

EXPRESIÓN DE LA PROTEÍNA BM86 DE *RHIPICEPHALUS MICROPLUS* CONSIDERANDO LA VARIABILIDAD ANTIGÉNICA DE DIFERENTES REGIONES DE MÉXICO.

Julio César Arteaga-Rodríguez¹, Gerardo Reséndiz-Cardiel¹, José Luis Sánchez-Vargas¹, Saúl Gabriel Martínez-Arzate², Juan Carlos Vázquez-Chagoyán², Jaime Ortega-López¹. ¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN), Ciudad de México, C.P. 07360. ²Laboratorio de Biología Molecular del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados en Salud Animal (CIESA-UAEMex), Toluca, Estado de México, C.P. 50200, jcesar.rodriguez@cinvestav.mx.

Palabras clave: Rhipicephalus microplus, Proteína BM86, Variabilidad antigénica.

Introducción. *Rhipicephalus microplus* (anteriormente *Boophilus microplus*) es considerada la principal garrapata de ataque a bovinos a nivel mundial. En México ocasiona una grave pérdida económica para los ganaderos del país (1). Aunque se ha hecho uso de diferentes métodos de control químico y biológico, éstos no han sido suficientes para lograr un control adecuado de este ectoparásito que causa anemia en el hospedero y es vector de diferentes microorganismos causantes de infecciones como: **Babesiosis, Anaplasmosis y Teileriosis**. El control inmunológico es una opción viable, ya que ha demostrado eficacia, actividad permanente y fácil aplicación. Las vacunas comerciales están basadas en el antígeno Bm86. La presencia de anticuerpos contra Bm86 en el suero de bovinos provoca daño tisular en las células del intestino del ectoparásito afectando los procesos de endocitosis (2). La proteína Bm86 se ha producido en forma recombinante en *Escherichia coli*, *Baculovirus*, *Aspergillus spp* y *Pichia pastoris* (3). Si bien esta proteína está presente en la mayoría de las especies de garrapatas, recientemente se ha demostrado una variabilidad en la secuencia de Bm86 de garrapatas recolectadas en diferentes regiones de México (4). Lo anterior sugiere que la baja eficiencia de las vacunas comerciales, en algunas regiones del país, se debe a la variabilidad antigénica de la Bm86. Una alternativa para mejorar la eficacia de una vacuna para el control de *Rhipicephalus microplus* en México es considerar la variabilidad antigénica de *bm86* en las diferentes regiones del país.

El objetivo de este trabajo es la expresión de la proteína Bm86 recombinante a partir de cDNA obtenido de garrapatas recolectadas en diferentes regiones del país, como una estrategia para mejorar la eficacia de una vacuna para el control de *Rhipicephalus microplus*.

Metodología. Se obtuvieron secuencias de cDNA a partir de RNAm de dos muestras de garrapatas de diferentes regiones del país (4). Las secuencias se amplificaron por PCR y se ligaron al vector de clonación pGEMT-easy vector I y después de confirmar la ausencia de errores en la secuencia del gen *bm86*, se subclonó en el vector de expresión pET39b(+), que permite la expresión de la proteína de interés fusionada a la proteína DsbA para su localización en el espacio periplásmico de *E. coli*, un casete de resistencia a Kanamicina y dos etiquetas de seis y ocho histidina para su purificación. Para la expresión de la proteína recombinante Bm86 se transformaron células competentes de *E. coli* (BL21(D3)), con la construcción pET39b(+)/Bm86 y se realizaron pruebas de expresión de la proteína recombinante en clones seleccionados mediante PCR colony.

Resultados.

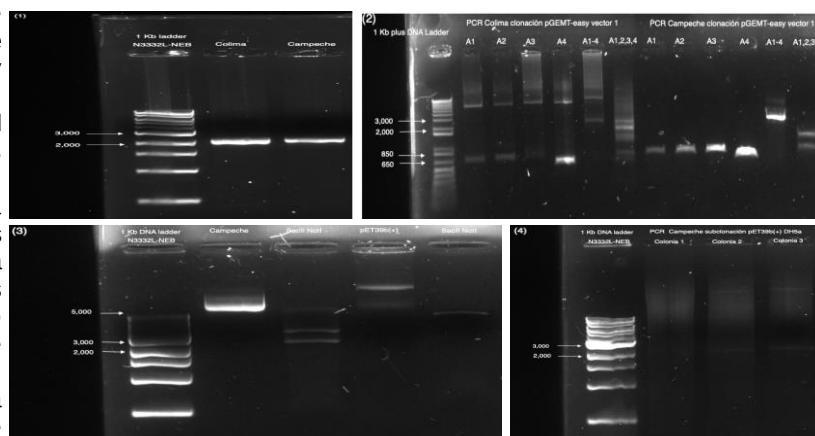


Fig. 1. PCR de secuencia de Colima y Campeche. **Fig. 2.** PCR de amplicones individuales y totales de la secuencia de Colima y Campeche clonadas en pGEMT-easy vector I. **Fig. 3.** Digestión de la secuencia de Campeche y pET39b(+). **Fig. 4.** PCR total de la secuencia de Campeche subclonada en pET39b(+) DH5α.

Conclusiones. Las secuencias que codifican para la proteína Bm86 de garrapatas recolectadas en localidades de Colima y Campeche muestran una identidad del 99% entre ellas, con variaciones en 6 nucleótidos. Una comparación con la secuencia (5) de la vacuna comercial Tickgard muestra variaciones en 23 aminoácidos, sugiriendo que estas variaciones modifican los epítomos y afecta la eficiencia de las vacunas basadas en este antígeno.

Agradecimientos. Por el apoyo para la realización de este trabajo al CINVESTAV-IPN, al CONACYT donativo INFR-2016-269657 (JOL) y beca número 860210 a JCAR, y al IB-UNAM por la secuenciación de DNA.

Bibliografía.

1. SENASICA, 2016.
2. Willadsen P, et al (1989) *J Immunol.* 143(4):1346-51.
3. Rodríguez M, et al (1994) *J Biotechnol.* 33(2):135-46.
4. Martínez-Arzate SG, (2014) Tesis UAEMex. Toluca, México.
5. Rand KN, et al (1989) *Proc. Natl. Acad. Sci.* 86(24):9657-61.

