**NOMBRE DEL SUB-EVENTO**

**VII Simposio Internacional de Química 2019**

**Título**

**Obtención de NS3 recombinante para su uso en el diagnóstico de Hepatitis C**

***Title***

***Obtention of Recombinant NS3 for Hepatitis C Diagnostic***

José Miguel Fernández Torres1, Yeosvany Cabrera Artiles2, María Teresa Barcelló Ávila3, Ronny Camacho Pupo4, Alina Sobrino Legón5, Duniesky Martínez García6 Enrique Pérez Cruz7 Raúl Armas Ramos8

1-José Miguel Fernández Torres. CIGBSS, Cuba. E-mail: jose.fernandez@cigb.edu.cu

2- Yeosvany Cabrera Artiles. CIGBSS, Cuba. E-mail: yeosvany.cabrera@cigb.edu.cu

3- María Teresa Barcelló Ávila. CIGBSS, Cuba. E-mail: maria.barcelo@cigb.edu.cu

4- Ronny Camacho Pupo. CIGBSS, Cuba. E-mail: ronny.camacho@cigb.edu.cu

5- Alina Sobrino Legón. CIGBSS, E-mail: alina.sobrino@cigb.edu.cu

6- Duniesky Martínez García. CIGBSS, E-mail: duniesky.martinez@cigb.edu.cu

7- Enrique Pérez Cruz. CIGBSS, E-mail: enrique.perez@cigb.edu.cu

8- Raúl Armas Ramos. CIGBSS, E-mail: raul.armas@cigb.edu.cu

**Resumen:**

**Problemática:** El diagnóstico serológico de la Hepatitis C en Cuba se realiza mediante un UMELISA desarrollado por el CIE, en el cual se usa como reactivo biológico la NS3 del Virus de la Hepatitis C recombinante. En el proceso productivo de la NS3 se observan inconsistencias en la expresión en *Escherichia coli* debido a la inefectiva regulación que a veces ofrece el promotor trp.

**Objetivo(s):** clonar la secuencia que codifica para la NS3 en un vector de expresión bajo el promotor híbrido tac para mejorar la regulación de la expresión en *E.coli*.

**Metodología:** El clonaje se llevó a cabo usando la metodología del ADN recombinante amplificando por PCR la región que codifica para la NS3 del plásmido pR2M6-NS3-His y se insertó en el plásmido PTBAD bajo el promotor Tac.

**Resultados y discusión:** La nueva proteína expresada fue reconocida por anticuerpos monoclonales anti-NS3, anti-IL2 y anti-histidina, los tres fragmentos que conforman la proteína quimérica. La expresión de la NS3 fue evaluada en las cepas XL-1Blue, W3110 y C-600. Esta fue similar en las tres cepas con alrededor del 30 % de las proteínas totales. Sin embargo, la mayor regulación fue obtenida en la cepa C-600.

**Conclusiones:** Se expresó la proteína recombinante Il-NS3-His bajo el promotor Tac aumentando los niveles de expresión y su regulación en el medio de cultivo. La cepa C600 mostró ser la cepa idónea para la expresión de la NS3 bajo el promotor Tac en medio LB. No se observaron diferencias significativas entre ambas proteínas en el kit UMELISA de Hepatitis C.

**Palabras Clave:** NS3; VHC; Clonaje; diagnóstico

***Abstract:***

***Problematic:*** *Serologic diagnostic of Hepatitis C is realized by an UMELISA Test Kit developed by CIE. At the production process of NS3 is observed irregular protein expression on Escherichia coli strain used due to ineffective regulation that sometimes offers promoter trp.*

***Objective(s):*** *cloning the sequence codifying for NS3 protein in an expression vector under the hybrid Tac promoter to improve regulation of E. coli expression.*

***Methodology:*** *The clonning was carried out using the recombinant DNA technology amplifying by PCR the codifyng region of NS3 from pR2M6-NS3-His plasmid and the sequence was inserted on the PTBAD plasmid under Tac promoter.*

***Results and discussion:*** *The new protein expressed was recognized by anti-NS3, anti-IL2 and anti-hystidyne, identifying the three fragments of quimeric protein. The expression of NS3 was assessed on the XL-1Blue, W3110 and C-600 strains. The expression was similar in the three strains with 30 % total proteins. However, best regulation was achieved on C-600.*

***Conclusions:*** *Recombinant Il-NS3-His protein was expressed under Tac promoter, improving expression levels and regulation in the culture media. The C600 strain was the best option for NS3 expression under Tac promoter in LB media. No significance differences were found on it function in an HCV UMELISA Test kit.*

***Keywords:*** *NS3; HCV; Cloning; diagnostic*