

## Caracterización de Lisozima 1 (*Amlys-1*) de *Apis mellifera*

José Luis Villalpando Aguilar, María Jessica Santos Reyes, Itzel López Rosas. Colegio de Postgraduados Campus Campeche, área de proteómica del Laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional. Sihochac, Champotón. C.P. 24450, [itzelopezrosas@gmail.com](mailto:itzelopezrosas@gmail.com)

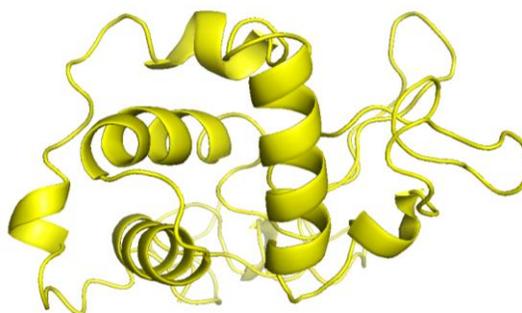
*Palabras clave: enzima, antimicrobiano, Apis mellifera.*

### Introducción.

Además de los péptidos antimicrobianos, otras moléculas participan en la respuesta inmune de la abeja *Apis mellifera*, entre ellas se encuentra la lisozima, que es una enzima implicada en la respuesta inmune innata de organismos mamíferos superiores al evitar el crecimiento de microorganismos bacterianos (1-2).

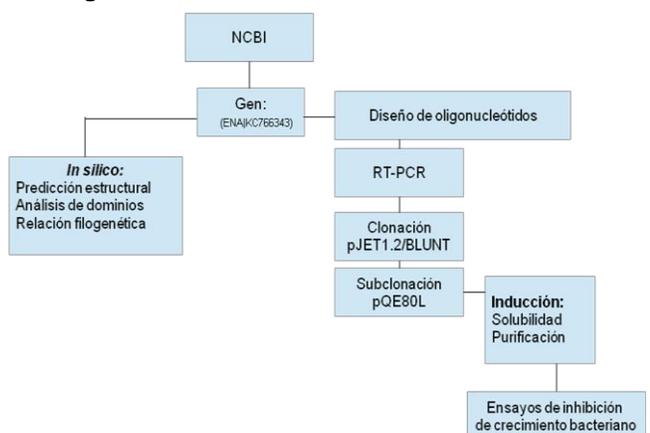
A nivel de la expresión de genes para estas moléculas efectoras del sistema inmune melífero, se sabe que dicha expresión es afectada negativamente por infecciones como *nosemosis* o por la presencia de pesticidas (3-5).

Actualmente, se propone que la obtención y caracterización de moléculas del sistema inmune de abejas melíferas, mediante el uso desde sistemas heterólogos para la expresión y purificación de moléculas recombinantes, que pueden ser probadas como una alternativa de tratamiento de infecciones en abejas por microorganismos patógenos (bacterias, hongos y virus), incrementado la viabilidad de las colmenas afectadas. Por lo que este trabajo está enfocado en caracterizar el gen de *Amlys-1* como una enzima con capacidad antimicrobiana.



**Fig. 2.** Modelo de estructura de lisozima 1 de *Apis mellifera*. El modelo muestra la región plegada principalmente constituida por  $\alpha$ -helices y se muestra la presencia de regiones desordenadas en forma de "loops".

### Metodología.



**Fig 1.** Estrategia metodológica para caracterización de *Amlys-1* de *Apis mellifera*.

### Resultados.

El análisis *in silico* consistió en obtener la predicción estructural de *Amlys-1* mostrando un modelo con *TM score* de 0.65 y un *C score* de -0.47. La predicción de dominios mostró la conservación de un dominio de la superfamilia de lisozimas dentro del cual existe un sitio catalítico característico de proteasas y un sitio de unión a calcio.

De manera experimental el estudio está enfocado en analizar el gen que codifica a *Amlys-1* con el número de acceso: (ENA|KC766343). Se amplificó un fragmento de 468 pb, que fue clonado en el vector de almacenamiento (pJET1.2 BLUNT), posteriormente se subclonó en el vector pQE80L, la construcción pQE80L-*Amlys-1* fue introducida en células *E. coli* M15 por choque térmico, una clona positiva fue seleccionada e inducida con IPTG, se analizó la solubilidad de la proteína recombinante y se purificó por cromatografía de afinidad a níquel, obteniendo la recombinante con un 95 % de pureza.

**Conclusiones.** La enzima recombinante *Amlys-1r* fue purificada con una pureza del 95%, aunado a esto se determinó su actividad antimicrobiana contra bacterias *E. coli*.

### Agradecimientos.

El desarrollo del proyecto se llevó a cabo con recursos institucionales para el apoyo de actividades académicas del Colegio de Postgraduados campus Campeche.

### Bibliografía.

1. Gliński Z. & Jarosz J. (1995). *Bee World* 76, p. 195-205.
2. Antúnez K *et al.* (2009). *Environ Microbiol.* Sep;11(9):2284-90.
3. Yang J, *et al.* (2015). *Nature Methods*, 12: 7-8.
4. Marchler-Bauer A *et al.* (2017), *Nucleic Acids Res.*45 (D) 200-3.
5. Badaoui B *et al.* (2017). *PLoS One*. 2017;12(3):e0173438.