

II. 08.

Expresión recombinante de la proteína p24 del virus de la leucosis bovina para su aplicación en el inmunodiagnóstico.

Larsen, A.¹; Serena, M. S.^{2,3}; Metz, G. E.^{2,3}; Echeverría, M. G.^{2,3}; Mortola, E.¹; González, T.²

1. Cátedra de Inmunología Veterinaria.

2. Cátedra de Virología.

3. CONICET.

4. Facultad de Ciencias Veterinarias – UNLP, calle 60 y 118. 1900 – La Plata.

e-mail: mortola@fcv.unlp.edu.ar

Expression of the recombinant protein p24 of Bovine Leukemia virus and its use as antigen in serological diagnosis.

El virus de la Leucosis Bovina (VLB) es un retrovirus responsable de la leucosis enzoótica bovina, una de las infecciones retrovirales de distribución mundial más difundidas del ganado vacuno y presente en nuestro país. Es una infección endémica, especialmente en los bovinos de leche en los que causa linfocitosis persistente y/o linfosarcomas generando graves pérdidas económicas. La p24 es la proteína más importante del core del VLB y representa un potencial antígeno diagnóstico. El objetivo de este trabajo fue expresar la proteína p24 en forma recombinante (p24r) en el sistema de Baculovirus y *E.coli*, con el propósito de determinar si el producto mantenía la inmunogenicidad de la proteína nativa para ser utilizada como antígeno en una prueba de ELISA. El gen gag que codifica para la p24 se obtuvo mediante la técnica de

PCR, a partir del ADN genómico de células FLK crónicamente infectadas con el virus, utilizando primers diseñados de acuerdo a las exigencias del sistema de expresión empleado. Para el Sistema en Baculovirus se empleó el Gateway® System de Invitrogen y una vez obtenido el baculovirus recombinante, se infectaron células de insecto sf9 por 48 hs. y se analizó la expresión de la p24r. Para el sistema bacteriano el producto de PCR se clonó en el vector de expresión pQE-30-Quigen. Se procedió a la purificación de la p24r en columna de Ni-NTA-agarosa y en presencia de imidazol.

La p24r producto de ambos sistemas, reaccionó específicamente con sueros policlonales de referencia por la técnica de western blot. Este resultado indicaría que la estructura antigénica es la adecuada. La producción de la p24 arroja resultados muy promisorios para su empleo en el diagnóstico serológico de la infección y permitirá contar con una fuente de producción de antígenos para su aplicación en pruebas diagnósticas.