

© 2026 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 29: 1-12, 2026.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2026.778>

Encapsulinas: nanocompartimentos proteínicos versátiles para aplicaciones biotecnológicas y biomédicas

Juan Eduardo Pérez-Sánchez e Ismael Bustos-Jaimes*

Laboratorio de Fisicoquímica e Ingeniería de Proteínas, Departamento de Bioquímica, Facultad de Medicina, Ciudad Universitaria, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad # 3000, 04510, Alcaldía Coyoacán, Ciudad de México, México. E-mail: *ismaelb@unam.mx

RESUMEN

Las encapsulinas son nanocompartimentos proteínicos presentes en bacterias y arqueas, aíslan y concentran a las enzimas además de regular los procesos metabólicos intracelulares. Estas estructuras, con simetría icosaédrica, durante la evolución derivaron de cápsides virales, su ensamblaje es espontáneo y con elevada estabilidad térmica y química. Su capacidad para reconocer y encapsular a proteínas específicas mediante péptidos de direccionamiento y su facilidad para la manipulación genética, las convierte en estructuras versátiles con múltiples aplicaciones. En esta revisión se sintetiza el conocimiento actual sobre la biología, la estructura, la clasificación funcional de las encapsulinas y una visión actualizada de los estudios filogenéticos recientes. Se describen los mecanismos naturales de encapsulación, y las estrategias diseñadas para incorporar cargas heterólogas a través de la fusión genética o el ensamblaje postraduccional. Asimismo, se analizan los avances en ingeniería de poros y superficies que permiten personalizar el transporte molecular y la interacción con células blanco. Finalmente, se discuten sus aplicaciones en biocatálisis, diagnóstico, terapia dirigida, biosensado, almacenamiento intracelular, principales retos pendientes y las perspectivas para su implementación en sistemas biomédicos e industriales. En conjunto, las encapsulinas emergen como herramientas modulares de gran potencial en biotecnología y biología sintética.

Palabras clave: nanocompartimentos de encapsulina, compartmentalización proteínica, ingeniería de proteínas, biocatálisis, nanobiotecnología.

Encapsulins: versatile protein nanocompartments for biotechnological and biomedical applications

ABSTRACT

Encapsulins are protein nanocompartments found in bacteria and archaea that help with enzyme compartmentalization and control of internal metabolic processes. These icosahedral structures, which evolved from viral capsids, assemble naturally and are highly stable against heat and chemicals. Their ability to recognize and trap specific proteins through targeting peptides, along with their adaptability to genetic engineering, makes them useful for many applications. This review covers current knowledge about the biology, structure, and functional types of encapsulins, including new insights from recent phylogenetic studies. It explains how natural encapsulation works and describes engineered methods to load different cargos using genetic fusion or post-translational assembly. The review also discusses recent advancements in pore and surface engineering, which enable customized molecular transport and interactions with target cells. Lastly, it explores their uses in biocatalysis, diagnostics, targeted therapy, biosensing, and intracellular storage, along with the key challenges and future prospects for using encapsulins in biomedical and industrial fields. Overall, encapsulins show great promise as modular tools in biotechnology and synthetic biology.

Keywords: encapsulin nanocompartments, protein compartmentalization, protein engineering, biocatalysis, nanobiotechnology.

INTRODUCCIÓN

Las encapsulinas son nanocompartimentos proteínicos que se autoensamblan y se distribuyen en diversos grupos de bacterias y arqueas. Estas estructuras presentan una geometría icosaédrica conservada, albergan proteínas específicas en su interior con mecanismos de reconocimiento molecular mediados por péptidos de direccionamiento (Cassidy-Amstutz *et al.*, 2016; Altenburg, Rollins, Silver & Giessen, 2021). Su morfología recuerda a la de los virus con plegamiento tipo HK97, aunque su función está orientada a procesos metabólicos intracelulares no infecciosos (Sutter *et al.*, 2008; Nichols, Cassidy-Amstutz, Chaijarasphong & Savage, 2017; Giessen & Silver, 2017).

En la naturaleza, las encapsulinas participan en procesos de almacenamiento de iones Fe, en la regulación del estrés oxidativo y en la creación de compartimentos para enzimas, todo esto a fin de contribuir a la homeostasis celular (He *et al.*, 2016; Jones & Giessen, 2021). En años recientes, su estudio se intensificó por su interés biológico y su potencial de plataforma modular en biotecnología y biomedicina. Estas nanoestructuras ofrecen ventajas por su alta estabilidad térmica y química, posibilidad de modificación genética o química, y compatibilidad con sistemas de expresión heterólogos (Giessen & Silver, 2016; Lau, Giessen, Altenburg & Silver, 2018). A partir de estudios genómicos y estructurales está identificada una notable diversidad de sistemas encapsulina, con más de 900 variantes distribuidas en múltiples filos microbianos (Andreas & Giessen, 2021). Esta diversidad ocasionó propuestas de clasificación funcional que agrupan a las encapsulinas en distintos tipos según la estructura de su operón y el tipo de proteína que encapsulan, llamada “proteína cargamento” (McDowell & Hoiczyk, 2022; Giessen, 2024).

El objetivo de esta revisión es sintetizar el conocimiento actual sobre las encapsulinas, desde su origen evolutivo y características estructurales hasta los mecanismos de encapsulación natural y dirigida. Asimismo, se abordan los avances recientes en ingeniería de poros y superficie, y se discuten sus aplicaciones emergentes en áreas como la biocatálisis, el diagnóstico molecular, la terapia dirigida y el almacenamiento intracelular. Finalmente, se analizan los retos técnicos que aún persisten en su implementación y se plantean perspectivas para su integración en las plataformas biomédicas e industriales más sofisticadas.

ORIGEN, ESTRUCTURA Y CLASIFICACIÓN DE LAS ENCAPSULINAS

Origen y distribución evolutiva

Las encapsulinas son sistemas con compartimentos intracelulares presentes en bacterias y arqueas, participan en la regulación del metabolismo celular por confinamiento de las proteínas funcionales. Su amplia distribución filogenética en géneros ambientales, comensales y patógenos, sugiere que

estos nanocompartimentos constituyen una estrategia evolutiva muy bien conservada (Nichols *et al.*, 2017). En estudios genómicos de alta resolución, hay identificadas más de 900 sistemas de encapsulina distintos (McDowell & Hoiczyk, 2022; Giessen, 2024).

Estructuralmente, las encapsulinas presentan un plegamiento proteínico tipo HK97, característico de las cápsides virales, como la del bacteriófago Hong Kong 97 del que toma su nombre, aunque también se encuentra en las cápsides de virus de arqueas y en el virus de herpes (Sutter *et al.*, 2008). Sin embargo, las encapsulinas no participan en procesos infecciosos ni en la transferencia genética, están adaptadas para alojar enzimas o proteínas especializadas, con función de orgánulos procariotas (Nichols *et al.*, 2017). Esta convergencia estructural refleja una adaptación evolutiva, en la que las bacterias reutilizaron formas virales para el control de las funciones metabólicas internas (Andreas & Giessen, 2021).

En ciertos casos, en las bacterias patógenas *Klebsiella pneumoniae* o *Mycobacterium tuberculosis*, las encapsulinas podrían influir en la virulencia a través de mecanismos de detoxificación o almacenamiento de hierro, lo que amplía su relevancia más allá del metabolismo básico (Jones, Andreas & Giessen, 2024; Sigmund *et al.*, 2018).

