



Title: Biology, Chemistry and Life Sciences. Human Biology. Molecular Biology

Authors: GUTIERREZ-CEDILLO, Perla Mariana, CEDILLO-BARRÓN, Leticia and PERRUSQUÍA-LÓPEZ Verónica

Editorial label ECORFAN: 607-8695
BCIERMMI Control Number: 2022-01
BCIERMMI Classification (2022): 261022-0001

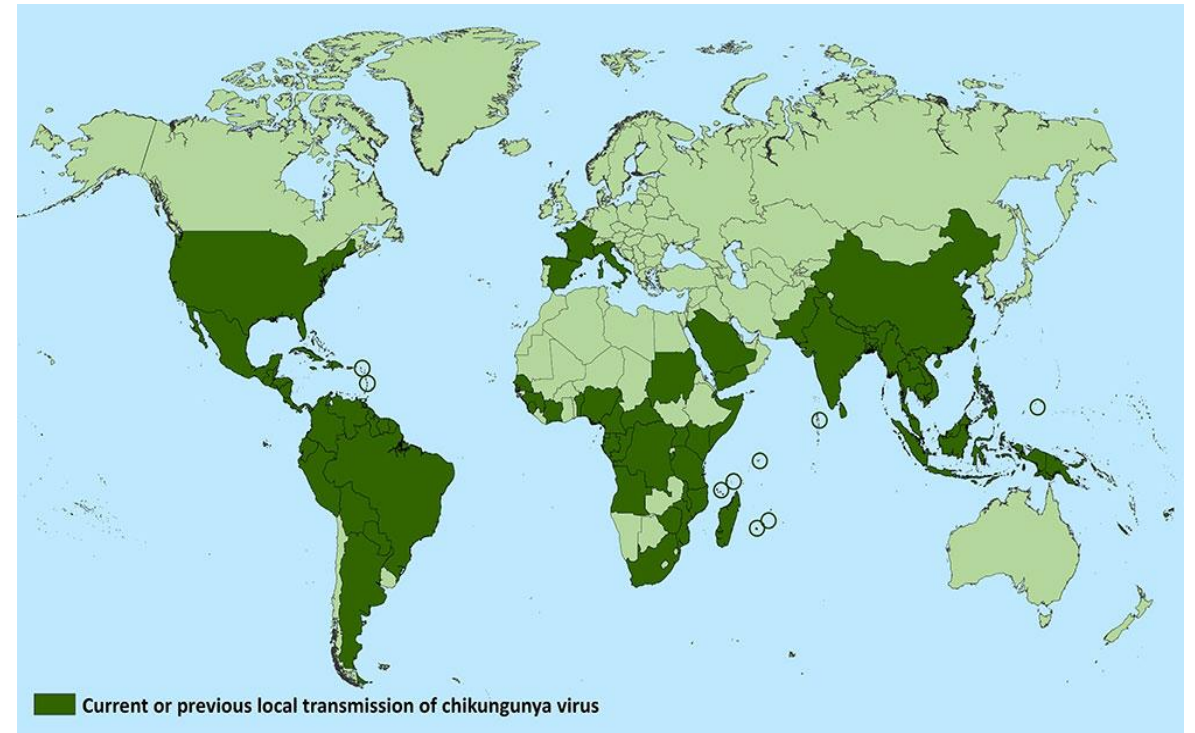
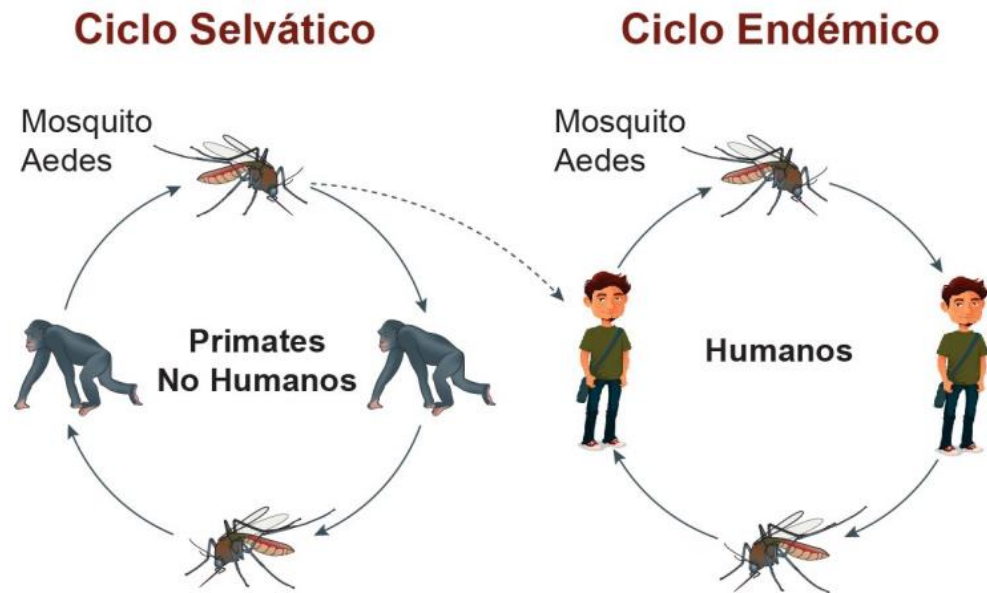
Pages: 15
RNA: 03-2010-032610115700-14

ECORFAN-México, S.C.
143 – 50 Itzopan Street
La Florida, Ecatepec Municipality
Mexico State, 55120 Zipcode
Phone: +52 1 55 6159 2296
Skype: ecorfan-mexico.s.c.
E-mail: contacto@ecorfan.org
Facebook: ECORFAN-México S. C.
Twitter: [@EcorfanC](https://twitter.com/EcorfanC)

www.ecorfan.org

Holdings		
Mexico	Colombia	Guatemala
Bolivia	Cameroon	Democratic
Spain	El Salvador	Republic
Ecuador	Taiwan	of Congo
Peru	Paraguay	Nicaragua

