

## POXVIRUS Y VACUNAS



### Mariano Esteban

#### Resumen

Los objetivos fundamentales de nuestro laboratorio van dirigidos a comprender las bases moleculares en la patogenia de agentes infecciosos y su relación con el huésped, así como utilizar estos conocimientos para desarrollar vacunas que puedan ser efectivas en el control de enfermedades como Sida, Malaria y Leishmaniasis.

Como sistema modelo de agente infeccioso y como vector de expresión, utilizamos el virus vaccinia que pertenece a la familia de los poxvirus.

Las líneas de investigación son:

1. Mecanismo de ensamblaje del virus vaccinia;
2. Interacción virus-célula y acción de los interferones;
3. Desarrollo de vacunas contra sida, malaria y leishmania.

Queremos responder a las siguientes preguntas:

a) Cual es la estructura de las distintas formas del virus vaccinia (VV) y su contribución a la infección y distribución en tejidos.

b) Cual es la estructura del complejo viral A27L/A17L responsable de la unión del virus a la membrana celular.

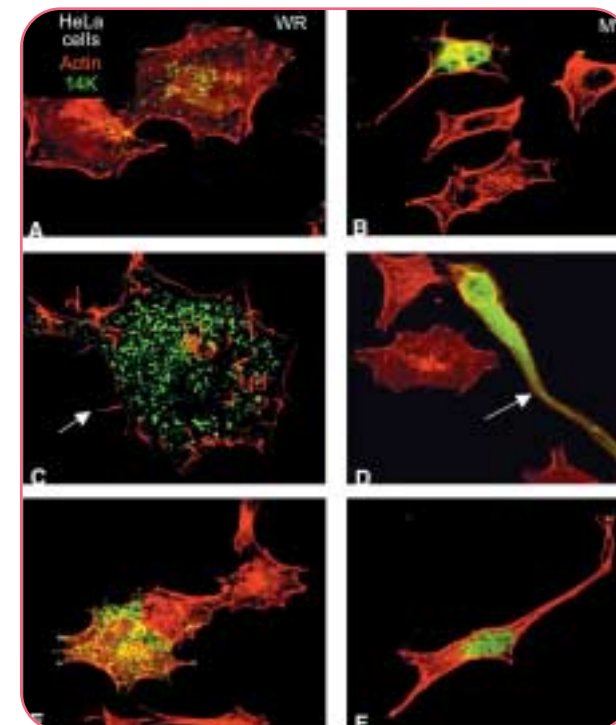


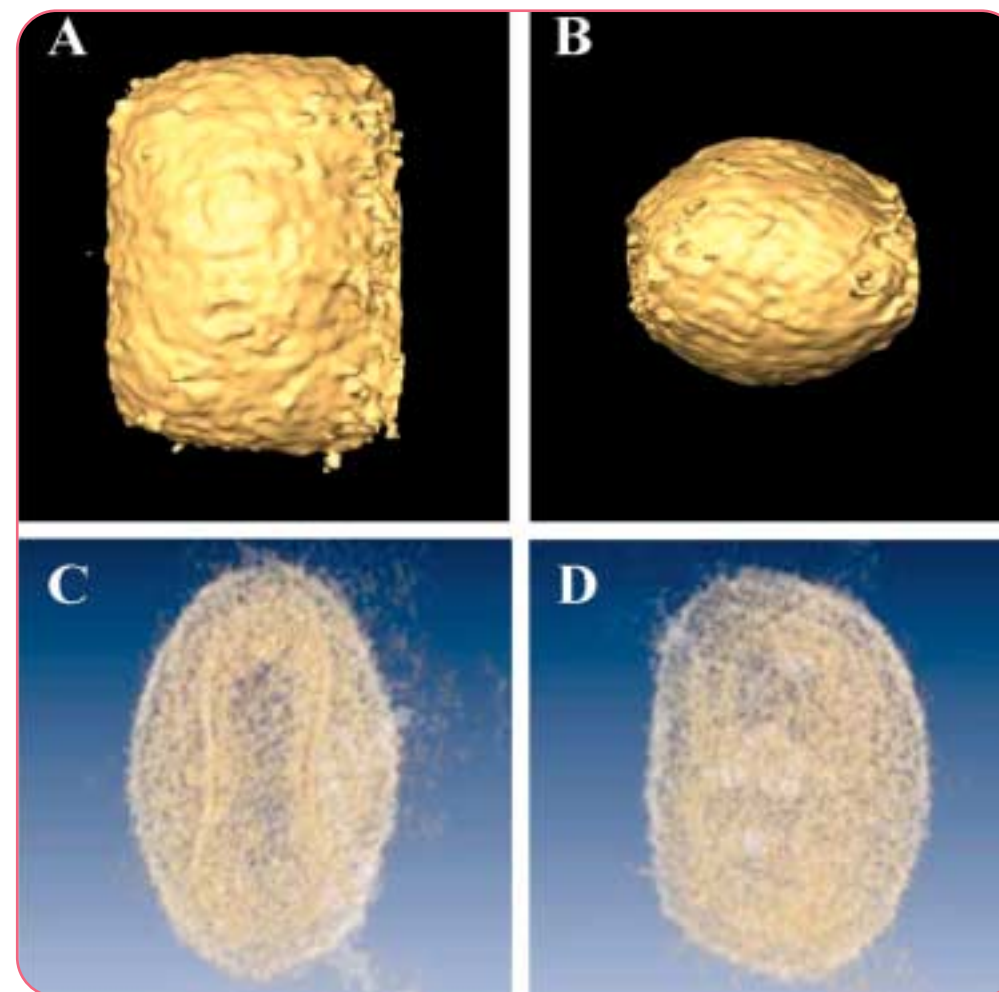
Figura 1. Expresión génica en células infectadas con MVA.

c) Cómo el VV inhibe la síntesis de proteínas celulares.

d) Cual es el impacto del VV y de sus formas mutantes sobre la expresión de genes celulares humanos y cómo estos genes facilitan/inhiben el proceso de replicación viral.

e) Cual es el papel de los genes inducidos por los interferones (IFN), como PKR y el sistema de la 2-5A sintetasa/RNasaL, en la actividad antiviral y antitumoral de los IFN; cómo los virus evaden el sistema del IFN y cómo se pueden utilizar estos genes para destruir células tumorales.

