

## IX Jornadas de Acuicultura en el Litoral Suratlántico

### DESARROLLO DE UNA VACUNA DNA PARA EL CONTROL DE LA ENFERMEDAD DE LINFOCISTIS

R. Leiva<sup>1</sup>, J.J. Borrego, D. Castro, A.M. Labella

<sup>1</sup>Universidad de Málaga, Facultad de Ciencias, Departamento de Microbiología.  
rocioleiva@uma.es

#### Palabras clave

Virus de la enfermedad de linfocistis, plásmido vacunal, proteína principal de la cápside

#### Resumen

El virus de la enfermedad de linfocistis (LCDV) es el agente etiológico de la enfermedad de linfocistis, que afecta tanto a peces marinos como dulceacuícolas. Esta enfermedad supone un grave problema para el sector de la acuicultura, provocando pérdidas económicas debido a su alta morbilidad. En el presente estudio se ha desarrollado un plásmido recombinante con objeto de ser utilizado como vacuna de DNA para limitar la incidencia de dicha enfermedad en el cultivo de dorada (*Sparus aurata*). El gen codificante de la proteína principal de la cápside (MCP) del LCDV de dorada (LCDV-*Sa*) se clonó en primer lugar en el vector de expresión pGEX-6P-3, con el fin de expresar la MCP viral como proteína de fusión con GST (glutathione S-transferase) en *Escherichia coli* BL-21. La expresión de la proteína de fusión MCP-GST en células bacterianas se comprobó mediante Western blot e inmunoensayo dot-blot con anticuerpos específicos dirigidos contra la MCP y la GST. Esta MCP recombinante se empleará como antígeno de captura para la detección mediante ELISA de anticuerpos anti-LCDV en peces vacunados. Por otra parte, el gen codificante de la MCP se subclonó en el vector de expresión pcDNA3.1/NT-GFP-TOPO, obteniéndose así el plásmido vacunal. Tras su amplificación en *E. coli* TOP 10, el plásmido se purificó y se utilizó para transfectar la línea celular de dorada SAF-1, evaluándose dos métodos de transfección: Nucleofector Kit y lipofectamina. La expresión de la MCP viral en células SAF-1 transfectadas con el plásmido vacunal se ha demostrado mediante detección de la GFP (green fluorescent protein) por microscopía de epifluorescencia, y por inmunodetección de la MCP viral utilizando anticuerpos específicos. El plásmido vacunal obtenido se inyectará intramuscularmente en ejemplares de dorada para determinar la distribución y expresión temporal de la vacuna, así como para detectar anticuerpos anti-LCDV en los peces vacunados.

Este trabajo ha sido subvencionado por un Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía (P12-RNM-2261).