

LA PERSPECTIVA DEL HOLOBIONTE: LA INTERACCIÓN MICROBIOTA-HOSPEDERO IMPACTA LA MICROBIOTA DE *L. vannamei*.

Fernanda Cornejo-Granados^{1*}, Luigui Gallardo-Becerra¹, Sandra Romero-Hidalgo², Alonso López-Zavala³, Rogerio Sotelo-Mundo⁴, Andrés Cota-Hizar⁵, Adrián Ochoa-Leyva^{1*}.

- 1 Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología (IBT), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).
- 2 Departamento de Genómica Computacional, Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN).
- 3 Departamento de Ciencias Químico Biológicas. Universidad de Sonora (UNISON).
- 4 Laboratorio de Estructura Biomolecular, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. (CIAD).
- 5 Camarones El Renacimiento SPR de RI..

*Adrián Ochoa-Leyva, adrian.ochoa@ibt.unam.mx; Fernanda Cornejo-Granados fernanda.cornejo@ibt.unam.mx.

Palabras clave: metagenómica, hologenoma, probióticos.

El hologenoma contempla la simbiosis y co-evolución que existe entre el hospedero y su microbiota. Esta interacción ayuda a la adaptación del hospedero gracias a las funciones que aporta la microbiota (1). En crustáceos como el camarón el manejo adecuado de la microbiota es esencial para una producción sostenible y de calidad (2,3). Sin embargo, la información sobre la relación entre la genética del hospedero y la microbiota es escasa. Por ello, en este trabajo analizamos la microbiota del hepatopancreas y el intestino asociada a dos líneas genéticas de *L. vannamei* en condiciones reales de cultivo.

Caracterizamos la región V3-V4 del gen ribosomal 16S en el hepatopáncreas y el intestino de dos líneas genéticas de *L. vannamei* criados en tres estanques de producción (Fig. 1). Este diseño experimental permitió determinar el impacto de la genética descartando la influencia del estanque.



Fig. 1. Distribución de los estanques y las líneas genéticas de *L. vannamei*.

Los análisis de varianza (Anosim y Permanova) mostraron que el órgano era la variable con mayor impacto ($p=0.001$) en la diversidad en la microbiota (Fig. 2). Por otro lado, la microbiota del hepatopáncreas mostró enriquecimiento en funciones de metabolismo de ácidos grasos, energía y cuerpos cetónicos; mientras que el intestino mostró metabolismo de aminoácidos, almidón y sacarosa. Al comparar las líneas genéticas, observamos que esta explica un 30% ($r=0.30$, $p<0.05$) de las diferencias en la microbiota del hepatopáncreas, mientras que en el intestino el efecto no fue significativo. Notablemente, Gen1 mostró mayor diversidad y amplitud de nicho (Fig. 2) sugiriendo que la microbiota de Gen1 aprovecha mejor los recursos disponibles. Además, la microbiota de Gen1 mostró mayor abundancia de bacterias con potencial probiótico lo que puede asociarse a un mejor estado de salud.

