

Evaluación de las larvas de *Tenebrio molitor* como plataforma de expresión de proteínas recombinantes de interés en inmunización de peces (INSECTIVAC_PCM00800)

IP. Mabel Sáez Casado – Grupo de Investigación: RNM-346. Email: msc880@ual.es

Este proyecto tiene como objetivo general evaluar el potencial de las larvas de *Tenebrio molitor* como un sistema eficiente y económico para producir **antígenos recombinantes**, destinados a la **inmunización oral de peces** y al **diagnóstico serológico en acuicultura**. La metodología incluye la **transfección oral** de larvas con **ADN nanoencapsulado en la dieta**, la expresión de proteínas modelo y el uso de esta biomasa en piensos para inmunizar doradas, evaluando la respuesta inmune con técnicas moleculares y serológicas. Su innovación radica en el uso de insectos como biorreactores no tradicionales, un enfoque de transfección no viral y la creación de "vacunas de grado alimentario" dentro de un marco sostenible y exento de OMG. Esta investigación se enmarca en la línea ThinkInAzul LA.2 "Acuicultura sostenible, inteligente y de precisión", contribuyendo al desarrollo de soluciones biotecnológicas como vacunas para mejorar la biosanidad y la resiliencia del sector.

Hito 1: Desarrollo de vacunas y medidas biosanitarias

-Descripción: Diseño y desarrollo de nuevas vacunas, probióticos y protocolos de control sanitario para patógenos recurrentes y emergentes en acuicultura.

-Contribución de INSECTIVAC: Desarrolla una vacuna oral recombinante utilizando larvas de *Tenebrio molitor* como plataforma de expresión y vehículo de administración, evitando el uso de patógenos vivos y reduciendo el estrés en los peces.

Hito 2: Economía circular y sostenibilidad

-Descripción: Implementación de estrategias de economía circular en la producción acuícola, como la sustitución de harinas de pescado por ingredientes alternativos y sostenibles.

-Contribución de INSECTIVAC: Utiliza harina de insectos (autorizada en la UE) como ingrediente en piensos, lo que reduce la dependencia de recursos marinos tradicionales y aporta un valor añadido (inmunización).

3. Hito de bioseguridad y reducción del uso de antibióticos

-Descripción: Desarrollo de alternativas biotecnológicas que minimicen el uso de antibióticos y productos químicos en acuicultura.

-Contribución de INSECTIVAC: Propone una vacuna oral preventiva que podría reducir la incidencia de enfermedades y, por tanto, la necesidad de tratamientos antibióticos.

Hito 4: Innovación en sistemas de alimentación

-Descripción: Formulación de piensos inteligentes que integren funcionalidades adicionales, como la estimulación del sistema inmune.

-Contribución de INSECTIVAC: Desarrolla un pienso entomovacunal que combina nutrición e inmunización en un solo producto, facilitando la administración masiva y temprana de vacunas.

Hito 5: Diagnóstico y monitorización de la salud animal

-Descripción: Creación de herramientas diagnósticas rápidas, eficientes y accesibles para la detección de enfermedades.

-Contribución de INSECTIVAC: Produce antígenos recombinantes en larvas de insectos para su uso en ensayos ELISA, evitando el cultivo de patógenos y simplificando el diagnóstico serológico.

Hito 6: Transferencia tecnológica y valorización de recursos marinos

-Descripción: Fomento de la transferencia de conocimiento y tecnología entre universidades, centros de investigación y empresas del sector azul.

-Contribución de INSECTIVAC: El equipo tiene experiencia en patentes y transferencia a través de su spinoff LifeBioencapsulation S.L., y el proyecto está diseñado para ser escalable industrialmente y de fácil adopción por empresas de acuicultura.

MEJORAS

- 1. Innovación en la administración de vacunas:** INSECTIVAC soluciona el principal problema de la vacunación en peces de pequeño formato, como la dorada, al ofrecer una vacuna oral eficiente. Esto elimina el estrés y la mortalidad asociados a la inyección individual y supera la dosificación errática de la inmersión, permitiendo la inmunización en estadios muy tempranos de manera masiva y no invasiva.
- 2. Plataforma de expresión sostenible y escalable:** Utiliza las larvas de *Tenebrio molitor* como biorreactores naturales para producir los antígenos. Este sistema es más económico, sencillo y escalable industrialmente que los cultivos celulares o microbianos, y no requiere costosas medidas de contención ni purificación de proteínas.
- 3. Diseño de una "Vacuna de grado alimentario":** La biomasa de larvas que expresan el antígeno se incorpora directamente al pienso, combinando en un solo ingrediente la nutrición y la inmunización. Este enfoque de "doble propósito" es pionero y aprovecha la autorización existente para el uso de insectos en alimentación animal.
- 4. Solución biotecnológica exenta de OMG:** La transfección se realiza con plásmidos nanoencapsulados, no con virus, lo que evita la creación de un Organismo Modificado Genéticamente (OMG). Esto facilita su aprobación regulatoria y aceptación en el mercado, al tiempo que es una estrategia más segura.
- 5. Fuente de Antígenos para Diagnóstico:** Las proteínas recombinantes producidas en las larvas también pueden utilizarse como antígenos diagnósticos en ensayos ELISA. Esto elimina la necesidad de mantener cultivos de patógenos vivos, reduciendo costes, riesgos de bioseguridad y la infraestructura especializada requerida.



