

EXPRESION DE GENES QUIMÉRICOS *gag* DEL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH-1) EN TOMATE (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Y EN *Escherichia coli*

EXPRESSION OF CHIMERIC *gag* GENES FROM HUMAN IMMUNODEFICIENCY VIRUS IN TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill.) AND *Escherichia coli*

Alberto J. Donayre Torres, Cristina Reynaga Peña y Miguel A. Gómez Lim*

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV), Unidad Irapuato. Km. 9.6 Libramiento Norte, 36500 Carretera Irapuato-León. Irapuato, Guanajuato. Tel. 01-462-6239600 Ext. 401.

*Autor para correspondencia (mgomez@ira.cinvestav.mx)

RESUMEN

La secuencia nativa del gen *gag* del virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se expresó tanto en plantas transformadas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) como en *E. coli*. Dos versiones quiméricas del gen *gag* (*gag-ENV* y *gag-RT*) se expresaron independientemente. El análisis de la expresión permitió detectar el ARNm de las construcciones en tejidos de hoja y fruto de tomate. Sin embargo, no se pudo detectar la presencia de la proteína Gag completa, aunque el anticuerpo sí detectó un dominio (p24) de Gag expresado en frutos de dos líneas transgénicas Gag-ENV. En la expresión del VIH en células de mamíferos, las secuencias nativas de genes tardíos como *gag* promueven la desestabilización de los mensajeros virales, que probablemente también se produzca en las células vegetales. Gag es capaz de formar partículas tipo virus (PTV) del VIH en sistemas de expresión heteróloga, como *E. coli* y levaduras. En este trabajo, las construcciones Gag-RT y Gag-ENV se expresaron en células de *E. coli* para confirmar si las proteínas quiméricas Gag-ENV y Gag-RT podían formar PTV. La expresión de estas construcciones rindieron niveles en *E. coli* de 2 mg L⁻¹ para la proteína Gag-RT y de 4 mg L⁻¹ para Gag-ENV, de proteína purificada. Micrografías electrónicas permitieron verificar la formación de PTV en el citoplasma de *E. coli* expresando la proteína Gag-ENV, lo cual indica que la fusión de los epítomos no interfirió con el ensamblaje de Gag en células bacterianas.

Palabras clave: *Lycopersicon esculentum* Mill., transformación genética, Gag (VIH-1), partículas tipo virus (PTV).

SUMMARY

Native sequence of *gag* gene from human immunodeficiency virus (HIV) was used to express in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plants and also in *E. coli*. Two versions of chimeric *gag* gene (*gag-ENV* and *gag-RT*) were expressed independently. According to the expression analysis the messenger RNA from chimeric versions of *gag* gene was detected in tomato leaves and fruit tissues. However, we did not detect expression of the whole Gag protein in tomato plants, although the antibody did detect the p24 capsid domain expression in two transformed lines of Gag-ENV. During HIV expression in mammalian cells the late genes such as *gag* promote instability of viral RNA messengers, and this could also be happening in plant tissues. Gag itself is able to originate viral-like particles (VLPs) of HIV when is expressed in heterologous systems, such as *E. coli* and yeast. In this report, Gag-RT and Gag-ENV constructs were expressed in *E. coli* to confirm if chimeric proteins Gag-RT and Gag-ENV are able to assemble into viral like particles. Expression of these constructs yielded moderate levels in *E. coli* (2 mg L⁻¹ of Gag-RT and 4 mg L⁻¹ of Gag-ENV) of purified chimeric proteins. Electron microscopy studies showed the presence of viral-like particles in cytoplasm of *E. coli* cells expressing Gag-ENV protein, thus indicating that addition of the epitopes did not interfere with proper assembly of Gag in bacterial cells.

Index words: *Lycopersicon esculentum* Mill., genetic transformation, Gag (HIV-1), viral-like particles (VLPs).