Producción de partículas lentivirales pseudotipadas SARS-CoV-2: una tecnología segura para ensayos de neutralización y de actividad antiviral

Morantes Medina Sandra Johanna[1*], Cáceres Munar Brian Alejandro[2], Félix Giovanni Delgado Tiria[2], Corredor Rozo Zayda Lorena[3], Miguel Hernando Parra Avila[4]

[1] Universidad El Bosque, Programa Química Farmacéutica, Grupo de Investigación en Química Aplicada - INQA, Línea Bioprospección & Biotecnología Farmceútica, Bogotá, D.C, Colombia.

[2] Universidad El Bosque, Vicerrectoría de Investigaciones, Grupo de Virología, Bogotá, D.C, Colombia

[3] Universidad El Bosque, Vicerrectoría de Investigaciones, Grupo de Genética Molecular Bacteriana,Bogotá, D.C, Colombia

[4] Universidad El Bosque, Vicerrectoría de Investigaciones, Grupo de Inmunología Celular y Molecular, Bogotá, D.C, Colombia

*Autor de correspondencia: smorantes@unbosque.edu.co

RESUMEN

Las partículas lentivirales pseudotipadas (PLPs) han revolucionado la investigación sobre SARS-CoV-2, al facilitar la comprensión del mecanismo de infección viral, la detectección títulos de anticuerpos neutralizantes y la evaluación de fármacos antivirales, sin necesidad de manipular virus vivos [1]. Diversas estrategías metodologícas se han empleado para producir de PLPs que expresen la proteína Spike del virus SARS-CoV-2, sin embargo se presentan variaciones en los títulos obtenidos. Aquí se muestran resultados de la adpatación de un protocolo [2], que se basa en la transfección transitoria de células HEK-293F con 5 plásmidos: uno que codifica para Spike -Wuhan (p-Spike), un set de 3 que codifican para las proteínas estructurales necesarias para el ensamblaje de las pseudopartículas virales (p-Tat; p-Gag-Pol y p-Rev), y uno que codifica para el reportero ZsGreen (p-Luc-ZsGreen). Adicionalmente, se emplearon plásmidos para las variantes Spike- Gamma y Spike – Delta. Tras la transfección con el kit comercial LV-MAX Lentiviral Production System, las PLPs fueron cosechadas del medio de cultivo, filtradas por 0,45 µm y almacenadas a -80ºC hasta uso. La titulación reveló que las PLPs Delta tienen un título mayor (1,6 x 10^6 URL/mL) que las Wuhan y Gamma (4,4 x 10^5 URL/mL). Se demostró que las PLPs podían infectar células A549 expresando los receptores de membrana ACE2 y TMPRSS2. Mediante un ensayo de neutralización se confirmó su reconocimiento por sueros de pacientes

convalecientes Estos resultados respaldan la capacidad del laboratorio para producir PLPs de SARS-CoV-2 con potencial aplicación en ensayos de neutralización y tamizaje de moléculas antivirales.

Palabras clave:

Biotecnología , Pseudoparticulas virales , Trasnfección , COVID-19

Bibliografía

[1] Qi Xiang, Linhao Li, Jie Wu, Miao Tian, and Yang Fu, "Application of pseudovirus system in the development of vaccine, antiviral-drugs, and neutralizing antibodies," Microbiol Res, vol. 258, pp. 126993, Jan. 2022, doi: 10.1016/j.micres.2022.126993.

[2] K. H. D. Crawford, R. Eguia, A. S. Dingens, A. N. Loes, K. D. Malone, C. R. Wolf, H. Y. Chu, M. A. Tortorici, D. Veesler, M. Murphy, D. Pettie, N. P. King, A. B. Balazs, J. D. Bloom, "Protocol and Reagents for Pseudotyping Lentiviral Particles with SARS-CoV-2 Spike Protein for Neutralization Assays," Viruses, vol. 12, no. 5, p. 513, May 6, 2020. DOI: 10.3390/v12050513

UNIVERSIDAD **EL BOSQUE**

Vigilada Mineducación

Producción de partículas lentivirales pseudotipadas SARS-CoV-2: una tecnología segura para ensayos de neutralización y de actividad antiviral.

