

**Expresión heteróloga en *E. coli*, purificación y actividad de Ciclofilina 1 de *T. vaginalis* (rTvCyP1)**

Verónica Aranda-Chan, Rossana Arroyo-Verástegui, Angélica Meneses, Rodolfo Marsch, Carmen Montes Horcasitas, Jaime Ortega-López. Departamento de Biotecnología y Bioingeniería, CINVESTAV-IPN. Zacatenco, Ciudad de México, C.P. 07360. veronica.aranda@cinvestav.mx  
TvCyP1, *Trichomonas vaginalis*, Expresión heteróloga.

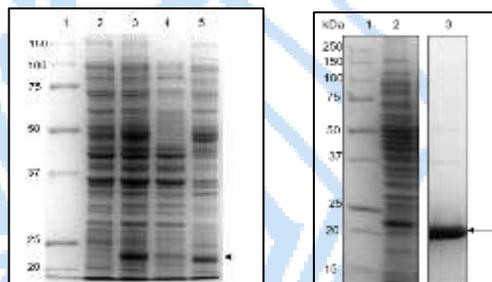
**Introducción.** Las peptidil-prolil *cis-trans*-isomerasas son enzimas ubicuas de los seres vivos responsables de cambios conformacionales *in vivo*, ayudando a un correcto plegamiento en las proteínas<sup>3</sup>. Así, la PPLasa humana, se ha usado con éxito en el replegamiento asistido de proteínas recombinantes de difícil expresión<sup>2</sup>. Dado que se encontraron ortólogos de la hPPLasa en el parásito *Trichomonas vaginalis*<sup>1</sup>, a saber, la proteína TvCyP1, el objetivo de este trabajo es expresar TvCyP1 en *E. coli*, purificar y evaluar de su actividad PPLasa, para que en trabajos posteriores se pueda evaluar su participación como chaperona en el replegamiento *in vitro* de proteínas de parásito de difícil expresión.

**Metodología.** Se realizó el cultivo y crecimiento (a 37°C) de la cepa de *E. coli* BL21DE3 transformadas con el plásmido pET28a+-TvCyP1 (Donado por Dr. J. Tai<sup>6</sup>). La inducción se llevó a cabo a 16°C x 16hrs. La purificación se llevó a cabo por IMAC-Ní a partir de la fracción soluble. La actividad PPLasa se determinó por un ensayo reportado previamente basado en el replegamiento de la RNasa T1<sup>4</sup>.

**Resultados.** En la figura 1a se observa el perfil electroforético de los resultados de la inducción de expresión de r-TvCyP1. En la figura 1b muestra la proteína r-TvCyP1 purificada por cromatografía de afinidad a Níquel a partir de la fracción soluble. Se estimó una actividad relativa de la TvCyP1 del 77% con respecto a los controles (Tabla 1).

Tratamiento	Valor de la Pendiente	Desviación estándar	Actividad
0 nM Ciclofilina	0.4451	0.03994	0%
25 nM TvCyP1	0.5815	0.01071	77%
25 nM hCypA	0.6228	0.02332	100%

**Tabla 1.** Ensayo de actividad por replegamiento de RNasa T1. Valores de pendiente y actividad relativa de TvCyP1 respecto a los controles.



**Fig. 1.** En a) Expresión de TvCyP1 en BL21-DE3. Carril 1: MPM 250 kDa. Carril 2: Extracto total antes de inducir, Carril 3: Extracto total después de inducir, Carril 4: Fracción soluble, Carril 5: Fracción insoluble. En b) r-TvCyP1 purificada por IMAC-Ní. Carril 1: MPM 250 kDa, Carril 2: Fracción soluble, Carril 3: Proteína r-TvCyP1 purificada.

**Conclusiones.** La proteína Ciclofilina1 de *T. vaginalis* se expresó en *E. coli* BL21 (DE3) de forma exitosa en la fracción soluble y se purificó de manera adecuada en concentraciones suficientes para los ensayos de actividad. Además, la proteína se obtiene en su forma activa, por lo cual puede ser factible de ser utilizada en ensayos posteriores de replegamiento de proteínas de difícil expresión.

**Agradecimiento.** Agradezco al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y al CINVESTAV-IPN.

**Bibliografía.**

- Hsu, H., Chu, C., Wang, Y., Lee, Y., Wei, S., Liu, H., Ong, S., Chen, C., & Tai, J. (2014). *J. Biol. Chem.*, 289(27), 19120–19136.
- Lee, D., Kim, S., Kweon, D., & Seo, J. (2009). *BMC Biotechnol.* 9, 1–10.
- Perrone, A., Milduburger, N., Fuchs, A., Bustos, P., & Bua, J. (2018). *Biomolecules.* 8(4), 1–9.
- Zemanova, L., Vaskova, M., Schmidt, M., Roubalova, J., Haleckova, A., Benek, O., & Musilek, K. (2020). RNase T1 Refolding Assay for Determining Mitochondrial Cyclophilin D Activity: A Novel *In Vitro* Method Applicable in Drug Research and Discovery. *Biochemistry*, 59(17), 1680–1687.