

Comparación de la antigenicidad de dos péptidos sintéticos y una proteína recombinante de la región de transmembrana (gp21) del HTLV-I

Milenen Hernández Marin*, María Elena Selles León**, Yadaris Márquez Bocalandro***, Chrystlaine Rodríguez Tanty****, David Higginson Clarke****.

* Laboratorio de Síntesis de Péptidos, Centro de Inmunoensayo, ** Laboratorio de Membranas, Centro de Inmunoensayo, *** Laboratorio de Retrovirus, Centro de Inmunoensayo, **** Laboratorio de Biología Molecular, Centro de Neurociencias de Cuba.

Recibido: 19 de abril de 2006. Aceptado: 11 de mayo de 2007.

Palabras clave: péptido sintético, proteína recombinante, gp21, antigenicidad.
Key words: synthetic peptide, recombinant protein, gp21, antigenicity.

RESUMEN. El virus de la leucemia de las células T humanas tipo I (HTLV-I) fue el primer retrovirus linfotrópico aislado de pacientes humanos, en 1980. El gen *env* codifica la síntesis de la proteína precursora, gp62, que es degradada por una proteasa del virus en dos proteínas: gp21 y gp46, las cuales son expresadas en la superficie de la célula. La proteína de la transmembrana gp21 resulta una de las proteínas más antigénicas del virus del HTLV. Esta proteína, obtenida por la tecnología del ADN recombinante o por síntesis química, es ampliamente usada como antígeno en el diagnóstico del HTLV-I. En el presente trabajo, se evaluó la antigenicidad de dos péptidos sintéticos gp21 (M-1) (377-400) y gp21 (13) (361-404) y una proteína recombinante de la región de la transmembrana (gp21) del HTLV-I, con 23 muestras positivas del Panel PRP-205 (Boston Biomedica Inc) y cinco muestras de pacientes seropositivos cubanos al HTLV-I, todas las muestras utilizadas en el estudio fueron confirmadas por el ensayo de Western Blot. La especificidad de estos antígenos se evaluó con 30 muestras de sueros de donantes sanos de un banco de sangre. Se obtuvo 62% y 92% de reactividad para los péptidos sintéticos gp21 (M-1), gp21 (13) y un 85% para la proteína recombinante, respectivamente. La especificidad de los antígenos fue de 100%. Este estudio demostró la alta reactividad de los péptidos sintéticos comparado con la proteína recombinante.

ABSTRACT. Human T-cell Leukemia virus type I (HTLV-I) was the first human lymphotropic retrovirus isolated from human patients, in 1980. The *env* gene encodes the synthesis of the precursor protein, gp62 which is cleaved by the virus protease into two proteins: gp21 and gp46, both expressed in the cell surface. The transmembrane gp21 protein is one the most antigenic proteins of HTLV virus. This protein, obtained by the recombinant DNA technology or by chemical synthesis, is very useful as an antigen in HTLV-I immunodiagnosis. In the present work, the antigenicity of two synthetic peptides gp21 (M-1) (377-400) and gp21 (13) (361-404), and a recombinant protein of the transmembrane (gp21) region of the HTLV-I was evaluated, with 23 positive samples of the Panel PRP-205 (Boston Biomedica Inc), and five samples of HTLV-I seropositive Cuban patients. All the samples used in the study were confirmed by Western Blot assay. In order to assess specificity of those antigens, 30 serum samples from healthy blood donors were tested. There was a reactivity of 62% and 92% for the synthetic peptides gp21 (M-1), gp21 (13), respectively, and 85% for the recombinant protein. Specificity for antigens was 100%. This study showed the high reactivity of the synthetic peptides compared with the recombinant protein.

INTRODUCCION

El virus de la leucemia de las células T humanas tipo I (HTLV-I) fue el primer retrovirus linfotrópico aislado de pacientes humanos en 1980.¹

El ARN viral del HTLV contiene los genes: *gag* (antígeno de grupo), expresado como un polipéptido precursor, el cual es hidrolizado para formar polipéptidos maduros: el polipéptido de 19 kDa del núcleo, el polipéptido de 24 kDa de la cápsida y el polipéptido de 15 kDa perteneciente a la nucleocápsida. El gen *pol* (polimerasa), que codifica las enzimas de la replicación viral. El gen *env* (envoltura),² donde la glicoproteína de la envoltura, gp62, es hidrolizada por una proteasa celular del virus, dando como resultado dos productos maduros, una glicoproteína de superficie de 46 kDa (gp46) y una de transmembrana de 21 kDa (gp21), las cuales son expresadas en la superficie de la célula.

