

Póster

Búsqueda de antígenos virales capaces de inducir inmunidad para el desarrollo de una vacuna frente a Citomegalovirus humano



Alba Martín Béjar, Pilar Blanco Lobo, Ángel Bulnes Ramos, Pilar Pérez Romero

Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Unidad de Enfermedades Infecciosas, Microbiología y Medicina Preventiva, Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/Universidad de Sevilla, 41013, Sevilla, España

Palabras clave: Citomegalovirus humano, vacuna

RESUMEN

Motivación: Citomegalovirus humano (HCMV) es un patógeno con una alta prevalencia en la población que causa complicaciones severas en infecciones congénitas y en pacientes inmunosuprimidos sometidos a trasplante de órganos sólidos (TOS) o de células madre hematopoyéticas (TCHM) con una incidencia de entre el 20 y el 70% durante el primer año post-trasplante (1). Aunque es prioritario el desarrollo de una vacuna frente a HCMV; ninguna de las vacunas desarrolladas hasta el momento ha llegado a ser licenciada. HCMV presenta un genoma de unas 235 Kb que codifica hasta 165 proteínas, de las cuales 150 no han sido evaluadas como posibles candidatas para una vacuna (2). El objetivo de este estudio es la búsqueda y caracterización de antígenos virales capaces de inducir una respuesta inmune protectora frente a la infección por HCMV para el diseño de una vacuna efectiva.

Métodos: Utilizando como molde el genoma viral de HCMV AD169 se amplificaron mediante PCR los genes candidatos utilizando primers específicos. Los productos fueron clonados en el plásmido pGEMT y subclonados en el plásmido de expresión pET-15b para obtener proteínas recombinantes con cola de histidina. Estos últimos se secuenciaron para comprobar su correcta inserción en fase de lectura. Los clones positivos fueron transformados en la estirpe de *E. Coli* BL-21 por electroporación. Los transformantes fueron crecidos en condiciones estándar de inducción (37°C 4h 1mM IPTG). Los lisados obtenidos por sonicación fueron separados por electroforesis (SD-PAGE) y las proteínas recombinantes fueron detectadas por Western-Blot utilizando un anticuerpo anti-His.

Resultados: Se partió de un total de 18 candidatos, de los cuales 2 se seleccionaron por ser reconocidos por anticuerpos neutralizantes presentes en el suero de pacientes con inmunidad específica positiva frente a HCMV y 16 por ser altamente expresados en el análisis del transcriptoma por RNAseq, presuponiendo que podrían ser capaces de inducir una alta inmunidad específica. Los genes seleccionados fueron amplificados por PCR y clonados en pET-15b para producir las proteínas recombinantes y poner a punto las condiciones de expresión y purificación. Hasta el momento se han clonado 11 genes en pET-15b, comprobándose su correcta inserción en fase de lectura. Actualmente se lleva a cabo la optimización del proceso de expresión mediante el uso de la estirpe de *E. Coli* BL-21 *Rosetta*, que tiene la capacidad de sintetizar aminoácidos propios de células eucariotas.

BIBLIOGRAFIA

Griffiths, P. *et al.* (2013) Desirability and feasibility of a vaccine against cytomegalovirus. *Vaccine*, **31S**, B197-B203.

Fu, T.-M. *et al.* (2014) Progress on pursuit of human cytomegalovirus vaccines for prevention of congenital infection and disease. *Vaccine*, **32**, 2525-2533.