



Búsqueda y evaluación *in vivo* de péptidos antigénicos presentes en la proteína asociada a tumores MAGE A3

Nicolás-Morales ML, Luisa-Sanjuan A, Espinoza-Rojo M, Vences-Velázquez A, Ortuño-Pineda C, Parra-Abarca J, Cortés-Sarabia K. Laboratorio de Inmunobiología y Diagnóstico Molecular. Universidad Autónoma de Guerrero. Av. Lázaro Cárdenas S/N, Ciudad Universitaria. Chilpancingo, Gro. Kcortes_sarabia@Hotmail.com

Introducción

La proteína MAGE A3 pertenece al grupo de proteínas de la familia MAGE A considerados como antígenos cáncer-testículos, los cuales han sido asociados con una variedad de tejidos malignos pero con nula expresión en tejidos normales distintos a la placenta y testículos. La expresión de MAGE A3 ha sido relacionada con distintos tumores, principalmente melanomas y carcinomas de mama y pulmón, por lo que se considera buen candidato para su evaluación como diana terapéutica.

Objetivo

Identificar péptidos antigénicos en la proteína MAGE A3 capaces de inducir una respuesta inmune humoral.

Material y métodos

Se analizó la estructura primaria, secundaria y terciaria de la proteína MAGE A3 en distintas plataformas y *softwares*. Se utilizó la base de datos IEDB para la identificación de péptidos candidatos a epítomos de células T y células B, los cuales fueron evaluados para la determinación de sus propiedades inmunogénicas y biofísicas. Se ordenó la síntesis del péptido seleccionado en formato MAP8, en combinación con el adyuvante incompleto de Freund se inocularon 10 y 30 µg por vía intraperitoneal y subcutánea a un modelo de ratones de la cepa Balb/C, las muestras de sangre se obtuvieron por vía retroorbital para la evaluación por ensayos de ELISA indirecto.

Resultados

Se identificaron 11 péptidos que poseían la característica de actuar como epítomos de células T o células B; finalmente, se identificó aquel con las mejores características inmunogénicas y se seleccionó el péptido IL-12-MAP8 (Figura 1), para su posterior inoculación en ratones. Se observó un aumento en los niveles de anticuerpos IgM e IgG a partir del día 17 y 48 respectivamente, la respuesta fue favorable para ambas dosis y vías de administración (Figura 2).

Nº	Secuencia	Longitud
1	GPRALVETSY	10
2	MEVDPIGHL Y	10
3	LKYRAREPVTKA	12
4	QAALSRKVAELVHFL	16
5	KAGLLIIVLAIARE	15
6	LLTQHFVQENYLEY	14
7	FATCLGLSYDGL	12
8	VPGSDPACYEFLW	13
9	HISYPPLHEWVL	12
10	VLHHMVKISGGP	12
11	KASSSLQLVFGI	12

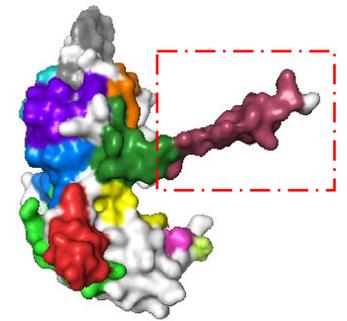


Figura 1. Identificación de péptidos candidatos a epítomos de células T y B. Se identificaron 11 péptidos en total, el péptido IL-12-MAP8 se señala con líneas punteadas. Visualización en modelo de superficie.

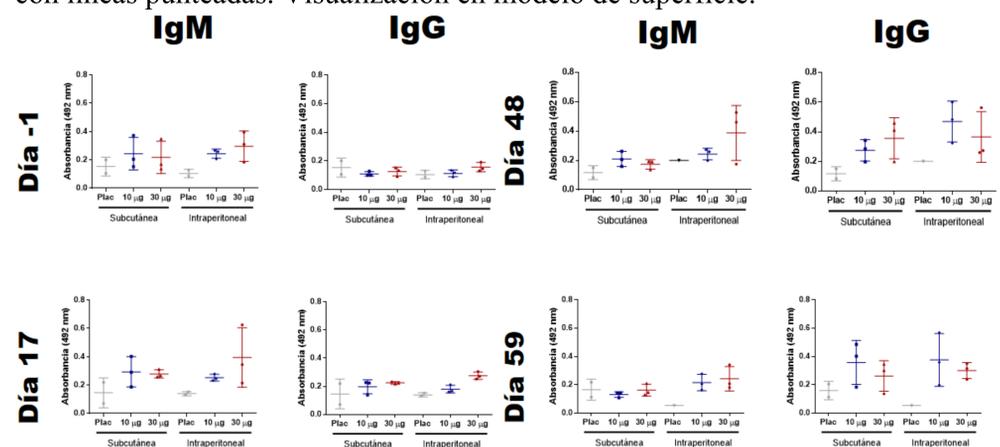


Figura 2. Evaluación de la respuesta inmune humoral. Las muestras de suero se recolectaron los días -1, 17, 48 y 59 y se evaluó la respuesta inmune utilizando anticuerpos monoclonales específicos anti-IgM e IgG.

