

## Análisis *in silico* y purificación del péptido recombinante abaecina de *Apis mellifera*

Elizabeth López Torres, José Luis Villalpando e Itzel López Rosas. Colegio de Postgraduados Campus Campeche, área de proteómica del Laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional. Sihoac, Champotón. C.P. 24450, [itzelopezrosas@gmail.com](mailto:itzelopezrosas@gmail.com)

*Palabras clave: abaecina, purificación, inducción.*

**Introducción.** *Apis mellifera* llamada comúnmente abeja, es un organismo conocido por su alta producción de miel y polinizador; estos organismos influyen en el área agrícola, ambiental, ecológica y económica con productos derivados como miel, cera, jalea real y propóleos (1, 3). Actualmente su población ha disminuido drásticamente por diversos factores como el calentamiento global, pérdida de hábitat, el uso excesivo de pesticidas y enfermedades por diversos microorganismos como bacterias, hongos, virus y ácaros, estos factores contribuyen al Trastorno de colapso de las colmenas (2). En respuesta al estímulo de los factores antes mencionados las abejas activan su mecanismo de inmunidad social (aseo e higiene del nido) y mecanismo individual que incluye la respuesta celular (fagocitosis) y los péptidos antimicrobianos (AMPs) (3). En *A. mellifera* se ha descrito que contiene AMPs, llamados: defensina, himenoptaecina, apidaecina y abaecina y atacan bacterias Gram positivas y negativas, así como a hongos (4, 5). Nos enfocamos en el péptido abaecina que se ha reportado que se produce en la hemolinfa de la abeja, sin embargo, se tiene poca información sobre su mecanismo de acción e interacción con otras moléculas.

El objetivo del siguiente trabajo es generar información del péptido abaecina mediante un análisis *in silico* de la secuencia de aminoácidos y su expresión y purificación para futuros estudios funcionales.

**Metodología.** Análisis *in silico* de la secuencia de aminoácidos de abaecina. Producción del péptido recombinante en un sistema heterólogo de células *E. coli* M15. La purificación del péptido recombinante se hizo por cromatografía de afinidad.

**Resultados.** Análisis *in silico*. Se obtuvo la estructura y presencia de dominios de la secuencia de abaecina y se obtuvo el modelo estructural y se visualizó en Pymol.

**Producción del péptido recombinante.** El gen codificante fue clonado en el plásmido pQE80L y se obtuvo el péptido recombinante en un sistema bacteriano con la adición de 1mM de IPTG. El péptido recombinante fue analizado por electroforesis en un gel de Tricina-SDS-PAGE al 16%. Se observaron bandas con un peso de 10 kDa correspondiente al peso esperado. El resultado de la inducción se corroboró mediante un ensayo de *Western blot*, donde utilizando un anticuerpo anti-His6X se detectó una banda en el tamaño esperado para el caso de las muestras de inducción.

**Purificación del péptido recombinante abaecina.** La obtención de abaecina recombinante se realizó por cromatografía de afinidad utilizando una columna de Ni-NTA. Las fracciones de purificación fueron analizadas en un gel de Tricina-SDS-PAGE al 16% donde se obtuvieron bandas en 3 fracciones de elución y que correspondieron al tamaño esperado. Se verificó la purificación por inmunoblot con un anticuerpo anti-His6X, donde hubo señal en las fracciones de elución.

**Conclusiones.** El péptido antimicrobiano abaecina tiene una longitud de 53 a.a, conformado por un péptido señal y un dominio antimicrobial\_5, un peso molecular de 5.9 kDa, presenta un alto contenido de prolina y pertenece a la familia *Antimicrobial\_5* (PF08026) familia de péptidos antimicrobianos producidos en abejas. Finalmente el péptido recombinante se expresó y purificó para ensayos funcionales a futuro.

### Bibliografía

1. Chan *et al.* (2011). *BMC genomics*. 12(1): 290
2. Chaimanee *et al.* (2013). *Vet Parasitol Reg Stud Reports*. 193(1-3), 260-265.
3. Hu *et al.* (2017). *Scientific Reports*. 7(2017), 41255.
4. Evans *et al.* (2006). *J Insect Sci*. 15(5), 645-656.
5. Luiz *et al.* (2017). *Microb Cell Fact*. 16(1), 76.