Morfología estructural

La coraza de las encapsulinas está formada por subunidades proteínicas también denominadas encapsulinas, EncA, de ensamblaje espontáneo en estructuras icosaédricas muy estables. Estos compartimentos adoptan diferentes simetrías triangulares (T), y acorde al número de subunidades generan especies de distintos diámetros: T=1 (60 subunidades, ~24 nm), T=3 (180 subunidades, ~32 nm) y T=4 (240 subunidades, ~42 nm), (Giessen, 2024). Todos los compartimentos icosaédricos tienen 12 vértices, formados por un pentámero de monómeros de encapsulina. En el caso de las encapsulinas con T=1, sus 60 subunidades provienen de los 12 pentámeros. En contraste, las encapsulinas con números T=3 o T=4, además de conservar los 12 pentámeros que forman los vértices, contienen 20 o 30 hexámeros del mismo monómero, respectivamente (Figura 1A). La disposición geométrica de las subunidades genera una coraza cerrada, con poros en los ejes de simetría 2, 3 y 5 que permiten el intercambio controlado de pequeñas moléculas y cofactores entre el lumen y el citoplasma bacteriano (Adamson *et al.*, 2022). La Figura 1B ilustra una encapsulina T=3 (PDB 4PT2), se resalta su organización simétrica y la localización de los poros principales. Estudios por Cryo-EM revelaron que ciertas familias de encapsulinas presentan poros más grandes con carga electrostática que influye en la permeabilidad selectiva y en la eficiencia catalítica de sus proteínas cargamento (Giessen, 2024; Altenburg *et al.*, 2021).

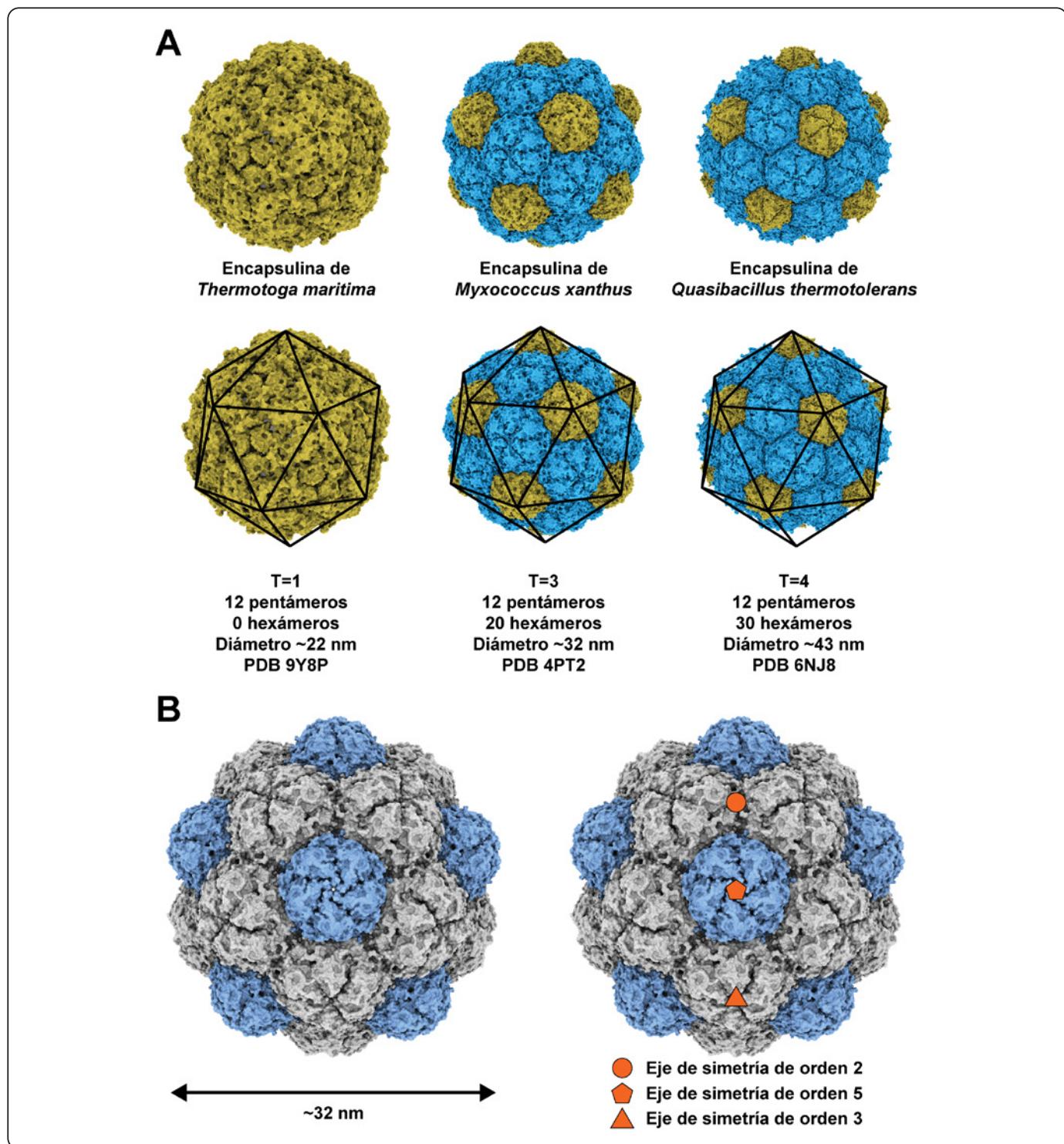


Figura 1. Estructura general de un nanocompartimento de encapsulina. A) Estructura icosaédrica de las encapsulinas. El número de subunidades está asociado a su número de triangulación (T). En el caso de las encapsulinas T=1, las 60 subunidades forman 12 pentámeros que constituyen el total de la encapsulina; en las encapsulinas con T=3, se conservan los 12 pentámeros y, además, existen 20 hexámeros que los separan; en las encapsulinas con T=4, se conservan los 12 pentámeros y estos están separados por 30 hexámeros. La inserción de hexámeros provoca un aumento significativo del tamaño de los icosaedros. B) Representación tridimensional de la estructura icosaédrica de la encapsulina de *M. xanthus* (PDB 4PT2), con simetría T=3 (~32 nm de diámetro), formada por 180 subunidades del monómero EncA, organizadas en un patrón hexagonal-pentagonal. A la derecha se indica la ubicación de los poros principales en los ejes de simetría 2, 3 y 5. Figura Creatividad personal.

Además de las corazas clásicas similares a cápsides virales, se han descrito varias estructuras con dominios accesorios que devienen en regiones de unión a cofactores (MBD, *Metal-Binding Domain*), o dominios de unión a nucleótidos cíclicos (CBD, *Cyclic nucleotide-Binding Domain*) y los bucles de la superficie que permiten inserciones funcionales sin comprometer el ensamblaje (Andreas & Giessen, 2021; Michel-Souzy, Hamelmann, Zarzuela-Pura, Paulusse & Cornelissen, 2021). Estas modificaciones les confieren propiedades específicas, como la afinidad por metales, la dirección intracelular o la respuesta a estímulos externos.

En la Figura 2 se observa una superposición de los monómeros de encapsulina que resalta la conservación del plegamiento entre proteínas que forman los nanocompartimentos con distinto número de triangulación, T=1, T=3 y T=4. Los elementos estructurales conservados son el dominio axial (A), el dominio periférico (P) formado por los residuos de

la región N-terminal de la proteína y que contiene una larga hélice alfa característica (hélice N), y el bucle extendido, o bucle E. Mientras que los dominios A y P están claramente conservados entre los tres tipos de monómeros, el giro de aproximadamente 60–90° del bucle E parece ser la clave para que estas proteínas se acomoden en conjuntos de 60, 180 o 240 monómeros, y den origen a la diversidad de tamaños de estos complejos supramoleculares (Wiryaman & Toor, 2022).