f) Cómo modular el sistema immune (humoral y celular) con poxvirus recombinantes y generar vacunas eficaces contra enfermedades humanas prevalentes (SIDA, malaria, leishmania, HCV, cancer).



.....  
Figura 2. Estructura de la forma infectiva IMV del virus vaccinia (VV) a una resolución de 4-6 nm definida por crio-microscopía electrónica y tomografía.

## PERSONAL



### Jefe de Línea:

Mariano Esteban

### Becarios Postdoctorales:

Alberto Fraile (Contract Ramón y Cajal)

Ivan Ventoso

Susana Guerra,

Carmen E. Gómez

Mariang García

Gracyna Kochan

### Becarios Predoctorales:

Elena Domingo

José Luis Nájera

Eva Pérez

Magdalena Krupa

Andrea Vandermeeren

### Técnicos de Investigación:

Victoria Jiménez

Yolanda García



## PUBLICACIONES

Gherardi, M.M., Nájera, J.L., Pérez-Jiménez, E., Guerra, S., García-Sastre, A. and Esteban, M. (2003). Prime/boost immunization schedules based on influenza and vaccinia virus (VV) vectors (MVA and WR) potentiate cellular immune responses against HIV-env protein systemically and in the genito-rectal draining lymph nodes. *J. Virol.* **77**, 7048-7057.

Guerra, S., López-Fernández, L., Pascual-Montano, A., Muñoz, M., Harsman, K. and Esteban, M. (2003). Cellular gene expression survey upon vaccinia virus infection of human HeLa cells. *J. Virol.* **77**, 6493-6506. (front cover Dec. issue).

Gallego-Gómez, J.C., Risco, C., Rodríguez, D., Cabezas, P., Guerra, S., Carrascosa, J.L. and Esteban, M. (2003). Differences in virus-induced cell morphology and in virus maturation between the MVA and other strains (WR, Ankara, NYCBH) of vaccinia virus in infected human cells. *J. Virol.* **77**, 10606-10622.

