

Construcción de microarrays de proteínas a partir de genotecas de expresión para el estudio de la interfase molecular garrapata-hospedador

Verónica Díaz-Martín¹, Raúl Manzano-Román¹, Manuel Fuentes², Ana Oleaga¹, Eduardo de la Torre¹, Ana Hernández¹, Ricardo Pérez-Sánchez¹

¹ Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC); ² Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca (CIC, USAL-CSIC)

veronica.diaz@irnasa.csic.es

Las interacciones proteína-proteína desempeñan funciones esenciales en la regulación de numerosos procesos biológicos, por lo que su estudio constituye un área clave en proteómica. La nueva tecnología “Nucleid Acid Programmable Protein Arrays (NAPPA)” permite producir microarrays de proteínas a partir de genotecas de expresión en sistemas de expresión libres de células, que se autoensamblan directamente en portaobjetos de vidrio, facilitando así el análisis de las interacciones y función de cientos de proteínas en formato high-throughput.

La saliva de las garrapatas contiene proteínas con actividad antihemostática, anti-inflamatoria e inmunosupresora que neutralizan las respuestas defensivas del hospedador, permiten a la garrapata la ingestión de la sangre y facilitan la infección del hospedador por los patógenos que las propias garrapatas transmiten. La identificación de dichas proteínas, sus funciones y contra-receptores en el hospedador es fundamental para identificar dianas antigénicas para el desarrollo de vacunas anti-garrapata y vacunas bloqueantes de la transmisión de patógenos.

Con ese objetivo hemos construido una genoteca de expresión de glándulas salivales de *Ornithodoros moubata*, vector del virus de la Peste porcina africana, utilizando la tecnología Gateway; y a partir de ella hemos producido microarrays de proteínas en un sistema de expresión libre de células utilizando 480 clones seleccionados al azar.

Se consiguió expresar correctamente el 40% de los clones, siendo necesaria una cantidad mínima de 15 microgramos de DNA plasmídico para lograr dicha expresión. Los arrays resultantes mostraron una buena representación de las proteínas presentes en la saliva de la garrapata (sialoma) y constituyen una herramienta útil y moderna para el estudio de las funciones de dichas proteínas.

Esta herramienta facilitará la identificación de dianas para el desarrollo de agentes terapéuticos y nuevas estrategias de control frente las garrapatas y los patógenos que transmiten.

Financiación: Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2010-18164); Junta de Castilla y León (CSI062A11-2).