



## TRANSFORMACIÓN GENÉTICA DE MAÍZ (*Zea mays* L.) CON EL GEN DE INTERLEUCINA-12 HUMANA

Sergio Rosales-Mendoza, María Teresa de Jesús Olivera-Flores, Areli Herrera-Díaz, Roberto Montes de Oca-Luna y Ángel G. Alpuche-Solís.

Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C. Camino a La Presa San José 2055, C.P. 78216, San Luis Potosí, S.L.P. Tel. (444) 8342000, alpuche@ipicyt.edu.mx.

*Palabras clave: interleucina-12, Zea mays L., transformación genética.*

**Introducción.** Interleucina 12 (IL-12) es una molécula heterodimérica, formada por las subunidades p35 y p40, que ha sido asociada a la inducción de la respuesta inmune celular (Th1). El potencial terapéutico de esta citocina ha sido apoyado por modelos de cáncer en los que ha inhibido el crecimiento de tumores en ratones y por modelos de infección en donde ha mostrado actividad antimicrobiana hacia bacterias, parásitos y virus. Actualmente hay estudios clínicos que exploran los posibles usos terapéuticos de IL-12 en enfermedades neoplásicas y algunas infecciones (1).

La producción en altos volúmenes de proteínas de interés Biomédico es un campo en el que la Biotecnología Vegetal ha incidido proponiendo el uso de sistemas vegetales para la producción a costos bajos. En este campo, varios autores han encontrado en el maíz un modelo ventajoso, ya que la expresión específica de endospermo ha resultado en buenos niveles de acumulación de proteína y constituye una matriz con vida de anaquel prolongada (2).

El objetivo de este proyecto es lograr la expresión IL-12 humana en maíz, empleando un promotor específico de endospermo.

**Metodología.** Se empleó el vector pBI221 para construir un cassette de expresión específico de endospermo para maíz. El promotor constitutivo CaMV35S fue sustituido por el promotor de la  $\gamma$ -zeína, mediante los sitios *HindIII/SmaI*. Posteriormente, corriente abajo fue clonado el 5'UTR del virus TEV, el cual se ha reportado que incrementa los niveles de traducción, para dar lugar al vector pZP- $\gamma$  (Figura 1). Se empleó un gen que codifica para una fusión p40:p35 (vector pORF-hIL12v14, Invivogene), el cual fue amplificado por PCR y clonado en los sitios *NcoI* y *SacI* del vector pZP- $\gamma$ . Para obtener las condiciones de un sistema de transformación genética reproducible, se realizó la inducción de callo embriogénico tipo II, empleando embriones cigóticos inmaduros, que fue sometido a transformación mediante biobalística con partículas de oro (0.6  $\mu$ m) y el plásmido pAHC25 [que contiene el gen *bar*] (3). Después se realizó la selección con glufosinato de amonio (3 mg/L). Una vez reproducido el protocolo se realizó la transformación por co-bombardeo con la construcción pZP- $\gamma$  y pACH25 [en proporción 3:1].

**Resultados y discusión.** Se obtuvieron 7 clones de *E. coli* que presentaron vectores con el perfil de restricción esperado para la construcción pZP- $\gamma$ . Para el primer experimento de transformación (con pAHC25), se regeneraron 12 plantas

después de cuatro meses de cultivo en medio selectivo. Éstas se adaptaron satisfactoriamente a suelo. Posteriormente se realizaron dos experimentos de co-bombardeo con el gen de interés y el de selección (pZP- $\gamma$  y pACH25). Contamos con 31 callos en medio selectivo que están en etapa de regeneración. Una vez regeneradas estas transformates se dará inicio al análisis molecular, así como al cultivo en suelo para obtener plantas adultas, en las que se determinará la especificidad y el nivel de la expresión del transgén. Esto permitirá seleccionar a las mejores líneas.



Figura 1. Mapa de la construcción pZP-g. El gen de IL-12 (p40:p35) se encuentra bajo el control del promotor de la  $\gamma$ -zeína (específico de endospermo).

**Conclusiones.** Se cuenta con un vector específico de endospermo que permitirá producir IL-12 en maíz. Obtuvimos 31 cultivos *in vitro* de maíz que son candidatos a emplearse para la producción de IL-12.

**Agradecimiento.** Al CONACYT por la beca de doctorado y el financiamiento otorgado al proyecto 37048-B. A los Drs. Brian Larkins y James Carrington, por proporcionar el promotor de  $\gamma$ -zeína y el 5'UTR-TEV, respectivamente.

### Bibliografía.

- Fieschi, C y Casanova, JL. (2003). The role of interleukin-12 in human infectious diseases: only a faint signature. *Eur J Immunol.* 33(6):1461-1464.
- Streatfield, SJ, Lane, JR, Brooks, CA, Barker, DK, Poage, ML, Mayor, JM, Lamphear, BJ, Drees, CF, Jilka, JM, Hood, EE, Howard, JA. (2003). Corn as a production system for human and animal vaccines. *Vaccine.* 21(7-8):812-815.
- Frame, B. (2000). Production of transgenic maize from bombarded Type II callus: effect of gold particle size and callus morphology on transformation efficiency. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant.* 36:21-29.