

Resumen

La tripanosomosis bovina es una enfermedad hemoparasitaria ocasionada por diferentes parásitos del género *Trypanosoma*, incluyendo a la especie *Trypanosoma vivax*, la cual se ha reportado como la principal responsable a nivel mundial, además de poseer características más patogénicas. La sintomatología de la tripanosomosis incluye anorexia, anemia, infertilidad y abortos; generando pérdidas económicas al sector ganadero del país. Los métodos rápidos de detección a nivel de especie suelen ser escasos o presentan reacción cruzada, por lo que se ha sugerido emplear metodologías de clonación y expresión para obtener antígenos específicos que faciliten el diagnóstico.

Se realizó la estandarización de una PCR para la amplificación de un gen que codifique la proteína PFR de la especie *T. vivax* y su posterior clonación, expresión y purificación empleando un huésped bacteriano. La estandarización del ensayo PCR se logró mediante un gradiente de temperatura de hibridación, magnesio, taq polimerasa y cebadores que resultó en una banda definida de 1500 pb. La clonación y expresión se llevó a cabo en células *E. coli* BL21 y se comprobó mediante electroforesis SDS-PAGE obteniéndose una proteína de aproximadamente 64 kDa. La purificación posterior se logró empleando una cromatografía de afinidad Ni-NTA, logrando un porcentaje de pureza del 75,3 %. La concentración de la proteína PFR obtuvo valores de 0,14 y 0,25 mg/ml para la cromatografía de afinidad y filtración por centrifugación, respectivamente.

Palabras clave: proteína paraflagelar, *Trypanosoma vivax*, clonación, expresión.

Abstract

Bovine trypanosomosis is a hemoparasitic disease caused by different parasites of the genus *Trypanosoma*, including the species *Trypanosoma vivax*, which has been reported as the main responsible worldwide, besides having more pathogenic characteristics.

Symptomatology of trypanosomosis includes anorexia, anemia, infertility and abortions, generating economic losses to the country's livestock sector. Rapid detection methods at species level are usually scarce or cross-reactive, so it has been suggested to use cloning and expression methodologies to obtain specific antigens to facilitate diagnosis.

The standardization of a PCR for the amplification of a gene encoding the PFR protein of *T. vivax* species and its subsequent cloning, expression and purification using a bacterial host was carried out. Standardization of the PCR assay was achieved using a gradient of hybridization temperature, magnesium, taq polymerase and primers resulting in a defined band of 1500 bp. Cloning and expression was carried out in *E. coli* BL21 cells and verified by SDS-PAGE electrophoresis resulting in a protein of approximately 64 kDa. Subsequent purification was achieved using Ni-NTA affinity chromatography, achieving a purity percentage of 75,3 %. The PFR protein concentration obtained values of 0,14 and 0,25 mg/ml for affinity chromatography and centrifugation filtration, respectively.

Key words: paraflagellar rod protein, *Trypanosoma vivax*, cloning, expression.