Gil, J., García, M.A., Gómez-Puertas, P., Guerra, S., Rullás, J., Alcamí, J. and Esteban, M. (2004). TRAF family proteins link PKR with NF- $\kappa$ B activation. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 4502-4512.

Gherardi, M.M., Pérez-Jimenez, E., Nájera, J.L. and Esteban, M. (2004). Induction of HIV immunity in the genital tract after intranasal delivery of a MVA vector: enhanced immunogenicity after DNA prime-modified vaccinia virus Ankara boost immunization schedule. *J Immunol.* **172(10)**, 6209-20.

Tapia, E., Pérez-Jimenez, E., Lopez-Fuertes, L., Gonzalo, R. and Esteban, M (2003). The combination of vectors expressing IL-12+IL-18 elicits high protective immune response against cutaneous leishmaniasis after priming with DNA-p36/LACK and the cytokines, followed by a booster with a vaccinia virus recombinant expressing p36/LACK. *Microbes and Infection* **5**, 73-84.

Ramirez, J.C., Finke, D., Esteban, M., Kraehenbuhl, J.P. and Acha-Orbea, H (2003). Tissue distribution of Modified Vaccinia Virus Ankara (MVA) after mucosal or systemic administration. *Arch. Virol.* **148**, 827-839.

Gherardi, M.M., Nájera, J.L., Pérez-Jiménez, E., Guerra, S., García-Sastre, A. and Esteban, M. (2003). Prime/boost immunization schedules based on influenza and vaccinia virus (VV) vectors (MVA and WR) potentiate cellular immune responses against HIV-env protein systemically and in the genito-rectal draining lymph nodes. *J. Virol* **77**, 7048-7057.

Ramiro, M.J., Zárate, J.J., Hanke, T., Rodríguez, D., Rodríguez, J.R., Esteban, M., Lucientes, J., Castillo, J.A. and Larraga, V (2003). Protection against Leishmania infantum visceral leishmaniasis in dogs is achieved by immunization with heterologous prime-booster regime using LACK-expressing DNA and recombinant vaccinia virus. *Vaccine* **21**, 2471-2484.

Guerra, S., López-Fernandez, L., Pascual-Montano, A., Muñoz, M., Harsman, K. and Esteban, M (2003). Cellular gene expression survey upon vaccinia virus infection of human HeLa cells. *J. Virol* **77**, 6493-6506. (front cover Dec issue).

Esteban, M., García, M.A., Domingo-Gil, E., Arroyo, J., Nombela, C. and Rivas, C. (2003). The latency protein LANA 2 from Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV) inhibits apoptosis induced by PKR but not RNase L activation. *J. Gen. Virol* **84**, 1463-1470.

Gherardi, M.M., Ramirez, J.C. and Esteban, M (2003). Interleukin-12 (IL-12) and IL-18 synergize to clear vaccinia virus infection: involvement of innate and adaptive components of the immune system. *J. Gen. Virol.* **84**, 1961-1972.

González-Lopez, C., Martinez-Costas, J., Esteban, M. and Benavente, J (2003). Avian reovirus sA protein is an inhibitor of the double-stranded RNA-dependent protein kinase PKR. *J. Gen. Virol.* **84**, 1629-1639.

Gallego-Gómez, J.C., Risco, C., Rodríguez, D., Cabezas, P., Guerra, S., Carrascosa, J.L. and Esteban, M (2003). Differences in virus-induced cell morphology and in virus maturation between the MVA and other strains (WR, Ankara, NYCBH) of vaccinia virus in infected human cells. *J. Virol* **77**, 10606-10622.

González-Aseguinolaza, G., Nakaya, Y., Molano, A., Dy, E., Esteban, M., Rodríguez, D., Rodríguez, J.R., Palese, P., García-Sastre, A. and Nussenzweig, R.S (2003). Induction of protective immunity against malaria by prime/boost immunization with recombinant cold- adapted influenza and modified vaccinia virus Ankara viruses expressing a CD8+ T cell epitope derived from the circumsporozoite protein of *Plasmodium yoelii*. *J. Virol* **77**, 11859-11866.