Clasificación funcional

La creciente diversidad de sistemas de encapsulina dio lugar a esquemas de clasificación más complejos que integran análisis filogenéticos, estructurales y funcionales. Si bien en un inicio se agruparon en tipos I, II y III acorde a la organización del operón y el tipo de cargamento (Giessen & Silver, 2016), estudios recientes proponen una clasificación detallada de cinco familias funcionales (Andreas & Giessen, 2021):

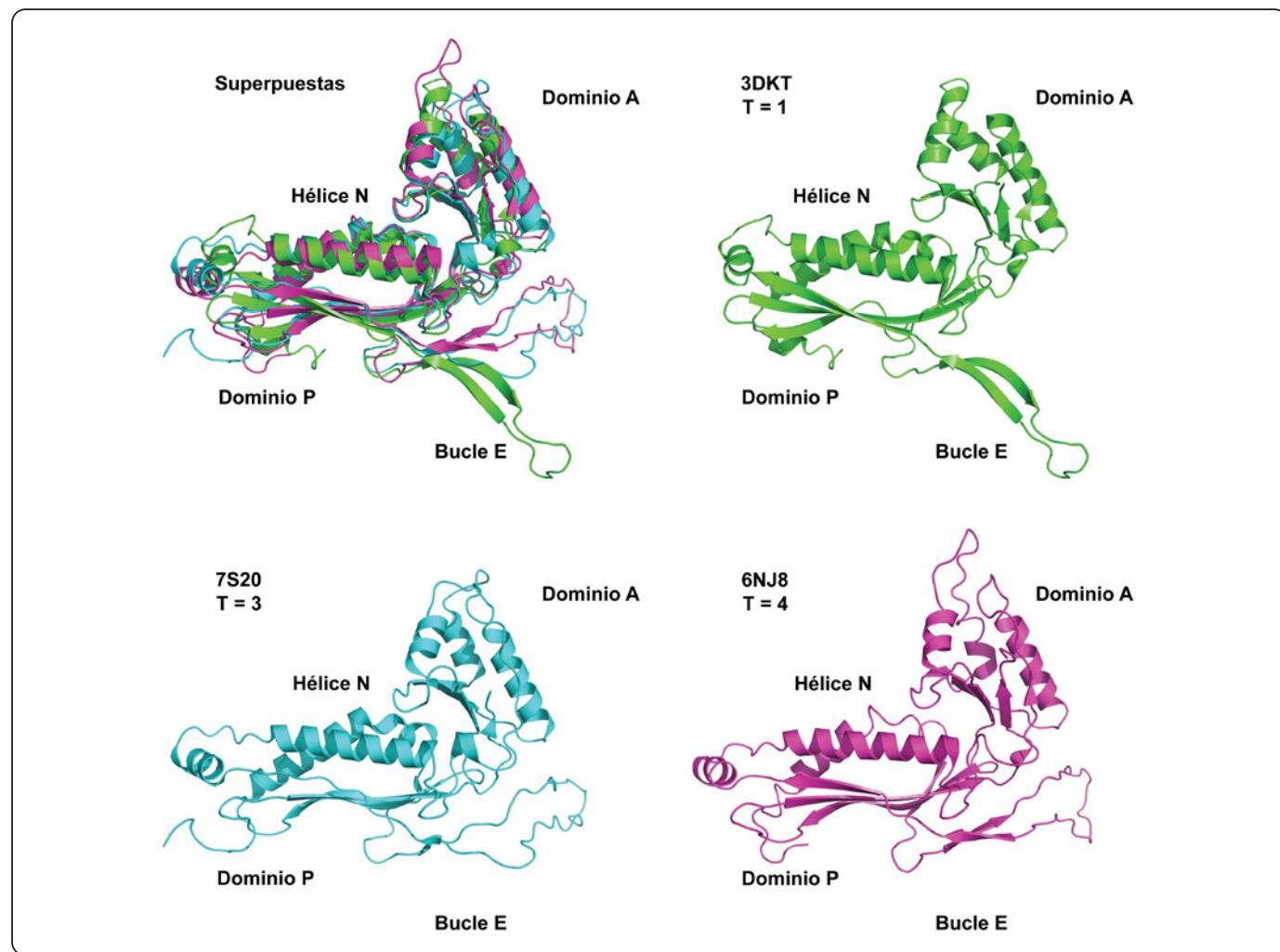


Figura 2. Superposición y estructura individual de los monómeros de las encapsulinas de distintas especies. Representación en caricatura de las encapsulinas de *T. maritima* (PDB 3DKT), *M. xanthus* (PDB 7S20) y *Q. thermotolerans* (PDB 6NJ8). Figura Creatividad personal.

Familia 1: Presente en los microorganismos aerobios y anaerobios; contiene proteínas con actividad de ferroxidasa, como la EncFtn. Participa en el secuestro y almacenamiento de hierro, así como en la protección frente al estrés oxidativo (He *et al.*, 2016).

Familia 2A: Encapsula a proteínas con actividad redox, como peroxidases o desulfuras. Las corazas muestran una organización más compacta y poros de tamaño reducido en el eje de simetría de orden dos ($\sim 9 \times 6 \text{ \AA}$).

Familia 2B: Similar a 2A, pero en algunos casos presenta poros más amplios en el eje de simetría de orden dos ($\sim 50 \times 10 \text{ \AA}$) y cargas asociadas a rutas de alivio del estrés oxidativo o a procesos metabólicos del nitrógeno.

Familia 3: Asociada a rutas biosintéticas complejas y a la producción de metabolitos secundarios como antibióticos y pigmentos. Su operón suele incluir múltiples genes accesorios.

Familia 4: Intuye sistemas no canónicos formados únicamente por el dominio A, con cargamientos poco caracterizados. Algunas de estas encapsulinas están asociadas a proteínas estructurales o de función desconocida.

Cada familia presenta diferencias en la estructura del operón, el tipo y la cantidad de proteínas accesorias, la geometría capsular y el mecanismo de regulación transcripcional. La Tabla I resume estas características distintivas, organismos representativos, tipo de cápside, proteínas cargamento y función propuesta. Este sistema de clasificación permite no solo una mejor comprensión de la diversidad funcional de las encapsulinas, sino también la identificación de nuevos sistemas con potencial para aplicaciones en bioingeniería aún no exploradas (Nichols *et al.*, 2021; Giessen, 2024).

Carga molecular: mecanismos de encapsulación natural y dirigido

Una de las propiedades más relevantes de las encapsulinas es la de albergar proteínas específicas en su lumen mediante mecanismos altamente selectivos y organizados. Esta función, que en condiciones naturales está orientada a la compartimentalización de enzimas clave del metabolismo celular, también se aprovecha en sistemas diseñados con fines terapéuticos, catalíticos o de diagnóstico (Giessen & Silver, 2016; Lau *et al.*, 2018).

Mecanismo natural de encapsulación

En los sistemas silvestres, las proteínas cargadas son reconocidas por una secuencia corta denominada péptido de cargamento

Tabla I. Clasificación funcional y estructural de las encapsulinas según su estructura y tipo de carga.

Familia	Características estructurales	Tipo de cápside (T)	Proteínas cargamento-predominantes	Mecanismo de encapsulación	Organismos representativos	Función general propuesta
1	Contienen hélice N, dominios A y P, y bucle E; sitio de unión al CLP conservado entre la hélice N y el dominio P	T=1 T=3 T=4	Ferritininas, peroxidases DyP, Flp	Péptido de cargamento C-terminal (CLP, 10-20 aa)	<i>Myxococcus xanthus</i> , <i>Thermotoga maritima</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Homeostasis de metales, protección frente a ROS
2A	Contienen hélice N extendida, sin dominios insertados	T=1	Desulfurasa, flavoproteínas	Dominio desordenado N-terminal (20–260 residuos)	<i>Synechococcus elongatus</i> , <i>Mycobacterium smegmatis</i>	Reacciones redox, desulfuración
2B	Igual a 2A, pero con dominios CBD y MBD insertados en el bucle E	T=1	Oxidorreductasas variadas	Dominio N-terminal largo, encapsulación sin CLP clásico	<i>Mycobacterium tuberculosis</i> , <i>Streptomyces</i> sp.	Detoxificación y funciones metabólicas especializadas
3	Se carece de datos estructurales; con dominios helicoidiales predichos en la coraza	Desconocido	Enzimas biosintéticas asociadas a clústeres BGC	Mecanismo desconocido, sin CLP claro	<i>Actinomycetota</i> , <i>Myxococcota</i>	Síntesis de metabolitos secundarios
4	Versión truncada del pliegue tipo HK97, sólo con dominio A; estructura fragmentada	Desconocido	Desconocidas (sin validación experimental)	Mecanismo desconocido	<i>Euryarchaeota</i> , <i>Bacteroidota</i>	Potencial estructural o vestigial

(CLP, *Cargo-Loading Peptide*) o péptido de direccionamiento (TP, *Targeting Peptide*), en general localizado en el extremo C-terminal y con un aproximado de 10 a 20 aminoácidos, interactúa con una hendidura específica en la cara interna de la cápside formada en cada monómero (Cassidy-Amstutz *et al.*, 2016; Altenburg *et al.*, 2021). La interacción CLP–EncA es suficiente para guiar la incorporación de la carga durante el ensamblaje espontáneo del compartimento proteínico.

