Universidad del Mar

Campus Puerto Escondido

Obtención del péptido recombinante abaecina de *Apis mellifera*

Tesis

Que para obtener el Título Profesional de

Licenciada en Biología

Presenta

Elizabeth López Torres

Directora

Dra. Itzel López Rosas

Codirector

Dr. Luis David Maldonado Bonilla

Puerto Escondido, Oaxaca 2019

Dedicatoria

A mis padres por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad; muchos de mis logros se los debo a ustedes entre los que se incluye este, gracias por todo, hoy puedo decir Ebenezer.

Y ti querido lector curioso.

Agradecimientos

Son muchas las personas que han contribuido al proceso y conclusión de este trabajo. Quiero comenzar agradeciendo a la Dra. Itzel López Rosas directora del trabajo de tesis, me apoyó de manera personal y académica, me impulsó a creer en mis capacidades, compartió conmigo sus experiencias, me permitió vivir experiencias en este hermoso mundo de la investigación y me alentó para que concluyera esta investigación. Agradezco al Dr. José Luis (JL) por alentarme, apoyarme y enseñarme a trabajar en equipo y lo más importante me enseñó que ningún trabajo es útil si no se comprende y comparte y al Dr. Maldonado por ayudarme en el proceso de redacción de esta tesis.

Gracias a la Universidad del Mar Campus Puerto Escondido donde me he formado y donde he recibido apoyo de todo tipo, a los profesores que influyeron en mi vida académica, en especial a la Dra. Rosalía Guerrero Arenas por siempre escucharme y aconsejarme, a mis compañeros de carrera (Lau, Mely, Ada, Balby, Dani, Rama, Les) y al Colegio de Postgraduados Campus Campeche y a toda su comunidad.

Al área de Proteómica del Laboratorio de Biología Molecular y Genómica Funcional por permitirme hacer uso de los equipos e instalaciones, bajo la dirección de la Dra. Itzel López Rosas quien recibió para su realización financiamiento a través de Recursos institucionales para Apoyo de la Actividades para Profesores Investigadores del Colegio de Postgraduados Campus Campeche.

A mis amigos: Lucy, Limber, Chi, Orlando, Jhony, Mane, Dany, Balby y Toño por siempre estar ahí y hacerme sentir en familia.

A mis padres Antonio López y Minerva Torres por apoyarme en todas las desiciones que he tomado, por inculcarme la fe en Dios y amarlo a él por sobre todas las cosas. A mis hermanos, Oscar, Susy, Tony, Paty, mis sobrinos Mey, Joshua y mi pequeña Dunita, gracias a todos por sus mensajes de aliento y por creer en mí.

Gracias a todas las personas que de una u otra manera me han apoyado con palabras de ánimo y de muchas maneras más, la lista es interminable pero les tengo presente.

Y gracias infinitas a Dios y a la vida por vivir esta experiencia.

Resumen

La abeja *Apis mellifera* es un organismo que pertenece al orden Hymenoptera, presenta dos pares de alas membranosas, un par de antenas y tres pares de patas; presenta una metamorfosis holometábola y cumple un rol importante en la polinización de especies de interés agrícola jugando un papel económico y ecológico. Esta especie ha presentado una alta disminución en su población, este fenómeno es conocido como el Trastorno del Colapso de la Colmena donde diferentes factores como la pérdida de su hábitat, el uso excesivo de pesticidas y plaguicidas, los efectos del cambio climático y enfermedades causadas por endo y ectoparásitos como *Nosema ceranae* y *Varroa destructor.* Uno de los mecanismos utilizados por las abejas contra el combate de agentes patógenos está mediado por péptidos antimicrobianos (AMPs). Uno de ellos es el péptido antimicrobiano abaecina que se acumula en la hemolinfa de las abejas y se conoce que es de amplio espectro. En este estudio nos enfocamos en la obtención del péptido recombinante abaecina de *A. mellifera*. El análisis *in silico* y modelado de la estructura terciaria reveló que es un péptido con estructura alfa hélice, con un peso de 11 kDa. La secuencia codificante para abaecina se clonó de manera exitosa en el vector de almacenamiento pJET1.2/blunt y se subclonó en el vector de expresión pQE80L. El péptido recombinante abaecina fue expresado en células *Escherichia coli* M15 con la adición del compuesto IPTG. El péptido abaecina se encontró en la fracción soluble lo que permitió purificarlo en condiciones nativas. Abaecina recombinante fue detectada mediante western blot en un peso aproximado de 20 kDa, lo que sugiere que forma dímeros.

Palabras claves: *abaecina, abeja, AMPs. Clonación, expresión, purificación.*

Abstract

The honey bee *Apis mellifera* is an organism that belongs to the order Hymenoptera, it presents two pairs of membranous wings, a pair of antennas and three pairs of paws; it presents a holometabolic metamorphosis and fulfills an important role in the pollination of species of agricultural interest playing an economic and ecological role. This species has presented a high decrease in its population, this phenomenon is known like the Disorder of the Collapse of the Beehive, where different factors as the loss of its habitat, the excessive use of pesticides and insecticides, the effects of the climate change and diseases caused for endo and ectoparasites *Nosema ceranae* and *Varroa destructor*. One of the mechanisms used by the bees against pathogenic agents is mediated by antimicrobial peptides (AMPs). One of them is the abaecin, that is accumulated in the hemolymph of the bees and one is known that it is of wide bogey. In this study we focus in the securing of the abaecina recombinant peptide of *A. mellifera*. The *in silico* analysis and modeling of the tertiary structure revealed that alpha helix is a peptide with structure, with a weight of 11 kDa. The coding sequence for abaecin was successfully cloned into the pJET storage vector and subcloned into the pQE80L expression vector. The recombinant abaecin peptide was expressed in *Escherichia coli* M15 cells by addition of the IPTG compound. The abaecin peptide was found in the soluble fraction which allowed it to be purified under native conditions. Recombinant abaecin was detected by western blot at an approximate weight of 20 kDa, which suggests that it forms dimers.

Keywords: *abaecina, bee, AMPs, clonation, expression and purification.*