El diagnóstico serológico de la infección por HTLV se basa en la detección de anticuerpos contra antígenos (proteínas virales)³ o en la detección directa del virus o partículas virales a través de ensayos para la detección de antígenos.⁴

Correspondencia:

DrC. Milenen Hernández Marin

Centro de Inmunoensayo, Calle 134 y Ave 25, Reparto Cubanacán, Apartado Postal: 6945, Playa, Ciudad Habana, Cuba.

Teléfono: (537) 2082928 al 30 ext. 319, Correo electrónico: iqpeptidos@cie.sld.cu

La detección de anticuerpos en muestras de suero es el método más comúnmente empleado para el diagnóstico de laboratorio de la infección por HTLV. La detección de anticuerpos se basa fundamentalmente en el desarrollo de ensayos inmunoenzimáticos (ELISA).⁵

Se describe en la literatura que la proteína de la transmembrana gp21 resulta una de las proteínas más antigénicas del virus del HTLV.⁶ Esta proteína, obtenida por la tecnología del ADN recombinante⁷ o por síntesis química,⁸ es ampliamente usada como antígeno en el diagnóstico del HTLV-I, por la elevada sensibilidad y especificidad de los ensayos.⁹

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la antigenicidad y especificidad de dos péptidos sintéticos (gp21 (M-1) y gp21 (13)), comprendidos entre la región 361-404, comparado con una proteína recombinante, que contiene en su secuencia aminoacídica esta región.

MATERIALES Y METODOS

Síntesis química en fase sólida, purificación y caracterización de los péptidos de la proteína de la transmembrana gp21 del HTLV-I.

El péptido se obtuvo mediante síntesis química en fase sólida,¹⁰ empleando la estrategia Boc (*tert*-butiloxicarbonilo) en bolsas de polipropileno. Posteriormente se purificó por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa (RP-HPLC, Pharmacia, LKB)¹¹ en una columna RP18 (Pharmacia) (Sistema de gradiente A/B de 0 a 60 % B (A ácido trifluoroacético (TFA) 0,1 % (V/V) y acetonitrilo (ACN) 2 % (V/V) en H₂O; B TFA 0,05 % (V/V) en ACN). Los procedimientos anteriores fueron descritos por Hernández M y col.¹²

La caracterización de los péptidos, se realizó mediante espectrometría de masas con ionización por *electrospray* (ESI-MS).¹³ Los péptidos purificados por RP-HPLC, disueltos en ACN y TFA al 0,1 %, fueron introducidos, a un flujo de 5 µL/min utilizando una bomba de infusión (Cole Palmer, USA), a una fuente de ionización Z-spray de un espectrómetro de masas híbrido con geometría ortogonal QTOF-2 de la compañía Micromass. El espectrómetro fue calibrado con una disolución salina compuesta por una mezcla de yoduro de cesio a 0,05 µg/µL y yoduro de sodio a 2 µg/µL disueltos en una disolución acuosa de isopropanol al 50 % (v/v). Los voltajes empleados en el cono y en el capilar fueron

Tabla 1. Muestras positivas al HTLV-I/II del Panel PRP-205 (Boston Biomedica Inc).

Muestras	Western Blot	Resultado	Tipo
205-1	p21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, gp46, p53	Positivo	I
205-2	gp21, p24	Positivo	II
205-3	gp21, p24	Positivo	II
205-4	gp21, p19, p24, p32, p36, p53	Positivo	II
205-5	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, gp53	Positivo	I/II
205-6	No bandas	Negativo	
205-7	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, gp46, p53	Positivo	I
205-8	gp21, p19, p24	Positivo	II
205-9	gp21, p24, p32, p53	Positivo	II
205-10	gp21, p24	Positivo	II
205-11	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p53	Positivo	I
205-12	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, gp46, p53	Positivo	I
205-13	gp21, p19, p24	Positivo	II
205-14	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p53	Positivo	I
205-15	gp21, p19, p28, p32, p36	Positivo	I
205-16	gp21, p19, p24, p36, p53	Positivo	II
205-17	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, p53	Positivo	I
205-18	gp21, p24	Positivo	II
205-19	gp21, p19, p26, p28, p53	Positivo	No tipo
205-20	p21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, gp46, p53	Positivo	I
205-21	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p53	Positivo	No tipo
205-22	gp21, p19, p24	Positivo	II
205-23	gp21, p24	Positivo	II
205-24	No bandas	Negativo	
205-25	gp21, p19, p24, p26, p28, p32, p36, p53	Positivo	I/II

