

CULTIVOS DE RAICES TRANSFORMADAS DE BRÓCOLI ÚTILES PARA LA EXPRESIÓN HETEROLOGA DEL GEN *L1* DEL VPH

Juan Manuel Jiménez Antaño¹, Ma. Del Carmen Montes Horcasitas¹, Emma Gloria Ramos Ramírez¹, Armando Ariza Castolo², Josefina Pérez Vargas³, Octavio Gómez Guzmán¹, Graciano Calva Calva¹
juan8784@hotmail.com, gcalva@cinvestav.mx

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería; ²Departamento de Química del CINVESTAV-IPN. Av. IPN 2508 Col. San Pedro Zacatenco. México, D.F., México 07360. Teléfono: 57473800 Ext. 4348.

³Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec, Av. Tecnológico s/n, Ecatepec Edo. México.

Palabras clave: *Proteína L1*, *VLP*, raíces transgénicas.

Introducción. El cáncer cervicouterino está asociado a infección previa por el virus del papiloma humano (VPH) [1]. La proteína L1 es el componente principal de la cápside del VPH, la cual se autoensambla en cápsidas vacías o partículas semejantes a virus (VLPs), estas estructuras son altamente antigénicas [2]. Se encuentran comercialmente vacunas a base de VLPs, sin embargo, tienen el inconveniente de presentar un costo elevado, por lo que gran parte de la población afectada por este virus no tiene acceso al producto [3], lo que ha motivado la búsqueda de procesos alternativos para disminuir los costos y hacer disponible las vacunas a poblaciones más pobres y marginadas. Con la biotecnología vegetal particularmente el cultivo de raíces transformadas, se ofrece una alternativa de producción, ya que estas raíces pueden propagarse en biorreactor o regenerarse a plantas completas funcionando como vacuna comestible.

En este trabajo, se pretende usar cultivos de raíces transformadas de *Brassica oleracea* como modelo de expresión de la proteína L1 del VPH16. Esta planta presenta ciclos de vida cortos, es fácil de manipular y cultivar in Vitro. Otras de sus cualidades son su alta fertilidad femenina y maduración rápida de sus semillas.

Metodología. El constructo p16L1 que contiene al gen L1 de VPH16 se analizó por reacciones de restricción y por PCR. El vector pCAMBIA1105.1, el cual se utilizara para la transfección del gen L1 a plántulas de Brócoli vía *Agrobacterium rhizogenes* LBA9402, fue caracterizado por restricción con enzimas específicas. Los cultivos de raíces transgénicas fueron establecidos transfiriendo las raíces emergentes en los puntos de punción de hipocotilos de plántulas de Brócoli a medio de cultivo SH con antibiótico para su proliferación y eliminación de *A. rhizogenes*.

Resultados y discusión. El análisis de las reacciones de restricción del vector pCAMBIA 1105.1, del constructo p16L1 y de la amplificación por PCR del gen *L1* liberado del mismo constructo, dieron positivas para la identidad del vector, el constructo y del gen respectivamente. Paralelamente a la caracterización del material genético, se establecieron cultivos de raíces de brócoli normales y de raíces transformadas inducidas por infección con *A.*

rhizogenes LBA9402 silvestre y llevando el vector pCAMBIA (Fig. 1). La transformación de las raíces se confirmó por análisis de la morfología del tejido y análisis de la expresión de β -glucuronidasa. Actualmente se construye el vector binario pCAMHPV16L1 que será usado para la transfección del gen *L1* a plántulas de Brócoli para establecer cultivos de raíces que expresen la proteína heteróloga correspondiente.

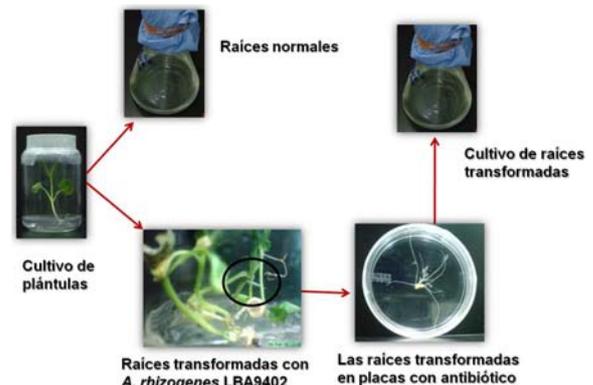


Fig. 1. Esquema del protocolo para el establecimiento de cultivos de raíces de Brócoli

Conclusiones. Se establecieron cultivos de raíces normales y transformadas de brócoli. También se liberó el gen *L1* para preparar el constructo pCAMHPV16L1 y establecer cultivos de raíces transgénicas que expresen la proteína L1 heteróloga.

Agradecimiento. El primer autor agradece a CONACYT por la beca otorgada para sus estudios de Maestría y por el financiamiento proyecto CONACYT numero 47678.

Bibliografía.

1. Diestro M. D., S. M., Gómez N. F. (2007). "Cáncer de cuello uterino: Estado actual de las vacunas frente al virus del papiloma humano (VPH)." *Oncología (Barc.)* **30**(2): 14-31.
2. Ishii, Y., Tanaka, K. y Kandaa, T. (2002). "Mutational analysis of human papillomavirus type 16 major capsid protein L1: the cysteines affecting the intermolecular bonding and structure of L1-capsids." *J. Virol.* **308**(2003): 128-126.
3. Stanley, M. (2007). "Prophylactic HPV vaccines." *J. Clin. Pathol.* **60**: 961-965.