Otorga el presente certificado a:

Sandra Johanna Morantes Medina

1er Congreso Nacional Programas de Química Farmacéutica y Afines

Impactos en Salud y Tecnología

Bogotá D.C., 14 y 15 de marzo de 2024

William Cortes
Director
Departamento de Química
Universidad El Bosque

Leonardo Fernández
Director
Programa de Química Farmacéutica
Universidad El Bosque

Federman Nuñez
Líder
Relacionamiento Estratégico
Universidad El Bosque

UNIVERSIDAD EL BOSQUE

Vigilada Mineducación

Facultad de Ciencias
Departamento de Química
Programa de Química Farmacéutica

Felicitación por la ponencia de:

Producción de partículas lentivirales pseudotipadas SARS-CoV-2: una tecnología segura para ensayos de neutralización y de actividad antiviral

Por la obtención del:

1er puesto:

Bogotá D.C., 15 de marzo de 2024

1er Congreso Nacional Programas de Química Farmaceutica y Afines

Impactos en Salud y Tecnología

UNIVERSIDAD COOPERATIVA DE COLOMBIA

Campus **Santa Marta**

Certificado de Ponencia

El Comité Organizador del **X Simposio Colombiano & VI Congreso Latinoamericano de Virología,** certifica que:

Brian Alejandro Cáceres Munar

Participó en calidad de **PONENTE** en modalidad **oral**, del trabajo titulado:

Production of pseudotyped SARS-CoV-2 lentiviral particles for use in Spike-mediated cell entry assays

Brian Alejandro Cáceres Munar1,*, Zayda Lorena Corredor Rozo2, Sandra Johanna Morantes3, Félix Giovanni Delgado Tiria1, María Consuelo Romero4, Jaime Eduardo Castellanos Parra1, Miguel Hernando Parra Avila4

El evento se llevó a cabo en la ciudad de Santa Marta, entre el 29 de noviembre y 1 de diciembre de 2023.

Salín Ramón Touchie Meza
Decano, Facultad de Medicina
Universidad Cooperativa de Colombia

José Aldemar Usme Ciro
Comité Organizador
Simposio ACV 2023

Jaime Eduardo Castellanos Parra
Presidente, 2021-2023
Asociación Colombiana de Virología

X Simposio Colombiano & VI Congreso Latinoamericano de Virología

Instituto Nacional de Salud · Alianza Bioversity & CIAT · Asociación Colombiana de Virología

XIV Encuentro Nacional de Enfermedades Infecciosas
IV Encuentro latinoamericano de investigación en Enfermedades Infecciosas
Hotel Intercontinental - Medellín
26 al 28 de septiembre de 2024
ACIN
Cuantificación de títulos de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 y sus variantes utilizando partículas lentivirales pseudotipadas
Brian Alejandro Cáceres Munar[1], Zayda Lorena Corredor Rozo [2], Sandra Johana Morantes [3], Félix Giovanni Delgado Tiria [1], María Consuelo Romero[4], Jaime Castellanos[1], Miguel Hernando Parra Avila [4].
Vicerrectoría de Investigaciones /1Grupo de Virología, 2Grupo de Genética Molecular Bacteriana, 3Grupo de Investigación en Química Aplicada, 4 Grupo de Inmunología Celular y Molecular
LGMB
INMUBO
Instituto de Virología
ATENEA
058-2022
ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C.
Secretaría de Salud
XIV Encuentro Nacional de Enfermedades Infecciosas
IV Encuentro latinoamericano de investigación en Enfermedades Infecciosas
Hotel Intercontinental - Medellín
Bienvenidos
26 al 28 de septiembre de 2024

XIV Encuentro Nacional de Enfermedades Infecciosas
IV Encuentro latinoamericano de investigación en Enfermedades Infecciosas
Hotel Intercontinental - Medellín
26 al 28 de septiembre de 2024
ACIN
Cuantificación de títulos de anticuerpos neutralizantes contra SARS-CoV-2 y sus variantes utilizando partículas lentivirales pseudotipadas
Brian Alejandro Cáceres Munar[1], Zayda Lorena Corredor Rozo [2], Sandra Johana Morantes [3], Félix Giovanni Delgado Tiria [1], María Consuelo Romero[4], Jaime Castellanos[1], Miguel Hernando Parra Avila [4].
Vicerrectoría de Investigaciones /1Grupo de Virología, 2Grupo de Genética Molecular Bacteriana, 3Grupo de Investigación en Química Aplicada, 4 Grupo de Inmunología Celular y Molecular
LGMB
INMUBO
Instituto de Virología
ATENEA
058-2022
ALCALDÍA MAYOR DE BOGOTÁ D.C.
Secretaría de Salud

Dilnaz NR, et al. Diagnostics. 2021
GENCELL
GENÉTICA AVANZADA