— Título bajo de anticuerpos a estas proteínas del HTLV.

de 50 V y 3000 V, respectivamente. Las mediciones de los espectros de masas fueron adquiridas desde 350 hasta 1800 Da, en 0,98 s, utilizando 0,02 s entre cada uno de los barridos. Los espectros fueron procesados con el programa *MassLinx* v.-3.5 (Micromass, UK).

Proteína recombinante de la transmembrana (gp21) del HTLV-I

La proteína recombinante que se utilizó en este estudio fue suministrada por el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (La Habana, Cuba), clonada y expresada en *E coli*. La proteína expresada fue purificada mediante lavados del precipitado celular, seguido de una purificación por cromatografía de intercambio iónico.

Recubrimiento de las placas para UltramicroELISA

Los péptidos a evaluar se disolvieron hasta una concentración de 4µg/mL y la proteína recombinante hasta 1µg/mL en una disolución reguladora carbonato-bicarbonato, 0,05 mol/L; pH 9,6. Con estas disoluciones se recubrió la fase sólida empleada, placas de poliestireno con capacidad para 30 µL (placas UltramicroELISA (UMELISA), Greiner labortechnik, Alemania), se añadió un volumen 15 µL/pocillo y se incubó durante 3 h a 37 °C. La fase sólida se lavó con una disolución amortiguadora de PBS-T (8 g de NaCl, 1,215 g de Na₂HPO₄ • 2H₂O; 0,2 g de KH₂PO₄; 0,2 g de NaN₃, 0,5 mL de Tween-20, para un volumen de 1 000 mL de

Tabla 2. Muestras de pacientes seropositivos cubanos al HTLV-I, suministradas por el LISIDA.

Muestras	Western Blot	Resultado
78	p19, p24, p28, p36, gp46, p53	Positivo
80	p19, p24, p28, p36, gp46, p53	Positivo
81	p19, p24, p28, p36, gp46, p53	Positivo
82	p19, p24, p28, p36, gp46, p53	Positivo
84	p19, p24, p28, p36, gp46, p53	Positivo

agua destilada y pH de 7,3-7,5). A continuación se bloqueó con una disolución (BSA al 1 % en PBS-Tween), durante toda la noche a temperatura ambiente. Las placas se conservaron a 4 °C, con una cubierta protectora, hasta el momento de su uso.

Ensayo UltramicroELISA

Las muestras a evaluar se diluyeron 1:20 en suero de carnero al 5 % en disolución amortiguadora Tris-HCl (15 mmol/L de Tris: pH 7,8 y 0,05 % Tween-20), y se incubaron en las placas de reacción por 30 min a 37 °C. Después de lavar tres veces con una disolución amortiguadora Tris-HCl, con el objetivo de eliminar los componentes no fijados, se adicionó el conjugado anti-IgG humana en camero marcada con fosfatasa alcalina (*Roche Diagnostics GmbH, Alemania*). Se incubó nuevamente durante 30 min a 37 °C, se realizó un nuevo lavado en las mismas condiciones para eliminar el conjugado en exceso. Se añadió entonces el sustrato fluorogénico 4-metilumbeliferilfosfato (*Koch Light Ltd. Haverhill, Suffolk, England*), y se incubó durante 30 min a temperatura ambiente, el que es hidrolizado por la enzima del conjugado. La fluorescencia emitida fue medida en un fluorímetro de la serie SUMA ® (PR-521, Centro de Inmunoensayo, Cuba). En todos los experimentos, se incluyeron controles positivos y negativos (UMELISA HTLV-I/II), y las muestras se analizaron por duplicado. Se realizaron tres repeticiones de los experimentos.

