

Expresión de la proteína de la cápside del virus de la artritis encefalitis caprina en *Pichia pastoris* para su uso como antígeno diagnóstico

LEANDRO DANIEL PICOTTO¹, NADIA ANALÍA FUENTEALBA^{1,2}, GUILLERMO HERNÁN SGUAZZA¹, DAIANA STEPHANIE BIANCHI¹, MARÍA GABRIELA ECHEVERRÍA^{1,2} Y CARLOS JAVIER PANEI^{1,2}

¹ Laboratorio de Virología, Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata (UNLP). Buenos Aires, Argentina

² Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET). Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina

leandropicotto@gmail.com

Los lentivirus de pequeños rumiantes (SRLV), como el virus de Maedi-Visna (MVV) y el virus de la artritis-encefalitis caprina (CAEV), pertenecen a la familia *Retroviridae*. Estos retrovirus producen inflamaciones crónicas y enfermedades multisistémicas de denuncia obligatoria en Argentina. El genoma del CAEV posee genes estructurales denominados *gag*, *pol* y *env*. El gen *gag* codifica para una poliproteína que se cliva en las proteínas de cápside (CA), de nucleocápside (NC) y de matriz (MA). La proteína CA presenta epítopes inmunodominantes que inducen una fuerte respuesta inmunológica y es utilizada en la elaboración de equipos de diagnóstico contra SRLV. Las mutaciones encontradas en estos epítopes son un inconveniente en la detección de la enfermedad, por lo que el desarrollo de equipos diagnósticos utilizando cepas que circulan en una región determinada

es de crucial importancia para un diagnóstico confiable. Debido a que no existen equipos de diagnóstico comerciales elaborados en Argentina, los equipos utilizados son importados y de un alto valor económico. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue expresar la proteína CA del CAEV para su uso como antígeno diagnóstico. Se amplificó, mediante PCR, el gen que codifica para la proteína CA de la cepa CAEV-Arg-Ara y se lo ligó al vector pPIC9. El plásmido obtenido (pPIC9-CA) fue utilizado para transformar *Escherichia coli*. Luego de analizar el clonado mediante PCR, pPIC9-CA fue linealizado con la enzima de restricción Sal I y utilizado para transformar *Pichia pastoris*. Se comprobó la transformación mediante PCR. Se realizaron cultivos de los clones recombinantes obtenidos y, luego de la inducción con metanol durante 96 h, se evaluó la expresión de la proteína CA recombinante mediante SDS-PAGE y *western blot* (utilizando sueros de caprinos naturalmente infectados con el CAEV) observándose una banda del tamaño esperado y determinando que la proteína recombinante obtenida es antigénica. En conclusión, se logró la expresión de la proteína CA recombinante del CAEV y fue reconocida por anticuerpos específicos en el *western blot*. Estudios futuros pondrán foco en el uso diagnóstico de la proteína obtenida con el fin de desarrollar el primer kit de diagnóstico nacional para la detección de SRLV.

Palabras clave: virus de la artritis encefalitis caprina, *Pichia pastoris*, proteína de cápside.