

UNA PSEUDO-CLIP SERIN-PROTEINASA ESPECÍFICA DE HEMOCITOS DEL CAMARÓN BLANCO (*PENAEUS VANNAMEI*)

Jiménez-Vega, F¹. y Vargas-Albores, F².

¹Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (La Paz, BCS)

²Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (Hermosillo, Son)
(fvargas@cascabel.ciad.mx)

Palabras clave: respuesta inmune, serin-proteinasa, hemocito, dominio clip, dominio SP

Introducción. Las proteinasas tipo serina han sido descritas en mamíferos e invertebrados [1] e incluyen: tripsina, quimiotripsina y elastasa. Todas ellas, son secretadas como precursores inactivos ó zimógenos y son activadas por proteólisis durante los procesos fisiológicos [2]. En invertebrados, las serin-proteinasas tienen un papel importante en procesos inmunes [3], sin embargo existen varias diferencias estructurales: Las serin-proteinasas de hemocitos de crustáceos típicamente consisten de dos partes, un dominio catalítico serin-proteinasa y un dominio regulatorio en el amino-terminal denominado clip[4]. En este trabajo se presenta la caracterización de una serin-proteinasa de hemocitos del camarón blanco *Penaeus vannamei*, cuyo dominio clip esta modificado.

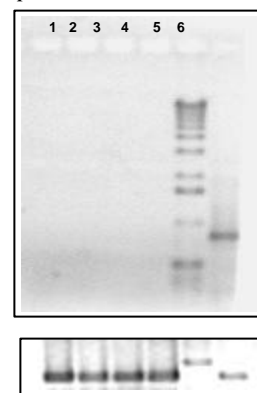
Metodología. El clon fue aislado de un banco de cDNA de hemocitos de camarón blanco *P. vannamei*, construido en el vector fagémido pBK-CMV. El inserto fue recuperado mediante extracciones fenol-cloroformo y secuenciado en un equipo ALF (Pharmacia). Las secuencias fueron analizadas utilizando los algoritmos BLASTX y BLASTN del NCBI [1].

Análisis de expresión en diferentes tejidos de camarón fueron realizados utilizando RT-PCR (Invitrogen) y primers específicos.

Resultados y discusión. El inserto de 1.1 Kb fue aislado y secuenciado usando primers específicos del vector (T3 y T7). La secuencia obtenida consta de 972 nucleótidos, traducidos en 324 residuos de aminoácidos que codifican a una proteína de 35.2 kDa. La proteína resultante posee el típico dominio de serin-proteinasa, incluyendo la triada catalítica y la región estabilizadora. Además contiene un dominio clip modificado, ya que contiene solamente 4 de las 6 Cys características. En su conjunto la proteína (PsClip-SP) es muy similar en su estructura con las serin-proteinasas de hemocitos de artrópodos [5].

Como se puede ver en la figura 1, por RT-PCR utilizando primers específicos Nt84-Nt896 (a) y la proteína ribosomal L13/L16 (b) como control, se demostró que la proteinasa es sintetizada exclusivamente por hemocitos.

- 1.-Branquias
- 2.-Pleópodos
- 3.-Músculo
- 4.-Hepatopáncreas
- 5.-Marcadores de peso
- 6.-Hemocitos



Conclusiones. El hemocito de camarón sintetiza una serin-proteinasa que además del característico dominio SP, posee un dominio pseudoclip. Este tipo de estructuras parece ser característico de serin-proteinasas descritas en hemocitos de invertebrados. Su papel fisiológico parece estar relacionado con la activación del sistema de defensa profenoloxidasas.

Agradecimiento. A Dra. Gloria Yepiz Plascencia por otorgar el banco de genes de hemocitos. Este trabajo fue financiado por el proyecto CONACyT No.31544-B y la beca del estudiante CONACyT 118082.

Referencias.

- 1.-Urich, K. (1994). The Structural variety and metabolism of proteins *En Comparative Animal Biochemistry*, Springer-Verlag, New York. 70-103
- 2.-Neurath, H. y Walsh, A., K.(1976).Role of proteolytic enzymes in biological regulation (A Review). *Proc. Natl. Acad. Sci.* 73: 3825-3832.
- 3.-Gorman, M. J. y Paskewitz, S. M.(2001). Serine proteases as mediators of mosquito immune responses. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 31: 257-262.
- 4.- Jiang, H. and M. R. Kanost (2000). The clip-domain family of serine proteinases in arthropods. *Insect Biochemi. Mol. Biol.* 30: 95-105.
- 5.-Ross, J., H. Jiang, et al. (2003). Serine proteases and their homologs in the *Drosophila melanogaster* genome: an initial analysis of sequence conservation and phylogenetic relationships. *Gene* 304: 117-131.