Nivel de corte

El nivel de corte (NC) fue de 0,28, determinado a partir del estudio 1 000 muestras de suero de donantes de banco de sangre y 50 muestras de sueros positivos al HTLV-I, confirmados por Western Blot (WB).

El valor de relación (VR) se definió como:

$$VR = \frac{(Fi-BB)}{(P-BB)}$$

donde:

Fi: Fluorescencia de la muestra.

BB: Valor promedio del Blanco.

P: Menor valor de fluorescencia de los duplicados del Control Positivo.

Todos los valores numéricos fueron la media de los duplicados, expresados como el valor de relación para cada muestra respecto al nivel de corte (VR/NC). Las muestras fueron consideradas positivas cuando VR/NC ≥ 1.

Muestras de suero

Se estudiaron 23 muestras del Panel PRP-205 (*Boston Biomedica Inc, Estados Unidos*) (Tabla 1) y cinco muestras de pacientes seropositivos cubanos al HTLV-I (Tabla 2), estas últimas suministradas por el Laboratorio de Investigaciones del SIDA (LISIDA, La Habana, Cuba) y confirmadas por el ensayo Davih-Blot HTLV-I.¹⁴ Para evaluar la especificidad de los péptidos sintéticos y la proteína recombinante se analizaron 30 muestras de donantes sanos del Banco de Sangre de Marianao, evaluadas como negativas por el ensayo Davih-Blot HTLV-I (La Habana, Cuba).

Tratamiento estadístico de los resultados

Se empleó la prueba de rangos múltiples de Duncan para valorar las diferencias de reactividad entre los dos péptidos sintéticos y la proteína recombinante dentro del conjunto de sueros positivos evaluados.

Todos los resultados fueron procesados con el paquete estadístico *Statgraphics Plus 5.0* para Windows.

RESULTADOS Y DISCUSION

Se comparó la antigenicidad de dos péptidos sintéticos gp21 (13) (361-404) y gp21 (M-1) (377-400), representativos de la proteína gp21 de la región de la transmembrana del HTLV-I, con una proteína recombinante. La pureza de los péptidos gp21 (13) y gp21 (M-1) fue comprobada por cromatografía RP-HPLC y resultó de 98 % y de 99 %, respectivamente. Además se caracterizaron por espectrometría de masas ESI-MS. Para los dos péptidos sintéticos se obtuvo que la masa molecular obtenida se correspondió con la calculada menos dos unidades. Esta pérdida se produce debido a que en la secuencia peptídica existen dos moléculas de cisteína, cuyos grupos sulfhidrilos se oxidan espontáneamente formándose un enlace disulfuro.

La reactividad de los péptidos sintéticos y la proteína recombinante por separado, se evaluó frente al panel PRP-205 (*Boston Biomedica Inc*) y cinco muestras de pacientes seropositivos cubanos al HTLV-I como se muestra en la Fig.1.

