



Formato EXM

IDENTIFICACION DE NUEVOS ANTIGENOS POR MEDIO DE UN ANALISIS BIONFORMATICO DEL GENOMA DE *Leishmania major* Y SU VALIDACIÓN *in vivo*.

Herrera-Najera Carla, Piña-Agular Raúl, Xacur-Garcia Fiona, Ramirez-Sierra Maria Jesus, Dumonteil Eric.
Laboratorio de parasitología. Centro de Investigaciones Regionales “Dr. Hideyo Noguchi” Universidad Autónoma de Yucatán. Av. Itz’áes #490 x 59 97000 Mérida, Yucatán, México. Tel: 9246412 Ext. 119. fax: 9236120.
oliver@uady.mx

Palabras clave: Bioinformática, vacuna, parásitos.

Introducción. La leishmaniosis es una enfermedad clasificada como una de las de mayor impacto a nivel mundial. Actualmente no existe una terapia adecuada para tratar este tipo de infección parasitaria. La reciente secuenciación del genoma de *Leishmania major* (1) junto con nuevas herramientas bioinformáticas abren oportunidades para el desarrollo racional de vacunas (2, 3). Así, el abjetivo del estudio es obtener por medio de un análisis bioinformático del genoma de *L. major* nuevos candidatos de vacunas y validar *in vivo* la inmunogenicidad de estas vacunas.

Metodología. Análisis Bioinformático: Se hizo un análisis con los 8272 genes del genoma de *Leishmania major* Friedlin (MHOM/IL/81/Friedlin) (1), que codifican para proteínas por medio del programa RANKPEP (Método de matrices) para los alelos H2-Kd (fragmentos de 8, 9, 10 y 11 péptidos) y H2-Dd (fragmentos de 9, 10 y 11 péptidos) del complejo principal de histocompatibilidad clase I (MHC I) del ratón BALB/c (3). Se seleccionaron los genes con una probabilidad de tener epítopes inmunogénicos $\geq 85\%$ para Kd y 80% para Dd. Los genes de la primera selección fueron reanalizados con diferentes programas para corroborar las posibilidades de tener epítopes del MHC clase I obtenidos con el programa RANKPEP y se obtuvieron genes con predicciones consensadas. Validación *in vivo*: Ratones BALB/c fueron inmunizados con peptidos sintéticos correspondiendo a los epítopes predichos por el analisis bioinformático del genoma de *L. major*. La respuesta inmune se evaluó midiendo la producción de INFgamma de células de bazo, con una prueba de ELISA y por citometría de flujo.

Resultados y discusión. Se obtuvieron un total de 79 genes con predicciones consensadas de tener epítopes para los alelos del MHC clase I H2-Kd y H2-Dd, de los cuales se seleccionaron 26 que obtuvieron la mas alta probabilidad de unión al MHC I. Análisis adicionales indican que los genes a evaluar tienen ortólogos en *T. brucei* y *T. cruzi*, lo que permitiría posiblement desarrollar una vacuna universal para los protozoarios de la familia Trypanosomatidae. Al evaluar la respuesta inmune de retones inmunizados con peptidos sintéticos correpondiendo a los epítopes predichos, al menos 8 de estos indujeron una producción de IFNgamma peptido-

específica. Células T de los ratones inmunizados también respondieron a la estimulación con antígeno total de *L. mexicana*, confirmando la anotación de varias proteínas hipotéticas y su conservación en especies de *Leishmania* diferentes.

Conclusiones. Estos resultados validan nuestra estrategia inmuno-informática para la identificación racional y rápida de antígenos de patógenos y sugieren que varios de estos podrían ser nuevos candidatos para el desarrollo de vacunas contra *Leishmania* spp.

Agradecimiento. Financiado por CONACYT SEP-2004-C01-47122 y la Academie Nationale de Médecine (Francia)

Bibliografía.

- Ivens, A. C., C. S. Peacock, E. A. Worthey, L. Murphy, G. Aggarwal, M. Berriman, et al. 2005. The genome of the kinetoplastid parasite, *Leishmania major*. *Science* 309,436-42.
- Liebert, A. DNA vaccination for Leishmaniasis. *Human Gene Therapy*. 1998, 9, 1849-1850.
- Reche, A., Glutting, J., Zhang, H., Reinherz, E. Enhancement to the Rankpep resource for the prediction of peptide binding to MHC molecules using profiles. *Immunogenetics*. 2004, 56: 405-419.