



## ISOFORMAS DE PROPÉPTIDOS EN SISTEMA NERVIOSO DE *Cherax quadricarinatus* CON POSIBLE ACTIVIDAD DE GPx, ANTIMICROBIANA Y DE QUINASA

Lizandro R. Rivera-Rangel, Yazmin Fuentes-Sidas, León Raúl Hernández-Ochoa, María del Carmen Enríquez-Leal, Antonio García-Triana. Universidad Autónoma de Chihuahua, Facultad de Ciencias Químicas. Chihuahua, Chih.

31125, atriana@uach.mx

Palabras clave: Pro-rich, quinasa quinasa quinasa, isoformas.

**Introducción.** Los crustáceos son estresados por virus, bacterias y hongos patógenos. Para responder, han desarrollado un sistema inmune basado en hemocitos circulantes, moléculas antimicrobianas y quinasas N-terminal c-Jun (JNK) que regulan la transcripción asociada a apoptosis, supervivencia y proliferación. (1)(2)

La actividad de las enzimas antioxidantes como glutatión peroxidasa (GPx) incrementa en respuesta al estrés. Las secuencias peptídicas cortas, ricas en prolina (Pro-rich) o con estructuras inusuales, son candidatos en el desarrollo de novedosos agentes antimicrobianos. (3)

En *Procambarus clarkii* la astacina es un péptido Pro-rich de alrededor de 20 aa con actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* y *Vibrio anguillarum*. En la saliva de algunos mamíferos, también se han identificado péptidos Pro-rich. (4)(5). En crustáceos se ha reportado el propéptido de la metal-proteasa astacina (pro-astacina). (6).

En el presente trabajo reportamos dos isoformas de propéptidos de glutatión peroxidasa 3 (GPx3) en el sistema nervioso central (SNC) y en el sistema nervioso periférico (SNP). Se diferencian por la presencia de un péptido Pro-rich y una quinasa quinasa quinasa en el C-terminal. Nuestros resultados sugieren una posible función diferenciada, tanto antimicrobiana como de quinasa reguladora en *Cherax quadricarinatus*.

**Metodología.** Se clonaron en DH5α y en el vector pGEM®-T Easy cDNAs de GPx de tejidos nerviosos de *C. quadricarinatus* y se secuenciaron. Se analizaron las secuencias de nucleótidos con BLAST y ClustalW2, y las proteínas hipotéticas con SMART, ExPASy y Phyre2.

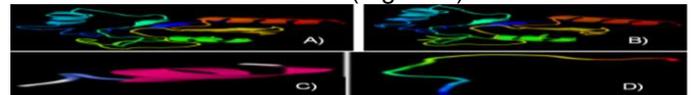
**Resultados.** Se identificaron 2 isoformas de propéptidos de GPx en tejidos nerviosos de *C. quadricarinatus*.

El análisis de las secuencias hipotéticas de aminoácidos en DELTA-BLAST determinó que la longitud de GPx madura en ambas isoformas es de 120 aa. El C-terminal de 30 aa de la isoforma del propéptido del SNP es similar a una región Pro-rich de PtdIns(3,4,5)P3 encontrada en *Mus musculus*. En la isoforma del propéptido del SNC, este extremo con una longitud de 21 aa, es similar a una MAP3K-10 de humanos (Figura 1).

**Fig. 1.** Alineamiento de las secuencias aminoácidas hipotéticas de las isoformas de propéptidos de GPx. En amarillo: GPx madura. En verde: isoforma conservada en tejidos de SNP. En azul: isoforma conservada en tejidos de SNC. En violeta: péptido pro-rich. En rojo: posible quinasa.

El modelado de la estructura 3D hipotética del C-terminal de GPx madura en Phyre2, estableció que ambas isoformas son idénticas, con un tamaño de 124 aa y son

similares a GPx3 de humanos (confidencialidad: 99.9%). En el C-terminal, la isoforma del SNC tiene una estructura secundaria hipotética de α-hélice (confidencialidad: 5.2%) y la isoforma del SNP posee una estructura desordenada (Figura 2).



**Fig. 2.** Estructuras 3D hipotéticas de isoformas. A) Isoforma de GPx madura en SNC. B) Isoforma de GPx madura en SNP. C) C-terminal de la isoforma del propéptido del SNC (posible quinasa).

D) C-terminal de la isoforma del propéptido del SNP (péptido Pro-rich) El alineamiento en ClustalW2 de los C-terminales de las isoformas de los propéptidos con péptidos antimicrobianos Pro-rich reportados, determinó que los residuos P7, P13, P16 y P19 están altamente conservados (Figura 3).

```
Isoforma SNP      LLYEEVPTLSQVIVVPRVSAADKTVPESAQI
Isoforma SNC     LLYELPPEVDPVLEVIDEGVIVTTKKPFLR
P. vannamei      RPPFFVVRPLGGPIGIFYNGC
P. clarkii       SNGYRDAYRPAAYRFSYRPFK
Mammals' saliva RFGYGPYQVPEQVPEQVLYPQ
C. disparis      GKSKR-PAIKPRPHERL
German wasps     SNKERPQVPPHRL
```

**Fig. 3.** Alineamiento de los C-terminales de isoformas de propéptidos con péptidos antimicrobianos Pro-rich. En colores residuos de Prolina conservados.

**Conclusiones.** La presencia de 2 isoformas de propéptidos en tejidos nerviosos de GPx3, con C-terminales con una posible función diferenciada, indica su importancia en el sistema nervioso. Es probable que GPx3 cumpla funciones de protección y regulación.

Es posible que los extremos C-terminales de las isoformas de los propéptidos tengan actividad antimicrobiana. Los residuos P7, P13, P16 y P19 son conservados, son hipotéticamente anfipáticos, 50% o más de sus aminoácidos son hidrofóbicos, uno tiene una estructura hipotética inusual y el otro tiende a formar un α-hélice. (3). Existe la posibilidad de que el C-terminal de la isoforma del propéptido del SNC, pueda tener una maduración alternativa en función al tipo de estrés. Actuando como una quinasa reguladora o como un péptido antimicrobiano.

Será muy interesante probar estas hipótesis experimentalmente.

**Agradecimiento.** Se agradece al proyecto de Ciencia Básica del CONACyT CB-2011-01 167036 y a Laura Hernández por sus recomendaciones en este trabajo.

### Bibliografía.

1. Longshaw M. (2011). DOI: 10.1016/j.jip.2010.09.013.
2. Yao D. et al. (2015). DOI: 10.1016/j.dci.2014.12.012.
3. Adem A., Ren D. (2013). DOI: 10.3390/ph6121543.
4. Shi XZ., Zhao XF., Wang JX. (2014). DOI: 10.1016/j.dci.2013.11.003.
5. Trinidad F. et al. (2015). DOI: 10.1016/j.jprot.2014.12.004.
6. Möhrten F. et al. (2001). 268(9):2540-6.