Introducción





Fiebre mayor a 38°C
Cefalea

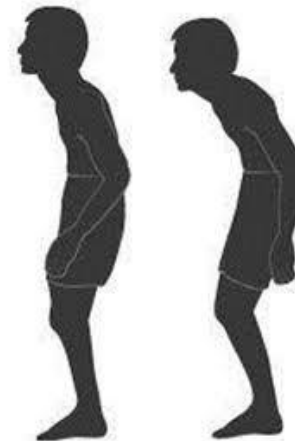


Erupciones
cutáneas

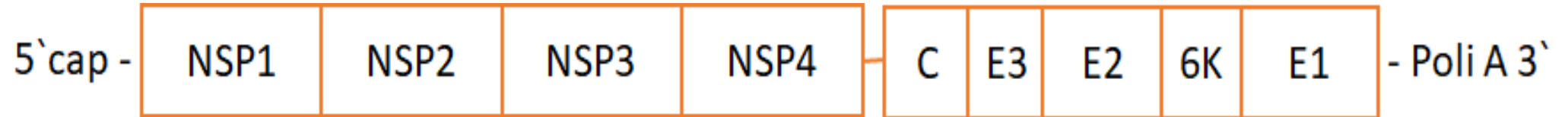


Dolores
articulares

Signos y síntomas

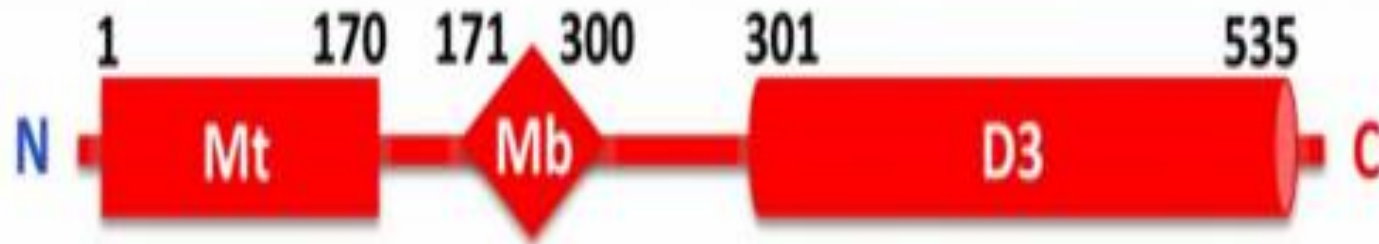


Estructura viral



Tres dominios:

- Dominio N-terminal metiltransferasa (Mt)
- Dominio de unión a la membrana (Mb)
- Dominio C-terminal (D3).



