



## INMOVILIZACIÓN DE UN PÉPTIDO BIOACTIVO EN ALMIDÓN

Gina Pacheco, Herminia Loza, Carlos Regalado, Romina Rodríguez; Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones Biomédicas, departamento de Biología Molecular y Biotecnología, México City, C.P. 04510; [ginap43@gmail.com](mailto:ginap43@gmail.com), [romina@bimedicas.unam.mx](mailto:romina@bimedicas.unam.mx)

*Palabras clave:* Péptido antimicrobiano, Dominio de fijación al almidón.

**Introducción.** Los desechos plásticos generados presentan un problema para la sociedad por lo que en los últimos años la investigación en el desarrollo de empaques biodegradables ha ido en aumento. Actualmente existen una gran variedad de plásticos biodegradables a base de polisacáridos abundantes como la celulosa y el almidón (1). Aquellos empaques hechos ya sea en únicamente de almidón o en mezcla presentan ciertos impedimentos como falta de flexibilidad o disminución de la vida de anaquel de ciertos productos debido a contaminación temprana. Para evitar esto es necesario agregar algún agente antimicrobiano al polímero (2). Los péptidos antimicrobianos (AMP) son una alternativa adecuada ya que los microorganismos no pueden generar una resistencia a ellos debido a su modo de acción. Estas moléculas pequeñas de entre 20 y 100 aminoácidos son producidas por todos los seres vivos, el humano, por ejemplo, produce un péptido de 37 aminoácidos conocido como LL-37, de este se sabe que actúa contra bacterias gram negativas y positivas y levaduras del género *Candida*. El objetivo general del proyecto es inmovilizar este péptido a través de un dominio de fijación al almidón (SBD), sobre bioplásticos que contengan almidón, para generar un empaque que permita alargar la vida de anaquel. Para realizarlo se diseñó un gen que incluye secuencias adicionales para permitir la expresión en *E. coli* y la funcionalidad de la proteína. En este trabajo se demuestra que la adición de estas secuencias no tienen efecto sobre la capacidad antimicrobiana del péptido.

**Metodología.** El péptido fue fusionado al SBD con un linker diseñado a partir de uno existente en una glucoamilasa de *Aspergillus*. La proteína SBD-Linker-LL37 fue expresada a partir del vector pET22b+ en *E. coli* Rosetta2. Las pruebas de actividad antimicrobiana de la proteína recombinante se realizaron contra *E. coli* K12 mezclando el péptido con el agar.

**Resultados.** La estructura final del gen expresado se muestra en la figura 1. Como se mencionó en el extremo N-terminal de la proteína se incluyó un linker el cual fue incluido para separar al péptido del DFA y en el extremo C-terminal un tallo de histidinas el cual será eliminado una vez purificada la proteína. Este tallo es necesario para bloquear la actividad antimicrobiana del péptido y así evitar que *E. coli* Rosetta2 muriera durante la

expresión. Las construcciones se verificaron por ensayos de restricción así como por secuenciación. Posteriormente se comprobó su expresión y se observó que la inducción de la proteína no afecta el crecimiento de la bacteria.

Se realizaron pruebas de actividad antimicrobiana para la proteína Linker-LL37 en agar observando que la concentración mínima inhibitoria para *E. coli* es de 250 µg/mL, siendo este valor cercano a lo reportado para el péptido natural (4) (fig 2.).

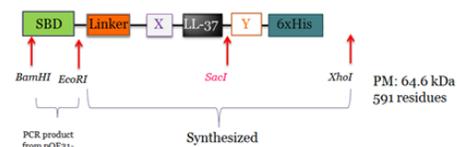


Fig. 1. Diseño de la proteína SBD-Linker-LL37

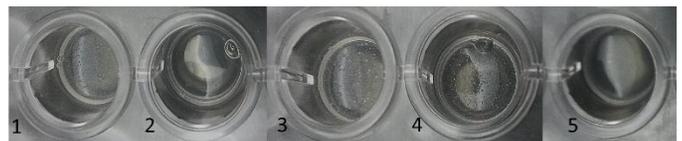


Fig.2. Pruebas de actividad antimicrobiana para *E. coli* en agar. 1.- control positivo, 2.- control negativo (amp 50 µg/mL Linker-LL37, 4.- 180 µg/mL Linker-LL37, 5.- 250 µg/mL Linker-LL37

**Conclusiones.** Se obtuvieron las proteínas recombinantes SBD-Linker-LL37 y Linker-LL37 con un rendimiento de proteína pura de 2.5mg/L. se observó actividad antimicrobiana al utilizar la proteína Linker-LL37 en una concentración de 250 µg/mL

**Agradecimiento.** A CONACyT por la beca otorgada a Gina Pacheco durante la realización de este proyecto. A DGAPA-UNAM proyecto IN222113.

### Bibliografía.

1. Siracusa V., Rocculi P., Romani S., Rosa M.D. (2008), Trends in food science and technology vol 19 pp. 634-643.
2. Kechichian V., Ditchfield C., Veiga-Santos P., Tadani C.C (2010), LWT Food science and technology, vol 43 pp. 1088-1094.
3. Guillén D., Santiago M., Linares L., Pérez R., Morlon J., Sánchez S., Rodríguez-Sanoja R., (2007).. Appl Environment Microbiology, vol 73, pp 3833-3837
4. Vandamme D., Landuyt B., Luyten W., Schoofs L., vol 280 pp. 22-35.