

PRODUCCIÓN Y PURIFICACIÓN DE LA PROTEÍNA RECOMBINANTE HN DEL RUBULAVIRUS PORCINO COMO CANDIDATA PARA UN INMUNÓGENO EN CERDOS

Lara-Romero, R.¹, Cuevas-Romero, S.², Cerriteño-Sánchez, J.L.³, Ramírez-Mendoza, H.⁴, Hernández, E.¹,
Mendoza, S.¹

¹FES-C. UNAM, México, ²CENID-MA, INIFAP, México, ³BUAP, México, ⁴DMI, FMVZ, UNAM, México.

chio_lrp@yahoo.com.mx

Introducción

En 1980 en granjas ubicadas en La Piedad Michoacán, México, se aisló un Paramixovirus, especie Rubulavirus porcino (PorPV) agente etiológico de la Enfermedad del Ojo Azul. Actualmente hay poco más de 16 millones de cerdos en la República Mexicana y un tercio de la población de cerdos se encuentra afectada por el PorPV ya que es endémico en los estados centrales y es considerada la cuarta más importante que afecta la industria porcícola mexicana, debido a la pérdida económica por la baja fertilidad, aumento de hasta el 19% de lechones nacidos muertos, 30% más de momias, hasta -4.1 lechones nacidos vivos y un aumento de hasta el 50% de mortalidad en la primera semana de vida de los lechones (2,3). El PorPV es un virus RNA que codifica para seis proteínas estructurales NP, L, M, F, HN y P. La proteína más inmunógena es la HN, la cual es capaz de producir anticuerpos neutralizantes y en SDS-PAGE tiene un peso de 66 kDa (1,4). El objetivo de este trabajo fue producir y purificar la proteína recombinante HN del PorPV para posteriormente ser una buena candidata para un inmunógeno en cerdos.

Materiales y métodos

Para detectar el gen HN en el vector pDual GC se realizó una PCR para la identificar las colonias de *E. coli* KRX que contenían el inserto, posteriormente esas colonias se aislaron y se purificó su DNA para que con este se pudiera realizar la transformación de la cepa BL21 de *E. coli* utilizando cloruro de calcio y de magnesio, Se realizó la evaluación para determinar la forma de expresión de la proteína dentro de la bacteria. Y una vez determinada se cuantificó mediante un método modificado de Bradford para conocer que cepa de *E. coli* producía la mayor cantidad de proteína. Posteriormente se realizó el proceso de purificación por columna de afinidad utilizando la resina Chelating Sepharose Fast Flow de GE Healthcare y se hizo el western blot utilizando como anticuerpo primario anti-myc marcado con peroxidasa y suero de cerdo positivo al Rubulavirus

porcino revelando por quimioluminiscencia. Finalmente se evaluó la actividad neuraminidasa de la proteína recombinante.

Resultados

Mediante western blot y cuantificación se detectó que la sobre expresión de la proteína recombinante HN produce la formación de cuerpos de inclusión. Mediante t de student se determinó que la cepa de *E. coli* BL21 produjo una mayor cantidad de cuerpos de inclusión ($p < 0.05$) que KRX. Se logró estandarizar el proceso de purificación donde no perdimos la proteína de recombinante HN, esto determinado por el cromatograma de purificación y el western blot de las fracciones recuperadas de la purificación. Los anticuerpos producidos por el PorPV, fueron capaces de reconocer al peso de 66kDa la proteína recombinante HN.

Conclusiones

La enfermedad de ojo azul es endémica solo en los estados centrales de México, lo que representa una barrera arancelaria para la exportación de cerdo y subproductos. El uso de vacunas es una herramienta importante para el control y erradicación de diversas enfermedades. Los resultados obtenidos sobre el estudio de la proteína HN recombinante del PorPV dan pauta para que pudiera ser una buena candidata como inmunógeno en cerdos.

Referencias

- 1)Hernández J, Veterinary Immunology and Immunopathology. 64: 367-381.
- 2)Kirkland P. D. & Stephano A. 2006. Diseases of swine. 9ª Ed. Blackwell Publishing.
- 3)Stephano A, Vet Rec 122:6-10.
- 4)Linné T, Veterinary Microbiology. 33: 263-273.