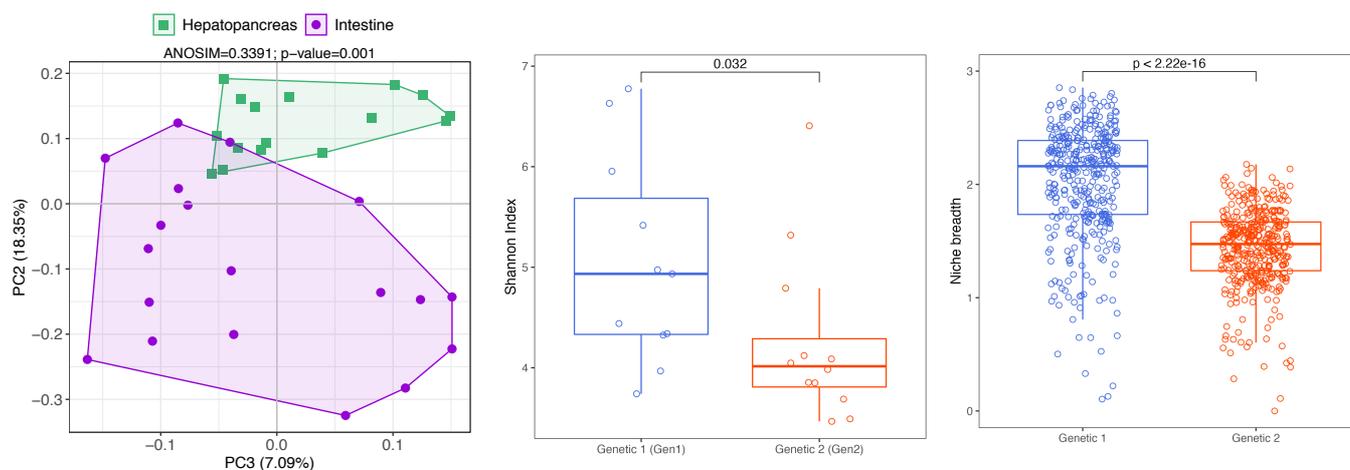


Fig. 2. A. Análisis de beta diversidad de la microbiota en las muestras etiquetadas por órgano. B. Índice de diversidad de Shannon y C. Amplitud de nicho en la microbiota de Gen1 y Gen2.

En conclusión, i) el órgano tuvo el impacto más significativo en la composición de la microbiota. ii) la microbiota realiza actividades que complementan la función de cada órgano. iii) la genética tiene una mayor influencia en la microbiota del hepatopáncreas.

Agradecimientos. Agradecemos el financiamiento de DGAPA UNAM IN219723 y CONAHCyT Ciencia de Frontera-2019-263986. A CONAHCyT por la beca doctoral de Luigui Gallardo-Becerra (CVU 778192), la beca postdoctoral de Fernanda Cornejo-Granados (CVU 443238) como parte del programa Estancias Posdoctorales por México 2022, y al programa de Intercambio Académico de la UNAM por el apoyo.

Bibliografía. Si se considera necesario, en estilo libre **Bibliografía.** 1. Zilber-Rosenberg I, Rosenberg E. (2008) *FEMS Microbiol Rev* 32, 723-735. 2. Cornejo-Granados F, Lopez-Zavala AA, *et al.* (2017) *Sci Rep* 7, 11783 (2017). 3. Cornejo-Granados F., Gallardo-Becerra L, *et al.* (2018) *PeerJ* 6, e5382.

ENZIMAS DESUBIQUITINASAS: ELEMENTOS ESTRUCTURALES IMPORTANTES PARA EL RECONOCIMIENTO DE CADENAS DE UBIQUITINA K63

Leonardo I. Morales-Lino¹, Fidel O. Ramírez-Amador¹, Alba M. Reyes-Briones¹, Luis E. Pérez-Córdova¹, Leticia Olvera-Rodríguez¹, Manuel S. Rodríguez², Gloria Saab-Rincón¹ y Wendy Xolalpa-Villanueva^{1*}

¹Departamento de Ingeniería Celular y Biocatálisis, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, 62250 Cuernavaca, Morelos, México; ²Laboratoire de Chimie de Coordination (LCC) - UPR 8241 CNRS, and UMR 152 Pharma-Dev, Université de Toulouse, IRD, UPS, 31400 Toulouse, France.

*Autor para correspondencia, wendy.xolalpa@ibt.unam.mx.

Palabras clave: ubiquitina, desubiquitinasa, proteasa, dinámica molecular.

Las enzimas desubiquitinadas (DUBs) eliminan la monoubiquitina o la poliubiquitina de las proteínas modificadas cambiando el destino de la proteína y, por lo tanto, alterando algunas funciones celulares. Varias DUBs reconocen y escinden diferentes tipos de cadenas de poliubiquitina; sin embargo, algunas pueden tener un reconocimiento preferencial para un tipo de cadena en específico. Las proteínas modificadas con cadenas de poliubiquitina enlazadas mediante la K63, participan en procesos celulares que implican funciones no asociadas al proteasoma como la transducción de señales, la reparación del ADN o la autofagia. La identificación de determinantes estructurales en las DUBs y entender cómo es el reconocimiento molecular de las cadenas de poliubiquitina podría ser importante para explotar su potencial como herramientas para construir moléculas sintéticas que ayuden a controlar proteínas desreguladas. En este trabajo, hemos analizado los determinantes estructurales identificados en algunas DUBs que muestran preferencia por cadenas K63 pertenecientes a diferentes familias: CYLD (de cilindromatosis), una cisteína-proteasa clasificada en la familia de proteasas específicas de ubiquitina (USP), y AMSH-LP (molécula asociada con el dominio SH3 de STAM like protein), metaloproteasa que pertenece a la familia JAB1/MPN/MOV34 (JAMM). Mediante la alineación estructural de co-cristales que involucran la enzima DUB-di-ubiquitina y la simulación de dinámica molecular (MD), hemos explorado el papel de algunas regiones estructurales reportadas previamente. Los resultados *in silico* sugieren que tres regiones en CYLD correspondientes a estructuras de asa (BL1, BL2 y L3), son importantes para la preferencia de sustrato. Con el fin de evaluar el papel de estas regiones, diseñamos y generamos enzimas quiméricas tomando como base una DUB promiscua, sin preferencia por cadenas unidas a K63, le reemplazamos las asas por aquellas equivalentes presentes en CYLD y medimos su actividad *in vitro*.