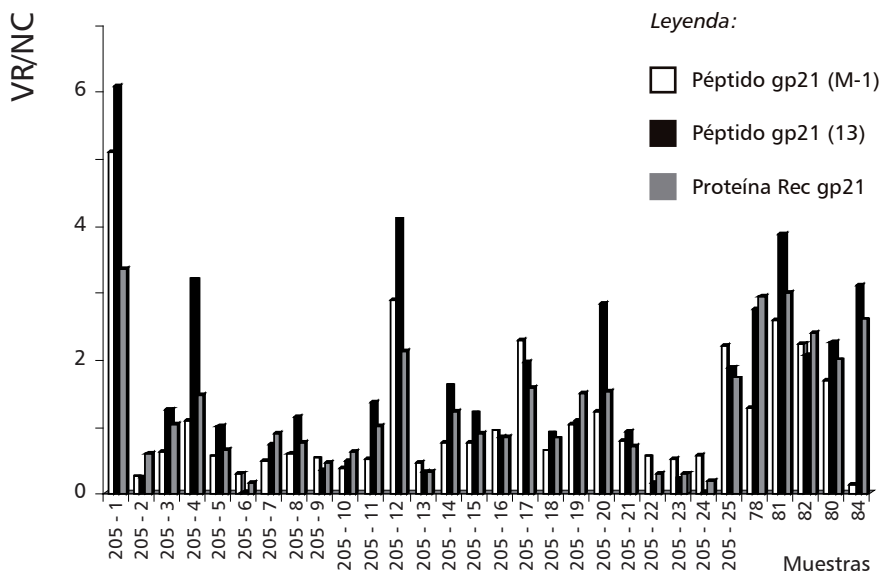


Fig. 1. Comportamiento de los péptidos sintéticos gp21 (M-1) (377-400) y gp21 (13) (361-404) y de una proteína recombinante de la región de la transmembrana (gp21) del HTLV-I frente al Panel PRP-205 (*Boston Biomedica Inc*) y cinco muestras de seropositivos cubanos al HTLV-I.

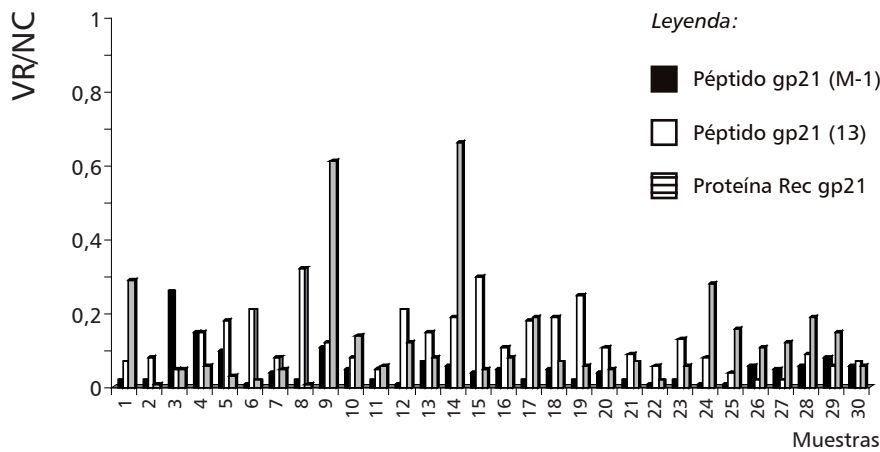


Fig. 2. Comportamiento de los péptidos sintéticos gp21 (13) y gp21 (M-1) y de una proteína recombinante de la región de la transmembrana (gp21) del HTLV-I frente a muestras de suero de donantes de un banco de sangre.

Con los péptidos sintéticos: gp21 (M-1), gp21 (13) y la proteína recombinante, se obtuvo una reactividad de 62 %, de 92 % y de 85 % respectivamente, para el grupo de muestras positivas al HTLV-I analizadas.

Para las muestras positivas al HTLV-II la reactividad de estos mismos antígenos fue de 9,1 %, de 27,3% y de 18,2 %, respectivamente. Las muestras positivas al HTLV-II que resultaron no reactivas, con valores de VR/NC iguales o muy cercanos a los valores obtenidos con las muestras de donantes sanos es debido a que las secuencias de aminoácidos de los tres antígenos se corresponde, como se ha referido anteriormente en este trabajo, al HTLV del tipo I por lo que no debe reconocer muestras positivas al HTLV del tipo II. Las muestras positivas al HTLV-II que son detectadas por estos antígenos es debido a reactividad cruzada por alta homología entre las secuencias de aminoácidos de ambos virus.

Al realizar el análisis estadístico se obtuvo que no existen diferencias significativas entre la reactividad de los tres antígenos frente a las muestras positivas evaluadas con un nivel de significación del 95 %.

La muestra 205-15, clasificada como positiva y con bandas a las proteínas gp21, p19, p28, p32, p36 por la prueba de confirmación WB, no fue detectada por la proteína recombinante y el péptido gp21 (M-1), esto puede estar determinado porque los determinantes antigénicos, contra los que están dirigidos los anticuerpos presentes en esta muestra, no están expuestos en las condiciones empleadas para su unión a la fase sólida y además en el caso del péptido sintético por la ausencia de otros epítomos importantes en el reconocimiento.

Con el objetivo de determinar la especificidad de los tres antígenos, se analizaron 30 muestras de suero de donantes sanos de un banco de sangre (Fig. 2).

Para todos los antígenos, los resultados fueron negativos, para las muestras analizadas se obtuvo un valor de relación o valor normado (VR/NC < 1).

