

PRODUCCIÓN DE PARTÍCULAS PSEUDOVIRALES DE ZIKA EN CÉLULAS DE INSECTO Y MAMÍFERO

Selene J. Uribe, A. Ruth Pastor, Octavio Tonatihu Ramírez, Laura A. Palomares
 Departamento de Medicina Molecular y Bioprocesos, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. Cuernavaca, Morelos, CP. 62210, México.
 uribe@ibt.unam.mx, laura@ibt.unam.mx

Palabras clave: Zika, partículas pseudovirales, mamífero-insecto

Introducción.

El virus Zika (ZIKV) es un arbovirus de la familia *Flaviviridae*. La infección por ZIKV causa un síndrome febril leve y el síndrome de Guillain-Barré en adultos, sin embargo, puede causar microcefalia en el feto durante el embarazo. Hasta el momento no hay vacuna contra el ZIKV. Se han propuesto vacunas candidatas. Una alternativa es el uso de partículas pseudovirales (PPV), los antígenos de superficie se expresan de manera recombinante y se ensamblan en una conformación ordenada como una partícula carente de material genético (1). Es posible que estrategias que han resultado exitosas para la producción de otros flavivirus sean eficientes para producir PPV de ZIKV (2). La glicoproteína E de envoltura es el blanco primario de anticuerpos neutralizantes (3). Dado que el patrón de glicosilación de la proteína E varía dependiendo de su origen (mamífero o insecto), posteriormente resultará interesante evaluar si el patrón de N-glicosilación diferencial de la glicoproteína E impacta en la respuesta humoral.

El objetivo principal es diseñar y expresar las PPV de ZIKV en células de mamífero y de insecto.

Metodología.

Se diseñó y sintetizó la quimera de ZIKV ss_M-E (minus TM), TM (virus de encefalitis japonés) JEV (Figura 1). Fue clonada en el plásmido 3.1 (+) para su expresión transitoria en células de mamífero HEK-293. Por otro lado, se utilizó el sistema insecto-baculovirus para la expresión en células Sf9. Para ambos sistemas, la purificación se realizó a partir del sobrenadante por colchón de sacarosa al 20%. La expresión se corroboró con Western blot con anti-E de ZIKV. Se evaluó la formación de PPV por microscopía electrónica de transmisión con tinción con acetato de uranilo.

Resultados.

Se diseñó *in silico* la quimera de ZIKV-JEV (Figura 1).



Figura 1. Diseño *in silico* de la quimera de las PPV de ZIKV-JEV. ss: secuencia señal; M: proteína estructural de ZIKV; Env (I-III): Tres ectodominios de la glicoproteína estructural de envoltura de ZIKV; Env (TM): dominio transmembrana de JEV.

La expresión de las PPV de ZIKV en el sobrenadante de células HEK-293 y células Sf9 se corroboró por Western-Blot con un anticuerpo anti-E de ZIKV (Figura 2).

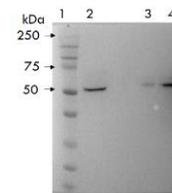


Figura 2. Western-Blot anti-proteína E de ZIKV de sobrenadante de células HEK-293 96 h post-transfección (carril 3) y del sobrenadante de Sf9 infectadas a MOI 1 upf/cel durante 48 h (carril 4). Marcador de peso molecular (carril 1), control positivo (carril 2).

Se observó la presencia de PPV de la quimera de ZIKV-JEV en el sobrenadante de HEK-293 con un diámetro aproximado de 50 nm, correspondiente al de ZIKV. En el sistema de insecto-baculovirus no ha sido posible purificar las PPV del sobrenadante.

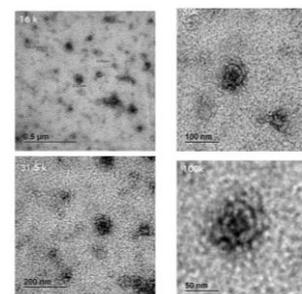


Figura 3. Microscopía electrónica de transmisión de PPV del sobrenadante de HEK-293.

Conclusiones.

Con base al diseño de la quimera ss_M-E (minus TM) ZIKV, (TM) JEV fue posible la formación de PPV de ZIKV en el sobrenadante de las células de mamífero HEK-293.

Agradecimientos.

Soporte técnico por M. Contreras y V. Hernández. Investigación realizada gracias al Programa UNAM-PAPIIT IT-200418.

Bibliografía

- 1.- Lin *et al.* (2018). *Biotechnol. Adv.* 36 (1): 47–53
- 2.- Szu-Chia Hsieh *et al.* (2008). *Virology* 374: 338–350
- 3.- Sapparapu *et al.* (2016). *Nature* 540, 443–447