

DIFERENCIAS EN LA EXPRESIÓN DE ANTIBACTERIANOS EN EL CAMARÓN BLANCO (*PENAEUS VANNAMEI*)

Avila-Villa, A., Yepiz-Plascencia, G. y Vargas-Albores, F.
Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo; Hermosillo, Son
(fvargas@cascabel.ciad.mx)

Palabras clave: respuesta inmune, polimorfismo, péptidos antimicrobianos, crustin

Introducción. Los péptidos antibacterianos han sido considerados como componentes importantes del sistema de inmunidad innata, principalmente en invertebrados donde la presencia de inmunidad adquirida no ha podido ser demostrada [1].

En algunos artrópodos, principalmente, se ha demostrado que los péptidos antibacterianos pueden ser inducidos por inoculación de bacterias o sus componentes.

En camarón se han reportado dos familias de antibacterianos: las peneidinas [2] y las crustinas [3], sin embargo en ningún caso se ha podido demostrar su estimulación. En este trabajo se reporta la secuencia completa de las crustinas, se detectan dos grupos diferentes y se analizan las variaciones en la expresión de cada una de ellas, cuando los camarones son inoculados con bacterias.

Metodología. Los clones correspondientes a las crustinas fueron aislados de un banco de genes de cDNA de hemocitos. Seis clones fueron secuenciados, en ambas cadenas, y comparados.

Se diseñaron y evaluaron oligonucleótidos específicos capaces de reconocer a cada grupo. Para evaluar la expresión de las crustinas se usaron camarones juveniles (10-12 g) que fueron inmunizados con 10^6 bacterias (*Vibrio alginolyticus*) y sangrados a diferentes tiempos (1.5, 3, 6, 12 y 24 h). El cDNA fue sintetizado utilizando RNA total y se utilizó como templado en las reacciones de PCR. Se utilizaron los oligonucleótidos GG y AT los cuales identifican a cada grupo de crustina. El PCR se llevó a cabo a la temperatura adecuada para cada oligonucleótido, durante 30 ciclos y los productos se separaron por electroforesis en geles de agarosa al 1.5%, teñidos con bromuro de etidio.

Resultados y discusión. Seis clones codificantes de crustina fueron aislados del banco de genes de cDNA de hemocitos del camarón blanco. Todos contienen la región traducida (750 pb) con un marco de lectura completo para 163 aminoácidos, la Met inicial, así como el codón de terminación, la señal de poliadenilación y el polyA. La proteína traducida contiene secuencias (VGGGLG) repetidas en la región N-terminal. Las dos crustinas, solamente difieren en un aminoácido. Los oligonucleótidos AT y GG pudieron amplificar específicamente los clones correspondientes. Los mismos oligonucleótidos se probaron utilizando cDNA de hemocitos como templado y ambas forma de la crustina fueron encontradas. Sin embargo, cuando se utilizaron cDNA de hemocitos de camarones

estimulados con bacterias, se observó que mientras la forma GG permanece sin cambios, el mRNA de la crustina AT se incrementa a las 3 y 6 horas.

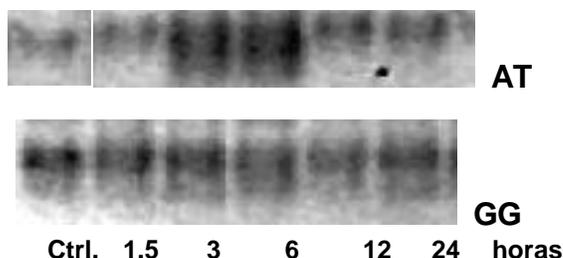


Fig. 1. Diferencias en la expresión de las crustinas en respuesta a la inoculación de bacterias.

Conclusiones. En el camarón, existen al menos, dos forma secuencial y funcionalmente diferentes de crustinas. La diferencia en la secuencia esta dada por dos bases (GG / AT) que repercuten en un cambio de el residuo 108 (I/P). Funcionalmente, la crustina GG aparentemente no se modifica en respuesta a la presencia de bacterias. Por su parte, la forma AT es inducida, observándose una elevación de los niveles de mRNA a las 3 y 6 horas post-inoculación. Esta es la primera evidencia de una respuesta inmune estimulada en el camarón.

Agradecimiento. Proyecto financiado por CONACYT C1-41564

Bibliografía.

1. Salzet, M. (2001) Vertebrate innate immunity resembles a mosaic of invertebrate immune responses. *Trends Immunol.* 22: 285-288.
2. Destoumieux, D., Munoz, M. y Bachère, E. (2000) Peneidins, a family of antimicrobial peptides from penaeid shrimp (Crustacea, Decapoda). *Cell. Mol. Life Sci.* 57: 1260-1271.
3. Bartlett, T.C., Cuthbertson, B.J., Shepard, E.F., Chapman, R.W., Gross, P.S. y Warr, G.W. (2002) Crustins, Homologues of an 11.5-kDa Antibacterial peptide, from Two Species of Penaeid Shrimp, *Litopenaeus vannamei* and *Litopenaeus setiferus*. *Mar. Biotechnol.* 4: 278-293.