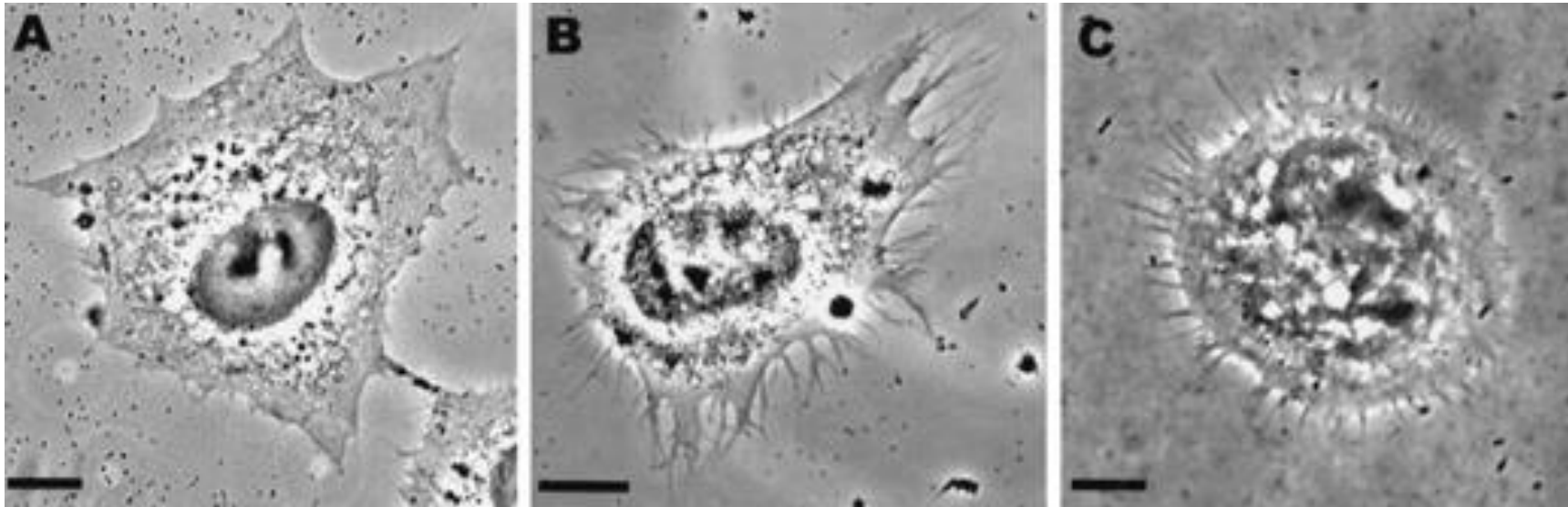
Modificaciones por NSP1 en Alfavirus

Sin transfectar

NSP1 SFV

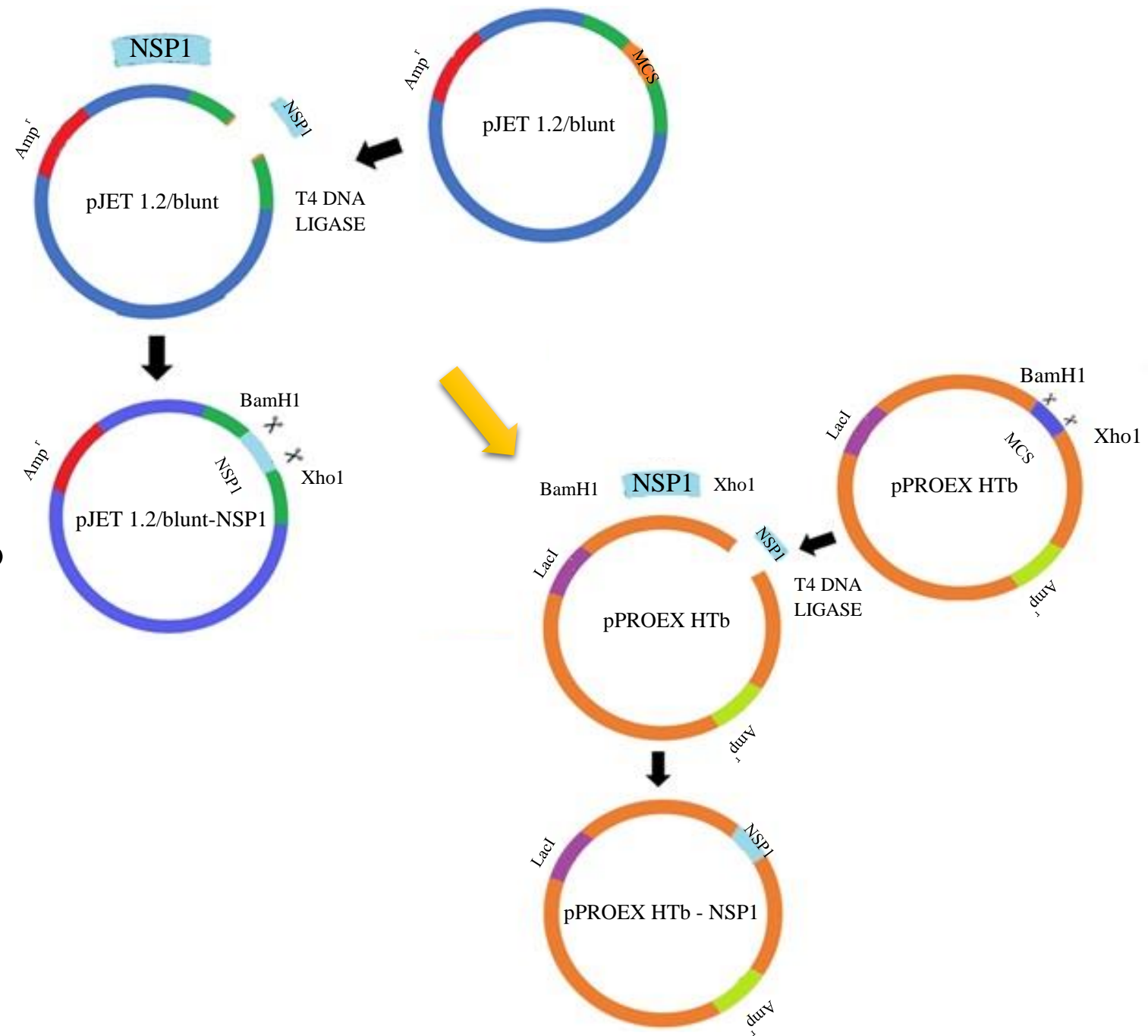
NSP1 SINV

Células
HeLa

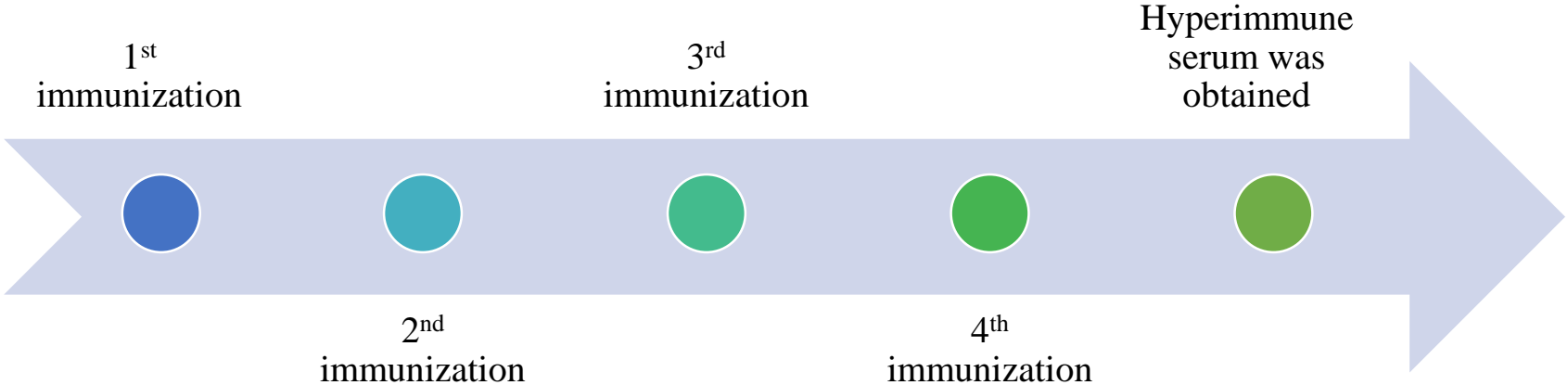


Metodología

Representación esquemática de la estrategia general de clonación para los vectores pJET1.2 y pPROEX Htb y la construcción final pPROEX HTb-NSP1 flanqueada por sitios de restricción para *BamHI* y *XhoI*.