Agradecimiento. Proyecto apoyado por el Fondo Sectorial de Investigación para la Educación CONAHCyT A1-S-22895.

Bibliografía.

- Gonzalez-Santamarta M., Bouvier C., Rodriguez M. S. & Xolalpa W. (2022) Ubiquitin-chains dynamics and its role regulating crucial cellular processes. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 132, 155-170.
- Komander D., Clague M.J. & Urbé S. (2009) Breaking the chains: structure and function of the deubiquitinases. *Nat.Rev. Molecular Cell Biology*, 10(8):550-63.

La subunidad EFCAB9 de CatSper de mamíferos se expresa en el espermatozoide de erizo de mar y está asociada con otra proteína

¹Fernando Aranda, ^{1,2}Daniel Ángeles, ³Elizabeth Pérez, ¹César Arcos-Hernández, ¹Yoloxochitl Sánchez-Guevara, ¹Takuya Nishigaki & ¹Carmen Beltrán

¹Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México

²Facultad de Medicina, Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM)

³Facultad de Ciencias Biológicas-UAEM
Cuernavaca, Morelos.

La motilidad de los espermatozoides se regula por speract, un decapeptido que se libera de la capa externa del óvulo e induce la quimiotaxis del espermatozoide hacia el óvulo. La unión del speract a su receptor en el flagelo del espermatozoide, dispara cambios en el potencial de membrana (E_m) y en niveles intracelulares de pH (pH_i), nucleótidos cíclicos (GMPc y AMPc) y Ca^{2+} ($[Ca^{2+}]_i$), así como en la fosforilación de proteínas mediada por la proteína cinasa dependiente de AMPc (PKA) y por la activada por diacilglicerol y Ca^{2+} (PKC).

CatSper es un canal iónico de Ca^{2+} que se expresa específicamente en el flagelo del espermatozoide. En mamíferos, CatSper se regula por pH alcalino, potencial de membrana y directamente por AMPc en el caso de ratón, y está constituido por cuatro subunidades formadoras del poro ($\alpha 1-4$) y nueve accesorias (β , γ , δ , ϵ , ζ , η , θ , τ y EFCAB9). Las subunidades no transmembranales EFCAB9 y CatSper ζ , interactúan para formar un dímero sensor de pH y $[Ca^{2+}]_i$ que regulan la actividad del canal.

Mediante análisis proteómico de muestras de espermatozoides de erizo de mar (eem) *Strongylocentrotus purpuratus* (Sp), detectamos ocho subunidades de CatSper ($\alpha 1-4$, β , γ , δ , $\epsilon 1$, $\epsilon 2$), pero no a EFCAB9. Además, existe evidencia por resultados de experimentos de western blot (WB), Inmunofluorescencia (IF), quimiotaxis y electrofisiológicos, de que CatSper está en el flagelo de eem, de que participa en la quimiotaxis y de que al igual que en los mamíferos, se activa por alcalinización intracelular. Dado que el genoma de *S. purpuratus* contiene la secuencia para EFCAB9 pero carece de la subunidad ζ , el objetivo de nuestro trabajo es determinar si dicha proteína se expresa en el eem, y si forma parte del complejo CatSper.

Nuestros resultados sugieren SpEFCAB9 se expresa en flagelos de eem tanto de *S. purpuratus* como de *Lytechinus pictus*, y que CatSper 4 se podría regular por Caseína Cinasa II (CKII). Además, los resultados de experimentos de entrecruzamiento químico con EEDQ, sugieren que EFCAB9 está asociado con una proteína aún no identificada, que podría sustituir a CatSper ζ de mamífero para regular la actividad del complejo.

Agradecimientos

Este proyecto fue financiado por PAPIIT-UNAM IN205722 a TN e IN215519 e IN209922 a CB. FAL y JDAS tuvieron una Beca de Maestría de CONAHCyT.