

PRODUCCIÓN DE UN PROBIOTICO RECOMBINANTE (BIO-VACUNA) PARA INMUNOESTIMULAR EL SISTEMA DE DEFENSA DEL CAMARON CONTRA WSSV.

Angélica Villarruel-López, Felipe Ascencio Valle, Ma. de Jesús Romero-Geraldo, y Humberto Mejía-Ruiz*.

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. Mar Bermejo 195, La Paz, B.C.S. México CP23090. e-mail: hmejia@cibnor.mx

Palabras clave: WSSV, *L. vannamei*, Bio-vacuna recombinante,.

Introducción. EL virus de la mancha blanca (WSSV) ha estado presente en las granjas de camarón desde hace varios años. Inicialmente su poder de infección causó epizootias de letales consecuencias para muchas de los cultivos que se encuentran en la región pacifico norte del país. Actualmente, el genoma del virus ha sido completamente dilucidado favoreciendo su análisis y la elaboración de sistemas de diagnóstico molecular para prevenir y controlar su efectos nocivos. Considerando las características probióticas de algunas levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) y auxiliados con un vector de expresión que puede sobreproducir un gen recombinante, pretendemos exponer su producto en la superficie de la célula de levadura, en este trabajo, proponemos el diseño de una “vacuna viva” para inmuno-estimular el sistema de defensa del camarón contra WSSV.

Metodología. Muestras de DNA de camarón contaminado con WSSV, se utilizaron para amplificar tres genes del virus con oligonucleótidos previamente diseñados a partir de su genoma. Los productos de PCR 610, 580 y 520 pb fueron insertados en el vector pGEM t easy (Promega) y células competentes de una cepa de *Escherichia coli* se utilizaron para transformarlas con el DNA circular. Las secuencias de DNA obtenidas de los minipreps de la colonias positivas, se determinaron en el equipo ABI-PRISM-310 (Applied-Biosystem). Los plásmidos fueron digeridos con *EcoRI*, y los fragmentos que contenían los insertos están siendo subclonados en la cepa de *S. cerevisiae* INVSc1 dentro del vector pYD1 (Invitrogen) para ser analizados y expresados.

Resultados y discusión. Las tres clonas obtenidas en cepas de *E. coli* contienen regiones correspondientes a los genes VP28, VP26 y TK de WSSV respectivamente, según su secuencia analizada en las bases de datos del GenBank. Los

insertos están siendo subclonados en la cepa de *S. cerevisiae*. Los genes VP26 y VP28 codifican para proteínas de la envoltura y la nucleocapside de WSSV respectivamente. Un análisis previo de la secuencia de aminoácidos deducida mostró en su estructura epítopes antigénicos, lo que permitirá que al sintetizarse *in vivo* estén en contacto con el sistema de defensa del camarón y puedan generar actividad inmuno-estimulante, como se ha comprobado mediante otras metodologías, (Venegas et al 2000). Actualmente, las clonas en las cepas de levadura están siendo analizadas para expresar los genes recombinantes y sintetizar sus respectivas proteínas.

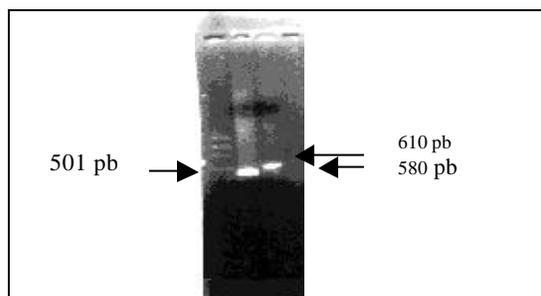


Fig. 1. Gel de agarosa donde se observan los productos de PCR correspondientes a los genes VP28 y VP26 con 580 y 610 pb respectivamente.

Conclusiones. Se han clonado los genes VP26, VP28 y TK de WSSV que codifican para la nucleocapside, para una proteína de la envoltura y para una timidina cinasa. Actualmente buscamos subclonar en el vector pYD1 para evidenciar de la síntesis de cada proteína recombinante.

Agradecimiento. Al apoyo a este proyecto por la Dra. A. Villarruel.

Bibliografía.

1. Venegas C., et al (2000). Quasi-immune response in *Penaeus japonicus* to penaeid rod-shaped DNA virus (WSSV). Dis. Aq. Org. 42: 83-89.