

## EXPRESIÓN DE PARTÍCULAS FILAMENTOSAS QUE EXPONEN PÉPTIDOS DE LA PROTEÍNA DE LA CÁPSIDE DEL CIRCOVIRUS PORCINO TIPO 2

Ana del Socorro Hernández Aviña, Abel Gutiérrez Ortega, Jorge Alberto Salazar González, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco- Biotecnología Médica y Farmacéutica, Guadalajara, Jalisco, C.P. 44270, anhernandez\_al@ciatej.edu.mx

*Palabras clave: Circovirus porcino tipo 2, andamio, expresión.*

**Introducción.** El circovirus porcino tipo 2 (PCV2) es el agente causal de la enfermedad asociada al circovirus porcino (PCVAD) que incluye un conjunto de enfermedades que llevan al deterioro y muerte de los cerdos. Al ser un virus pequeño de ADN monocatenario, la frecuencia de mutación del PCV2 es muy elevada, lo que conduce a la aparición de nuevas variantes. En la actualidad, se han descrito ocho subgenotipos que incluyen PCV2a-PCV2h (1).

Se ha identificado una sola proteína estructural en PCV2 correspondiente a la proteína de su cápside y que contiene los principales determinantes antigénicos del virus (2). Entre estas regiones se encuentra el bucle EF (<sup>128</sup>DDNFVTKATALTYDPY<sup>143</sup>) con el que interactúa el anticuerpo monoclonal 3H11 que tiene la capacidad de neutralizar al virus, la secuencia <sup>33</sup>RHRYRWRRKN<sup>42</sup> que desempeña un papel fundamental en la estabilización del ensamblaje de VLP de PCV2 (3) y la secuencia ubicada en la región carboxilo terminal de la proteína de la cápside, <sup>223</sup>EFNFKDPPLNP<sup>233</sup> que forma parte de un epítipo conformacional (4).

La proteína de la cápside del virus de la mancha anular de la papaya (PRSV) tiene propiedades atractivas para ser utilizada como andamio de presentación de secuencias externas. En un trabajo previo se reportó la expresión de partículas pseudovirales quiméricas filamentosas del PRSV en *E. coli* que contienen un fragmento de 10 aminoácidos de la proteína de la cápside de PCV2, las cuales indujeron una respuesta alta de inmunoglobulina G contra la secuencia externa en ratones BALB/c (5). Para facilitar la inserción de secuencias externas en el marco de lectura abierto de la proteína de la cápside del PRSV, se diseñó un plásmido destino (denominado pET28-PRSV-Flexi) y una metodología que utiliza la tecnología Golden Gate. El objetivo del trabajo es estudiar la expresión de partículas pseudovirales filamentosas del PRSV como andamios de presentación y estabilización de cuatro péptidos del PCV2.

**Metodología.** Se diseñaron e insertaron cuatro secuencias cortas de la proteína de la cápside del PCV2 pertenecientes a los subgenotipos a y b en el plásmido destino pET28-PRSV-Flexi mediante la

tecnología Golden Gate. Se transformaron células de *E. coli* con los productos de reacción y las nuevas construcciones se confirmaron mediante secuenciación y patrón de restricción. Los plásmidos construidos se movilizaron a la cepa expresante BL21 (DE3) de *E. coli* y la expresión de proteínas se indujo con IPTG (isopropil-β-D-1-tiogalactopiranosido) 1 mM en medio Luria- Bertani (LB) a 30°C durante 5 h. El análisis de la expresión de las proteínas se realizó mediante SDS-PAGE. Las partículas pseudovirales quiméricas se precipitaron a partir de los lisados bacterianos con polietilenglicol 8000 al 4% y se resolubilizaron en PBS pH 7.4 con y sin arginina a distintas concentraciones molares (100, 200, 500, 1000 y 2000 mM).

**Resultados.** Los resultados de secuenciación de los plásmidos construidos indicaron la inserción en fase de las secuencias externas de PCV2 en la proteína de la cápside del PRSV del plásmido destino. Los resultados de SDS- PAGE mostraron la expresión de las proteínas de interés que coincidieron con su peso teórico, de 35 kDa, aproximadamente. Por otro lado, todas las partículas quiméricas, con excepción de una, se resolubilizaron en PBS pH 7.4. Esta partícula se resolubilizó en PBS pH 7.4 y arginina 200 mM.

**Conclusiones.** El andamio de partículas pseudovirales filamentosas del PRSV permite la inserción de secuencias cortas de hasta 16 aminoácidos sin afectar su expresión.

**Agradecimiento.** Se agradece al COECYTJAL por el financiamiento a través del proyecto 9261-2021.

### Bibliografía.

1. Mancera J, Smutzer M, Taylor L, Balasch M, Bandrick M. (2021). *Vaccines*. Vol. (9): 1-18.
2. Franzo G, Tinello S, Grassi L, Tucciarone C, Legnardi M, Cecchinato M, Dotto G, Mondin A, Martini M, Pasotto D, Menandro M, Drigo M. (2020). *Pathogens*. Vol. (9): 1-14.
3. Mo X, Li X, Yin B, Deng J, Tian K. (2019). *PLoS Pathogens*, Vol. 4.
4. Shang S, Jin Y, Jiang X, Zhou J, Zhang X. (2009). *Molecular Immunology*, Vol (3): 327-334.
5. Aguilera B, Chávez G, Elizondo D, Jimenez M, Carrillo M. (2017). *Biotechnology and Applied Biochemistry*, Vol. (64): 406-414.