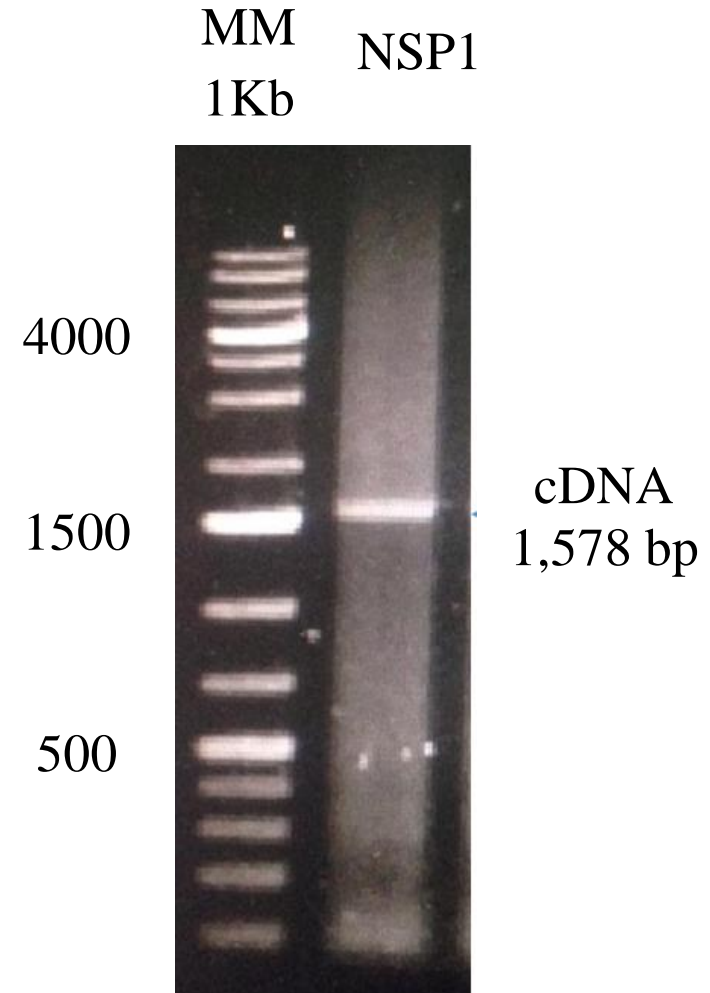


Protocolo de inmunización de ratas Wistar y evaluación del suero hiperinmune por inmunofluorescencia

