

Producción de anticuerpos monoclonales con aislamiento seleccionados del virus del mosaico dorado de frijol

²Cancino, M., ¹Abouzid, A.M. ²Morales, F.J., ¹Purcifull D.E., y ¹E. Hiebert. ¹Department of Plant Pathology, University of Florida, Gainesville, and ²Virology Research Unit, CIAT.

El virus del mosaico dorado (BGMV) es uno de los patógenos que más limitan la producción de frijol en la América Latina. La variabilidad genética del BGMV ha sido demostrada mediante el uso de sondas de ADN específicas y por secuenciación (Gilbertson, *et al.* 1991). Las técnicas de hibridación de ácidos nucleicos, sin embargo, no están disponibles para la mayoría de los técnicos que trabajan con el mosaico dorado del frijol en la América Latina. Otra técnica que puede ser utilizada para caracterizar o diferenciar cepas del geminivirus transmitidas por mosca blanca es la de producir anticuerpos monoclonales (Thomas *et al.*, 1986). La posibilidad de distinguir cepas de geminivirus estrechamente relacionadas, transmitidos por mosca blanca es un método alternativo y rápido para el diagnóstico de estos patógenos. El único requisito es producir y seleccionar los anticuerpos monoclonales en un laboratorio especializado. Este trabajo puede ser contratado, por lo que no hay necesidad de mantener instalaciones costosas en países en desarrollo.

En esta investigación se produjeron dos anticuerpos monoclonales contra los aislamientos del BGMV de Guatemala (GA) y de la República Dominicana (DR), y un monoclonal contra un aislamiento del BGMV proveniente de Brasil (BZ). De este último aislamiento se inyectó únicamente la proteína de su cubierta proteica, expresada en *E. coli*. Uno de los anticuerpos monoclonales producidos reaccionó en ensayos de ELISA con 12 geminivirus diferentes transmitidos por *B. tabaci* (Abutilon mosaic virus, BGMV de Puerto Rico, Florida, Brasil, República Dominicana y Guatemala, Euphorbia mosaic virus, Rhynchosia mosaic virus, squash leaf curl virus, soybean yellow mosaic virus, Macroptilium mosaic virus, and tomato mottle geminivirus). Este resultado demuestra que se puede producir un monoclonal de amplio espectro. Otro monoclonal, reaccionó específicamente con los aislamientos BGMV-DR y BGMV-GA provenientes de una región común (Centro América - Caribe). Un tercer anticuerpo monoclonal reaccionó solamente con el aislamiento BGMV-BZ.

La reacción no específica de un monoclonal con varios geminivirus transmitidos por *B. tabaci* no es sorprendente, considerando que la proteína de la capsida de estos geminivirus posee una composición de aminoácidos muy similar. Igualmente, la composición de la cubierta proteica de los aislamientos BGMV-DR y -GA solo difiere en tres aminoácidos. Este monoclonal no reconoció los otros geminivirus mencionados anteriormente con excepción del aislamiento del BGMV de Puerto Rico, el cual también pertenece a la misma región geográfica. Este es, pues, un anticuerpo monoclonal de especificidad intermedia.

La expresión de la proteína de la capsida del BGMV-BZ en *E. coli*, permitió la producción de un anticuerpo monoclonal de alta especificidad. Este procedimiento obvia la dificultad de producir el BGMV-BZ en plantas infectadas por el vector y, más aún, producir suficiente cantidad del virus puro para inmunización.

En ensayos recientes de laboratorios realizados en el CIAT, se ha demostrado que los monoclonales de especificidad intermedia y alta pueden distinguir entre aislamientos del BGMV estrechamente relacionados, más eficientemente que las sondas de ADN disponibles hasta el momento.

Traducción: Francisco J. Morales - Unidad de Virología - CIAT

Referencias

- Gilbertson, R. L., Hidayat, S. H., Martinez, R. T., Leong, S. A., Fona, J. C., Morales, F., and Maxwell, D. P. 1991. Differentiation of bean infecting geminivirus by nucleic acid hybridization probes and aspects of bean golden mosaic in Brazil. *Plant Disease* 75, 336-342.
- Thomas, J. E., Massalski, P. R., and Harrison, B. D. 1986. Production of monoclonal antibodies to African Cassava mosaic virus and differences in their reactivities with other whitefly-transmitted geminiviruses. *J. Gen. Virology* 67, 2739-2748.

English Summary

Characterization of three monoclonal antibodies prepared to bean golden mosaic virus (BGMV) which are useful in detecting and distinguishing BGMV isolates.

M. Cancino^{1,2}, A. M. Abouzid¹, F. J. Morales², D. E. Purcifull¹, J. E. Polston³ and E., Hiebert¹. Dept. of Plant Pathology, Univ. of Florida, Gainesville¹, FL 32611 and Bradenton³, FL 34203; Virus Research Unit², CIAT, Cali, Colombia.

Two monoclonal antibodies prepared to purified virions of bean golden mosaic virus (BGMV) isolates from Guatemala (GA) and Dominican Republic (DR) and one monoclonal prepared to the coat protein of a BGMV isolate from Brazil (-BZ) expressed in *E. coli*, were identified as being useful serological probes on the basis of their differential reactivity to various geminiviruses. They were tested against the following geminiviruses: abutilon mosaic, BGMV isolates from Puerto Rico (-PR), and Homestead, Florida (-H), BGMV-BZ, -DR, and -GA isolates, euphorbia mosaic, rhynchosia mosaic, squash leaf curl, soybean yellow mosaic, an isolate from macroptilium in Florida (BGMV-FL), a new virus infecting cabbage (*Brassicassae*) in Florida (CGV), and tomato mottle. One monoclonal antibody reacted efficiently in Western blot and ELISA with all tested geminiviruses with the exception of CGV, indicating this monoclonal antibody has a broad spectrum of reactivity. Another monoclonal antibody reacted only with BGMV-DR, -GA, and -PR isolates. A third monoclonal reacted only with BGMV-BZ.