

DESARROLLO DE ANTÍGENOS RICKETTSIALES Y SU EXPRESIÓN EN SISTEMAS HETERÓLOGOS

Mónica López*, Bianca Alarcón, Blanca Estrada, Gerardo Espino.

Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Medicina y Ciencias Biomédicas y * Facultad de Ciencias Químicas. Chihuahua, Chih. 31125. A328243@uach.mx
Rickettsia, Antígeno, ADR2.

Introducción. Las rickettsiosis, es una enfermedad zoonótica causadas por bacterias obligadas del género *Rickettsia* y transmitidas por ectoparásitos hematófagos, han sido responsables a nivel nacional de un promedio de 500 casos confirmados por año, y más de 2000 casos sospechosos (2015) (1). Aunque la incidencia es relativamente baja, la naturaleza inespecífica de los síntomas (fiebre, dolor de cabeza, mialgia y malestar) (2) también presentes en otras patologías como el Zika, Chikunguya, influenza, fiebre tifoidea, así como dengue (3), algunas limitaciones en la confirmación del diagnóstico diferencial, contribuyen a la rápida evolución del cuadro clínico y desenlace fatal de la enfermedad. Por lo que un diagnóstico oportuno, en conjunto con un tratamiento adecuado puede mejorar el pronóstico de la enfermedad. Las proteínas en la membrana externa tienen un importante papel en la interacción huésped-patógeno debido a que estas se encuentran en contacto directo con el ambiente externo, participan en la adhesión celular, en la interacción con los componentes citoplasmáticos, polimerización de actina y/o estimulación/ evasión de la respuesta inmune (4). Por su parte la proteína ADR2 juega un papel dentro de la infección del huésped se centra en la adhesión e invasión celular y dado que cuenta con un dominio de unión a la vitronectina reguladora del complemento, le confiere resistencia a la destrucción mediada por el mismo (5).

Diseñar y expresar en sistemas heterólogos antígenos de proteínas rickettsiales (sAdr2) y probar su potencial antigénico.

Metodología. El gen que codifica para los cinco loops externos de la proteína rickettsial ADR2 se clonó en el vector de expresión pET28. Después con el constructo se transformaron cepas competentes de *E. Coli* DH5 α y BL21 DEC para la proliferación del vector y la inducción de expresión de la proteína respectivamente. Tras romper la membrana celular por presión osmótica de la cepa BL21 DEC se purificó el producto de expresión por cromatografía de afinidad con una columna de Ni-NTA y se evaluaron las fracciones de elución con un gel SDS-PAGE al 10%. Finalmente se comprobó el potencial antigénico de la proteína con un Western-Blot, transfiriendo la proteína del gel SDS-

Page a una membrana de PVDF, exponiéndola a una seroteca de niños con diagnóstico positivo a *Rickettsia* por PCR en tiempo real, el anticuerpo secundario utilizado fue IgG e IgM.

Resultados. La expresión en BL21 se indujo con IPTG a una concentración de 1mM a 18°C durante 14hr, en el gel SDS-PAGE se observan bandas correspondientes al peso molecular teórico de sAdr2, mientras que en el inmunoblot se puede observar cómo fue reconocida por anticuerpos presentes en sangre.

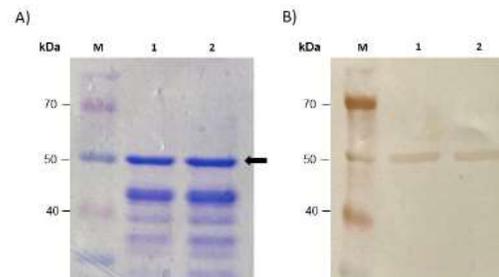


Fig. 1.A) SDS-PAGE 10%. Fracciones de elución 1 y 2 donde se observa la proteína recombinante sAdr2 B) Membrana de PVDF resultado de un Western-Blot donde sAdr2 reaccionó con plasma de un niño infectado con *Rickettsia rickettsii*.

Conclusiones. Es necesario continuar con estudios ya que la proteína recombinante sAdr2 tiene potencial antigénico dado que es reconocida por anticuerpos circulantes en sangre periférica positiva a rickettsiosis, esto podría ser clave en aplicaciones diagnósticas y terapéuticas

Agradecimiento. Los recursos necesarios para llevar a cabo el proyecto fueron financiados por CONACYT con los proyectos A1-S-53789 y CF: 1564468, así como proyectos obtenidos a través de Laboratorios Nacionales.

Bibliografía.

1. Dirección General de Epidemiología de Salud Pública. (2016).
2. Walker, D. H. (2009). *Molecular and Cellular Biochemistry*, 23(1), 1-7.
3. Anaya, E., Morón, C., Arias, P., Chauca, J., & Román, R. (2008). *Rev Peru Med Exp Salud Publica*, 25(3), 336-339.
4. Salje, J. (2021). *Nature Reviews Microbiology*, 19(6), 375-390.
5. Garza, D. A., Riley, S. P., & Martinez, J. J. (2017). *PLoS ONE*, 12(6), 1-15.