Estudios estructurales de alta resolución demostraron que esta interacción se basa en fuerzas iónicas e hidrofóbicas específicas, con una notable conservación entre especies (Jones *et al.*, 2024). La orientación y el número de proteínas cargadas son constantes en cada sistema, lo que sugiere la existencia de mecanismos de control estérico durante la formación de la partícula. Las proteínas cargo-típicas en la naturaleza incluyen ferritinas (EncFtn), peroxidasa, desulfuras y proteínas relacionadas con la detoxificación de metales o especies de oxígeno reactivas (He *et al.*, 2016; Nichols *et al.*, 2021).

Encapsulación dirigida

La versatilidad del sistema de carga se ha aprovechado para encapsular proteínas heterólogas mediante la fusión genética de un CLP con la proteína de interés. Esta estrategia permite cargar enzimas, fluoróforos, biosensores y complejos multienzimáticos funcionales en encapsulinas expresadas, ya sea en *Escherichia coli*, en células eucariotas e incluso en sistemas libres de células, a partir de proteínas purificadas (Sigmund *et al.*, 2018; Lau *et al.*, 2018).

Además del CLP, el desarrollo de métodos alternativos para el empaquetamiento, como el uso de inteínas divididas o de secuencias de anclaje postraduccional, permite introducir proteínas sin necesidad de modificar genéticamente su secuencia (Helalat, Téllez, Dezfouli & Sun, 2024). Las inteínas son fragmentos de proteína que se encuentran insertados dentro de otras proteínas (exteínas) y se autoeliminan espontáneamente en un proceso llamado empalme de proteínas, y ocurre sin la necesidad de cofactores o enzimas externas. Estas estrategias ortogonales amplían la aplicación de las encapsulinas en sistemas híbridos de carga múltiple o con control externo de liberación.

Un avance notable en esta área es la capacidad de cargar, de forma simultánea, múltiples proteínas al utilizar CLPs con diferentes especificidades o al controlar la estequiometría de expresión. Esto permite el diseño de nanorreactores que ejecutan reacciones en cascada, con una eficiencia superior a la de los sistemas libres en solución (Jones & Giessen, 2021; Sigmund *et al.*, 2018).

Por otro lado, estudios recientes muestran que ciertos nanocompartimentos de encapsulina son desensamblados y reensamblados *in vitro* en condiciones controladas de pH y fuerza iónica, lo que permite incorporar proteínas exógenas

sin requerir fusión genética y ofrecer una vía alternativa de encapsulación postensamblaje (Boyton, Goodchild, Diaz, Elbourne, Collins-Praino & Care, 2021). La Figura 3 ilustra al CLP unido a la cara interna del nanocompartimento de encapsulina de *M. xanthus* y la región de reconocimiento selectivo de la coraza.

Ingeniería de poros y superficie

La estructura modular y la tolerancia a las modificaciones genéticas han convertido a las encapsulinas en plataformas atractivas para la ingeniería molecular. Entre las estrategias más empleadas se encuentran la modificación de los poros para controlar la permeabilidad del compartimento y la funcionalización de la superficie externa, que permite dirigir las cápsides hacia blancos específicos o anclar elementos bioactivos. Estas modificaciones amplían su utilidad en la biocatálisis, la entrega terapéutica y el diagnóstico avanzado (Giessen, 2016; Van de Steen *et al.*, 2021).

Ingeniería de poros

Los poros presentes en las corazas de la encapsulina se localizan en los ejes de simetría 5, 3 y 2 (Figura 1) y permiten el intercambio selectivo de metabolitos, iones y cofactores. Estos canales están formados por regiones flexibles de la subunidad EncA, lo que los hace susceptibles a la ingeniería racional mediante mutagénesis dirigida (Adamson *et al.*, 2022). En diversos estudios se observa la modificación de residuos en el canal pentamérico con un aumento del diámetro del poro, un cambio de polaridad o la introducción de cargas específicas. Estas alteraciones influyen directamente en la selectividad del compartimento y en la cinética de las reacciones catalizadas en el interior de la encapsulina, lo que afecta tanto la entrada de sustratos como la salida de productos (Nichols *et al.*, 2021).

Por ejemplo, en las encapsulinas modificadas para albergar rutas metabólicas en cascada, el diseño del poro es fundamental para optimizar el flujo molecular y evitar la acumulación de intermediarios reactivos (Jones & Giessen, 2021). También se han diseñado encapsulinas con poros redox-sensibles o activables por pH, lo que permite un control dinámico del transporte molecular en función del entorno (Díaz, Vidal, Sunna & Care, 2021). La Figura 4 compara la morfología de la encapsulina silvestre de *M. xanthus* (PDB 8JVO) con una variante de poros más amplios (PDB 9B9Q), y se ilustran los cambios en el tamaño de los poros realizados con ingeniería.

Modificación de la superficie externa

La superficie externa de las corazas de encapsulina constituyen un sitio accesible para la ingeniería de proteínas. Se han introducido secuencias peptídicas, etiquetas proteínicas o dominios funcionales sin comprometer el ensamblaje o la integridad estructural del compartimento (Giessen & Silver, 2016; Sigmund *et al.*, 2018). Entre las modificaciones más comunes se encuentran:

