

MIMÓTOPOS PEPTÍDICOS COMO HERRAMIENTAS PARA EL INMUNODIAGNÓSTICO DE LA TUBERCULOSIS.

Luz María López Marín, Erika Segura, José Prisco Palma, Karen Manoutcharian y Goar Gevorkian, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Av. Universidad 3000, Apdo. Postal 70-228, C. U. 04510 Coyoacán, D. F., fax 56-22-3369, correo electrónico: lmlm@servidor.unam.mx

Palabras clave: *Tuberculosis, Mimótopos peptídicos, Inmunodiagnóstico.*

Introducción. La tuberculosis, enfermedad infecciosa que cobra unos 2 millones de muertes y 8 millones de nuevos casos activos cada año, representa actualmente uno de los principales problemas de salud pública. Su agente causal, *Mycobacterium tuberculosis*, es una bacteria transmisible por vía aérea, que se caracteriza por poseer una pared celular de inusual riqueza en azúcares. Los glicoconjugados del llamado bacilo tuberculoso revisten una gran importancia, ya que se encuentran involucrados en mecanismos de entrada a células huésped, en el desencadenamiento de cascadas de señales en estas mismas células, y constituyen también reactivos prometedores para el diagnóstico serológico de la tuberculosis. Por ser productos genéticos secundarios, los glicoconjugados de *M. tuberculosis* no son susceptibles de producción recombinante, y su complejidad estructural dificulta la caracterización de epítomos.

El objetivo de este trabajo es identificar péptidos que mimeticen epítomos de glicoconjugados de *M. tuberculosis* y evaluarlos como herramientas de diagnóstico.

Metodología. Una fracción de polisacáridos neutros fue obtenida a partir de cultivos de *M. tuberculosis* H37Rv mediante técnicas de particiones, precipitaciones y cromatografía de intercambio iónico. La fracción fue utilizada para obtener anticuerpos policlonales en conejos neozelandeses. Por afinidad a los anticuerpos obtenidos se rastreó una biblioteca comercial de dodecapéptidos expresados en el fago filamentoso M13 (1). Los insertos de las clonas de fagos seleccionadas fueron secuenciados mediante el método de Sanger. Las secuencias consenso fueron identificadas utilizando el programa Clustal X. La reactividad de los fagos con sueros humanos fue analizada por ensayos inmunoenzimáticos (2).

Resultados y discusión. A partir de los materiales secretados por *M. tuberculosis* al medio de cultivo se obtuvo una fracción con polisacáridos neutros. Esta fracción contenía principalmente arabinosa y manosa. Anticuerpos dirigidos en contra de la fracción fueron utilizados para rastrear una biblioteca peptídica expresada en el fago M13. Después de 3 rondas de *biopanning*, 20 clonas de fagos fueron obtenidas y el péptido por ellas expresado fue secuenciado. De este análisis se encontraron 2 secuencias consenso (PL/VLXGTL/VP –en 10 clonas- y QXXPLXLV/I –en 6 clonas-), además de 3 secuencias sin consenso alguno. Las

secuencias consenso no muestran homología con péptidos ya conocidos como mimótopos de otros azúcares o glicoconjugados, ni tampoco contienen aminoácidos aromáticos, los cuales son frecuentemente encontrados en péptidos que mimetizan glúcidos. Es posible que el encuentro de otro tipo de aminoácidos en estas secuencias esté relacionado con las particularidades estructurales de azúcares sintetizados por *M. tuberculosis*, que son únicos y distintos a glicoconjugados de mamíferos. Queda por determinarse, sin embargo, si las clonas aisladas actúan como verdaderos mimótopos de azúcares. Ya que los fagos seleccionados son reconocidos por un suero dirigido en contra de azúcares de *M. tuberculosis*, las clonas fueron evaluadas de manera preliminar como posibles herramientas para inmunodiagnóstico de tuberculosis pulmonar. Se utilizaron para ello 10 sueros de individuos infectados y 10 sueros de donadores sanos. Mientras que algunas clonas no fueron capaces de discriminar entre los dos grupos de sueros, clonas con la secuencia consenso PL/VLXGTL/VP fueron reconocidas de manera específica por individuos con tuberculosis.

El uso de péptidos expresados en fagos constituiría una opción muy útil para la producción a gran escala de antígenos para inmunodiagnóstico de la tuberculosis.

Conclusiones. Se identificaron dos secuencias consenso que, expresadas en el fago filamentoso M13, podrían mimetizar glicoconjugados del bacilo tuberculoso. Algunos de los péptidos expresados en fagos fueron reconocidos de manera específica por sueros de individuos con tuberculosis pulmonar activa. Resulta interesante una evaluación más amplia de estos péptidos como reactivos para inmunodiagnóstico de tuberculosis.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado por CONACYT, a través del proyecto patrocinado 33578-M.

Bibliografía.

1. Shin, J. S., Anderson, P. W., Insel, R. A. y Nahm, M. H. (2001) Monoclonal antibodies specific for *Neisseria meningitidis* group B polysaccharide and their peptide mimotopes. *Infect. Immun.* 69 (5): 3335-3342..
2. Manoutcharian, K., Sotelo, J., Garcia, E., Cano, A. y Gevorkian, G. (1999) Characterization of cerebrospinal fluid antibody specificities in neurocysticercosis using phage display peptide library. *Clin. Immunol.* 91 (1): 117-121.