Gómez, C.E., Abaitua, F., Rodríguez, D., Duarte, C. and Esteban, M (2003). Efficient CD8+ T cell response to HIV-env V3

Índice sección

Índice general

HOME

loop epitope from multiple isolates by a DNA prime/vaccinia virus boost (rWR and rMVA strains) immunisation regime and enhancement by the cytokine IFN- $\gamma$ . *Virus Research* 105, 11-22

Diderlaurent, A., Ramirez, J.C., Graff, M., Gherardi, M., Orbea, H-A., Wagner, H., Esteban, M., Kraehenbuhl, J-P, and Sirard, J-C (2004). Attenuated poxviruses expressing a synthetic HIV protein stimulate HLA-A2 restricted cytotoxic T cell responses. *Vaccine* **22**, 3395-3403.

Gil, J., García, M-A., Gómez-Puertas, P., Guerra, S., Rullás, J., Alcamí, J. and Esteban, M (2004). TRAF family proteins link PKR with NF-kB activation. *Mol. Cell. Biol.* **24**, 4502-4512.

Guerra, S., Lopez-Fernandez, L.A., Conde, R., Pascual-Montano, A., Harshman, K. and Esteban, M. (2004). Microarray Analysis Reveals Characteristic Changes of Host Cell Gene Expression in Response to Attenuated Modified Vaccinia Virus Ankara Infection of Human HeLa Cells. *J Virol* **78(11)**: 5820-34.

Gherardi, M. M., Pérez-Jimenez, E., Nájera, J.L and Esteban, M. (2004). Induction of HIV immunity in the genital tract after intranasal delivery of a MVA vector: enhanced immunogenicity after DNA prime-modified vaccinia virus Ankara boost immunization schedule." *J Immunol* **172(10)**: 6209-20.

Esteban, M. (2004). Conceptos y futuras aplicaciones de la genómica, proteómica y bioinformática en el campo de la salud. En Genoma España, *Salud Humana*, pp 99-104

Esteban, M. (2004). Desarrollo de nuevas vacunas basadas en poxvirus. En "Real Expedición Filantrópica de la Vacuna. Doscientos años de lucha contra viruela". Biblioteca de Historia de América, CSIC. p 333-345.

Gil, J. and Esteban, M. (2004). Vaccinia virus recombinants as a model system to analyze interferon-induced pathways. *J. Interferon and Cytokine Research* **24**, 637-646

Índice sección

Índice general

HOME

## PROYECTOS CIENTÍFICOS

**Mariano Esteban.** Principal Spanish Investigator.  
Effector and memory anti-malaria CD8+ cell responses.  
National Institutes of Health (NIH), 1 R01 AI44375-01, 1999-2003, US \$165.000.

**Mariano Esteban.** Principal Spanish Investigator.  
Visceral Leishmaniasis vaccine: murine model studies.  
National Institute of Health (NIH), USA. R01 AI45044. 2000-2003.US \$ 50.000

Project Leader of the EuroVac Cluster, European Vaccine Effort Against HIV/AIDS, Fifth Framework Programme, QLRT-PL1999-01321, Euros 329.065, 1999-2004.

Concerted Action, Fifth Framework Programme, European Vaccine against Aids (EVA) CFAR, QLRT-PL1999-00609, 2000-2003.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.  
Contract wih GALENICA , USA, 2003-2004.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.  
Premio IBERDROLA Ciencia y Tecnología, Profesores Visitantes, 2000-2003.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.  
Desarrollo de nuevas herramientas moleculares para el estudio del virus de la hepatitis C y su aplicación a morfogénesis, estructura, resistencia del virus a interferon y caracterización de la respuesta inmune al virus.  
BIO2000-0340-P4, 2001-2003. 171.649 Euros.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

[Índice sección](#)

[Índice general](#)

[HOME](#)

LÍNEA DE  
INVESTIGACIÓN

PERSONAL

PUBLICACIONES

PROYECTOS  
CIENTÍFICOS

TESIS DOCTORALES

CONTRATOS

PATENTES



Diseño y utilización del virus vaccinia como vacuna contra distintas enfermedades: análisis de la interacción virus-célula y modulación de la respuesta inmune.

