



## PRODUCCIÓN DE UN INMUNÓGENO RECOMBINANTE EN PLATAFORMAS VEGETALES COMO UN MODELO DE VACUNA CONTRA LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER.

Romero-Maldonado Andrea<sup>1</sup>, Rosales-Mendoza Sergio<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de San Luis Potosí, Facultad de Ciencias Químicas,  
San Luis Potosí, San Luis Potosí, C.P. 78240  
andrea.romma@gmail.com

*Palabras clave: Alzheimer, inmunoterapia, vacunas orales.*

**Introducción.** El Alzheimer (EA) es una enfermedad neurodegenerativa multifactorial progresiva e irreversible reconocida como la causa más común de demencia. Se encuentra relacionada principalmente a: 1) la acumulación de la proteína  $\beta$  Amiloide ( $A\beta$ ) en las denominadas placas seniles de solubilidad limitada, que tienden a agregarse cuando se presenta en la forma de mayor longitud (42 aminoácidos). 2) La aparición de ovillos neurofibrilares compuestos de la proteína tau hiperfosforilada. Los productos finales de glicación avanzada (AGE) también se presentan en niveles elevados en cerebros de pacientes con EA. El receptor que media la entrada de AGEs desde la circulación sanguínea hacia el cerebro es el Receptor de Productos Avanzados de Glicación (RAGE) y se encuentra expresado en membranas de células neuronales y de la vasculatura cerebral, por lo que se plantea como un posible blanco para estrategias de vacunación.

El costo de los fármacos disponibles, las moléculas a los que van dirigidos y la bioseguridad que representan alienta la búsqueda de nuevas plataformas de expresión más rentables y que permitan explorar la posibilidad de abarcar diferentes blancos asociados a esta enfermedad.

En este contexto se propone el diseño de dos proteínas recombinantes quiméricas: la proteína ARM1 que comprende la subunidad B de la toxina termolábil de *E. coli* (LTB) y un epítipo de RAGE, así como la proteína ARM2 que comprende RAGE y  $A\beta$  de 42 aminoácidos. Estos candidatos se proponen como inmunógenos inductores de respuestas humorales teniendo como blancos terapéuticos a RAGE y  $A\beta$ . Las proteínas serán expresadas en primera instancia en *Nicotiana tabacum* como un modelo para la producción de vacunas de bajo costo.

**Metodología.** Se diseñaron dos genes que codifican respectivamente para una proteína quimérica recombinante constituida por la subunidad B de la toxina de termolábil de *E. coli* y la secuencia correspondiente a RAGE de 23 a 54 aminoácidos reportada como el epítipo más inmunogénico (1); la segunda construcción consta de la secuencia que codifica para  $A\beta$  de 42 aa y el epítipo de RAGE antes mencionado; ambos genes fueron introducidos en el vector de expresión pBI121. Se caracterizó la construcción y se transfirió a *Agrobacterium tumefaciens* por electroporación. Posteriormente se

transformaron hojas de *N. tabacum* vía *Agrobacterium tumefaciens* que portaba el vector pBI-ARM1 y se realizó una transformación paralela con pBI-ARM2. Se analizó la presencia del transgén en el genoma nuclear de plantas de tabaco mediante PCR empleando oligonucleótidos específicos para el gen *nptII* y para el gen de interés. De forma paralela se produjeron sueros hiperinmunes con los péptidos sintéticos para su posterior utilización en inmunoensayos. Se confirmó la expresión de la proteína mediante Western-blot, así como los niveles de expresión de la proteína mediante ensayos de ELISA. Actualmente se está realizando la etapa de evaluación de la inmunogenicidad de la proteína quimérica en ratones BALB/c.

### Resultados.



**Fig 1.** PCR confirmatorios.  
a) *nptII* 150 pb,  
b) gen de interés, 500 pb



**Fig 2.** Cultivo de Tabaco in vitro.



**Fig 3.** Western Blot con anticuerpos anti-LTB para la construcción ARM1

### Conclusiones.

Se ha realizado la transformación estable de tabaco para expresar exitosamente las proteínas ARM1 y ARM2. Estas líneas transformadas permitirán la evaluación preclínica de un modelo de vacuna contra la enfermedad de Alzheimer.

**Agradecimiento.** CONACYT Beca posgrado No. 361667

### Bibliografía.

1. Mruthinti S, Buccafusco JJ, Hill WD, Waller JL, Jackson TW, Zamrini EY, Schade RF. (2004) *Neurobiol Aging*. 25(8):1023-32.