester derivatives" *J. Porphyrins Phthalocyanines*. 13, 35-40. Factor de Impacto: 1,36. Número de citas: 2.
- ✓ Martin, R., Cao, R., Montforts F-P., Paul-Ludwig M. Noeske (2013) "An unusual self-assembly of deuteroporphyrin 4-aminothiophenol derivative on Au(111) surfaces". *New J. Chem.* 67, 1610-1615. Factor de Impacto: 3,16. Número de citas: 1.

5. Abradelo, D. G., Cao, R., Schlecht, S. (2013): "One-to-one laccase-gold nanoparticle conjugates: molecular recognition and activity enhancement". *RSC Adv.*, 21461-21465. Factor de Impacto: 3,70. Número de citas: 1

6. del Monte-Martínez, A., Cutiño-Ávila, B. V., González-Bacerio, J. O., Abradelo, D. G., Figueroa-Espí, V., Cao, R. (2013): "Aplicación de enzimas en biocatálisis. Perspectivas de la utilización de nanoarreglos como biocatalizadores". *Rev. Cubana C. Biol.*, 7-23.

7. Manuel, A., Abradelo, D. G., Cao, R. (2014): "Bioelectrocatalytic reduction of O₂ at a supramolecularly associated laccase electrode". *New J. Chem.*, 386-390. Factor de Impacto: 3,16. Número de citas: 1.