

Estrategias para la vehiculización de superantígenos virales en *virus-like particles*.

Pastorini, M(1,2); Flores, OD(1); Pellegrino, C(1); Scialfa, I(1); Simari, M(1); Nepal, Y(3); Wondra, G(2); Gebhard, L(1); Lapponi, MJ(1); Lozano, ME(1); Alemán, M(2); Chackerian, B(3) y Goñi, SE(1).

(1) Universidad Nacional de Quilmes, Departamento de Ciencia y Tecnología, Instituto de Microbiología Básica y Aplicada, Laboratorio de Virus Emergentes; (2) Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires, Instituto de Medicina Experimental, Laboratorio de Inmunología Experimental; (3) University of New Mexico, School of Medicine, Department of Molecular Genetics and Microbiology.

Contacto: merpastorini@gmail.com

Los superantígenos son moléculas que pueden estimular a linfocitos B o T mediante interacciones no convencionales. El virus del tumor mamario murino (MMTV) es un retrovirus de tipo B cuyo genoma codifica para un superantígeno capaz de causar apoptosis de forma específica a linfocitos T que porten determinada cadena V β en su receptor de linfocitos T (TCR). El objetivo de este trabajo fue el diseño, desarrollo y caracterización de un potencial tratamiento contra leucemias y linfomas T utilizando *virus-like particles* (VLPs) como plataforma de vehiculización. Para ello, se propusieron tres estrategias distintas: A) un sistema de producción en células eucariotas utilizando la proteína Z del virus Junín que implica la expresión de proteínas de fusión, B) otra alternativa considerando el bacteriófago Acinetobacter AP205 en bacterias *E. coli* también mediante la expresión de proteínas de fusión y C) por último utilizando el sistema SpyCatcher/SpyTag en bacterias *E. coli* mediante la técnica de conjugación post-purificación. Para la estrategia A se realizó la construcción de los plásmidos de expresión fusionando los marcos abiertos de lectura de los superantígenos BALB2, BALB14, LA y mtv-7 a la secuencia nucleotídica de la proteína Z del virus Junín con la intención de generar cuatro proteínas de fusión independientes. Las construcciones plasmídicas fueron transferidas a células HEK293T y luego de 48 horas se colectaron los sobrenadantes durante 7 días consecutivos a partir de los cuales se realizó la purificación de VLPs mediante ultracentrifugación en colchón de sacarosa. Para la estrategia B se solicitó la síntesis de los plásmidos portando el marco abierto de lectura completo de BALB2 y únicamente la región carboxilo-terminal que es la que debería tener la actividad biológica. Luego, se transfirieron ambas secuencias al plásmido pAPKP que es el que da a lugar a la formación de VLPs en bacterias ya que se encuentran fusionadas a la proteína de la cápside del bacteriófago AP205. Por último, para la estrategia C se produjeron VLPs SpyCatcher en bacterias *E. coli*, que posteriormente fueron conjugadas con los antígenos recombinantes, fusionados a SpyTag, producidos por otro lado en sistemas bacterianos. Finalmente, se compararon las eficiencias de expresión de los antígenos y de vehiculización de los mismos en las distintas variantes de las VLPs generadas

mediante , ELISA y SDS-PAGE. Las partículas generadas portando superantígenos virales podrían ser consideradas una alternativa de los tratamientos tradicionales, probablemente reduciendo los efectos indeseados de las terapias convencionales debido a la especificidad del mecanismo propuesto.