



CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE PROTEÍNAS DEL HEPATOPÁNCREAS DE *Macrobrachium carcinus*

Juan Antonio Gallegos-López¹, José Alberto Aguilar-Briseño¹, Carlos Alfonso Álvarez-González²,
Martha Guerrero-Olazarán¹, José María Viader-Salvadó¹. tony_gallegos73@yahoo.com

¹Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología, San Nicolás de los Garza, Nuevo León, C.P. 66455.

²Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, UJAT, División Académica de Ciencias Biológicas, Villahermosa, Tabasco, C.P. 86040

Palabras clave: RACE, *Macrobrachium carcinus*, proteasas.

Introducción. *Macrobrachium carcinus* es un langostino de agua dulce importante en la acuicultura (1). La dieta para *M. carcinus* es vital ya que permite su apropiado crecimiento y desarrollo. Para seleccionar las mejores dietas sería importante determinar los cambios con las dietas de los niveles de expresión de genes de enzimas digestivas del hepatopáncreas de esta especie. Sin embargo, para este estudio se requiere conocer las secuencias nucleotídicas que codifican para las enzimas digestivas del hepatopáncreas de *M. carcinus*. A pesar del potencial de esta especie en acuicultura, actualmente existen muy pocas secuencias de *M. carcinus* reportadas en las bases de datos. La técnica del RACE (Amplificación Rápida de Extremos de cDNAs) permite la amplificación de secuencias nucleotídicas entre un sitio interno definido y un sitio no definido del extremo 3' ó 5' de un RNAm (2). En este trabajo obtuvimos ocho nuevas secuencias parciales de secuencias que codifican para proteínas del hepatopáncreas de *M. carcinus* usando la técnica de 3'RACE.

Metodología. Se realizó la síntesis de cDNAs mediante 2 ensayos de 3'RACE a partir de RNA de hepatopáncreas de *M. carcinus* y empleando un oligonucleótido consenso dirigido a la región que codifica para el inicio (3'ConTr) o una región interna (Pig1) de tripsinas de crustáceos. Los cDNA's amplificados se clonaron en el vector pGEM. Un total de 8 y 20 plásmidos obtenidos con el iniciador 3'ConTr o bien con el iniciador Pig1, respectivamente, se secuenciaron con los oligonucleótidos T7 y SP6. Las secuencias nucleotídicas obtenidas se analizaron con el módulo CAP (Contig Assembly Program) del programa Bioedit. Se dedujeron las secuencias aminoacídicas y a su vez se compararon con las secuencias de las bases de datos usando la herramienta Blastx del NCBI. Las secuencias de proteínas identificadas se compararon con varias proteínas con la misma función pero de diferentes organismos mediante un alineamiento múltiple realizado con el programa ClustalW y se confeccionaron dendrogramas con el método de Neighbor-Joining.

Resultados. Se identificaron 8 secuencias nucleotídicas parciales que codifican para 8 fragmentos de proteínas de 46, 89, 251, 159, 313, 250, 289 y 290 aminoácidos con

secuencias proteicas similares a las de otros organismos: paramiosina de *Palaemonetes varians* (97% identidad, 82% cobertura), precursor de la quitinasa 1 de *Scylla serrata* (70% identidad, 97% cobertura), tripsinógeno 1 de *Litopenaeus vannamei* (57% identidad, 99% cobertura), hemocianina de *Penaeus monodon* (79% identidad, 94% cobertura), y cuatro proteínas similares a la crustapaína de *Pandalus borealis* (58, 64, 64 y 68% identidad, 99, 85, 72 y 99% cobertura).

El dendrograma de las paramiosinas generó 6 grupos quedando la paramiosina de *M. carcinus* en el mismo grupo que la paramiosina de *P. varians*. Las quitinasas formaron 10 grupos, ubicándose la quitinasa de *M. carcinus* en el grupo de las quitinasas de *Charybdis japonica*, *P. borealis* y *Aedes aegypti*. Las tripsinas produjeron 8 grupos, situándose la tripsina de *M. carcinus* en el mismo grupo que las tripsinas de *Procambarus clarkii*, *Paralithodes camtschaticus*, *Squilla oratoria*, *L. vannamei* y *Fenneropenaeus chinensis*. Por su parte las hemocianinas generaron 6 grupos quedando la hemocianina de *M. carcinus* en el grupo de las hemocianinas de *Penaeus monodon*, *L. vannamei* y *Portunus pelagicus*. Por último, las crustapaínas produjeron 10 grupos, ubicándose las crustapaínas de *M. carcinus* en el mismo grupo que la crustapaína de *P. varians*.

Conclusiones. En este trabajo se describen por primera vez ocho secuencias parciales nucleotídicas y aminoacídicas de proteínas que se expresan en el hepatopáncreas de *M. carcinus*. Los resultados obtenidos en este trabajo permitirán entender mejor la fisiología de *M. carcinus*.

Agradecimientos. JAAB agradece al CONACyT por la beca otorgada.

Bibliografía.

1. New M.B. (1990). Freshwater prawn culture: A review. *Aquaculture* (88): 99-143.
2. Frohman M.A., Dush M.K., Martin G.R. (1988). Rapid production of full-length cDNAs from rare transcripts: Amplification using a single gene-specific oligonucleotide primer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 85(23): 8998-9002.