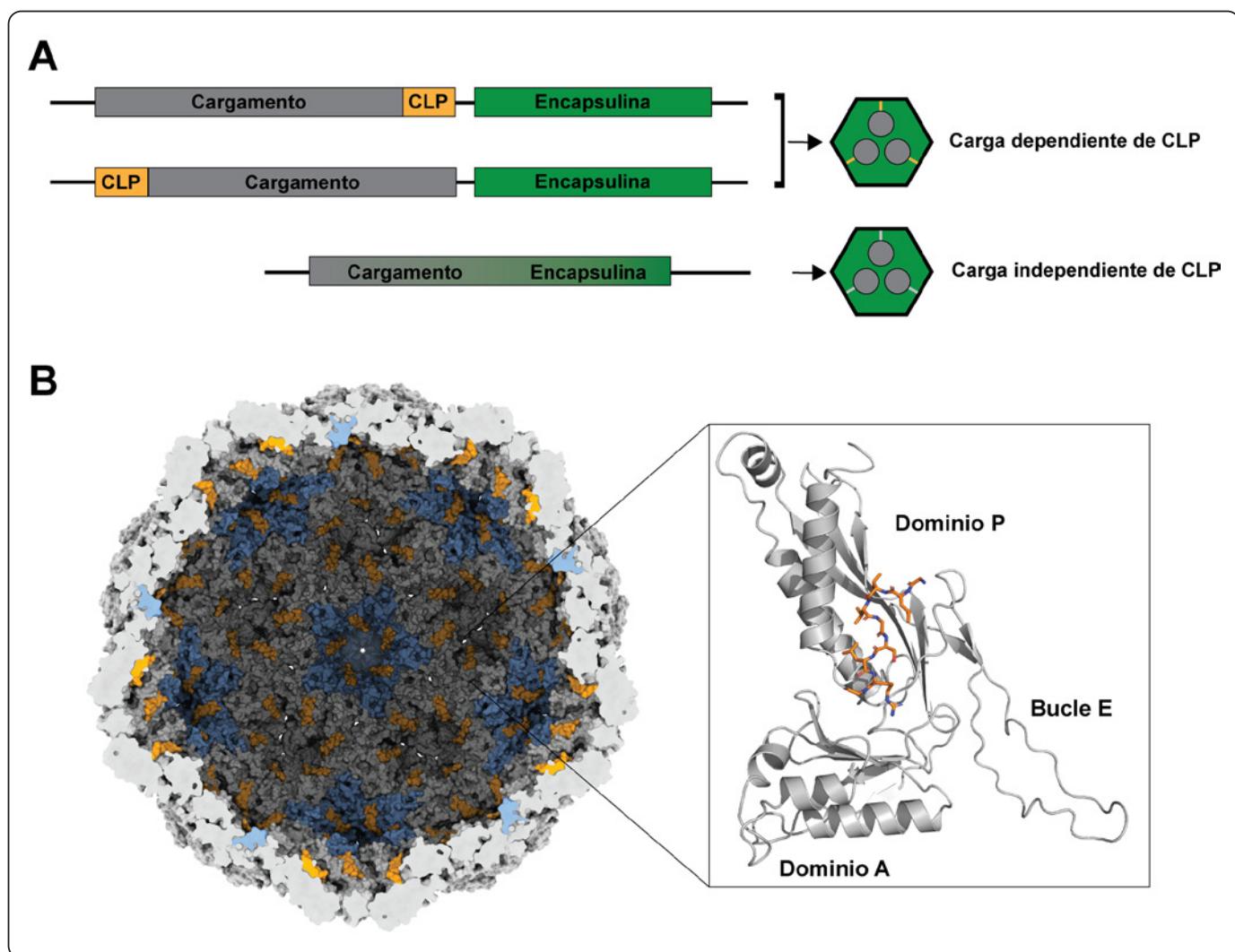


Figura 3. Modos de interacción entre el CLP y las superficies internas de los nanocompartimentos de encapsulina y del monómero de encapsulina. A) Organización de los genes de las proteínas encapsulinas y de sus cargamentos. El CLP está codificado en el extremo N- o C-terminal de la proteína carga (amarillo), como en los dos primeros ejemplos de los operones, produciendo un encapsulamiento dependiente de CLP. En los casos en que la proteína encapsulina y su carga están fusionados, la encapsulación es independiente del CLP (parte inferior). **B)** Corte de la encapsulina de *M. xanthus* (PDB 8VJO), con las subunidades en grises y azules y el CLP en naranja. En el recuadro se observa la unión individual del CLP a un monómero de la encapsulina, en un costado de la hélice N, localizada en el dominio P. Figura Creatividad personal.

Inserción de etiquetas de afinidad (His-tag, Strep-tag) para purificación o inmovilización (Michel-Souzy *et al.*, 2021).

Fusión de péptidos de direccionamiento celular, como RGD o TAT, para entrega dirigida (Van de Steen *et al.*, 2021).

Anclaje de fluoróforos o sondas para rastreo óptico y de diagnóstico (Lau *et al.*, 2018).

Uso de sistemas modulares como SpyTag/SpyCatcher o sortasa A para el ensamblaje postraduccional de los componentes funcionales (Helalat *et al.*, 2024; Gómez-Barrera Delgado-

Tapia, Hernández-Gutiérrez, Cayetano-Cruz, Méndez & Bustos-Jaimes, 2025).

Estas estrategias permiten no solo modificar la interacción de los nanocompartimentos con el entorno biológico, sino también diseñar nanotransportadores inteligentes capaces de liberar su carga en respuesta a los estímulos externos como cambios de pH, cambios de potencial redox o presencia de luz visible (Díaz *et al.*, 2021). En conjunto, la ingeniería de poros y superficies convierte a las encapsulinas en plataformas adaptables a diferentes requerimientos funcionales sin comprometer su ensamblaje, estabilidad o biocompatibilidad.

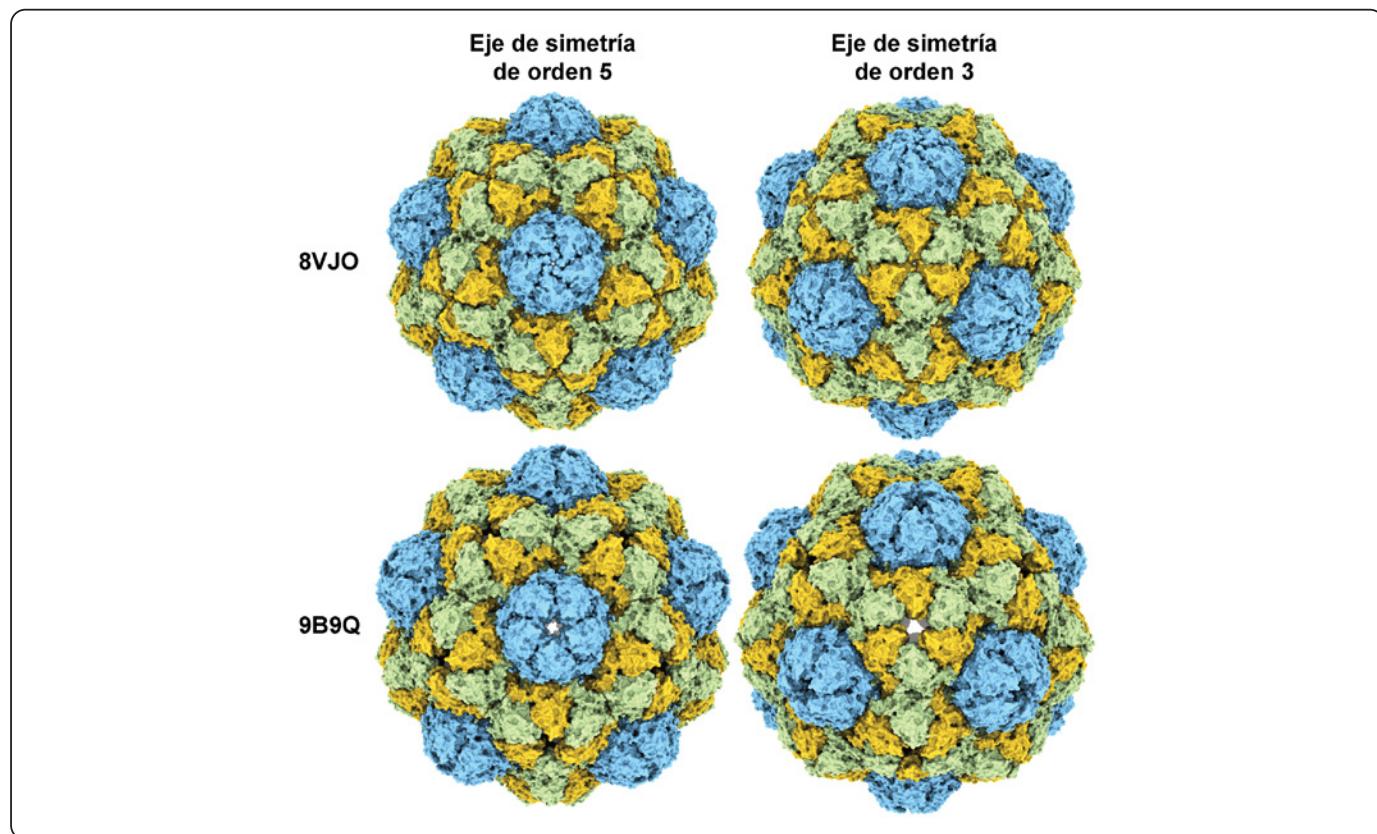


Figura 4. Comparación estructural entre la encapsulina silvestre de *M. xanthus* (PDB 8VJO) y una variante con los poros ampliados (PDB 9B9Q). Imagen comparativa del efecto de las delecciones en el asa que forma tanto los poros de simetría del eje de orden 5 como los del eje de orden 3, con un aumento evidente en el diámetro de estos. Figura Creatividad personal.

Aplicaciones biotecnológicas y biomédicas

El diseño modular, la estabilidad estructural y la capacidad de encapsulación específica posicionan a las encapsulinas como plataformas versátiles para distintas aplicaciones científicas. A través de la ingeniería de carga y superficie, estas nanoestructuras han demostrado utilidad en áreas como la de biocatálisis, la entrega dirigida de agentes terapéuticos, el desarrollo de biosensores y el almacenamiento intracelular de compuestos reactivos o metálicos (Jones & Giessen, 2021; Nichols *et al.*, 2021). La Figura 5 resume de manera esquemática las principales aplicaciones de las encapsulinas exploradas hasta ahora, así como las líneas de desarrollo en curso.

