

## **ANEXO Contrato Predoctoral**

El desarrollo de nuevas estrategias de control de patógenos infecciosos es un área de investigación relevante tanto en salud humana como animal, dentro de la denominada “Una Salud” (“One health”). Dentro de este ámbito existe la necesidad de disponer de nuevas herramientas que permitan un control eficiente, seguro y económico de las enfermedades infecciosas. En este proyecto proponemos un abordaje multidisciplinar centrado en la Nanotecnología y basado en la obtención y caracterización de bionanopartículas: cápsidas virales vacías (VLPs) y vesículas extracelulares (EVs). El equipo investigador que presenta esta propuesta cuenta con experiencia en:

- a) la obtención tanto de VLPs recombinantes (Barcena et al., 2004, 2015) como de EVs (Calle et al., 2021).
- b) en su utilización como vacunas (Rangel et al., 2020, Zamora-Ceballos et al., 2022).
- c) en el análisis de los roles de dichas nanopartículas en la patogenia del virus de la fiebre aftosa (FMDV) (Calle et al 2022).
- d) en el desarrollo de estrategias antivirales frente a FMDV (Manuscrito en preparación).
- e) en el desarrollo de ensayos de diagnóstico frente a la enfermedad hemorrágica del conejo (RHDV) (Rouco et al., 2017; Fresco et al., 2022).

La aplicabilidad y capacidad de traslación clínica de estas estrategias depende en gran medida de una producción correcta, optimizando los procesos de producción y caracterización de esas nanopartículas, y analizando parámetros que pueden tener impacto en su eficacia. Por ello, aquí proponemos el desarrollo y optimización de una plataforma analítica de bionanopartículas que permita avanzar científica y técnicamente en las estrategias de producción, purificación y análisis específicos mediante tecnologías ómicas. De acuerdo con este objetivo principal, planteamos los siguientes objetivos específicos:

- 1.- Obtención y purificación de VLPs recombinantes de calicivirus expresadas en sistema de baculovirus.
- 2.- Aislamiento y purificación de EVs de células troncales mesenquimales (MSC) de especies ganaderas relevantes (cerdo, vaca, corzo).
- 3.- Caracterización de las nanopartículas obtenidas: Cuantificación (ensayos de BCE, MADLS), propiedades físico-químicas (diámetro, perímetro y circularidad de las nanopartículas, dispersión, potencial Z), caracterización mecánica mediante microscopía de fuerza atómica, caracterización inmunocitoquímica mediante “bead-assisted flow cytometry”, caracterización mediante microscopía electrónica de transmisión, y caracterización transcriptómica mediante secuenciación del contenido de las nanopartículas generadas.
- 4.- Análisis de la inmunogenicidad de las nanopartículas generadas mediante ensayo in vitro (interacción con células presentadoras de antígeno) e in vivo (modelo murino y porcino).