

CARACTERIZACIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE gE DEL VIRUS DE LA ENFERMEDAD DE AUJESZKY (PSEUDORRABIA) PRODUCIDA EN UN SISTEMA DE BACULOVIRUS.

Espinosa GME^{1*}, Gayosso VA¹, Ramírez MH², Setién AA³, Alonso MRA¹

¹Lab. de genética molecular FMVZ-UNAM, ²DPA:Cerdos FMVZ-UNAM, ³Inmunología UIM:Pediatría HCMN Siglo XXI IMSS.

Introducción.

La expresión de proteínas recombinantes en sistemas de baculovirus ha sido una medida muy utilizada debido a niveles eficientes de expresión y bajo costo. Una ventaja, es la eficiencia para producir proteínas recombinantes en cuanto a conformación y modificaciones post-traduccionales que, son semejantes a las células de mamíferos. La EA es un padecimiento altamente contagioso que causa signos respiratorios, nerviosos y reproductivos. La EA causa grandes daños a la porcicultura nacional, empleándose vacunas con delección de la glicoproteína E (gE). Para diferenciar entre animales vacunados y de los expuestos a virus de campo. La diferenciación serológica, se realiza por ELISA con sistemas comerciales, los cuales, son importados y encarecen la prueba. Estos sistemas, emplean el antígeno gE, el cual, se acopla en las placas de microtitulación.

El objetivo de este trabajo, fue desarrollar las metodologías y estrategias de ingeniería genética para producir el antígeno gE del virus de la enfermedad de Aujeszky (EA) en un sistema de expresión genética comercial (Bac-to-Bac) en células de insectos, que emplea como vector baculovirus

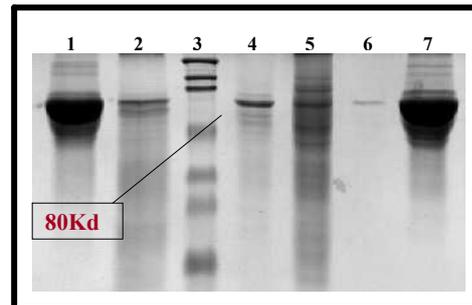
Materiales y Métodos.

Clonación, expresión y caracterización del antígeno gE del VEA. El gen completo del antígeno gE fue amplificado (1,741 pares de bases) por reacción cadena de la polimerasa y clonado en el vector de movilización pFastBacHTa. Con el DNA, de las clonas correctamente orientadas se transformaron células competentes DH10BAC, las cuales, mantienen el genoma de un baculovirus (bácmido). En estas células, se induce la transposición sitio-específica entre el plásmido recombinante y el bácmido, formándose bácmidos recombinantes, que portan el gen de la gE. El DNA del bácmido recombinante se purificó y se transfectó en células de insecto Sf21. A partir de éstas, se obtuvieron baculovirus recombinantes infectivos, para producir la proteína recombinante.

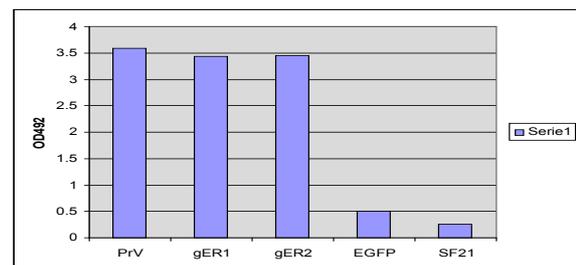
Resultados y Discusión.

En este trabajo, se demuestra que la antigenicidad de la gER obtenida, es específica, con los métodos convencionales de identificación (anticuerpos monoclonales y policlonales). Así mismo, corroboramos que este sistema es un método eficiente para, producir esta y otras proteínas de importancia

veterinaria. Y puede utilizarse para la elaboración de futuros sistemas de diagnóstico y vacunas en México. Con este trabajo, se ofrece una vía para solventar los problemas de importación y sobretodo de costo-beneficio para, laboratorios, granjas y médicos dedicados a la salud, enseñanza y producción animal en nuestro país.



Electroforesis en gel de poliacrilamida, se observa la gER obtenida, en 3 marcador de peso molecular, en 7 PrV.



Elisa indirecta. Se observa la antigenicidad específica de la proteína recombinante. Se utiliza como control positivo el PrV y negativos un sobrenadante de cultivo infectado con baculovirus que expresa otra proteína la EGFP y células de insecto.

Referencias Bibliográficas.

1. Mettenleiter TC. Aujeszky's Disease Symposium OIE Intervet. Bangkok, Thailand 1994: 1-9.
2. Mettenleiter TC. Vet Res. 2000; 31: 99-115.
3. Walter F, Ehrlich C, Klupp BG and Mettenleiter TC. J of Gen Virol. 2000; 81: 1539-1543.
4. Vialard JE, Arif BM and Richardson CD. Baculovirus Expression Protocols New Jersey Humana Press, 1995: 1-24.