

Estrategias experimentales para el estudio de las propiedades de la proteína Core del virus de la hepatitis C

María Cristina Navas
Universidad de Antioquia

Felipe Henao
Universidad de Antioquia

Ivonne Rubio
Universidad de Antioquia

Claudia Álvarez
Universidad de Antioquia

Jesús O. Yepes
Universidad de Antioquia

Juan A. Estrada
Universidad de Antioquia

Norman Balcázar
Universidad de Antioquia

Juan Carlos Restrepo
Universidad de Antioquia

Juan Carlos Arango
Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín

Gonzalo Correa Arango
Universidad de Antioquia

DOI: <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.4104>

RESUMEN

El modelo de infección por el Virus de la Hepatitis C (VHC) se ha convertido en el tópico de interés de numerosos equipos de investigación, considerando el alto porcentaje de infección persistente asociada al VHC. En efecto, del 50 al 80% de los pacientes con infección por el VHC, desarrollan infección persistente, que puede evolucionar a cirrosis y carcinoma hepatocelular (HCC). Este modelo presenta dos obstáculos mayores para su estudio: la ausencia de un sistema eficiente de replicación viral in vitro y el limitado número de modelos animales.

La proteína Core del VHC, además de ser la unidad estructural de la cápside viral, parece estar implicada en las estrategias virales de persistencia y oncogénesis; nuestro grupo ha planteado estrategias experimentales para estudiar algunas de sus propiedades, tales como su capacidad

inmunomoduladora en cultivos de células dendríticas humanas, su capacidad de modificar la expresión del ARNm en células HepG2 con expresión transitoria de Core y la presencia de esta proteína en tejido hepático proveniente de pacientes con diagnóstico de HCC; dichas estrategias experimentales han sido:

- Producción de la proteína Core del VHC en el sistema baculovirus y purificación en condiciones nativas para su evaluación en ensayos biológicos.
- Expresión transitoria de la proteína Core del VHC en la línea celular HepG2, mediante transducción con partículas recombinantes del Virus Semliki Forest (SFV).
- Estudio de la expresión de p53, del estado replicativo viral y del nivel de expresión de la proteína Core del VHC, en tejido hepático proveniente de pacientes con diagnóstico de HCC asociado a la infección por el VHC.

Aunque se logró la producción de la proteína Core en el sistema Baculovirus, algunos inconvenientes se presentaron en la purificación de la proteína con las técnicas de isoelectroenfoque y electroelución. Ensayos preliminares de la capacidad inmunomoduladora de la proteína Core obtenida en el sistema de Baculovirus, se realizaron en cultivos de células dendríticas obtenidas por diferenciación de monocitos.

De otra parte, se demostró la eficiencia del sistema del SFV para la expresión transitoria de altos niveles de proteína heteróloga en células HepG2; contrario a lo observado con la proteína reportera GFP, la eficacia del sistema SFV para la expresión de la proteína Core fue menor en la línea HepG2, comparado con el resultado obtenido en BHK-21.

Un análisis preliminar se realizó mediante la técnica de DD-PCR, para la identificación de transcritos con expresión diferencial en células HepG2 con expresión transitoria de Core, comparado con células control o con expresión transitoria de la proteína reportera, GFP. Por último, la detección por inmunohistoquímica de la proteína Core del VHC en cortes de tejido hepático, se logró en condiciones de pH ácido con el anticuerpo monoclonal humano anti-Core B12.F8.

REFERENCIAS

1. HENAO F, ALVAREZ C, RUBIO I, BALCÁZAR N, NAVAS MC. Expression of heterologous protein in the human hepatoma cell line HepG2 using Semliki Forest virus expression system. ASV 22nd Annual meeting. USA, 2003.
2. RUBIO I, HENAO F, ALVAREZ C, ARIAS A, ORTIZ B, CÓMBITA AL, NAVAS MC. Hepatitis C Virus Core protein production and purification in native conditions for functional assays in monocyte derived dendritic cells culture. ASV 23rd Annual meeting. Canadá, 2004.