Biocatálisis y síntesis química

Las encapsulinas se utilizan como biorreactores capaces de albergar enzimas activas o cascadas multienzimáticas. Los compartimentos protegen a las enzimas del ambiente citoplasmático, mejoran su estabilidad y reducen la interferencia con otras rutas metabólicas (Giessen & Silver, 2016). Además, la proximidad física entre las enzimas encapsuladas favorece las reacciones en cadena e incrementa la eficiencia catalítica general (Sigmund *et al.*, 2018).

Existen sistemas capaces de transformar sustratos de manera secuencial en un solo nanocompartimento, a través de estrategias de carga múltiple mediadas por péptidos de direccionamiento diferenciados o por diseño de ensamblaje dirigido (Jones & Giessen, 2021; Lau *et al.*, 2018). Estas configuraciones son aplicadas en la producción de metabolitos de alto valor, en la enzimología sintética y en la síntesis sostenible bajo condiciones controladas (Adamson *et al.*, 2022).

Diagnóstico y terapia dirigida

Los estudios del potencial terapéutico de las encapsulinas refieren principalmente a la liberación específica de fármacos o enzimas citotóxicas. Su capacidad para transportar agentes activos protegidos por un contenedor estable, combinada con la posibilidad de funcionalizar su superficie con péptidos de reconocimiento celular las convierte en sistemas prometedores para una terapia dirigida (Van de Steen *et al.*, 2021). Se han diseñado encapsulinas que contienen generadores de especies reactivas de oxígeno (ROS), como la *miniSOG* (*mini Singlet Oxygen Generator*), una flavoproteína fluorescente de solo 106 residuos, derivada de la fototropina 2 de *Arabidopsis thaliana*, que puede activarse con luz visible para provocar la

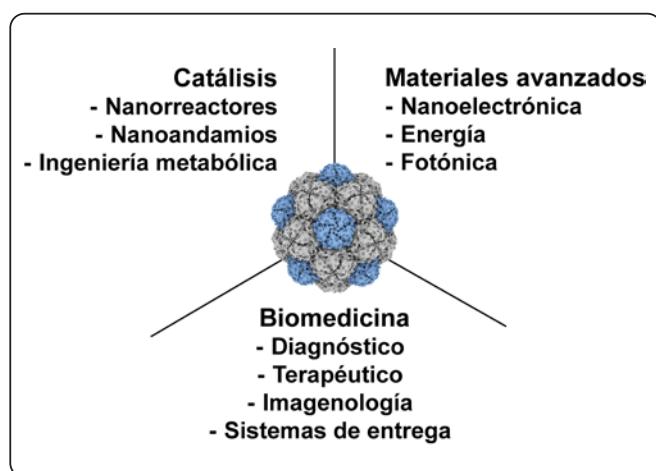


Figura 5. Aplicaciones potenciales de las encapsulinas. Esquema conceptual que resume los principales usos biotecnológicos y biomédicos de estas nanoestructuras: catálisis, diseño de nanomateriales avanzados y aplicaciones en medicina. Figura Creatividad personal.

muerte celular selectiva, abriendo la posibilidad de desarrollar una terapia fotodinámica (Díaz *et al.*, 2021). Otros estudios demostraron que la fusión de pequeños péptidos, como RGD, en la superficie permite la entrada selectiva a las células tumorales, donde los nanocompartimentos liberan proteínas encapsuladas con función apoptótica (Sigmund *et al.*, 2018). También estas partículas, pueden producirse en sistemas eucariotas, incluidas las células de los mamíferos, conservando su integridad estructural y su capacidad de carga, lo que amplía sus aplicaciones hacia la terapia génica, la vacunología y el desarrollo de organelos sintéticos (Lau *et al.*, 2018; Kwon & Giessen, 2022).

Biosensores y almacenamiento intracelular

La incorporación de las enzimas oxidoreductasas, como peroxidasa, lactato oxidasa o citocromos, permite el diseño de biosensores encapsulados, que detectan metabolitos o especies redox en medios complejos, con mayor estabilidad y capacidad de reutilización que sus equivalentes libres (McDowell & Hoiczyk, 2022). Por otra parte, son contenedores intracelulares que almacenan metales, como hierro, cobre o manganeso, acción validada en varios modelos microbianos. En estos sistemas, la coraza de la encapsulina es un reservorio seguro, evita la acumulación libre de metales para que no se genere estrés oxidativo o toxicidad (He *et al.*, 2016; Giessen, 2016). En algunos casos, como en la encapsulina de *Rhodospirillum rubrum*, contiene ferritinas de una subfamilia específica que siempre está encapsulada (EncFtn), que almacena miles de átomos de hierro por cada partícula de encapsulina, su función es análoga a una ferritina bacteriana, pero con mayor capacidad de retención y compartmentalización (He *et al.*,

2016). La Tabla II resume ejemplos recientes de sistemas de encapsulina modificados experimentalmente, indicando el tipo de encapsulina, la carga empleada, la estrategia de ingeniería aplicada y su aplicación demostrada.

Perspectivas futuras y retos por resolver

Apesar de los avances significativos en el estudio y la aplicación de las encapsulinas, aún persisten diversos retos científicos y tecnológicos que limitan su aprovechamiento pleno como herramientas de bioingeniería. Resolver estas limitaciones permitirá expandir su uso en aplicaciones más sofisticadas, desde nanomedicina hasta sistemas de síntesis artificial altamente controlados.

Comprensión del ensamblaje y de la carga específica

Aunque el reconocimiento mediado por péptidos de direccionamiento ha sido ampliamente documentado, aún falta comprender en detalle cómo se regulan la especificidad y la eficiencia de la encapsulación, en especial al introducir cargas heterólogas. Estudios estructurales recientes revelaron que el CLP se acopla a un bolsillo específico en la coraza, pero también sugirieron que la disposición espacial, la afinidad relativa y la estequiometría influyen en la eficiencia del ensamblaje (Altenburg *et al.*, 2021; Jones *et al.*, 2024). El diseño racional de nuevos CLPs con propiedades modulables, así como el análisis de la cinética de ensamblaje en presencia de múltiples cargas, representan áreas de desarrollo prometedoras para lograr una encapsulación más controlada y predecible (Cassidy-Amstutz *et al.*, 2016).

Limitaciones en la manipulación genética y la expresión heteróloga

La producción eficiente de encapsulinas funcionales en sistemas heterólogos sigue siendo un reto, en particular cuando se busca expresar simultáneamente a la proteína de coraza y a las múltiples cargas. En cuanto a los problemas de bajo rendimiento, ensamblaje incompleto o toxicidad celular, se sugiere que se deben al tipo de hospedero y al equilibrio entre los componentes expresados (Giessen & Silver, 2016; Nichols *et al.*, 2021).

El uso de sistemas de expresión inducible, la codificación en operones sintéticos optimizados y las técnicas de ensamblaje postraduccional (como las inteínas o la sortasa A) mejoraría la eficiencia y reducirían las interferencias funcionales. Asimismo, los avances en la edición genómica y la biología sintética permitirán desarrollar cepas celulares diseñadas para ensamblar encapsulinas con cargas funcionales complejas (Helalat *et al.*, 2024).

Interacción con sistemas eucariotas

Aunque se ha demostrado que las encapsulinas pueden ser ensambladas y funcionales en células eucariotas, aún es necesario entender mejor su dinámica intracelular, su

Tabla II. Encapsulinas modificadas: ejemplos en aplicaciones sintéticas. Resumen de estudios recientes que emplearon encapsulinas como nanocompartimentos diseñados, en detalle el sistema de expresión utilizado, el tipo de proteína cargamento encapsulada, las modificaciones aplicadas y su propósito en contextos biotecnológicos o biomédicos.

