



## ANTIGENICIDAD DE PROTEÍNAS IMUNODOMINANTES DE *Entamoeba histolytica* EXPRESADAS EN *E. coli*.

Dinora Pérez, Roberto Rangel, Arturo Rojo, Guillermo Mendoza, Jose Viader, Armando Isibasi, Luis Galán, Katiushka Arévalo, María del Socorro Flores\*

\*Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n San Nicolás de los Garza N.L. Fax: (52) 81-83294000 EXT. 6415. floresgms@yahoo.com.

Palabras clave: "BPM recombinante", *E. histolytica*, Inmunodiagnóstico.

**Introducción.** Según la Organización Mundial de la Salud la amibiasis es considerada un problema de salud pública ya que existen 50 millones de infectados enfermos, con aproximadamente 40 a 110 mil muertes anuales es causada por el protozooario *Entamoeba histolytica*. Las pruebas comerciales para el diagnóstico de amibiasis invasiva no son efectivas en zonas de alta endemicidad, como lo es nuestro país. Flores (1-3) diseñó una prueba de diagnóstico inmunológico por Western Blot, la cual ha demostrado mejores parámetros de utilidad clínica que la prueba de IHA (Hemaglutinación Indirecta) que actualmente se encuentra en el mercado. El patrón de Western Blot es reconocido exclusivamente por los anticuerpos de pacientes con amibiasis invasiva y no por los de sujetos sanos que viven en zonas endémicas. Dentro del patrón de Western Blot se encuentra una banda inmunodominante de bajo peso molecular (Nombrada por nosotros como: "BPM") que es producida en muy bajas concentraciones por *E. histolytica* (1-3). La proteína "BPM" es importante para utilizarla en el diseño de métodos de diagnóstico rápido o en la implementación de una vacuna. Por lo que la proteína "BPM" de *E. histolytica* se secuenció. Se obtuvo el DNAC el cual se clonó en los vectores de expresión procariótica pGEX4T-1 y pET-28a para obtener proteínas fusionadas con GST ("BPMr"-GST) o marcadas con seis residuos de histidinas ("BPMr"-6XHis) respectivamente para sobreexpresarla de forma recombinante en *Escherichia coli*.

El objetivo de este trabajo fue determinar si las proteínas recombinantes son reconocidas por los anticuerpos de pacientes con amibiasis invasiva para comprobar que conservan la antigenicidad de la proteína BPM inmunodominante de *E. histolytica*.

**Metodología.** En este trabajo se monitoreó el crecimiento de las cepas de *E. coli* transformadas con el gen de "BPM" con cinéticas de crecimiento y determinación de Unidades Formadoras de Colonia por mililitro (UFC/mL); La expresión monitoreada mediante curvas de inducción. La purificación de las proteínas recombinantes se realizó por cromatografía de afinidad

con Gluthatione sepharosa para la proteína "BPMr"-GST y con Ni-NTA para "BPMr"-6XHis. Cada uno de los pasos de expresión y purificación fueron analizados por SDS-PAGE y Western Blot con los sueros de pacientes con amibiasis invasiva y como controles los de sujetos sanos.

**Resultados y discusión.** Los resultados del Western Blot muestran el reconocimiento de la proteína recombinante "BPMr"-6XHis por los anticuerpos de pacientes con amibiasis invasiva y no por los de sujetos sanos y aunque la proteína "BPMr"-GST también muestra el mismo comportamiento frente a los sueros de pacientes con amibiasis, no logramos eliminar GST con la trombina. por lo que el Western blot muestra bandas de reacción producida por el GST.

**Conclusiones.** Se demostró que la proteína "BPMr"-6XHis es antigénica y es reconocida por anticuerpos de pacientes con amibiasis invasiva y no por sueros de sujetos sanos. Esta proteína recombinante podrá ser utilizada para el diseño de pruebas rápidas para el diagnóstico de amibiasis invasiva.

**Agradecimiento.** SEP-CONACYT No. 25617 y PAICYT 2007-2009 No. CN-1575-07

### Bibliografía

- 1.- Flores De Castañeda M. (1999) Preparation of preserved antigens of *E. histolytica* without enzymatic inhibitors and their use in immunological methods. Patent 5861263. The Commissioner Of Patents And Trademarks Of The United States Of America. Derechohabiente: U.A.N.L.
- 2.- Flores de Castañeda M. (2002) Procedimiento para la preservación de moléculas antigénicas, sin el uso de inhibidores enzimáticos. Patente 209646 IMPI-SECOFI. México. Derechohabiente: U.A.N.L.
- 3.- Flores de Castañeda M (2002) Procedimiento para la preservación de moléculas antigénicas, sin el uso de inhibidores enzimáticos y su aplicación en métodos inmunológicos. Patente 209648 IMPI-SECOFI. México. Derechohabiente: U.A.N.L.