DESCRIPCIÓN TÉCNICA

1. Concepto y finalidad: El Pienso INSECTIVAC es un alimento acuícola funcional y vacunal, diseñado para la inmunización oral de peces en etapas tempranas de desarrollo. Su principal innovación radica en la inclusión de harina de larvas de *Tenebrio molitor* que han sido previamente transfectadas con plásmidos de ADN nanoencapsulados, lo que las convierte en biorreactores naturales de proteínas antigénicas recombinantes.

2. Composición: Ingrediente activo principal: Harina de larvas de *T. molitor* ("biomasa entomovacunal"). Las larvas son criadas artificialmente y alimentadas con una dieta que contiene plásmidos recombinantes nanoencapsulados (pCMVB y pEGFP-N2). Estos plásmidos codifican proteínas modelo (β-galactosidasa y EGFP), que sirven como demostradores de la tecnología y pueden ser sustituidos por antígenos de patógenos acuícolas específicos.

-Porcentaje de inclusión: La harina de insectos transfectados se incorpora en un 10% de la materia seca del pienso.

-Formulación base: El resto del pienso está compuesto por otros ingredientes habituales en dietas para dorada (*Sparus aurata*), asegurando que el producto final sea isoproteico e isoenergético con una dieta estándar.

3. Mecanismo de acción:

1. Ingestión: Los peces consumen el pienso de forma voluntaria durante su alimentación rutinaria.

2. Liberación del antígeno: En el tracto digestivo del pez, las larvas de insecto molidas y digeridas liberan las proteínas recombinantes antigénicas que fueron expresadas en el interior de las larvas de *T. molitor*.

3. Inducción de la inmunidad: Estas proteínas son reconocidas por el sistema inmune del pez, desencadenando una respuesta inmune mucosal y sistémica (tanto humoral como celular), generando así protección frente al patógeno objetivo.

4. Proceso de fabricación:

1. Cría y transfección de larvas: Se crían larvas de *T. molitor* y se las alimenta con una dieta artificial que contiene los plásmidos de ADN nanoencapsulados.

2. Cosecha y procesado: Una vez que la expresión de la proteína recombinante es máxima (determinada en los objetivos del proyecto), las larvas se cosechan, se lavan, se secan (liofilización o secado en estufa) y se muelen para obtener una harina homogénea.

3. Formulación y extrusión: La harina de insectos se mezcla con el resto de ingredientes en la proporción del 10%. La mezcla se procesa mediante extrusión en el Servicio de Piensos Experimentales de la UAL para obtener un pienso estable en el agua y de alto grado de palatabilidad.

5. Aplicación y dosificación:

Especie objetivo inicial: juveniles de dorada. La tecnología es extrapolable a otras especies de interés acuícola.

Protocolo de administración propuesto:

-Una primera pauta de alimentación con el Pienso INSECTIVAC durante 5 días.

-Un período de descanso de 5 días con pienso comercial.

-Una segunda pauta de 5 días con el Pienso INSECTIVAC.



INNOVACIÓN, APLICACIÓN Y TRANSFERENCIA

Innovación: Primera transfección oral de un escarabajo con ADN nanoencapsulado, sin virus ni OMG. Crea una vacuna comestible integrada en pienso para peces.

Aplicaciones: Inmunización oral en acuicultura y producción de antígenos para diagnósticos. Plataforma escalable para producir otras proteínas industriales.

Transferencia: Tecnología patentable comercializada mediante una spin-off. Difusión dirigida al sector acuícola y científico para maximizar impacto.

TRL 4 - Validación en laboratorio

Actualmente se ha validado en un ensayo in vivo con peces su poder inmunógeno y se está caracterizando en laboratorio la utilización como proteína diagnóstico.

DENOMINACIÓN DEL PRODUCTO

“INSECTIVAC es un pienso vacunal para acuicultura que incluye harina de *Tenebrio molitor* que expresa antígenos específicos tras una transfección oral con plásmidos nanoencapsulados”