



PRODUCCIÓN DE TRANSCRITOS SENTIDO Y ANTISENTIDO A PARTIR DEL GEN VP28 DEL VIRUS WSSV COMO HERRAMIENTA PARA INDUCIR EL SILENCIAMIENTO GÉNICO DEL CAMARÓN POR RNA ESPECÍFICO DE DOBLE CADENA.

Sergio Vega y Humberto Mejía **dirección para correspondencia, fax**, svega@cibnor.mx.

Palabras clave: RNAi, WSSV, Camarón.

Introducción. Las infecciones virales representan una amenaza para la industria del camarón. Un virus de mayor importancia es el virus de la mancha blanca (WSSV), cuyos efectos se manifiestan en la disminución de la producción y en el aumento en los costos de la misma (1). El WSSV fue originalmente identificado en Tailandia en los 90's. En América, fue identificado por primera vez en granjas en 1995 y más recientemente en Sudamérica (2). Debido a esto, surge la necesidad de realizar investigaciones científicas y tecnológicas a fin de obtener técnicas de manejo de cultivos, medidas de control, prevención y mitigación que aseguren el desarrollo de la camaricultura en México. Una alternativa, es el uso del sistema de silenciamiento génico por ARN de interferencia (RNAi) como mecanismo para desactivar el WSSV. El silenciamiento génico, es un proceso por el cual se inhibe de manera específica la expresión de un gen a través de la degradación de ARN mensajero del mismo, evitando, la síntesis de la proteína (3). El virión de WSSV es una partícula larga, ovoide, de alrededor de 275-380nm de largo por 80-120nm de ancho, consistente de una nucleocápside rodeada por una envoltura trilaminar, la cual consiste principalmente de las proteínas VP28 y VP19 (2). La proteína VP28 localizada en la superficie de la partícula viral juega un papel clave en la infección. Los diferentes aislados geográficos de WSSV que han sido caracterizados, son muy similares, en morfología y proteoma (2).

El objetivo de este trabajo es el de producir transcritos sentido y antisentido a partir del gen VP28 del virus WSSV así como clonar los fragmentos como respaldos para producir transcritos para posteriores aplicaciones.

Metodología. Se extrajo ADN total mediante un protocolo estándar de extracción. Se realizaron amplificaciones del gen que codifica para la proteína VP28. Mediante del BLOCK – iT RNAi TOPO Transcription Kit (Invitrogen Co), siguiendo las especificaciones del fabricante, se produjeron transcritos sentidos y antisentido del gen VP28. Los productos obtenidos antes de realizar las transcripciones fueron clonados utilizando el TOPO TA Cloning Kit (Invitrogen Co), utilizando el vector pCR TOPO 2.1 transformando en células de *E. coli*.

Resultados y discusión. El camarón cultivado representa alrededor del 50% del abasto a nivel global, sin embargo los acuicultores han sufrido pérdidas económicas debido principalmente al brote de enfermedades sobre todo de tipo

viral, entre las que se destaca el virus de la mancha blanca, como el principal amenaza biológica para el industria del cultivo de camarón. Si bien existen métodos de prevención del patógeno, según Lightner y Pantoja (2005) no se puede esperar tener éxito consistente en la exclusión del virus, debido a que muchos de los laboratorios todavía dependen del medio para la obtención de semillas. Por otra parte y el desarrollo de líneas libres de patógenos, solo puede alcanzarse a través de un programa a largo plazo que incluya vigilancia y reproducción en cautiverio en instalaciones con un plan de bioseguridad totalmente funcional y efectivo, que a su vez depende de la disponibilidad de métodos sensibles y acertados de detección de patógenos. En este trabajo se logró producir los transcritos sentido y antisentido del gen que codifica para la proteína VP28, así como clonar respaldos para su posterior aplicación, misma que podría considerarse como una alternativa a los actuales métodos de prevención y diagnóstico, o como complemento los mismos. En cuanto a esto Westenberg *et al* (2005) este tipo de regulación de ARN mensajero específico, ha demostrado su eficacia contra varias infecciones virales y ha sido descrito en un amplio rango de organismos eucariotas, incluyendo varios invertebrados como gusanos, moscas, mosquitos y polillas.

Conclusiones. La aplicación de sistema RNAi, parece ser una prometedora herramienta terapéutica en la lucha contra las enfermedades virales que han afectado a la industria del camarón durante la última década.

Bibliografía.

1. Chakraborty, S, Ota, K, Joseph, B, Kumar, S, Hossain, S, Karunasagar, I, Venugopal N, Karunasagar, I. 2002. Prevalence of white spot syndrome virus in wild crustaceans along coast of India. *Curr. Sci.* vol (82): 1392-1397
2. Lightner, D, Pantoja, C. (2005). Bioseguridad en el cultivo de camarones. En: *Métodos para mejorar la camaricultura en Centroamérica*. 123-166.
3. Colbère-Garapin, B, Saulnier, A, Pelletier, I, Labadie, K. 2005. *Silencing viruses by RNA interference*. *Micro and inf.* vol (7) 767-775.
4. M. Westenberg, Heinhius, B, Zuidema, D, Vlak, J. 2005. siRNA injection induces sequence-independent protection in *Penaeus monodon* against white spot syndrome virus, *Vir. Res.* vol (114) 133-139