

# OBJETIVO 4.3

Desarrollar nuevos métodos alternativos, eco-sostenibles de tratamiento y control de patógenos en acuicultura, tanto terapéuticos como profilácticos.

## Conexión con las líneas de actuación del plan nacional

**Líneas de actuación A2:** Acuicultura sostenible, inteligente y de precisión

**Actuación A2.15:** Establecimiento de medidas biosanitarias y diseño de protocolos y otras medidas de control específicas (vacunas, prebióticos, probióticos, tratamientos alternativos, etc.) para mitigar los efectos del cambio climático y la intensificación de los cultivos de peces sobre epizootias debida a patógenos recurrentes y emergentes.

## Descripción de tareas

**Tarea 4.3.1 (M6-M34) - Desarrollo de una vacuna de DNA frente a *Enteromyxum leei*** - Prueba de la capacidad protectora de candidatos vacunales para *E. leei* expresados en vectores de expresión específicos administrados mediante inyección o por vía oral en doradas.

**Responsable:** CSIC3

**Resultado:** Se han clonado en pcDNA3 mediante Gibson assembly dos proteínas transmembrana del parásito que previamente demostraron su potencial antigénico (Picard-Sánchez 2021, Tesis doctoral). Durante la clonación se introdujeron en los constructos el péptido señal de la IgM de la dorada para asegurar la ruta secretora en células de pez, y una cola de histidina para poder detectar expresión. Los plásmidos se expresaron en células HEK293 y se comprobó la correcta expresión mediante inmunocitoquímica y citometría de flujo utilizando un anticuerpo anti-cola de histidina, y mediante western-blot con el mismo anticuerpo o con suero de pez resistente. Los siguientes pasos incluirán la expresión en cultivos celulares de pez (EPC, RTGut) y pruebas de expresión por células musculares de la dorada tras inyección. En caso de mostrarse expresión en el tejido in vivo y reacción de anticuerpos, se procederá a realizar un reto para probar protección.

**Grado de consecución:** 30%

**Impacto:** Es prematuro hablar de impacto.

**Tarea 4.3.2 (M6-M34) - Diseño de vacunas para vibrios zoonóticos** - Se diseñarán una vacuna subunitaria multi-hospedador y una vacuna oral para su aplicación en granjas.

**Responsable:** UV1

**Resultado:** En cuanto a la vacuna subunitaria, el primer paso ha sido seleccionar dos proteínas (Ftrpr y Fpcrpr) y optimizar un protocolo de clonación y expresión de las proteínas recombinantes.

Hemos seleccionado los cuerpos de inclusión como vehículo de vacunación por su resistencia a elevadas temperaturas y a pH ácido, lo que permitiría su inclusión como nanopartículas en el pienso. En estos momentos, se está iniciando un experimento de inmunización con estas formulaciones. En relación a la vacuna oral, se seleccionaron y diseñaron los fragmentos antigénicos y se produjeron en *Nicotiana benthamiana* de forma transitoria, usando como vehículo la bacteria *Agrobacterium tumefaciens*. Además, se demostró la no toxicidad de la planta vector para la anguila. Actualmente, estamos iniciando los ensayos de valoración del poder inmunógeno de triturados de la planta transgénica en animales por intubación oral, en colaboración con el Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas del CSIC-UPV.

**Grado de consecución:** 35%

**Impacto:** Dado que en ambos casos el objetivo es patentar la nueva vacuna desarrollada, los resultados, apenas se han difundido en foros científicos. Sólo los resultados iniciales del diseño y desarrollo de la vacuna subunitaria se presentaron recientemente en el congreso *Aquaculture Europe* celebrado en Viena, Austria).