

ESTUDIOS SOBRE PROTEÍNAS Y GENES DEL CAMARÓN Y SU APLICACIÓN EN CULTIVOS

Francisco Vargas-Albores, Gloria Yepiz-Plascencia y Rogerio Sotelo-Mundo. Laboratorio de Biotecnología Marina. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. P. 1735; Hermosillo, Son. 83000, México. Fax (6) 280-01-54

fvargas@cascabel.ciad.mx

Palabras clave: *sistema inmune, nutrición, diagnóstico, genética*

El rápido desarrollo de la acuicultura de camarón ha generado la necesidad de desarrollar métodos sensibles y precisos para el diagnóstico, no solo del estado de salud, sino también para la predicción de capacidades genéticas de los organismos cultivados. El estanque de cultivo es un sistema abierto cuyas variables deben minimizarse, si se quiere mantener un adecuado control. Los factores que impactan la producción son: la nutrición, las enfermedades y, sobretodo actualmente, la disponibilidad en cantidad y calidad, adecuada de organismos. Nuestra investigación a lo largo de 12 años se ha dividido en varias fases, continuas, pero diferenciables por el enfoque y metodologías utilizadas.

La primera fase consistió en la descripción de proteínas relacionadas con el sistema inmune y con el transporte de nutrientes, la cual fue realizada en dos laboratorios independientes. Se aislaron y caracterizaron: una aglutinina que reconoce LPS, la HDL, hemocianina, la proteína de la coagulación, un factor hemolítico, así como la fenoloxidasas y la α 2-macroglobulina. Además se describieron las técnicas para obtención de la hemolinfa y la separación de las poblaciones celulares. Se establecieron las relaciones entre los componentes y sus mecanismos de respuesta. Esto nos ha permitido tener una visión conjunta del sistema inmune del camarón.

La segunda fase ha consistido en la implementación y elaboración de herramientas diagnósticas. Se produjeron anticuerpos contra las proteínas purificadas, con lo cual tenemos métodos de cuantificación por ELISA. Además, se diseñaron kits para medir la actividades de la fenoloxidasas y de la α 2-macroglobulina, así como la rutina para la cuenta total y cuenta diferencial de hemocitos. Por último se implemento para microplaca la cuantificación de glucosa, triacilgliceroles, colesterol, proteína total y lactato, este último como indicador de estrés. Esta fase marco la conjunción de los dos laboratorios y la formación del Laboratorio de Biotecnología Marina.

En la tercera fase, nos enfocamos a la búsqueda de los genes de las proteínas inmunes encontradas y, en el caso de las lipoproteínas, sobre sus sistemas de regulación. A partir de las secuencias aminoacídicas (N-terminal e internas) se diseñaron primers para la búsqueda de clones en bancos de genes de hepatopáncreas y de hemocitos. Se pretende

obtener la región codificante completa y describir la organización del gen en un banco genómico, incluyendo las regiones de control.

Esta información dió origen a la búsqueda de marcadores moleculares específicos. Sin embargo, mas que el estudio de los genes de proteínas inmunes o de lipoproteínas y su organización, la búsqueda de marcadores se ha basado en el DNA mitocondrial, por dos razones. La primera porque es posible llegar a conocer todo el genoma; la segunda porque posee regiones conservadas y variables definidas que permiten hacer comparaciones filogenéticas a nivel de grupo, género, especie e incluso familias. En esta fase también se contempla el uso del análisis de fragmentos, RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) y SSCP (Single-Stranded Conformation Polymorphism), con lo que se tienen el soporte técnico para los programas de mejoramiento genético.

La quinta fase se inicia con el establecimiento de un modelo molecular de la respuesta inmune de los camarones, los cuales son capaces de responder a sustancias no propias, no solamente a patógenos sino incluso poder reaccionar en forma diferente a compuestos químicos, como se demostró por Differential Display. A partir de este punto, los productos amplificados por PCR son aislados, clonados y secuenciados. En esta fase, también se considera la construcción de un banco de genes sustractivo, cuyos clones son secuenciados y se busca la identidad de las proteínas expresadas en respuesta a un estímulo, incluso a diferentes tiempos. La estrategia incluye la sobre-expresión de las proteínas, su caracterización biofísica y fisiológica, así como su evaluación como indicadores del sistema inmune de los camarones.

De alguna manera, todas las fases de desarrollo aún están presentes en nuestro laboratorio. Unas mas intensas que otras, pero una característica es el entrecruzamiento de las metodologías y enfoques. Esto nos ha permitido mantener un área de investigación sólida que mantiene colaboraciones con otros grupos de investigación que trabajan con camarón e incluso, con otros organismos cultivables (moluscos y peces), o bien con otras disciplinas que nos alimentan con sus diferentes enfoques.