



## Expresión recombinante del antígeno inmunoestimulante Ag85 de *M. bovis*

ELBA RODRIGUEZ HERNANDEZ <sup>1</sup>, SUSANA FLORES VILLALVA <sup>1</sup>, ANA MARIA ANAYA ESCALERA <sup>1</sup> y FELICIANO MILIAN SUAZO <sup>2</sup>

1 Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, 2 Universidad Autónoma de Querétaro.  
rohe577@hotmail.com

*Mycobacterium bovis* es el bacilo causante de la tuberculosis principalmente en bovinos, este bacilo estimula potentemente el sistema inmune del hospedero a través de varias biomoléculas; algunas de las cuales se localizan en la pared y otras se secretan activamente. Estas biomoléculas de tipo estructural o soluble corresponden a antígenos de *M. bovis* que interactúan con ligandos en el hospedero. En especial, los antígenos secretados durante la infección en el bovino, son moléculas candidatas para desarrollar nuevos métodos de diagnóstico y diseño de vacunas recombinantes para el control de la tuberculosis bovina y humana. Una gran variedad de antígenos altamente inmunogénicos son secretados por *M. bovis* durante la infección; entre los cuales se encuentra el antígeno Ag85 que de acuerdo a varios reportes induce una respuesta inmune potente contra el bacilo en modelos animales. En la actualidad, los métodos de diagnóstico están basados en la búsqueda de biomoléculas de la respuesta inmune del hospedero infectado, las cuales son poco específicas para determinar la infección por tuberculosis (TB), y por otro lado el principal control de la TB en humanos es a través de la vacuna BCG, que de acuerdo a algunos reportes la protección conferida por esta es variable y limitada; lo que se traduce a costos elevados en el control, adicionalmente, este sistema de vacunación aún no se aplica en animales, representando un atraso en el combate efectivo de la enfermedad de manera global. Por esta razón; es importante diseñar nuevos métodos de control. El interés principal de este trabajo, es la producción recombinante del antígeno Ag85 de *M. bovis*; para cumplir con este objetivo, realizamos la amplificación por PCR del gen *fpb* el cual codifica al antígeno Ag85 a partir de ADN genómico de *M. bovis*, del cual se obtuvo el producto amplificado esperado, este fragmento fue clonado en el vector de expresión pBAD, fueron obtenidas diez clonas, las cuales se analizaron con una PCR a partir de las colonias, ocho de las clonas contenían el inserto, estas fueron cultivadas y se indujo la expresión de la proteína recombinante a través de L-arabinosa al 0.05%; la identidad de la proteína recombinante se verificó por un ensayo de Western blot utilizando anticuerpos anti-histidinas. Los resultados demuestran la obtención aparente de la proteína recombinante Ag85 de *M. bovis* de manera óptima. Este trabajo es una primera aproximación hacia el diseño de métodos específicos de diagnóstico y producción de vacunas recombinantes que perfeccionen las estrategias de control.