

VACUNA RECOMBINANTES Y DE DNA CONTRA LA INFLUENZA AVIAR AH7N3 DE ALTA PATOGENICIDAD

Rodríguez Farrera Pedro R., Núñez Muñoz Leandro A., Ortega López Jaime, Ruiz Medrano Roberto y Xoconostle Cázares Beatriz, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, Depto. de Biotecnología y Bioingeniería, Ciudad de México, 07360. Email: beatriz_xoconostle@yahoo.com
Influenza aviar, vacuna recombinante, vacuna DNA

Introducción. México es el quinto productor mundial de carne de pollo, la cual se ve amenazada por la influenza aviar, una enfermedad vírica que merma la producción avícola regional y mundial, debido a la emergencia de variantes de alta virulencia.^[1] En 2012, la variante AH7N3, provocó el sacrificio de 11 millones de aves^[2], generando enormes pérdidas económicas y el encarecimiento de este producto básico.

A fin de contrarrestar esta enfermedad, los métodos actuales de control se centran en la administración de vacunas generadas en huevos embrionados. No obstante, esta tecnología se ve limitada por la disponibilidad de material para la producción de las vacunas, requerimientos técnicos y sanitarios complejos; así como la incapacidad de algunas variantes para crecer en este tipo de material^[3]. Por ello, el uso de otras estrategias como la producción de proteínas recombinantes en sistemas de expresión procariontes, podrían optimizar el proceso con menores costos de producción.

Adicionalmente, una estrategia para potenciar el efecto inmunogénico de las vacunas recombinantes radica en el uso de adyuvantes que permitan potenciar la respuesta inmune.^[4] En este trabajo se generaron antígenos recombinantes de AH7N3, así como interleucina 4 recombinante (IL-4) de *Gallus gallus* como adyuvante.

Metodología. Las secuencias codificantes para las proteínas de la cápside Hemaglutinina (HA) y Neuraminidasa (NA) provenientes del virus de la Influenza AH7N3 fueron sintetizadas con uso de codones optimizado para su expresión en *E. coli*. Posteriormente dichas secuencias se clonaron en el plásmido pCri-8a^[5], utilizando los sitios NcoI y XhoI; los genes están bajo la expresión del promotor Taq con el locus O inducible por IPTG y están fusionadas traduccionalmente con el tag de afinidad His6X. *E. coli* BL21(D3) transformada con los genes de interés se crecieron en medio LB con 0.5% de glucosa y se adicionó 1 mM de IPTG para inducir la expresión, cuando estas alcanzaron una OD_{600nm}~0.6. Se extrajeron fracciones totales de ambas proteínas, se lavaron los cuerpos de inclusión y se desnaturalizaron con 8M de urea. Estas fueron purificadas por afinidad en una columna de Sefarosa-Ni.

Resultados

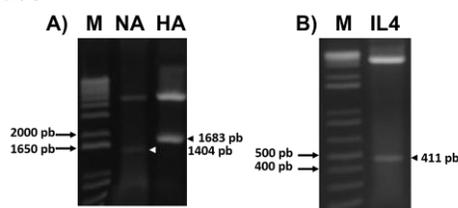


Fig. 1. Digestión con enzimas de restricción XhoI y NcoI para el plásmido pCri8a que contiene la región codificante de: A) Neuraminidasa y Hemaglutinina, B) Interleucina 4

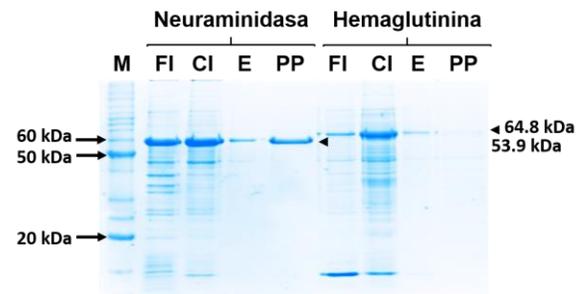


Fig. 2. Hemaglutinina y neuraminidasa purificadas en columna por afinidad. Se observan las fracciones insolubles (FI), cuerpos de inclusión lavados (CI), la fracción eluida de la columna (E) y la proteína purificada (PP),

Conclusiones. Se diseñaron genes sintéticos que codifican para las proteínas Hemaglutinina y Neuraminidasa del virus de la influenza AH7N3, y se expresaron en *E. coli* BL21 DE3, y fueron purificadas por cromatografía de afinidad.

Agradecimientos. Al CONACYT por el apoyo otorgado (beca 490418)

Bibliografía.

1. Kapczynski, D. R., Pantin-Jackwood, M., Guzman, S. G., *et al.* (2013) J Virol. 87(16):9086–9096
2. Fragoso, H. S., Follow-up report No.8 (2012), WOA, Report reference: 12466
3. Soema, P. C., Kompier, R., Amorij, J. P., *et al.* (2015) Eur J Pharm Biopharm. 94:251-63
4. Kindrachuk, J., Jenssen, H., Elliott, M., *et al.* (2009) Vaccine. 27(34):4662–4671
5. Goulas, T., Cuppari, A., Garcia-Castellanos, R., *et al.* (2014). PLoS ONE, 9(11):e112643