Los resultados de este trabajo se corresponden con lo reportado en la literatura⁶⁻⁹ por otros autores que utilizan péptidos sintéticos y proteínas recombinantes, correspondientes a las regiones comprendidas entre los aminoácidos 361-404 de la proteína gp21 del HTLV-I, para el inmunodiagnóstico del HTLV-I.

Los resultados demuestran la utilidad de estos antígenos, siendo el de mejor comportamiento el péptido gp21 (13), para la detección de anticuerpos específicos a la proteína gp21 del HTLV-I, uno de los principales marcadores serológicos de la infección por HTLV-I.

CONCLUSIONES

Se obtuvieron dos péptidos mediante síntesis química en fase sólida, correspondientes a la región de transmembrana (gp21) del HTLV-I y se comparó la reactividad con una proteína recombinante, todos de elevada reactividad frente a muestras positivas al HTLV-I. Se demostró que la secuencia correspondiente al péptido sintético gp21 (13) es la de mayor antigenicidad y que además es necesaria una exposición adecuada de los determinantes antigénicos en la molécula, en las condiciones empleadas para su unión a la fase sólida. La muestra 205-15 no fue detectada por la proteína recombinante, no obstante presentar esta

un mayor número de epítomos y una estructura tridimensional con mayor homología a la proteína natural, y el péptido gp21 (M-1), lo que pudiera estar determinado porque el epítomo o los epítomos contra los que están dirigidos los anticuerpos de la muestra no se encuentran expuestos en estos antígenos en las condiciones empleadas para su unión a la fase sólida o en el caso del péptido sintético por la ausencia de otros epítomos importantes en el reconocimiento. Los tres antígenos presentaron una especificidad del 100 %, y resultan de gran utilidad para el inmunodiagnóstico, del HTLV-I.

BIBLIOGRAFIA

- Poiesz B.J., Ruscetti F.W. and Gazdar A.F. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, **77**, 7415, 1980.
- Hattori S., Kiyokawa T., Imagawa K., Shimizu F., Hashimura E., Seiki M and Yoshida M. Identification of gag and env gene products of human T-cell Leukemia virus (HTLV). **Virology**, **136**, 338, 1984.
- Poiesz B.J., Choi D., Esteban E., Ferrer J., Leon-Ponte M and Echeverria de Perez G. Comparative performances of an HTLV-I/II EIA and other serologic and PCR assays on samples from persons at risk for HTLV-II infection. **Transfusion.**, **40**, 924, 2000.
- Wood G.S., Ruffo A., Salvekar A., Henghold W., Takeshita M and Kikuchi M. Detection of human T-cell lymphotropic virus type I in archival tissue specimens. **Arch. Dermatol.**, **132**, 1339, 1996.
- Vrielink H., Reesink H., Habibuw M., Schuller M., van der Meer C and Lelie P. Comparison of four HTLV-I and HTLV-I+II ELISAs. **Vox. Sang.**, **76**, 187, 1999.
- Sundaram R., Beebe M., Kaumaya P.T. Structural and immunogenicity analysis of chimeric B-cell epitope constructs derived from the gp46 and gp21 subunits of the envelope glycoproteins of HTLV-1. **J. Pept. Res.**, **63**, 132, 2004.
- Jassal S.R., Lairmore M.D., Leigh-Brown A.J., Brighty D.W. Soluble recombinant HTLV-1 surface glycoprotein competitively inhibits syncytia formation and viral infection of cells. **Virus. Res.**, **78**, 1, 2001.
- Hernández M., Castellanos P., Márquez Y., Pozo L., Díaz J and González L.P. Chimeric synthetic peptides containing two immunodominant epitopes from the envelope gp46 and the transmembrane gp21 glycoproteins of HTLV-I virus. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, **289**, 1, 2001.
- Bocalandro Y., Hernández M., Vázquez R., Pozo L., Silva C and Martínez G. Antigenic mixture of synthetic peptides for the immunodiagnosis of HTLV I/II infection. **J. Immunoassay. Immunochem.**, **25**, 205, 2004.