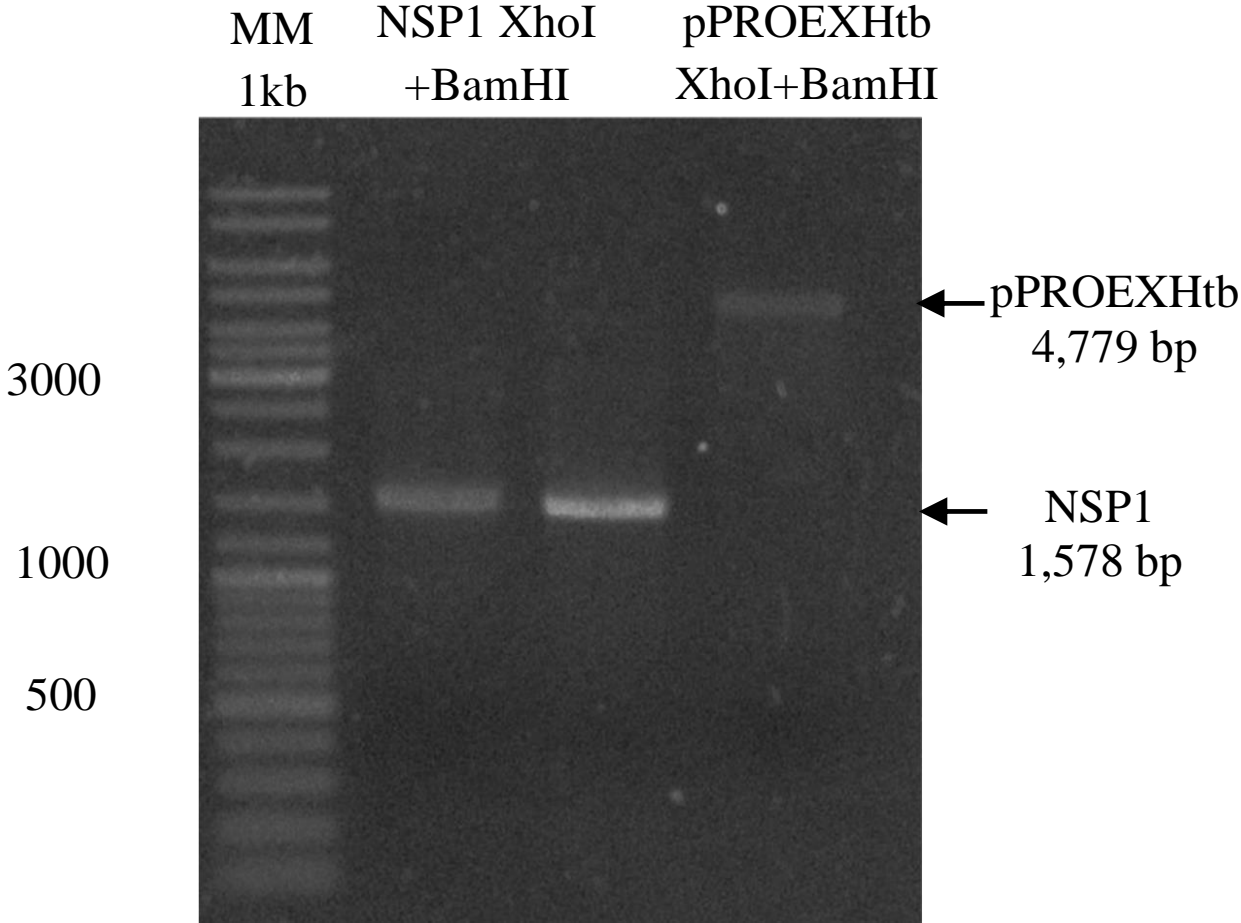


Resultados

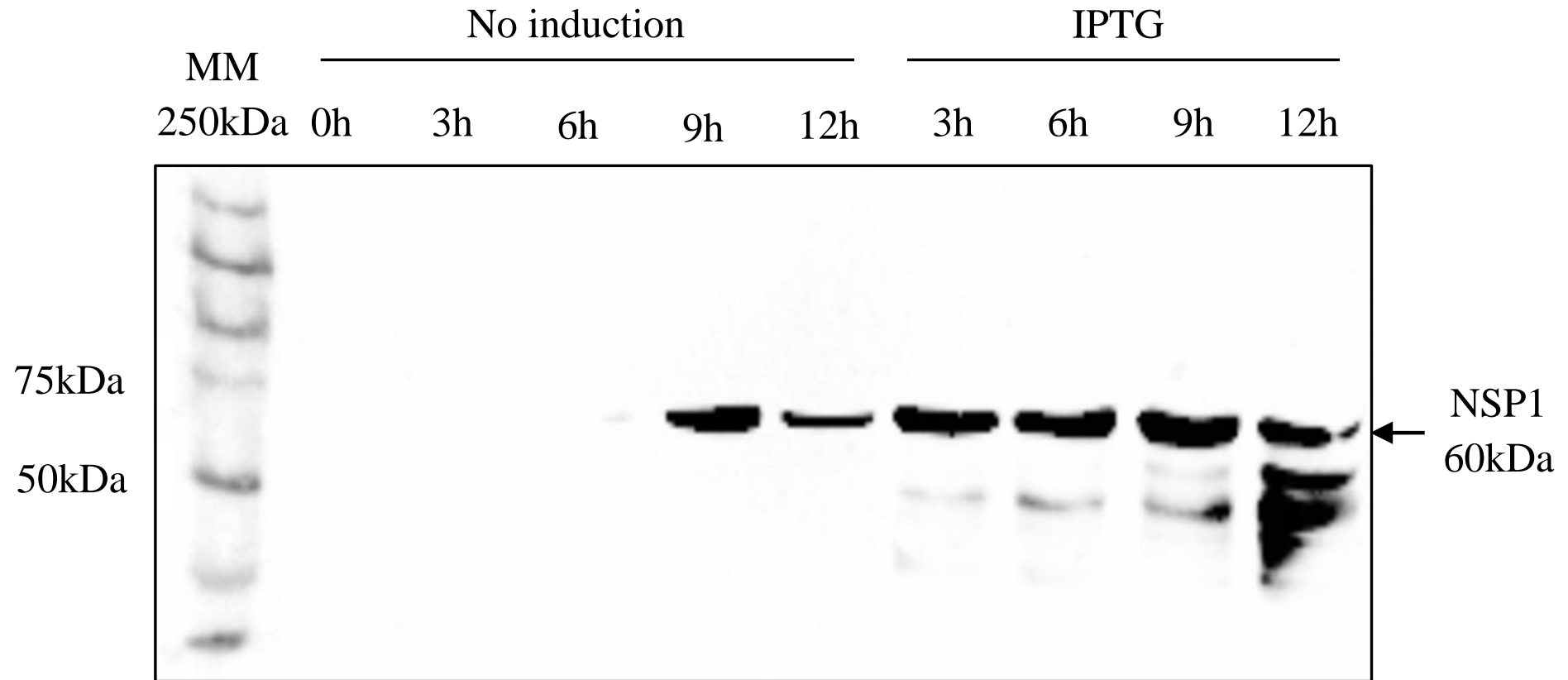
NSP1 RT-PCR electropherogram. The NSP1 sequence was amplified using the forward 5'-CGC-GGA-TCC-ATG-GAT-TCT-GTG-TAC-3' and the reverse primer 5'-CTA-TCT-CGA-CCA-CGA-GAG-CTC-GAA-3', which were flanked by the *Bam*HI and *Xho*I restriction sites, respectively.