BIO2001-2269, 2001-2003, 170.000 Euros.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Desarrollo de nuevas herramientas moleculares para el estudio del virus de la hepatitis C y su aplicación a morfogénesis, estructura, resistencia del virus a interferon y caracterización de la respuesta inmune al virus.

BIO2000-0340-P4. 2000-2003, 171.649 Euros.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Mecanismo de acción de los interferones: análisis estructural y funcional de la proteína quinasa PKR, un activador de apoptosis e inhibidor viral.

BMC2002-03246, 2002-2005, 196.650 Euros.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Analysis of the molecular mechanism of hepatitis C virus (HCV) resistance to antiviral therapy.

EU QLK2-CT-2002-00954. 2002-2005, 124.313 Euros.

**Mariano Esteban.** Coordinator.

Increasing the potency of vaccinia MVA vaccines.

EU QLK2-CT-2002-01867. 2002-2005. 220.000 Euros.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Potenciación de la respuesta inmune (sistémica y de mucosas frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1).

FIPSE, 2002-2005, 209.365 Euros.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Vaccine strategies for combined targeting of innate and adaptive immune pathways (VaccTIP).

EU-2004-012161. 177.000 euros. 2004-2006.



**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Diseño de nuevas vacunas tanto preventivas como terapéuticas para las enfermedades de mayor prevalencia: sida, hepatitis C y cáncer de próstata.

BIO2004-03954,180.000 euros. 2004-2007.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Desarrollo de vacunas contra enfermedades prevalentes.

Fundación Botín, 200.000 euros/year. 2005-2010.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Desarrollo de una vacuna contra Leishmaniasis.

Comunidad de Madrid. 41000 euros. 2005.

**Mariano Esteban.** Principal Investigator.

Contract with GRIFOLS. 2005-2006.

Índice sección

Índice general

HOME



## TESIS DOCTORALES

### Juan Carlos Gallego Gómez (2003).

Biología celular de la infección y morfogénesis de mutantes atenuados del virus vaccinia.  
Universidad Autónoma de Madrid. Sobresaliente *cum laude*.

### Carmen E. Gómez (2003).

Respuesta inmune generada por sistemas combinados de vacunación frente a péptidos de la envuelta del VIH-1 incluidos en la proteína multiepitópica TAB-13.  
Universidad Autónoma de Madrid. Sobresaliente *cum laude*.

### María Angel García Chaves (2004).

Mecanismo de acción y regulación de la proteína quinasa inducida por interferon, PKR.  
Universidad Autónoma de Madrid. 30 Abril de 2004. Sobresaliente *cum laude*. Premio Extraordinario UAM.

## CONTRATOS

### Empresas:

Análisis de anticuerpos contra el virus vaccinia en preparados de inmunoglobulinas humanas (IGIVs).  
GRIFOLS, S.A , 2004-2006.

### Fundaciones:

Principal investigator.

Potenciación de la respuesta inmune (sistémica y de mucosas) frente al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH-1).  
FIPSE, 2002-2006.

Principal Investigator.

Desarrollo de vacunas contra enfermedades prevalentes.  
Fundación Botín, 2005-2010.

Índice sección

Índice general

HOME



## PATENTES

**Pérez-Jiménez, E. y Esteban, M.**

VECTORES RECOMBINANTES BASADOS EN EL VIRUS MODIFICADO DE ANKARA (MVA) COMO VACUNAS CONTRA LEISHMANIASIS.

Solicitud de invención Nº 200501886.

**Gómez, C.E., Nájera, J.L., Jiménez, V. y Esteban, M.**

VECTORES RECOMBINANTES BASADOS EN EL VIRUS MODIFICADO DE ANKARA (MVA) COMO VACUNAS PREVENTIVAS Y TERAPEUTICAS CONTRA EL SIDA.

Solicitud de invención Nº 200501841.

Índice sección

Índice general

HOME