10. Houghten R.A., DeGraw S.T., Bray M.K., Hoffmann S.R., Frizzell N.D. Simultaneous Multiple Peptide Synthesis: The rapid preparation of large numbers of discrete peptides for biological, immunological, and methodological studies. **Biotechniques**, **4**, 522, 1986.
11. Mont C.T., Kandejewski L.H., Cachia P.J., Monera C.I.D and Hodges R.S. Analysis of synthetic peptides by high performance liquid chromatography. **Methods. Enzymol.**, **289**, 426, 1997.
12. Hernández M., Pozo L., Gómez I., Melchor A. Antigenicidad de dos péptidos sintéticos de la región de transmembrana (gp41) del VIH-1 y su utilidad en el inmunodiagnóstico. **Rev CENIC Ciencias Biológicas**, **32**, 113, 2001.
13. Bakhtiar R, Hofstadler S, Smith R. Electrospray Ionization Mass Spectrometry: Part II: Applications in Characterization of Peptides and Proteins. **J Chem Edu.**, **73**, A118, 1996
14. Pérez M.T., Cruz O., Navea L., Noa E., Silva E., Grana R, de la Fuente J.L. Evaluación del sistema DAVIH-Blot HTLV-I para la confirmación de anticuerpos al HTLV-I/II. **Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.**, **14**, 91, 1998.



CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Ministerio de Educación Superior de la República de Cuba

OFERTAS DOCENTES

El Departamento de Postgrado del Centro Nacional de Investigaciones Científicas atiende las solicitudes docentes específicas que necesite un cliente relacionadas con los temas siguientes:

- 📖 *Tecnologías para la fabricación de equipos médicos de última generación.*
- 📖 *Tecnología láser en cirugía.*
- 📖 *Equipos médicos para el diagnóstico de enfermedades.*
- 📖 *Equipos médicos para el diagnóstico microbiológico.*
- 📖 *Aspectos generales sobre la ozonoterapia. Equipos médicos para ozonoterapia.*
- 📖 *Equipos para el tratamiento de agua y aguas residuales de las instalaciones hospitalarias y farmacéuticas.*
- 📖 *Gestión ambiental.*
- 📖 *Control de la calidad en laboratorios de ensayo.*
- 📖 *Bioética: un puente sobre educación y diversidad.*
- 📖 *Condiciones generales acerca de la metodología en la investigación científica.*
- 📖 *La Didáctica y sus componentes: herramienta para la formación de investigadores.*

Los cursos pueden negociarse en forma de Seminario-Taller (con una duración promedio de 1 semana). Se incluye en la cuota de inscripción la entrega de información sobre el Seminario-Taller en formato digital y recorridos por centros de investigación y producción relacionados con los temas del curso contratado.

Los idiomas de trabajo pueden ser: Español, Inglés, Francés o Ruso.

El programa contempla visitas opcionales preseleccionadas a lugares turísticos, históricos y económicos de Cuba con un módico costo adicional.

El transporte aéreo, el alojamiento, la alimentación y el transporte interno se contratan a través de una económica oferta para este tipo de estudiantes y depende del destino hacia Cuba y el número de estudiantes.

El pago es en efectivo en el momento de la matrícula en pesos convertibles cubanos (CUC) o su equivalente en dólares norteamericanos. Al profesor o estudiante que organice o venga al frente de un grupo, se le exige de cuota de inscripción.

Al iniciar la solicitud de un curso o su prematrícula es necesario enviar mensaje electrónico con los datos siguientes: Nombre y apellidos, especialidad, institución de trabajo, dirección del lugar de trabajo, código postal, ciudad y país de residencia. Además, teléfonos, fax y correo electrónico.

Para mayor información:

Dr. Pável Díaz González de Mendoza, Director de Capital Humano.
Teléfonos: (53) 7 208 2553; Fax: (53) 7 208 0497. Correo electrónico: pavel.diaz@cnic.edu.cu

Lic. Luis Delgado Pérez, Jefe de Departamento de Relaciones Internacionales.
Teléfono (53) 7 208 5277. Correo electrónico: rrii@cnic.edu.cu

Dra. Gisela M. Cañedo Iglesias, Jefa del Departamento de Docencia.
Teléfono (53) 7 208 5277. Correo electrónico: dpto.postgrado@cnic.edu.cu

CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

Avenida 25 No.15202 esquina a Calle 158, Playa, Apartados Postales 6412 y 6414, Código Postal 11600, Ciudad de La Habana, Cuba.