

## DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD PEPTIDIL-PROLIL ISOMERASA DE TRES PPIASAS RECOMBINANTES DE *Trypanosoma cruzi*.

Pacindo-Cabrales, E. E., Flores-Pucheta, C. I., Montes-Flores, O., Cárdenas-Guerra, R.E. Arroyo-Verástegui, R. Olin-Sandoval, M.V. Montes-Horcasitas, M. C., Ortega-López J. Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Departamento de Biotecnología y Bioingeniería. Ciudad de México, 07360. esdras.pacindo@cinvestav.mx

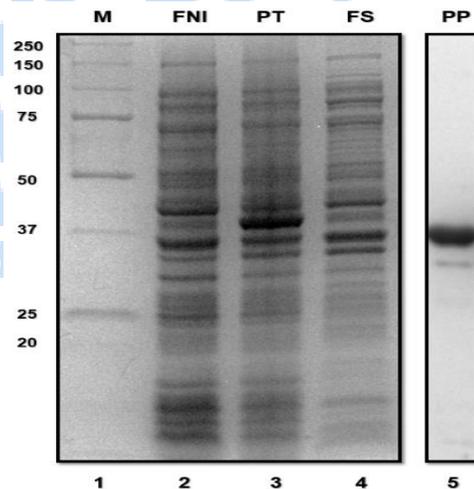
*Palabras clave: Peptidil-Prolil Isomerasas, Proteínas recombinantes, Trypanosoma cruzi.*

**Introducción.** La enfermedad de Chagas es causada por *Trypanosoma cruzi* y está catalogada como una enfermedad desatendida. En la búsqueda de alternativas para el tratamiento de esta enfermedad actualmente se desarrolla una vacuna terapéutica basada en los antígenos recombinantes TSA-1 y Tc24<sup>[1,2]</sup>. Ambos antígenos se expresan con altos rendimientos en *Escherichia coli*. Sin embargo, TSA-1 contiene en su secuencia varias cisteínas y prolina que posiblemente afecten la cinética de plegamiento lo que ocasiona que esta proteína solo se exprese como agregados mal plegados<sup>[3,4]</sup>. Para mejorar su plegamiento, se propone el uso de PPIasas propias del parásito, las cuales catalizan la isomerización entre las formas cis/trans de los enlaces peptídicos que proceden a la prolina<sup>[5]</sup>.

El objetivo de este trabajo es expresar, purificar y determinar la actividad PPIasa recombinantes de TcCyP19, TcCyP22 y TcCySEC fusionadas al CBM2 para su posterior uso en el replegamiento cromatográfico de TSA-1.

**Metodología.** Se subclonaron los ORF que codifican para las PPIasas recombinantes de *T. cruzi* (TcCyP19, TcCyP22 y TcCySEC) en el vector de expresión pET-38b(+), se transformaron en *E. coli* BL21 (DE3) para su expresión. Las proteínas recombinantes se purificaron por cromatografía de afinidad a níquel y finalmente se determinó su actividad de PPIasa mediante el ensayo de la RNasa T1.

**Resultados.** Las tres PPIasas se expresaron en 500mL de medio 2TY, luego se recuperó la biomasa para su purificación por cromatografía de afinidad y posteriormente la determinación de su actividad enzimática tanto de las proteínas con y sin el CBM2. En la figura 1 se muestra el análisis SDS-PAGE de la expresión y purificación de la TcCySEC-CBM2 a partir de la fracción soluble. En el carril 5 se muestra una banda correspondiente a TcCySEC-CBM2 purificada a la que se le determinó la actividad PPIasa mediante el ensayo de la RNasa T1.



**Fig. 1.** Análisis electroforético SDS-PAGE de la expresión y purificación de TcCySEC-CBM2. Marcador de PM (carril 1); Fracción No Inducida (carril 2); Proteína Total (carril 3); Fracción Soluble (carril 4); Proteína Purificada (carril 5).

**Conclusiones.** Las PPIasas recombinantes TcCyP19, TcCyP22 y TcCySEC fusionadas al CBM2 se purificaron y su actividad Peptidil-Prolil-Isomerasa fue aparentemente menor que la de sus homólogos sin el CBM2, pero adecuada para su uso en el replegamiento cromatográfico de TSA-1.

**Agradecimiento.** CINVESTAV-IPN (FIDSC2018/268) CONACYT (269657,A1-S34224), beca CONACYT para estudio de maestría (No. 1144009).

### Bibliografía.

- de la Cruz, J. J., Villanueva-Lizama, L., Dzul-Huchim, V., Ramírez-Sierra, M. J., Martínez-Vega, P., Rosado-Vallado, M., ... & Dumonteil, E. (2019). Human vaccines & immunotherapeutics, 15(1), 210-219.
- Dumonteil, E., Herrera, C., Tu, W., Goff, K., Fahlberg, M., Haupt, E., Kaur, A., Marx, P. A., Ortega-Lopez, J., Hotez, P. J., & Bottazzi, M. E. (2020). Vaccine, 38(29), 4584-4591.
- Dingermann, T. (2008). Biotechnology Journal: Healthcare Nutrition Technology, 3(1), 90-97.
- Villanueva-Lizama, L. E., et al., (2018). PLoS neglected tropical diseases, 12(1), e0006240.
- Lin, W., Bonin, M., Boden, A., Wieduwild, R., Murawala, P., Wermke, M., ... & Zhang, Y. (2019). Communications Biology, 2(1), 58.