Sistema de encapsulina	Proteína cargo	Tipo de modificación	Sistema de expresión	Aplicación demostrada	Referencias
<i>M. xanthus</i>	sfGFP-CLP	Modificación de asa 155–159 y C-terminal con SpyTag	<i>E. coli</i>	Entrega dirigida de proteínas a células hepáticas	Gómez-Barrera <i>et al.</i> , 2025
<i>K. pneumoniae</i>	Peroxidasa tipo DyP	Optimización de interacción CLP	<i>E. coli</i>	Caracterización estructural de interacción TP-cápside	Jones <i>et al.</i> , 2024
<i>M. xanthus</i>	NanoLuc, AdhD, PTDH	Expansión de poro pentamérico	<i>E. coli</i>	Reciclaje de NADH y nanorreactores multienzimáticos	Kwon, Andreas & Giessen, 2024
<i>M. xanthus</i>	Piridoxina 4-oxidasa	Expansión de poro pentamérico	<i>E. coli</i>	Aumento de transporte de sustratos. Producción de H ₂ O ₂	Pérez-Sánchez & Bustos-Jaimes, 2025
<i>T. maritima</i>	sfGFP	Inserción de asas en los residuos 64 y 127, fusión de PepC7	<i>E. coli</i>	Entrega celular dirigida a bEnd.3	Michel-Souzy <i>et al.</i> , 2021
<i>T. maritima</i>	miniSOG	Decoración con DARPin y CLP	<i>E. coli</i>	Terapia dirigida en células HER2+	Van de Steen <i>et al.</i> , 2021
<i>T. maritima</i>	GCaMP	Mutación de asa 184–189	<i>E. coli</i>	Aumento de transporte molecular y difusión de iones	Williams, Jung, Coffman & Lutz, 2018
<i>M. xanthus</i>	eGFP y Split_Broccoli RNA	Fusión con Dps-N y CLP	<i>E. coli</i>	Carga dual de RNA y proteína para co-entrega intracelular	Kwon & Giessen, 2022
<i>T. maritima</i>	sfGFP	Fusión con CLPs derivados de FLP (30, 15, 5 aa)	<i>E. coli</i>	Encapsulación eficiente con TP mínimos	Cassidy-Amstutz <i>et al.</i> , 2016
<i>Q. thermotolerans</i>	GFP / anti-CD3 scFv	Sortasa A + Tev para modificación post-traducción	<i>E. coli</i>	Modificación interna y externa para fluorescencia y direccionamiento celular	Helalat <i>et al.</i> , 2024
<i>T. maritima</i>	NanoLuc, eGFP, miniSOG	Split intein + SpyTag/ SpyCatcher	<i>E. coli</i>	Decoración modular y formación de estructuras LbL	Choi, Eom, Kim, Bae, Jung & Kang, 2021
<i>T. maritima</i>	miniSOG	Inserción de señal de encapsulación en C-terminal	<i>E. coli</i>	Producción de ROS por luz azul para terapia fotodinámica	Díaz <i>et al.</i> , 2021
<i>T. maritima</i>	LigM y DHFR	Decoración con SpyCatcher y CLP; ingeniería de poros	<i>E. coli</i>	Catálisis secuencial en metabolón artificial	Jenkins & Lutz, 2021
<i>M. xanthus</i>	Tyrosinasa; EncB/C/D (topo-ferritina)	Expresión en células de mamífero; etiquetas FLAG y StrepTagII	<i>HEK293T</i> (eucariota)	Contraste óptico, optoacústico y por RM en células de mamíferos	Sigmund <i>et al.</i> , 2018
<i>M. xanthus</i>	eGFP, miniSOG, mCherry	Expresión heteróloga en levadura; carga con CLP	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Formación de orgánulos sintéticos funcionales en eucariotas	Lau <i>et al.</i> , 2018

biocompatibilidad y sus rutas de tráfico subcelular. Aspectos como la estabilidad en el entorno citoplasmático, la interacción con los orgánulos y la capacidad de escapar de las rutas de degradación condicionan su uso como organelos sintéticos o vehículos terapéuticos (Lau *et al.*, 2018; Kwon & Giessen, 2022). Además, el diseño de superficies capaces de dirigir la localización subcelular precisa (por ejemplo, al núcleo, mitocondria o endosomas) sigue siendo un desafío técnico que requiere nuevas estrategias de direccionamiento y validación funcional en modelos animales.

Expansión del repertorio funcional y sintético

Uno de los horizontes más ambiciosos es la creación de encapsulinas completamente rediseñadas con ingeniería de proteínas, evolución dirigida o diseño *de novo*. Estas encapsulinas se adaptarían para alojar nuevas funciones, como circuitos sintéticos, sensores moleculares, rutas metabólicas artificiales o elementos de memoria celular (Giessen, 2016). En paralelo, el estudio de variantes naturales poco conocidas revelaría las propiedades aún no utilizadas, como la de la permeabilidad diferencial y el ensamblaje en condiciones extremas. Herramientas de modelado estructural asistido por inteligencia artificial, el cribado genómico y la bioinformática evolutiva tendrían un papel clave en esta expansión funcional (Nichols *et al.*, 2021; Giessen, 2024).

CONCLUSIONES

Las encapsulinas representan un ejemplo notable de compartimentos funcionales en organismos procariotas, en combinación con una morfología altamente conservada, con una diversidad sorprendente en su organización genética y funciones biológicas. Su capacidad para albergar proteínas específicas mediante mecanismos precisos de direccionamiento, gran resistencia estructural y tolerancia a las modificaciones genéticas, consolidan su posición como plataformas versátiles en el campo de la biotecnología y la biomedicina.

El avance en el conocimiento de sus características estructurales, impulsado por técnicas como la cristalográfica y la microscopía crioelectrónica, permite comprender los principios de ensamblaje capsular y las propiedades fisico-químicas de sus poros. A partir de esta base, la ingeniería racional de encapsulinas ha dado lugar a nanocompartimentos personalizados, capaces de encapsular múltiples proteínas, modificar su permeabilidad o dirigirse a entornos celulares específicos. Estas herramientas se han aplicado con éxito en la biocatálisis confinada, el biosensado, la entrega terapéutica y el diseño de organelos sintéticos, con resultados prometedores tanto *in vitro* como en sistemas celulares eucariotas. No obstante, su implementación a gran escala aún enfrenta desafíos importantes en el control fino de la encapsulación múltiple, la expresión eficiente en sistemas heterólogos, la interacción con organelos eucariotas y la integración funcional en circuitos moleculares más complejos. Superar estas barreras requiere

una aproximación interdisciplinaria que combine biología estructural, ingeniería genética, diseño computacional y validación funcional en modelos aplicados.

En conjunto, las encapsulinas ofrecen un marco natural poderoso sobre el cual construir soluciones innovadoras en ciencia básica, medicina y tecnología. Su potencial para convertirse en elementos centrales de plataformas de bioingeniería molecular de nueva generación dependerá de nuestra capacidad para comprenderlas y rediseñarlas con precisión, aprovechando su origen evolutivo y su flexibilidad sintética.

AGRADECIMIENTOS

Se agradece el apoyo financiero de la DGAPA-UNAM a través de los proyectos IN210022 e IN200325. José Eduardo Pérez Sánchez agradece a CONAHCyT la beca para estudios doctorales (número de apoyo 777434).

REFERENCIAS

- Adamson, L. S. R., Tasneem, N., Andreas, M. P., Close, W., Jenner, E. N., Szyszka, T. N., Young, R., Cheah, L. C., Norman, A., MacDermott-Opeskin, H. I., O'Mara, M. L., Sainsbury, F., Giessen, T. W. & Lau, Y. H. (2022). Pore structure controls stability and molecular flux in engineered protein cages. *Science Advances*, **8**(5), eab17346. DOI: 10.1126/sciadv.abl17346
- Altenburg, W. J., Rollins, N., Silver, P. A. & Giessen, T. W. (2021). Exploring targeting peptide–shell interactions in encapsulin nanocompartments. *Scientific Reports*, **11**, 4951. DOI: 10.1038/s41598-021-84329-z
- Andreas, M. P. & Giessen, T. W. (2021). Large-scale computational discovery and analysis of virus-derived microbial nanocompartments. *Nature Communications*, **12**, 4748. DOI: 10.1038/s41467-021-25071-y
- Boyton, I., Goodchild, S. C., Diaz, D., Elbourne, A., Collins-Praino, L. E. & Care, A. (2021). Characterizing the dynamic disassembly/reassembly mechanisms of encapsulin protein nanocages. *ACS Omega*, **7**(1), 823–836. DOI: 10.1021/acsomega.1c05472
- Cassidy-Amstutz, C., Oltrogge, L. M., Going, C. C., Lee, A., Teng, P., Quintanilla, D., East-Seletsky, A., Williams, E. R. & Savage, D. F. (2016). Identification of a minimal peptide tag for *in vivo* and *in vitro* loading of encapsulin. *Biochemistry*, **55**(24), 3461–3468. DOI: 10.1021/acs.biochem.6b00294
- Choi, H., Eom, S., Kim, H., Bae, Y., Jung, H. S. & Kang, S. (2021). Load and display: Engineering encapsulin as a modular nanoplatform for protein-cargo encapsulation and protein-ligand decoration using split intein and SpyTag/SpyCatcher. *Biomacromolecules*, **22**(7), 3028–3039. DOI: 10.1021/acs.biomac.1c00481
- Diaz, D., Vidal, X., Sunna, A. & Care, A. (2021). Bioengineering a light-responsive encapsulin nanoreactor: A potential tool for *in vitro* photodynamic therapy. *ACS Applied*

