



EXPRESIÓN GÉNICA DIFERENCIAL EN EL RIÑÓN DE *Mycteroperca rosacea* POR VACUNACIÓN CON ADN PLASMÍDICO.

Flavio Ernesto Zepeda-Núñez, José Ávila Mendoza, Felipe Ascencio-Valle y Roberto Carlos Vázquez-Juárez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Mar Bermejo 195, Col. Playa Palo de Santa Rita 23090,
La Paz, BCS. cvazquez04@cibnor.mx

Palabras clave: expresión diferencial, vacunas, peces

Introducción. La factibilidad de la vacunación en peces con ADN plasmídico frente a patógenos bacterianos, ha sido poco evaluada en comparación a los patógenos virales. Las proteínas de membrana externa (OMPs), son componentes bacterianos altamente inmunogénicos, debido a sus epítodos expuestos sobre la superficie celular. La Omp48, es una de las proteínas más abundantes en la superficie de la bacteria patógena de peces, *Aeromonas veronii* (1). Esta proteína se identificó como un candidato apropiado para el desarrollo de vacunas de ADN (2). Una de las incógnitas en el estudio de estas vacunas, es qué otros factores, además de la generación de anticuerpos, están siendo disparados como parte de la respuesta inmune del pez. El desarrollo de la tecnología de las vacunas está basado en el la caracterización de las sustancias antigénicas y en el conocimiento de los componentes del sistema inmune. El estudio de los cambios en el transcriptoma relacionados al evento de infección natural o bien siguiendo cierta estimulación por vacunación, ayudará a establecer y validar la función genes relacionados con el sistema inmune, lo cual conducirá a un mejor entendimiento de los mecanismos de inmunidad en peces. El principal órgano linfóide de los peces teleosteos es el riñón, particularmente la región anterior (3).

El objetivo de este trabajo fue analizar la expresión génica diferencial en el riñón de *Mycteroperca rosacea* en respuesta a la inmunización con ADN plasmídico.

Metodología. Se construyeron y evaluaron las vacunas pOMP48 y pOMP48-LP como inductores únicos del sistema inmune. La vacuna pOMP48, para la síntesis del antígeno intracelular, se construyó con el vector de expresión para células de mamífero pcDNA3.1. La vacuna pOMP48-LP, que dirige la expresión el antígeno extracelular, se construyó en vector de expresión y secreción para células de pez pcDNA3-LP, el cual contiene la secuencia codificante del péptido líder TGF- β de la trucha arco iris *Oncorhynchus mykiss*. Para el bioensayo de vacunación inyectaron intramuscularmente grupos de 10 peces con 20 μ g de plásmido/pez. Como controles se inyectaron grupos de peces con solución de fosfatos y con el plásmido pcDNA3.1 solo. A los 2 y 6 días se sacrificaron los organismos, se extirpó el riñón y se extrajo el RNA total. El transcriptoma se analizó mediante la técnica de despliegue diferencial de genes (4)

Resultados y discusión. Del análisis de expresión diferencial se obtuvieron 7 marcas de secuencia expresada (EST) desplegadas diferencialmente. El análisis BLAST indicó que presentaron la mayor similitud con secuencias de

genes y proteínas relacionadas al sistema inmune de peces teleosteos. Entre otras, las que forman el grupo de proteínas con dos dominios conservados, el HELICc y el DEADc que tienen la actividad funcional de helicasas de ADN o ARN; así como las proteínas de vertebrados con actividad súper asesina viricida (SKIV2L), cuyo gen en el humano se localiza en la región del MHC III; así como la fosfatasa alcalina de teleosteos (ALP), entre otras.

Conclusiones. La vacunación con ADN plasmídico indujo la expresión de al menos dos secuencias de genes relacionados con el sistema inmune en el riñón de *M. rosacea*.

Agradecimiento. Al CONACYT por financiar la investigación.

Bibliografía.

1. Vázquez-Juárez R.C., Barrera-Saldana H.A., Hernandez-Saavedra N.Y., Gomez-Chiarri M. y Ascencio F. (2003). Molecular cloning, sequencing and characterization of *omp48*, the gene encoding for an antigenic outer membrane protein from *Aeromonas veronii*. *Journal of Applied Microbiology*. 94: 908-18.
2. Vázquez-Juárez R.C., Gomez-Chiarri M., Barrera-Saldana H., Hernandez-Saavedra N., Dumas S. y Ascencio F. (2005). Evaluation of DNA vaccination of spotted sand bass (*Paralabrax maculatofasciatus*) with two major outer-membrane protein-encoding genes from *Aeromonas veronii*. *Fish & Shellfish Immunology*. 19 (2): 153-63.
3. Zapata (1996). The fish immune system. Organism, Pathogen, and Environment. En: *Fish Physiology*. Iwama G. y Nakanishi T. Academic Press. USA. 380 pp.
4. Liang P y Pardee AB. (1992). Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science*. 257(5072):967-971.