



CLONACIÓN DEL GEN E2 DEL VIRUS DE LA FIEBRE PORCINA CLÁSICA A PARTIR DE LA CEPA VACUNAL PAV-250

Socci EG^{1*}, Coba AMA¹, Zapata SL¹, Fernández PFJ², Cuadra ZTE², Loza-Rubio E¹,
Correa-Girón EP¹

¹CENID- Microbiología Animal – INIFAP; ²UAM -Iztapalapa

Correspondencia con el autor: lupitasocci@yahoo.com.mx

INTRODUCCIÓN

La glicoproteína E2 (gp55) del virus de la fiebre porcina clásica (FPC) se considera la más inmunogénica y está implicada en la estimulación de la producción de anticuerpos neutralizantes. En los últimos años ha sido utilizada para el desarrollo de vacunas recombinantes y subunitarias, con miras a un control más eficiente de la enfermedad (1, 2 y 3). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue el de amplificar y clonar el gen E2 de la cepa vacunal PAV-250 en un vector que asegure un alto número de copias, previo a su clonación en un vector de expresión para la elaboración de una vacuna génica contra la FPC.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se estableció la metodología de RT-PCR para la amplificación del gen E2 (gp55) a partir de la cepa vacunal PAV-250. Para este propósito se diseñó un par de oligonucleótidos que se denominaron E2FPAV y E2RPAV. La identidad del gen amplificado se corroboró mediante secuenciación de un fragmento de 400 nt que se analizó mediante el programa BLAST. El gen E2 fue ligado en el plásmido comercial pGEM®T Easy. Con este plásmido se transformó la cepa DH5α de *E. coli* y se sembró en un medio sólido de LB, adicionado con ampicilina, IPTG y XGal. Se seleccionaron las clonas transformantes y se propagaron en medio líquido de LB. El plásmido se purificó con el “kit” comercial Wizard® SV Minipreps. Para liberar y corroborar la presencia del inserto en el vector, se realizó un ensayo de restricción con la enzima EcoRI y se llevó a cabo la electroforesis correspondiente (Fig.1). Finalmente se procedió al análisis de la secuencia de nucleótidos del inserto contenido en el plásmido, para lo cual se utilizaron iniciadores universales, con el método Dye-terminator y un secuenciador ABI Prism 3100 Avant.

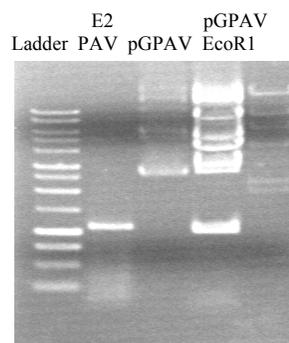


Figura 1. Ensayo de restricción del plásmido pGPAV con la enzima EcoRI.

DISCUSIÓN

Se cuenta con las bases para realizar una subclonación del gen E2 en un vector de expresión para la elaboración de una posible vacuna génica a partir de la cepa vacunal PAV-250.

Trabajo parcialmente financiado por SAGARPA-CONACYT (2004-C01-142).

REFERENCIAS

1. Andrew ME *et al.* Vaccine 18 (2000) 1932-1938.
2. Ganges L *et al.* Vaccine 23 (2005) 3741-3752.
3. Markowska-Daniel I *et al.* Vaccine 19 (2001) 2480-2484.