- Materials & Interfaces*, **13**(7), 7977–7986. DOI: 10.1021/acsami.0c21141
- Giessen, T. W. (2016). Encapsulins: Microbial nanocompartments with applications in biomedicine, nanobiotechnology and materials science. *Current Opinion in Chemical Biology*, **34**, 1–10. DOI: 10.1016/j.cbpa.2016.05.013
- Giessen, T. W. (2024). The structural diversity of encapsulin protein shells. *ChemBioChem*, **25**, e202400535. DOI: 10.1002/cbic.202400535
- Giessen, T. W. & Silver, P. A. (2016). A catalytic nanoreactor based on *in vivo* encapsulation of multiple enzymes in an engineered protein nanocompartment. *ChemBioChem*, **17**(20), 1931–1935. DOI: 10.1002/cbic.201600431
- Giessen, T. W. & Silver, P. A. (2017). Widespread distribution of encapsulin nanocompartments reveals functional diversity. *Nature Microbiology*, **2**, 17029. DOI: 10.1038/nmicrobiol.2017.29
- Gómez-Barrera, S. N., Delgado-Tapia W. Á., Hernández-Gutiérrez, A. E., Cayetano-Cruz, M., Méndez, C. & Bustos-Jaimes, I. (2025). Surface engineering of the encapsulin nanocompartment of *Myxococcus xanthus* for cell-targeted protein delivery. *ACS Omega*, **10**(5), 1234–1245. DOI: 10.1021/acsomega.4c10285
- He, D., Hughes, S., Vanden-Hehir, S., Georgiev, A., Altenbach, K., Tarrant, E., Mackay, C. L., Waldron, K. J., Clarke, D. J. & Marles-Wright, J. (2016). Structural characterization of encapsulated ferritin provides insight into iron storage in bacterial nanocompartments. *eLife*, **5**, e18972. DOI: 10.7554/eLife.18972
- Helalat, S. H., Téllez, R. C., Dezfouli, E. A. & Sun, Y. (2024). Sortase A-based post-translational modifications on encapsulin nanocompartments. *Biomacromolecules*, **25**(5), 2762–2769. DOI: 10.1021/acs.biomac.3c01415
- Jenkins, M. C. & Lutz, S. (2021). Encapsulin nanocontainers as versatile scaffolds for the development of artificial metabolons. *ACS Synthetic Biology*, **10**(5), 1141–1151. DOI: 10.1021/acssynbio.0c00636
- Jones, J. A., Andreas, M. P. & Giessen, T. W. (2024). Structural basis for peroxidase encapsulation inside the encapsulin from the Gram-negative pathogen *Klebsiella pneumoniae*. *Nature Communications*, **15**, 2558. DOI: 10.1038/s41467-024-46880-x
- Jones, J. A. & Giessen, T. W. (2021). Advances in encapsulin nanocompartment biology and engineering. *Biotechnology and Bioengineering*, **118**(1), 491–505. DOI: 10.1002/bit.27564
- Kwon, S., Andreas, M. P. & Giessen, T. W. (2024). Pore engineering as a general strategy to improve protein-based enzyme nanoreactor performance. *ACS Nano*, **18**(37), 25740–25753. DOI: 10.1021/acsnano.4c08186
- Kwon, S. & Giessen, T. W. (2022). Engineered protein nanocages for concurrent RNA and protein packaging *in vivo*. *ACS Synthetic Biology*, **11**(10), 3504–3515. DOI: 10.1021/acssynbio.2c00391
- Lau, Y. H., Giessen, T. W., Altenburg, W. J. & Silver, P. A. (2018). Prokaryotic nanocompartments form synthetic organelles in a eukaryote. *Nature Communications*, **9**, 1311. DOI: 10.1038/s41467-018-03768-x
- McDowell H. B. & Hoiczyk E. (2022). Bacterial nanocompartments: structures, functions and applications. *Journal of Bacteriology*, **204**(3), e00346-21. DOI: 10.1128/JB.00346-21
- Michel-Souzy, S., Hamelmann, N. M., Zarzuela-Pura, S., Paulusse, J. M. J. & Cornelissen, J. J. L. M. (2021). Introduction of surface loops as a tool for encapsulin functionalization. *Biomacromolecules*, **22**(12), 5234–5242. DOI: 10.1021/acs.biomac.1c01156
- Nichols, R. J., Cassidy-Amstutz, C., Chaijarasphong, T. & Savage, D. F. (2017). Encapsulins: Molecular biology of the shell. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, **52**(5), 583–594. DOI: 10.1080/10409238.2017.1337709
- Nichols, R. J., LaFrance, B., Phillips, N. R., Radford, D. R., Oltrogge, L. M., Valentín-Alvarado, L. E., Bischoff, A. J., Nogales, E. & Savage, D. F. (2021) Discovery and characterization of a novel family of prokaryotic nanocompartments involved in sulfur metabolism *eLife*, **10**, e59288. DOI: 10.7554/eLife.59288
- Pérez-Sánchez, J. E. & Bustos-Jaimes, I. (2025). Development of a pyridoxine 4-oxidase nanoreactor for oxidative therapy. *International Journal of Biological Macromolecules*, **320**, 145776. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2025.145776.
- Sigmund, F., Massner, C., Erdmann, P., Stelzl, A., Rolbieski, H., Desai, M., Bricault, S., Wörner, T. P., Snijder, J., Geerlof, A., Fuchs, H., Hrabě de Angelis, M., Heck, A. J. R., Jasanoff, A., Ntziachristos, V., Plitzko, J. M. & Westmeyer, G. G. (2018). Bacterial encapsulins as orthogonal compartments for mammalian cell engineering. *Nature Communications*, **9**, 1990. DOI: 10.1038/s41467-018-04227-3
- Sutter, M., Boehringer, D., Gutmann, S., Günther, S., Prangishvili, D., Loessner, M. J., Stetter, K. O., Weber-Ban, E. & Ban, N. (2008). Structural basis of enzyme encapsulation into a bacterial nanocompartment. *Nature Structural & Molecular Biology*, **15**, 939–947. DOI: 10.1038/nsmb.1473
- Van de Steen, A., Khalife, R., Colant, N., Khan, H. M., Deveikis, M., Charalambous, S., Robinson, C. M., Dabas, R., Serna, S. E., Catana, D. A., Pildish, K., Kalinovskiy, V., Gustafsson, K. & Frank, S. (2021). Bioengineering bacterial encapsulin nanocompartments as targeted drug delivery system. *Synthetic and Systems Biotechnology*, **6**(3), 231–241. DOI: 10.1016/j.synbio.2021.09.001
- Williams, E. M., Jung, S. M., Coffman, J. L. & Lutz, S. (2018). Pore engineering for enhanced mass transport in encapsulin nanocompartments. *ACS Synthetic Biology*, **7**(11), 2514–2517. DOI: 10.1021/acssynbio.8b00295
- Wiryaman, T. & Toor, N. (2022). Recent advances in the structural biology of encapsulin bacterial nanocompartments. *Journal of Structural Biology: X*, **6**, 100062. DOI: 10.1016/j.jsbx.2022.100062