



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## COMPARACIÓN DE LA INMUNOGENICIDAD Y ANTIGENICIDAD DE LA PROTEÍNA INMUNODOMINANTE BPM DE *Entamoeba histolytica* Y DE LA PROTEÍNA RECOMBIANTE rBPM

Adriana Obregón-Cárdenas, Zuleyma Rincón, Dinora Pérez, Roberto Rangel, María S. Flores  
Instituto de Biotecnología, Facultad de Ciencias Biológicas, UANL. Av. Pedro de Alba y Manuel L. Barragán s/n.  
San Nicolás de los Garza, N.L., México, C.P. 66451, maria.floresgz@uanl.edu.mx.

*Palabras clave:* *E. histolytica*, proteína recombinante, amibiasis.

**Introducción.** La amibiasis es una enfermedad causada por *Entamoeba histolytica*. Las pruebas comerciales para el diagnóstico de amibiasis invasiva no son efectivas en zonas de alta endemicidad como lo es nuestro país. Actualmente no existen pruebas diagnósticas de amibiasis invasiva extraintestinal confiables. Es necesario implementar una prueba de diagnóstico rápida, específica, de bajo costo, que este al alcance de personas infectadas de zonas pobres que no tienen acceso a hospitales. Flores (1-3) diseñó una prueba de Western Blot con una utilidad diagnóstica mejor que la prueba de hemaglutinación indirecta, con sueros de pacientes con AHA, hepatópatas, multiparasitados y sujetos sanos. Sin embargo esta prueba solo se puede realizar en un laboratorio clínico. Dentro de este patrón de WB se identificó una proteína inmunodominante de bajo peso molecular denominada como "BPM", que es reconocida por el 99% de los sueros de pacientes con amibiasis invasiva, y no es reconocida por sueros de los sujetos sanos sin antecedentes de esta parasitosis. BPM es producida en muy bajas concentraciones por *E. histolytica*, por lo que se construyeron cepas recombinantes de *Escherichia coli* BL21 que portan el gen BPM. Se obtuvo una proteína recombinante "rBPM", para utilizarla en el diseño biotecnológico de pruebas rápidas para el diagnóstico de amibiasis invasiva o en la producción de una vacuna. Sin embargo, la BPM nativa de *E. histolytica* posee carbohidratos que no posee la rBPM. Y pudieran ser los principales inmunógenos en la BPM, en lugar de la porción proteica, lo que traería por consecuencia que la rBPM no se pudiera usar como vacuna o para el diseño de una prueba rápida para amibiasis invasiva.

El objetivo de este trabajo fue comparar la inmunogenicidad y la antigenicidad de la BPM con carbohidratos con las de rBPM.

**Metodología.** Se obtuvo la fracción IC:MC (insoluble cloroformo:metanol calentado) a partir de trofozoítos de *Entamoeba histolytica* descrita por Flores(1-3). La proteína BPM se aisló mediante electroforesis por electroelución continua a partir de la fracción IC:MC. La BPM se inmunizó en conejos Nueva Zelanda. Por otra parte, se inmunizaron conejos con proteína rBPM no glicosilada, purificada a partir de *Escherichia coli* BL21 por cromatografía de afinidad con Ni-NTA. Los anticuerpos anti-BPM y anti-rBPM obtenidos de los

sueros de los conejos se analizaron mediante electroforesis por SDS-PAGE y Western Blot utilizando a BPM y a rBPM como antígeno. De igual manera se llevó a cabo electroforesis por SDS-PAGE y Western Blot con los sueros de pacientes con AHA y con suero de sujetos sanos.

**Resultados.** Se logró inducir anticuerpos anti-BPM y anti-rBPM en los conejos inmunizados, lo que demuestra que ambas proteínas son inmunogénicas. Los anticuerpos anti-rBPM reconocen tanto a rBPM, como a la parte proteica de BPM. Los anticuerpos anti-BPM son capaces de identificar al antígeno BPM, sin embargo, no reconoce a la proteína rBPM, esto demuestra la inmunogenicidad de los carbohidratos presentes en BPM. Nosotros proponemos que los carbohidratos presentes en BPM enmascaran la parte proteica de BPM, porque son expuestos en la parte externa de la molécula y los anticuerpos van dirigidos principalmente hacia los carbohidratos, por esta razón anti-BPM no es capaz de reconocer a la proteína rBPM. Los anticuerpos de los pacientes con amibiasis invasiva reconocen tanto a rBPM como a BPM, por lo que estos sueros poseen anticuerpos contra los carbohidratos y la proteína, en cambio los anticuerpos de los sueros de sujetos sanos no reconocen a BPM ni a rBPM, por lo que es ideal para el diseño de una prueba rápida para amibiasis invasiva y son necesarios más estudios que determinen su utilidad como vacuna.

**Conclusiones.** En el presente trabajo se concluye que la proteína rBPM puede ser utilizada para una prueba de diagnóstico rápido en la detección de amibiasis invasiva. Además la proteína BPM glicosilada puede ser utilizada para la producción de una vacuna.

**Agradecimiento.** CONACYT 25617 y PAICYT.

### Bibliografía.

- (1) Flores de Castañeda M. (1999) Preparation of preserved antigens of *E. histolytica* without enzymatic inhibitors and their use of in immunological methods. Patent 5861263.
- (2) Flores de Castañeda M. (2002) Procedimiento para la preservación de moléculas antigénicas, sin el uso de inhibidores enzimáticos y su aplicación en métodos inmunológicos.
- (3) Flores de Castañeda M. (2002) Procedimiento para la preservación de moléculas antigénicas, sin el uso de inhibidores enzimáticos. Patente 209646 IMPO-SECOFI.