



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



ANÁLISIS DE LA RESPUESTA INMUNOGÉNICA EN RATONES CD-1 INMUNIZADOS CON NANOTUBOS DE VP6 Y PARTÍCULAS DE DOBLE CAPA (VP2/VP6) DE ROTAVIRUS PRODUCIDAS EN EL SISTEMA CÉLULAS DE INSECTO-BACULOVIRUS

A. Ruth Pastor, Martha A. Contreras, William A. Rodríguez-Limas, Octavio T. Ramírez y Laura A. Palomares.
Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca Mor. C.P. 62210. E-mail: rpastor@ibt.unam.mx, laura@ibt.unam.mx.

Palabras clave: *Vacuna, Partículas de doble capa (dIPPV), Partículas pseudovirales (PPV's)*

Introducción. Rotavirus es la principal causa de gastroenteritis en infantes y animales mamíferos en todo el mundo (1). Por ello se han evaluado distintos candidatos a vacunas que comprenden desde virus atenuados, proteínas estructurales, hasta partículas pseudovirales (PPV's). VP6, la proteína estructural más abundante de rotavirus ha mostrado que posee una alta capacidad antigénica (2). Por otro lado, se sabe que las PPV's de doble capa (dIPPV) han mostrado que potencian la respuesta inmunogénica en distintos modelos animales y son consideradas como posibles candidatos para vacunas (3).

Objetivos: 1) Caracterizar la respuesta inmune producida por nanotubos de VP6 y dIPPV en ratones CD-1. 3) Comparar la respuesta inmune producida entre los nanotubos de VP6 y dIPPV.

Metodología. Se produjeron tubos de VP6 y dIPPV (VP2/VP6), en el sistema de células insecto-baculovirus, se purificaron mediante columnas de intercambio iónico y filtración en gel (4). Tres lotes distintos de ratones hembra adultos (CD-1 de 8 semanas), se inmunizaron sin adyuvante: Lote 1, inmunizado con 10µg de VP6 o dIPPV vía nasal y subcutánea. Lote 2, inmunizado con 10, 20 y 40µg de VP6 o dIPPV. Lote 3, inmunizado con 40µg de VP6 o dIPPV con un refuerzo a los 14 días. El suero fue utilizado para la detección de anticuerpos IgG e IgA específicos contra VP6 mediante ensayos de ELISA. La identificación de IgA se realizó en las heces de los animales de cada uno de los tres lotes.

Resultados. Ratones inmunizados con 10 µg de dIPPV vía nasal mostraron un título de IgG anti-rotavirus menor a 1:50, mientras que IgA no fueron detectadas en este grupo (lote 1). En contraste, la inmunización subcutánea produjo títulos 3 veces más altos. La inmunización con diferentes dosis (10, 20 y 40µg) tanto de nanotubos de VP6 como de dIPPV, produjo un aumento significativo en la respuesta de IgG específicos contra VP6. Este resultado correlaciona con el aumento en la concentración de proteína observado en el mismo grupo de animales (lote 2). Los títulos de anticuerpos se mantuvieron

hasta el día 35 después de la primera inmunización. Las IgA en el lote 2, tuvieron un aumento, pero el título encontrado fue hasta 15 veces menor que el de las IgG. En el lote 3 observamos un ligero incremento en el título de anticuerpos que se mantuvo hasta el día 56. El refuerzo a los 14 días no produjo cambios significativos en los títulos de anticuerpos. Las IgA encontradas en las heces no presentaron diferencias significativas entre los distintos tratamientos, los títulos fueron inferiores a 1:2 en los distintos grupos de estudio.

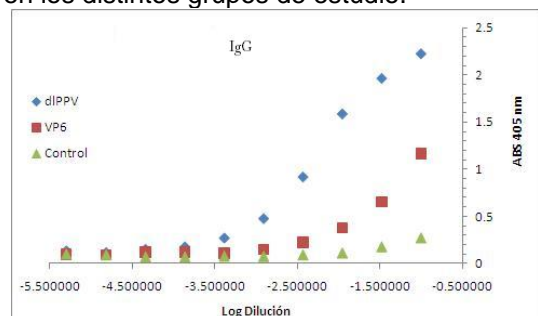


Fig 1. Respuesta inmune en suero de ratones CD-1 producida por nanotubos de VP6 (■), dIPPV (◆) y control (▲)

Conclusiones: 1) Existe una correlación entre el aumento en el título de anticuerpos IgG y la cantidad de proteína utilizada en la inmunización en ausencia de adyuvantes.

2) La capacidad antigénica de las partículas dIPPV quedó demostrada, ya que aumentaron significativamente la respuesta inmune con títulos superiores a los alcanzados con nanotubos de VP6. 3) Las dIPPV son candidatos potenciales para la formulación de vacunas contra rotavirus.

Agradecimientos. CONACyT Ciencia Básica 101847, Fondo Salud 2007-c01-69911. PAPIIT-UNAM IN 224409-3. Vanessa Hernández y A. Yuridia Ocampo por su apoyo técnico.

Bibliografía.

- McNeal, M., et al., 1998. *Virology* 243: 158-166.
- Corthesy, B., et al., 2006. *J. Virol* 80(21): 10692-10699.
- Bertolotti-Ciarlet, A., et al., 2003. *Vaccine* 21: 2885-3900.
- Mena JA, Ramírez OT, Palomares LA (2005). *J Chrom B.* 824 (1-2) 267-276.