

OPTIMIZACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DE PÉPTIDOS ANTIMICROBIANOS RECOMBINANTES DE PLANTAS SILVESTRES Y EVALUACIÓN DE SU POTENCIAL TERAPÉUTICO

Zerpa-Basso M.¹, Perez-Etcheverry D.², Rufo-D Addario C.², Barraco-Vega M.³, Castro-Rosas R.³, Cecchetto-Cianciarulo G.³, Rodríguez-Decuadro S.¹

¹Laboratorio de Biotecnología, Departamento de Biología Vegetal, Facultad de Agronomía, Montevideo, Uruguay

²Instituto Polo Tecnológico, Facultad de Química, Pando, Uruguay

³Microbiología DEPPIO, Facultad de Química, IQB-Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay

E-mail: sur9@fagro.edu.uy

El desarrollo de resistencia a drogas por parte de microorganismos patógenos, ha llevado a la búsqueda constante de nuevos compuestos bioactivos. Los péptidos antimicrobianos (AMPs), componentes del sistema inmune innato de todos los organismos, se encuentran entre las moléculas más prometedoras para el desarrollo de nuevos fármacos de control, diagnóstico o prevención de infecciones por sus bajas posibilidades de desarrollar resistencia. Las plantas superiores han demostrado ser una fuente importante de nuevos compuestos, entre los que se destacan AMPs de las familias, defensinas y esnaquinas. Su producción recombinante permite disminuir costos asociados a purificación directa de fuentes naturales, permitiendo además la optimización de secuencias para obtención de variantes mejoradas. Previamente, hemos expresado de forma heteróloga, tres péptidos de plantas nativas: dos defensinas y una esnaquina, unidos a la proteína de fusión Tiorredoxina. Estos AMPs, una vez liberados de la proteína de fusión, presentaron actividad contra patógenos vegetales y humanos. Con el objetivo de mejorar las condiciones de obtención, alcanzando mayores cantidades a menor costo y con la posibilidad de visualizar mediante microscopia el modo de acción de estos péptidos, en este trabajo nos enfocamos en producir estos AMPs cambiando los vectores de expresión utilizados, de manera de obtener los péptidos sin proteína de fusión y unidos a la proteína fluorescente GFP. Logramos producir y purificar los tres péptidos (PdSN1, EcgDf1 y MiDf6) clonados en los vectores de expresión pET28a y His6-GFP-TEV-LIC. En este momento estamos comparando la actividad de cada péptido producido en los diferentes vectores, contra *Cándida albicans*. Además, se está evaluando su posible toxicidad mediante ensayos de actividad hemolítica y su comportamiento frente a patógenos humanos alimentarios. Los péptidos producidos serán insumo para proyectos enfocados en el estudio de sus mecanismos de acción, además de futuras líneas de investigación que evalúen su potencial aplicabilidad.

Palabras Clave: AMPs, expresión heteróloga, aplicaciones