



CARACTERIZACIÓN DE EPÍTOPOS INMUNODOMINANTES DE LA SUBUNIDAD 1 DE LA GLICOPROTEÍNA SPIKE DEL VIRUS DE LA BRONQUITIS INFECCIOSA

Campillo-Balderas JA*, Gazarian T, Hernández R, Alonso R, Ramírez J, Ledesma N, Gazarian K

*Depto. de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Ciudad Universitaria, Circuito Escolar, México D.F. 04510. Fax: +5255 56229212

E-mail: clon666@correo.biomedicas.unam.mx

Palabras clave: IBV, S1, phage display

Introducción. El virus de la bronquitis infecciosa (IBV) es un agente altamente patógeno entre las aves domésticas dañando órganos del tracto respiratorio o urogenital⁽¹⁾. Se ha reportado que la glicoproteína superficial *Spike* de este virus es la principal inductora de anticuerpos neutralizantes⁽²⁾. El objetivo del presente trabajo es caracterizar regiones inmunodominantes importantes de una de las subunidades de Spike (S1) de serotipos Massachusetts (Mass, de distribución mundial) y UNAM 2001-2 (UNAM, virus endémico mexicano) de IBV.

Metodología. Se realizaron inoculaciones de péptido sintético de la secuencia S1 (aa 138-154), así como virus IBV Mass y UNAM a conejos y aves. Se purificaron los anticuerpos de estos animales (IgG, conejos; IgY, aves) y éstos se utilizaron para seleccionar mimótopos de fago M13⁽³⁾. Finalmente las clonas de fago seleccionadas se utilizaron en ensayos de protección en aves desafiadas con el virus endémico.

Resultados y discusión. Por lo menos tres péptidos de la biblioteca de fago de 12-mers pudieron mimetizar epítopos antigénicos de S1 de IBV. El epítipo-mimótopo Q X TGPL X F (Fig. 1) fue inmunogénico en ratones inoculados con las clonas, así como YP X Y XX L y QYGKF (Fig. 2) indujeron altos títulos de sueros de aves desafiadas en la sexta semana con IBV UNAM.

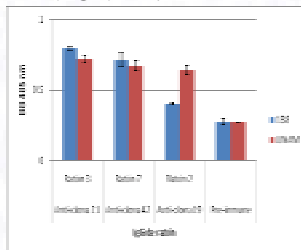


Fig. 1 Los mimótopos seleccionados por IgG de conejo inoculado con el péptido sintético son inmunógenos potenciales al inducir una respuesta de anticuerpos de ratón.

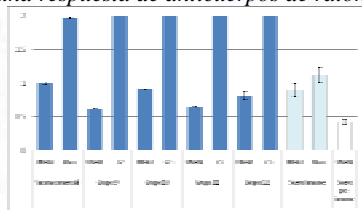


Fig. 2. Reactividad de los antisueros aviares inoculados con una vacuna comercial y clonas seleccionadas con IgG (G2 y G2+, clona individual y mezcla de clonas respectivamente, con motivo YP X Y XX L) y con IgY (Y3 y Y3+ con motivo QYGKF).

Así mismo, estas regiones mostraron, según nuestros primeros resultados, ser neutralizantes del virus al poder evitar el desarrollo de la infección (nefritis intersticial linfocitaria) en tales aves infectadas.

Mediante un alineamiento parcial múltiple de aminoácidos de S1 de diferentes serotipos locales (UNAM, UNAM 97, BL-56) y mundiales (Mass y Conn), se pudo determinar que estas zonas se encuentran río abajo de la región hipervariable 2 (HVR2) e incluso considerarse como un solo epítipo de aproximadamente 16 aa (aa 154-170) (Fig. 3). Estos experimentos concuerdan con epítopos reportados dentro de las HVR 1 y 2, los cuales son dependientes de conformación⁽⁴⁾. Estos resultados en conjunto indican que S1 es un candidato potencial para el diseño de vacunas recombinantes.

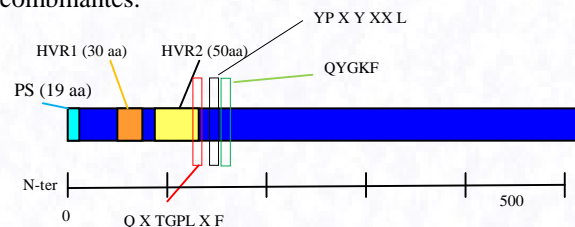


Fig. 3 Secuencia de S1 (520 aa) donde se observa el péptido señal (PS), las regiones hipervariables (HVR) y los epítopos encontrados.

Conclusiones. Estos resultados obtenidos por primera vez en el campo de la veterinaria molecular por una biblioteca combinatoria demuestran que los epítopos encontrados pueden ser buenos candidatos para el posible desarrollo de pruebas de diagnóstico y vacunas contra el virus endémico de forma más económica y práctica que las vacunas comerciales basadas en virus atenuado o vivo del serotipo Mass que protegen de forma parcial aves infectadas con UNAM debido a la inexistencia de protección cruzada.

Agradecimientos. CONACyT (becario 189620), DGEP y PAPIIT.

Bibliografía

- McFerran and McNalty. (1993). Coronaviridae. In *Virus infectious of birds*. Vol 4, Elsevier. Printed in The Netherlands 247-271.
- Cavanagh D. (2005). Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathology* 34 (6), 439-448.
- Scott J, Smith G. (1990). Searching for peptide ligands with an epitope library. *Science*. Jul 27; 249(4967):386-90.
- Moore K, Jackwood M, Hilt D. (1997). Identification of amino acids involved in a serotype and neutralization specific epitope within the s1 subunit of avian infectious bronchitis virus. *Arch Virol.*; 142 (11):2249-56.