



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## DESARROLLO DE UN CANDIDATO A VACUNA CONTRA EL VIRUS DENGUE CON EL DOMINIO III FUSIONADO AL ANTICUERPO SCFV ANTI DEC-205 EXPRESADO EN PLANTAS

Lucia Nancy Coconi Linares, Leticia Cedillo Barrón, Miguel Ángel Gómez Lim

Depto. de Ingeniería Genética. CINVESTAV-Irapuato. C.P. 36821, Irapuato, Gto. e-mail: mgomez@ira.cinvestav.mx

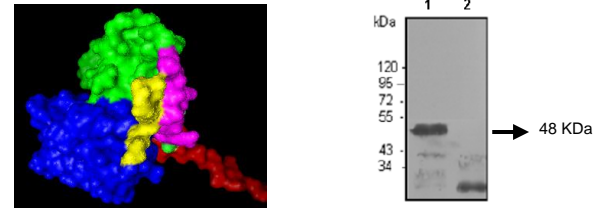
*Palabras clave: dengue, DEC-205, Nicotiana benthamiana.*

**Introducción.** En la actualidad no existe una vacuna disponible contra el virus dengue. La proteína de envoltura (E) es el blanco antigénico más importante de la respuesta inmune contra el virus dengue, ya que es la proteína más expuesta en la superficie del virus maduro. La glicoproteína E consiste de tres dominios (I, II, III) estructural y funcionalmente distintos. Se ha demostrado que el uso del dominio III es capaz de inducir anticuerpos neutralizantes protectores (1). Sin embargo, su empleo ha dado una baja respuesta, con requerimientos de un mayor número de dosis y fuertes adyuvantes. Para mejorar la respuesta inmune, en este trabajo se propone de manera novedosa el empleo de un anticuerpo dirigido contra el receptor DEC-205 de las células dendríticas. El receptor endocítico DEC-205 está involucrado directamente en la captura, procesamiento y presentación de antígenos (2).

El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad inmunogénica de la fusión scFv anti DEC205 con el dominio III del virus dengue obtenido en plantas.

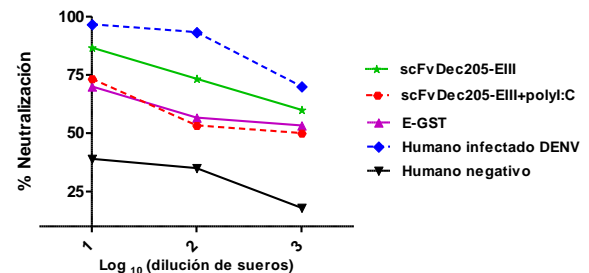
**Metodología.** Se ensamblaron los cassettes de expresión con las fusiones scFv antiDEC205 con el dominio III de la proteína E en el vector pICH31070. Se transformaron cepas de *Agrobacterium tumefaciens* con los vectores de expresión. Por ensayos de expresión transitoria en plantas de *N. benthamiana* se obtuvieron las proteínas recombinantes. El análisis de la expresión de las proteínas se realizó por SDS-PAGE y western blot. La purificación de las proteínas se realizó por geles preparativos. Se inmunizaron ratones BALB/c con dosis de 10-25 ug de proteína recombinante con 2 inmunizaciones. La detección de anticuerpos específicos se llevó a cabo mediante ELISA indirecta y ELISA de captura. Por ensayos de reducción de placas al 50% (PRNT<sub>50</sub>) se determinó la presencia de anticuerpos neutralizantes.

**Resultados.** Las proteínas recombinantes se expresaron de manera exitosa en plantas de *N. benthamiana*. Se obtuvieron las proteínas recombinantes scFv antiDEC205-EIII (48 KDa) y scFv antiDEC205-ollas (28 KDa) como control. Los sueros de los ratones inmunizados con la proteína scFv antiDEC205-EIII fueron capaces de reconocer al virus dengue en su forma nativa, así como a la proteína E completa.



**Fig. 1.** Modelación de la proteína scFv antiDEC205-EIII y análisis de su expresión en plantas de *N. benthamiana*.

Las proteínas recombinantes también pudieron reconocer sueros de pacientes infectados con el virus dengue. En ensayos de neutralización del virus dengue por reducción de placas, los ratones inmunizados con las proteínas recombinantes mostraron una mayor capacidad de neutralización del virus.



**Fig. 2.** Ensayos PRNT con sueros de ratones inmunizados con proteínas recombinantes contra el DENV-2.

**Conclusiones.** Esta es la primera vez que se reporta una fusión de un anticuerpo scFv anti DEC-205 con un antígeno del virus dengue en plantas con alta inmunogenicidad y capacidad protectora. La aplicación de dosis pequeñas y tan sólo dos inmunizaciones generó una respuesta inmune prolongada y de memoria frente al virus dengue sin requerir la adición de adyuvantes.

**Agradecimiento.** Al CONACyT por la beca de otorgada No. 219893.

### Bibliografía.

1. Guzmán, M. G., Hermida, L., Bernardo, L., Ramirez, R., Guillén, G. (2010b). Domain III of the envelope protein as a dengue vaccine target. *Expert Review Vaccines*, 9(1):87-97.
2. Boscardin, S. B., Hafalla, J. C., Masilamani, R. F., Kamphorst, A. O., Zebroski, H. A., Rai, U., Morrot, A., Zavala, F., Steinman, R. M., Nussenzweig, M. C. (2006). Antigen targeting to dendritic cells elicits long-lived T cell help for antibody responses. *The Journal of Experimental Medicine*, 203(3):599-606.