Conclusión

La identificación de antígenos asociados a tumor es fundamental para el desarrollo de nuevas estrategias contra el cáncer. El péptido IL-12-MAP8 derivado del antígeno MAGE A3 fue capaz de inducir una respuesta inmune humoral en ratones Balb/C, generando niveles elevados de anticuerpos tipo IgM e IgG.

Referencias

- Chiang, C. L.-L., Coukos, G., & Kandalaf, L. E. Whole Tumor Antigen Vaccines: Where Are We? *Vaccines*, 2015, 3(2), 344-372. <https://doi.org/10.3390/vaccines3020344>. Tessari A, Pilla L, Silvia D, Duca M, Paolini B, Carcangiu ML, Mariani L, de Braud FG, Cresta S. Expression of NY-ESO-1, MAGE-A3, PRAME and WT1 in different subgroups of breast cancer: An indication to immunotherapy? *Breast*. 2018 Dec;42:68-73. doi: 10.1016/j.breast.2018.08.106. Epub 2018 Aug 29. PMID: 30189381. Dyrskjøt, L., Zieger, K., Kissow Lildal, T., Reinert, T., Gruselle, O., Coche, T., Borre, M., & Ørntoft, T. F. (2012). Expression of MAGE-A3, NY-ESO-1, LAGE-1 and PRAME in urothelial carcinoma. *British journal of cancer*, 107(1), 116–122. <https://doi.org/10.1038/bjc.2012.215>. Marcus Otte, Menelaos Zafarakas, Lutz Riethdorf, Uwe Pichlmeier, Thomas Löning, Fritz Jänicke, Klaus Pantel; MAGE-A Gene Expression Pattern in Primary Breast Cancer1. *Cancer Res* 15 September 2001; 61 (18): 6682–6687.

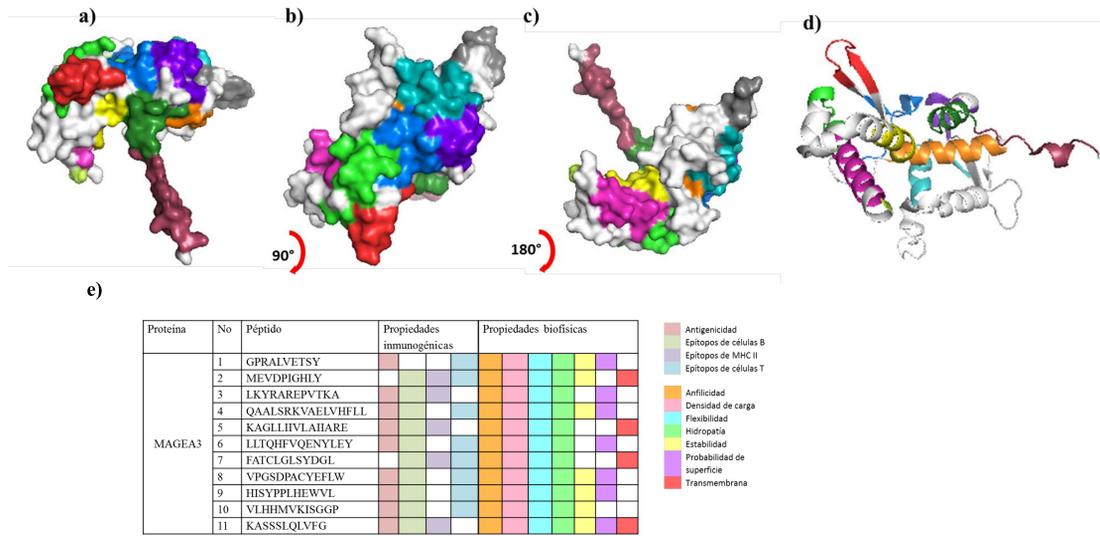


Imagen 1. Identificación de péptidos candidatos a epítomos de células T y B. a), b), c), d): posición de los péptidos en la estructura tridimensional de la proteína; e) propiedades inmunogénicas y biofísicas evaluadas para cada péptido candidato.

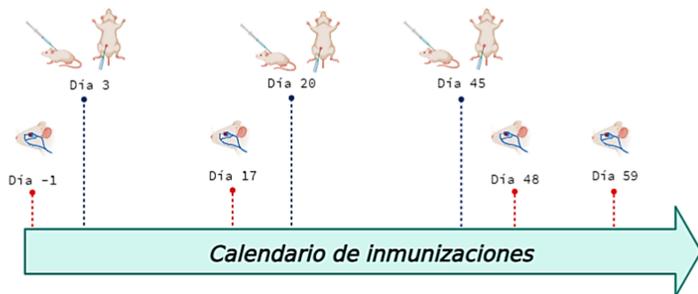


Imagen 2. Evaluación de la respuesta inmune humoral. Esquema de inmunizaciones y sangrados para la obtención de suero sanguíneo.