



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas -Programa de Magister en Bioquímica y
Bioinformática

**Co-expresión de una variante de la cápside del circovirus
porcino tipo 2 e Interferón alfa porcino en un nuevo
diseño de vectores de integración en *Pichia pastoris*.**

Tesis para optar al grado de Magister en Bioquímica y Bioinformática

FERNANDO ALEXIS GUTIÉRREZ ROJAS
CONCEPCIÓN-CHILE
2016

Profesor Guía: Jorge Toledo Alonso
Dpto. de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

RESUMEN

El Síndrome de Desmedro Multisistémico Post-destete (PMWS), es una enfermedad viral producida por la infección del Circovirus porcino tipo 2 (PCV2). Este virus infecta células del sistema inmune como células dendríticas, monocitos y macrófagos, debilitando al animal contra infecciones de patógenos concomitantes. Los animales que cursan PMWS pueden alcanzar una morbi-mortalidad del 60%. Actualmente existen alternativas de vacunación que no eliminan la infección subclínica.

En el presente trabajo, se muestra la generación de una formulación vacunal para la prevención del PMWS, la cual combina: Una variante antigénica de la cápside del PCV2 llamada Quimera1 con la citoquina inmunoreguladora INF- α porcino. Se diseñó un vector plasmidial que permite la integración genética estable en la levadura metilotrófica *Pichia pastoris* y la co-expresión de las dos proteínas de interés bajo el control del promotor inducible por metanol AOX1 propio de la levadura. El constructo génico favorece la expresión intracelular de la proteína Quimera1, mientras que la expresión de la citoquina fue direccionada a la ruta de secreción extracelular, para la facilidad de separación de las proteínas y la posible aplicación de estas fases en una formulación vacunal eficiente para controlar el PMWS.

En este trabajo se demostró por ensayos de dot blot y southern blot la correcta inserción del material genético en el ADN de las levadura generando clones de *Pichia pastoris* genéticamente transformados. Se demuestra la expresión de las proteínas recombinantes con los direccionamientos celulares seleccionados, mediante ensayos de western blot. La variante antigénica recombinante del PCV2 fue reconocida por el suero de animales naturalmente infectados con el PCV2, y el INF- α porcino secretado en el sobrenadante de cultivo promueve efectivamente la proliferación de mononucleares de sangre periférica.