

EXPRESIÓN EN *ESCHERICHIA COLI* DE QUIMERAS RECOMBINANTES DE LA CHAGASINA DE *TRYPANOSOMA CRUZI*.

Rosa E. Cárdenas-Guerra¹, Octavio Montes Flores¹, Claudia I. Flores-Pucheta¹, Gerardo Reséndiz-Cardiel¹, Rossana Arroyo², Jaime Ortega-López¹. CINVESTAV-IPN, Depto. de Biotecnología y Bioingeniería¹, Depto. de Infectómica y Patogénesis Molecular². Ciudad de México, C.P. 07360.
rcardenas@cinvestav.mx

Palabras clave: Chagasina, *T. cruzi*, proteínas quiméricas.

Introducción. *Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, un problema de salud pública que debido a la baja eficacia del tratamiento farmacológico, necesita de nuevas alternativas para su tratamiento, como las vacunas terapéuticas. El antígeno TSA-1 de *T. cruzi* se ha determinado como un buen candidato para el desarrollo de una vacuna terapéutica contra la enfermedad de Chagas. El amino terminal de TSA-1 presenta secuencias de consenso de cinco epítomos principales en diferentes poblaciones de *T. cruzi* (1), pero a pesar de que se producen altos rendimientos en *Escherichia coli* se expresa en cuerpos de inclusión, por lo que su producción requiere un paso adicional de replegamiento (2). La chagasina de *T. cruzi* es un inhibidor endógeno de cisteína proteasas y se expresa de forma soluble en *E. coli*. Su estructura tridimensional permite el anclaje de secuencias exógenas en los lazos L4 y L6 (3). El objetivo de este trabajo fue usar la chagasina como un andamio molecular para generar proteínas quimeras multiepítomo sustituyendo los aminoácidos de los lazos 4 y 6 por epítomos de TSA-1.

Metodología. Veinte proteínas quiméricas se diseñaron sustituyendo los aminoácidos del lazo L4 y L6 de la proteína chagasina (UniProt Q966X9) por la secuencia de aminoácidos de cinco epítomos de TSA-1 (E1-E5). Mediante herramientas bioinformáticas se predijo la solubilidad de las veinte proteínas quimeras, de las que se seleccionaron ocho con diferente grado de solubilidad, se clonaron en el vector de expresión pCri8a y se expresaron en *E. coli* BL21 (DE3). Se analizó su expresión mediante SDS-PAGE y ensayos Western blot.

Resultados. Las proteínas quiméricas expresadas por el vector pCri8a en células de *E. coli* BL21 (DE3) a 20°C durante 16 h, mostraron un grado de solubilidad similar al predicho por el análisis bioinformático. Los ensayos de Western blot con anticuerpos α -6x-His y α -chagasina confirmaron la expresión soluble de quimeras recombinantes. Los resultados teóricos como los experimentales mostraron que la quimera Q12 (E5-

E3) fue la más soluble y la Q20 (E4-E5) fue la más insoluble. Q4 (E5-E1) y Q8 (E5-E2) clasificadas como quimeras con solubilidad intermedia presentaron el mayor rendimiento de la fracción soluble.

Tabla 1. Análisis de expresión de la solubilidad de las quimeras de chagasina.

Solubilidad teórica	Quiméricas (L4-L6)		Solubilidad experimental
Alto	Q12 (E5-E3)	Q12 (E5-E3)	Alto
	Q19 (E3-E5)	Q4 (E5-E1)	
Medio	Q4 (E5-E1)	Q8 (E5-E2)	Medio
	Q17 (E1-E5)	Q19 (E3-E5)	
	Q8 (E5-E2)	Q18 (E2-E5)	
Bajo	Q18 (E2-E5)	Q17 (E1-E5)	Bajo
	Q16 (E5-E4)	Q16 (E5-E4)	
	Q20 (E4-E5)	Q20 (E4-E5)	

Conclusiones. Las quimeras recombinantes sugieren que la chagasina es un andamio molecular para la expresión de los epítomos de TSA-1 o de otros antígenos de interés de manera soluble.

Agradecimiento. Para la realización de este trabajo se contó con el apoyo del Cinvestav-IPN (FIDSC2018/268), CONACYT (269657, A1-S34224,) y de la Fundación Carlos Slim (SLIM-W04.PO5600999400).

Bibliografía.

1. Knight J, Zingales B, Botazzi M., Hotez P, Zhan B. (2014) *Parasite Immunol.* 36(12): 708-712.
2. De la Cruz J., Villanueva L, Ortega J, Bottazzi M, Hotez P, Dumonteil E. (2019) *Hum Vaccin Immunother.* 8:1-2.
3. Nava Pintor EE. (2018). *Tesis de Maestría.* Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. CINVESTAV-IPN. México.