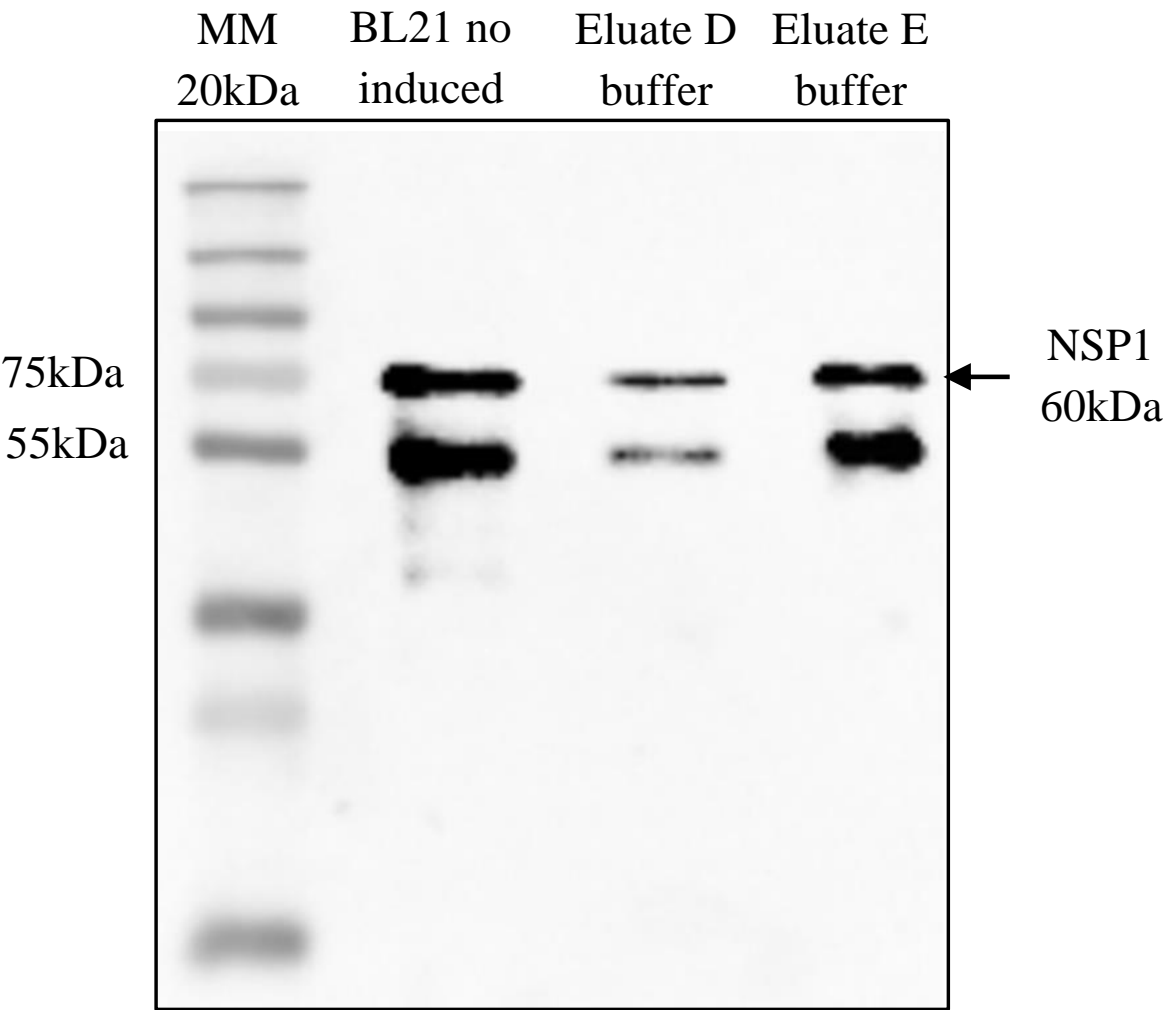
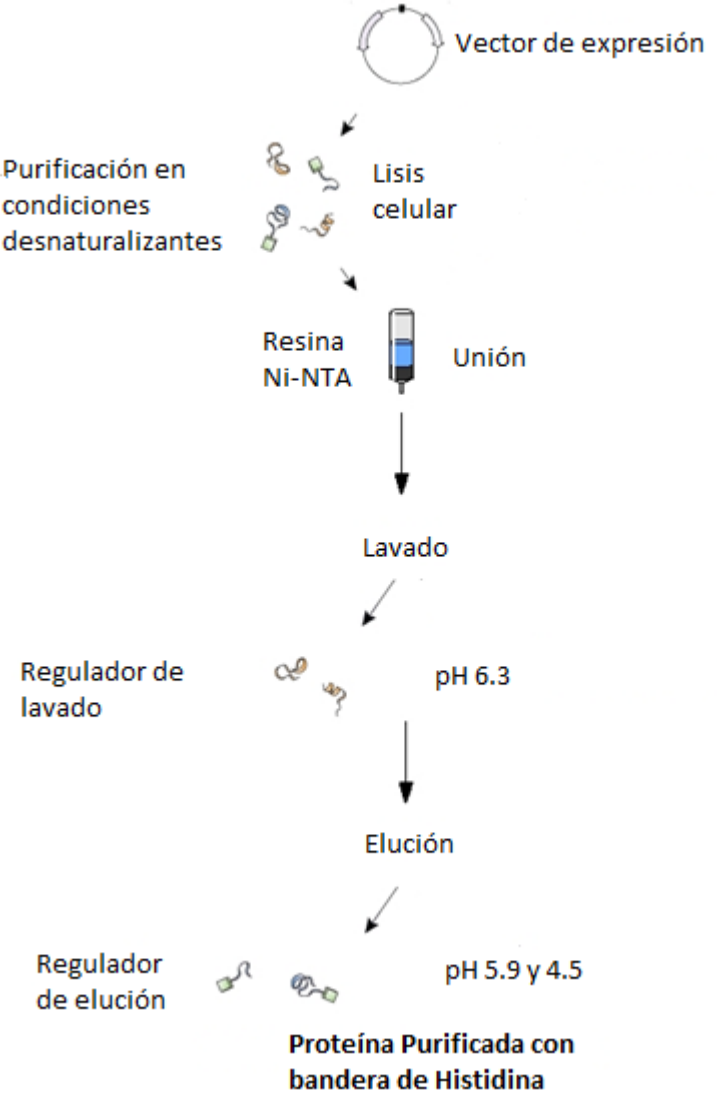
Electroferograma del plásmido pPROEX Htb y amplicones digeridos con las enzimas de restricción BamHI y XhoI previo a la clonación.



