

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DESARROLLO DE UNA PLATAFORMA PARA LA PRODUCCIÓN DE VACUNAS RECOMBINANTES EN PLANTAS BASADAS EN EL EMPLEO DE FUSIONES DE POLÍMEROS SIMILARES A ELASTINAS Y FLAGELINA

Vignolles, Florencia

Petrucelli, Silvana (Dir.), Rumbo, Martin (Codir.)

Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA). Facultad de Ciencias Exactas, UNLP.

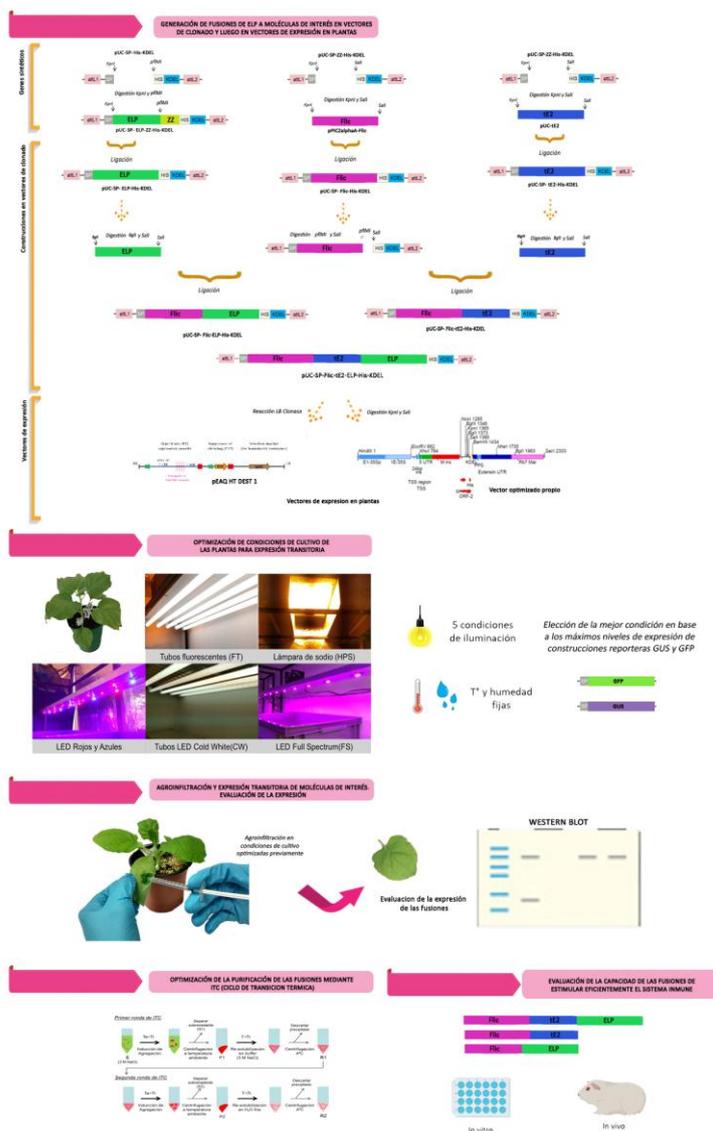
florencia.vignolles@gmail.com

PALABRAS CLAVE: Molecular Farming, Proteínas Recombinantes, Vacunas.

DEVELOPMENT OF A PLATFORM FOR THE PRODUCTION OF RECOMBINANT VACCINES BASED ON THE USE OF FUSIONS BETWEEN ELASTIN LIKE POLYMERS AND FLAGELLIN

KEYWORDS: Molecular Farming, Recombinant Proteins, Vaccines.

Resumen gráfico



Resumen

Las plantas son el sistema más económico, seguro y fácilmente escalable para la producción de proteínas recombinantes. Sin embargo, es un sistema de expresión que está menos afianzado por lo que aún se requiere de trabajo para consolidarlo como sistema alternativo, ya que los resultados obtenidos son variables y muchas veces poco repetitivos.

Este trabajo de tesis tiene como objetivos desarrollar un proceso que sea confiable para producir proteínas de interés por un lado optimizando las condiciones de cultivo para mejorar las condiciones fisiológicas de las plantas utilizadas y por otro lado empleando herramientas desarrolladas por nuestro grupo (nuevo cassette de expresión y co-expresión de factores de transcripción) para modificar la capacidad de síntesis de proteínas en la vía secretoria.

La molécula modelo seleccionada es una vacuna de uso veterinario formada por 3 partes: antígeno (Ag), carrier (ELP) y adyuvante (FliC). El Ag seleccionado es una versión truncada de la glicoproteína tE2 de BVDV (Bovine Viral Diarrhea Virus) que debe sintetizarse en la vía secretoria para adquirir la glicosilación necesaria. Los ELP (polímeros similares a elastina) facilitarán la producción y purificación de la molécula además de incrementar la vida media del antígeno en sangre. La flagelina (FliC) bacteriana actuará como adyuvante activando la vía de señalización de TLR5 mejorando la respuesta inmune al Ag.

Dentro de las condiciones de cultivo a optimizar, uno de los puntos clave es la iluminación por lo que en este plan se evaluarán distintas fuentes de iluminación tradicional y LED para asegurar mayores niveles de expresión de las proteínas de interés. Se ensayarán dos fuentes de

iluminación tradicionales: Tubos Fluorescentes y Lámpara de sodio de alta presión; y cuatro tipos de iluminación LED: Blancos fríos, Full Spectrum, LED rojos y LED rojos y azules.

Luego de optimizadas las condiciones, se expresarán de manera transitoria en *Nicotiana benthamiana* las fusiones de las moléculas de interés junto con ELP en vectores de expresión en plantas y se purificarán por ciclos de transición térmica (ITC). Para ello se ajustarán las condiciones de agroinfiltración y de pH y fuerza iónica para la recuperación por ITC.

La capacidad de las fusiones a ELP (y agregados FliC- ELP+ tE2-ELP) de activar la vía de señalización TLR5 se evaluará posteriormente empleando un sistema reportero en células Caco2.

Por último, se analizará la capacidad de FliC- ELP, tE2-ELP, FliC-tE2-ELP y FliC- ELP+ tE2-ELP de inducir una respuesta inmune humoral en cobayos y se realizará un ensayo de seroneutralización contra BVDV. Se determinará si alguno de estos ELP presenta mejores propiedades como carriers. De ser exitosa esta plataforma de producción de vacunas recombinantes en plantas, podría utilizarse con antígenos.

Multimedia

<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/114044>