

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE “HN” DEL RUBULAVIRUS PORCINO COMO INMUNÓGENO PARA CONTROL DE LA ENFERMEDAD DEL OJO AZUL EN CERDOS

Cuevas RS¹, Alvarado IA¹, Mejía SP¹, Blomstrom A², Berg M², Hernández-Jáuregui P³, Hernández-Baumgarten⁴, Lövgren K⁵, Morein B⁵, Baluc C²

CENID-MA INIFAP¹ SLU-UPPSALA-SWEDEN² CIBIOR-IMSS³ FESC-UNAM⁴ ISCONOVA/AB-SWEDEN⁵

E-mail: cuevas.julieta@inifap.gob.mx

Introducción

Durante los últimos años la Enfermedad del Ojo Azul, es considerada una enfermedad endémica en México y exótica para otros países, lo que representa una limitante para la exportación de cerdos al extranjero. Esta enfermedad se caracteriza por ocasionar problemas de infertilidad en cerdos adultos, alteraciones nerviosas en cerdos jóvenes y problemas respiratorios, además de observarse en algunos casos opacidad de cornea en cerdos de todas las edades. El objetivo de este trabajo fue obtener la proteína recombinante HN del Rubulavirus porcino (PoRV) considerada como la proteína más inmunogénica en la respuesta humoral, y evaluar la respuesta inmune en ratones.

Material y Métodos

Se utilizó la cepa de referencia PoRV-LPMV-84, para clonar el gen de 1906 nucleótidos del Rubulavirus porcino utilizando el sistema pDual GC Expression Vector de *E. coli*. Se transformaron células DH5 α , para la obtención de la clona. Las colonias obtenidas fueron evaluadas mediante PCR y observadas en geles de agarosa 2% con bromuro de etidio. Se realizó la purificación del plásmido y se transformaron KRX Competent Cells, para la expresión de la proteína HN, la cual se purificó mediante columna de Histidina, y se evaluó por pruebas de Western-blot. Una vez purificada la proteína recombinante, se inocularon ratones CD1 de 21 días de edad, para verificar la respuesta inmune humoral aplicando una dosis de 10 microgramos en dividida en dos aplicaciones vía Subcutánea

Resultados

Se obtuvieron 15 clonas de las colonias transformadas, observando la presencia del inserto en el 100% de las colonias evaluadas mediante pruebas de PCR. La expresión de la proteína HN, se demostró en las pruebas de Western blot, al revelar la presencia de una proteína de aproximadamente 60 KDa mediante el uso de anticuerpos monoclonales específicos contra la proteína HN. En los ratones inmunizados se observó una respuesta humoral a partir del séptimo día post-inoculación con Densidades Ópticas superiores a 1.2 detectados mediante la prueba de ELISA.

Discusión

El producto recombinante obtenido a partir del gen de la proteína HN del Rubulavirus porcino, mostro inducir una respuesta humoral específica hacia el virus. Este desarrollo tecnológico representa un avance de gran utilidad para el desarrollo de métodos diagnósticos específicos, y para su futura aplicación en el desarrollo de una vacuna recombinante y/o subunitaria, como una alternativa para el control de la EOA en México.

Bibliografía

- Allan GM, et al., (1996) J Vet Diagn Invest 8: 405-413
- Berg M, et al., (1997) Virus Genes 14:(1) 55-61.
- Berg M, et al., (1992) Gen. Virol. 73: 1195-1200
- Mc Neilly, et al., (1997) J Vet Diagn. Invest. 9: 3-9.
- Nordengrah A, et al., (1999) J Vet Diagn Invest 11: 319-323
- Stephano HA (1999). Blue Eye Disease. In: Diseases of swine, 8th ed, pp 103-112
- Svenda et al., (2002) Virus Res 83(1-2): 31-41.