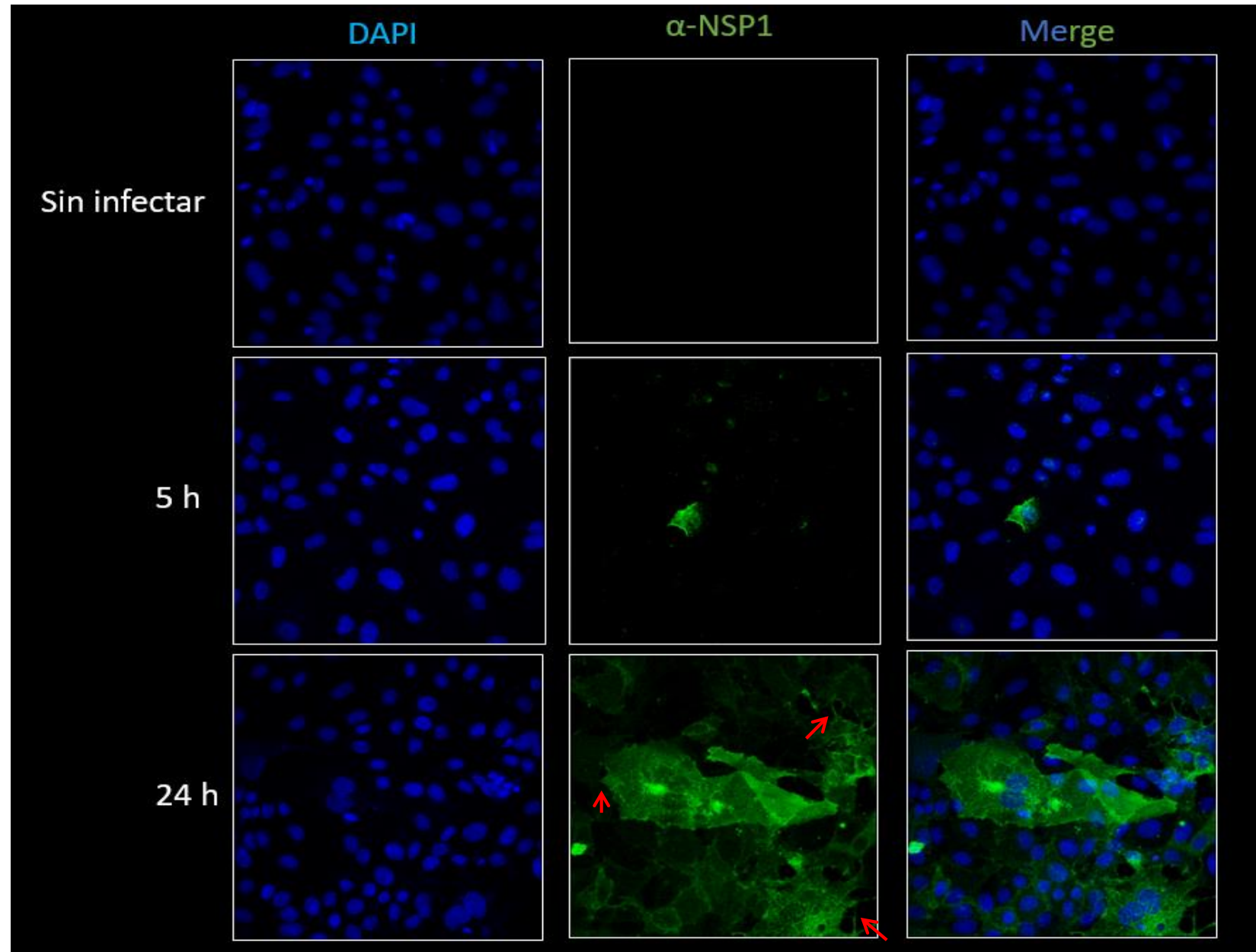
Evaluación de la expresión de la proteína recombinante no estructural 1 (rNSP). Cinética de expresión de NSP1 en *E. coli*.



Purificación de NSP1 recombinante de CHIKV utilizando una columna de Ni-NTA. Las fracciones eluidas se analizaron a través de western blot utilizando un anticuerpo anti-His específico.

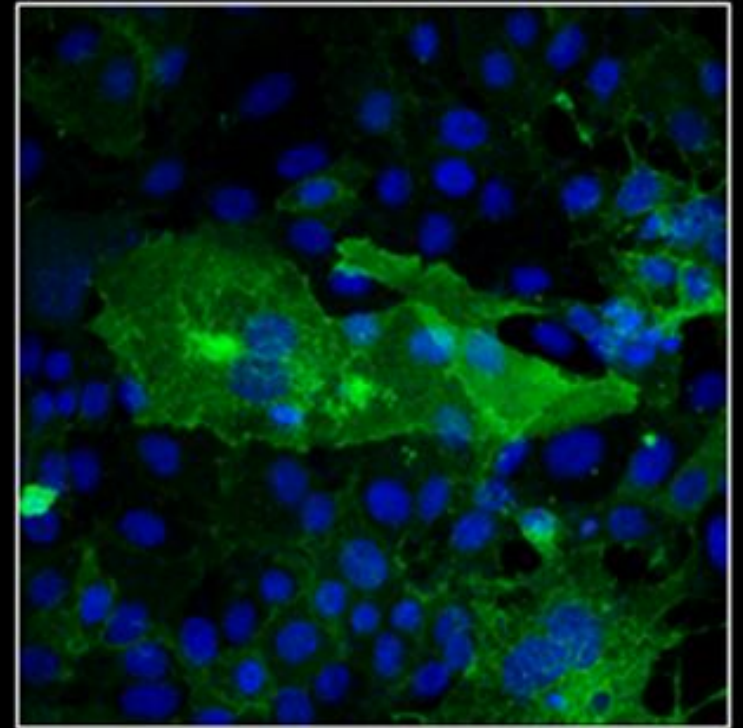
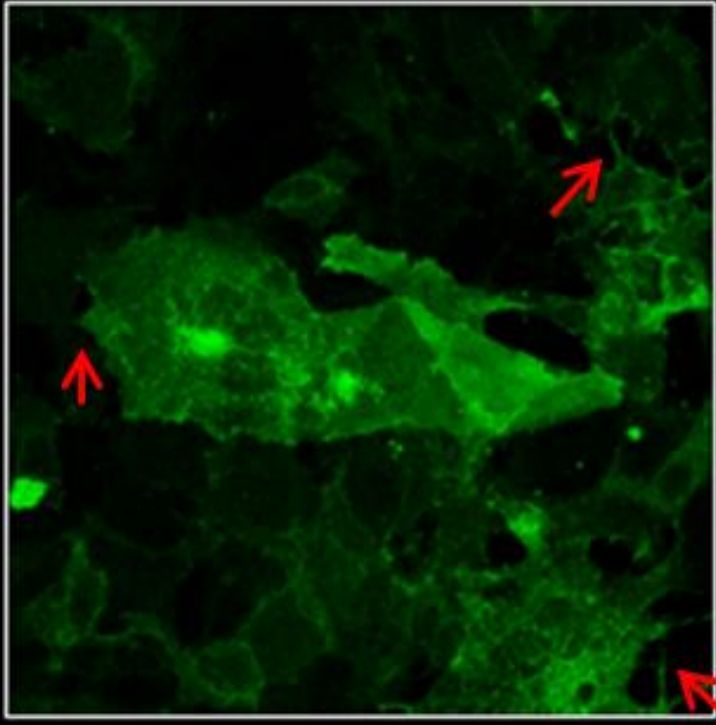
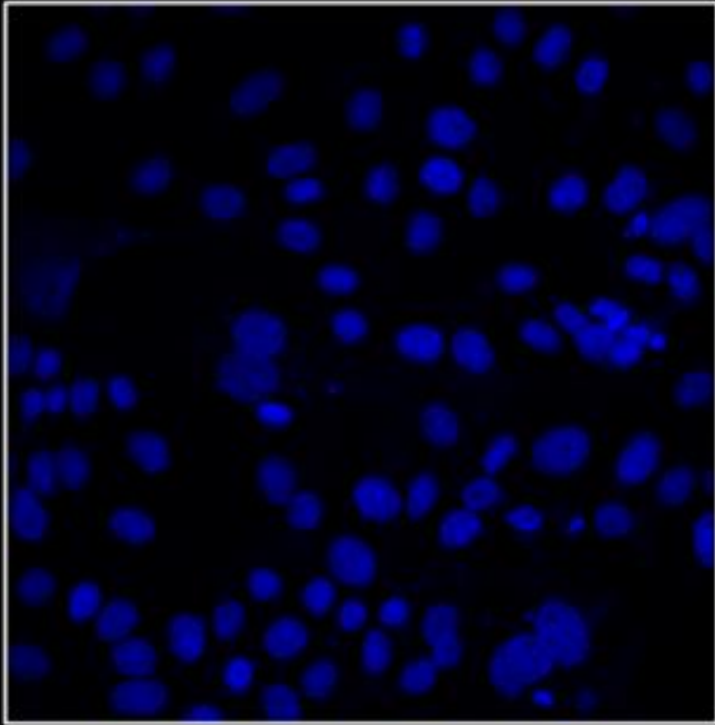


Reconocimiento específico de la NSP1 en células Vero infectadas con CHIKV que fueron analizadas mediante tinción de inmunofluorescencia a las 5 y 24 h posteriores a la infección.



Ampliación 24 Post-infección

24 h



Conclusiones

La NSP1 recombinante es una proteína inmunogénica, que nos permite obtener anticuerpos policlonales contra rNSP1 que reconocen la forma nativa de la NSP1.

El antisuero es una herramienta muy útil para estudiar aspectos importantes del ciclo viral del CHIKV.

Referencias

1. OMS: Chikungunya [(recuperado a 20 de marzo de 2022)]; Disponible en línea: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chikungunya>
2. Rana, J., Rajasekharan, S., Gulati, S., Dudha, N., Gupta, A., Chaudhary, V. K., & Gupta, S. (2014). Network mapping among the functional domains of Chikungunya virus nonstructural proteins. *Proteins*, 82(10), 2403–2411.
3. Laakkonen, P., Auvinen, P., Kujala, P., & Kääriäinen, L. (1998). Alphavirus replicase protein NSP1 induces filopodia and rearrangement of actin filaments. *Journal of virology*, 72(12), 10265–10269.



ECORFAN®

© ECORFAN-Mexico, S.C.

No part of this document covered by the Federal Copyright Law may be reproduced, transmitted or used in any form or medium, whether graphic, electronic or mechanical, including but not limited to the following: Citations in articles and comments Bibliographical, compilation of radio or electronic journalistic data. For the effects of articles 13, 162,163 fraction I, 164 fraction I, 168, 169,209 fraction III and other relative of the Federal Law of Copyright. Violations: Be forced to prosecute under Mexican copyright law. The use of general descriptive names, registered names, trademarks, in this publication do not imply, uniformly in the absence of a specific statement, that such names are exempt from the relevant protector in laws and regulations of Mexico and therefore free for General use of the international scientific community. BCIERMMI is part of the media of ECORFAN-Mexico, S.C., E: 94-443.F: 008- (www.ecorfan.org/booklets)