Análisis *In Sílico* del Receptor del Beta Glucano Presente en *Saccharomyces Cerevisiae* y su Efecto Inmunoestimulante

Alma Suny Acuña Castillejos[1] y Dr. Hugo Sánchez Hernández[2]

Resumen— *Saccharomyces cerevisiae* es una levadura que es considerada como el microorganismo que más utilidad ha tenido a través del tiempo por su capacidad de fermentación de glucosa y la producción de etanol. Esta levadura puede aislarse fácilmente del suelo, de la corteza de las frutas e incluso de la microbiota intestinal humana y debido a las propiedades de fermentación antes mencionadas es ampliamente utilizada en la industria de la cervecera y vitivinícola (Suarez, 2016). El 1,3 glucano aislado en la pared celular de *Saccharomyces cerevisiae* resulta ser un importante inmunoestimulante ayudando al organismo a trabajar contra infecciones bacterianas, virales y fúngicas (Véliz, 2008). Se han hecho algunos estudios con animales como camarones en donde se ha administrado esta levadura y se ha visto un efecto inmunoestimulante previniendo infecciones (Cabrera, 2019).

Palabras clave— *Saccharomyces cerevisiae*, beta-glucano, efecto inmunoestimulante, receptor dectina-1.

Introducción

Dectina-1 es un receptor transmembranal que posee su extremo N-terminal al interior de la célula y el extremo C-terminal al exterior el cual cuenta con un dominio CTLD que le permite el reconocimiento de carbohidratos y esta se conecta con una región llamada cuello. Cabe destacar que, aunque la mayoría de los receptores lectina tipo C son dependientes de Ca2+ para la unión de ligando, dectina-1 no lo es. En humanos, este receptor sufre un proceso de splicing alternativo que da lugar a dos isoformas mayoritarias (A y B) y seis minoritarias (C-H) en un proceso que es dependiente del tipo celular. Estas isoformas mayoritarias se caracterizan por tener o no la presencia del cuello y ser las únicas que pueden reconocer β-glucanos. En ratones, dectina-1 se expresa ampliamente en los tejidos localizándose principalmente en neutrófilos, macrófagos alveolares e inflamatorios, también se pueden encontrar en células dendríticas. El ligando específico de dectina-1 es β-(1,3)-glucano (Galán, 2010).

Descripción del Método

Obtención de la secuencia de aminoácidos de dectina-1 y análisis in Sílico de la identidad de su receptor

Se realizó una búsqueda de la secuencia de aminoácidos de dectina-1 en *Mus musculus* y *Homo sapiens* en la base de datos NCBI. Posteriormente se tomó la secuencia en formato Fasta de ambas especies y se realizó un blast proteína- proteína en la misma base de datos para conocer la identidad del receptor entre ambas especies. También se realizó un modelado de dectina-1 de Homo sapiens en el programa Swiss model de la base de datos bioinformáticos de Expasy para conocer la estructura y visualizar posibles sitios de unión.

Modelado in Sílico

Se llevó a cabo el modelado con la secuencia de aminoácidos que se obtuvo en NCBI. Se realizó un interactoma de dectina-1 de Homo sapiens en el la base de datos STRING identificando dectina-1 como ENSP00000302569.

Interactoma de dectina 1

Se estructuró el interactoma de dectina-1 (CLEC7A) a través de las bases de datos STRING: Functional Protein Association Networks [https://string-db.org/].

Resultados

En resultado del blast dio a conocer una identidad del 60% entre ambos receptores porcentaje que coincide con la información que se puede encontrar en la literatura. Se encontró en la base de datos NCBI el modelo de dectina-1 de Mus musculus formando un complejo con una molécula de β-glucano. Se puede visualizar que el sitio de unión del β-glucano se encuentra entre los dímeros de dectina-1.

[1]Alma Suny Acuña Castillejos. Estudiante del Programa Educativo de Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Quintana Roo (UPQROO). Avenida Arco Bicentenario, SM 255, M11, Lote 1119-33 C.P.77519. Benito Juárez, Quintana Roo. México. 201700002@estudiantes.upqroo.edu.mx.

[2] Dr. Hugo Sánchez Hernández. Profesor-Investigador Investigador del programa Educativo de Ingeniería en Biotecnología. Universidad Politécnica de Quintana Roo (UPQROO) Avenida Arco Bicentenario, SM 255, M11, Lote 1119-33 C.P.77519. Benito Juárez, Quintana Roo. México. hugo.sanchez@upqroo.edu.mx **(Autor Corresponsal).**

}

Se encontró también en NCBI un modelo de dectina-1 en de murino en el cual se puede visualizar como un homo dímero con una parte honda entre cada parte donde posiblemente se encuentra el sitio de unión del β-glucano.

Modelado in sílico

El modelo del receptor dectina-1 realizado por el programa Swiss model es muy parecido en cuanto a la forma a dectina-1 de *Mus musculus* encontrado en la base de datos NCBI. En este modelo se puede visualizar a simple vista un homo dímero que parecieran ser dos proteínas, sin embargo, se trata de la misma. También se puede observar un espacio entre los dímeros (figura 1).

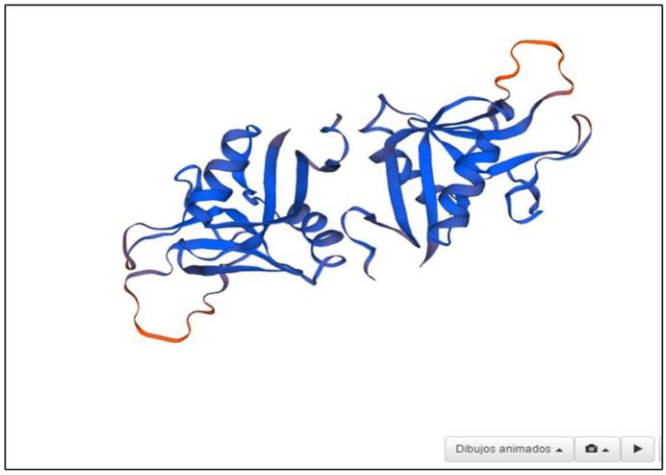

Figura 1. Resultado del modelado del receptor dectina-1 de Homo sapiens. Se puede visualizar un homo dímero de dectina-1.

Interactoma de dectina -1

Las proteínas de este interactoma se representan con nodos (esferas) y cada uno de ellos tiene el código al que pertenece cada una. Estas son las principales proteínas con las que dectina-1 interactúa las cuales forman parte del sistema inmunitario tanto innato como adaptativo. Dicha interacción da lugar a la señalización celular para actuar en contra de antígenos o llevar a cabo procesos como la inflamación en respuesta del organismo (figura 2).

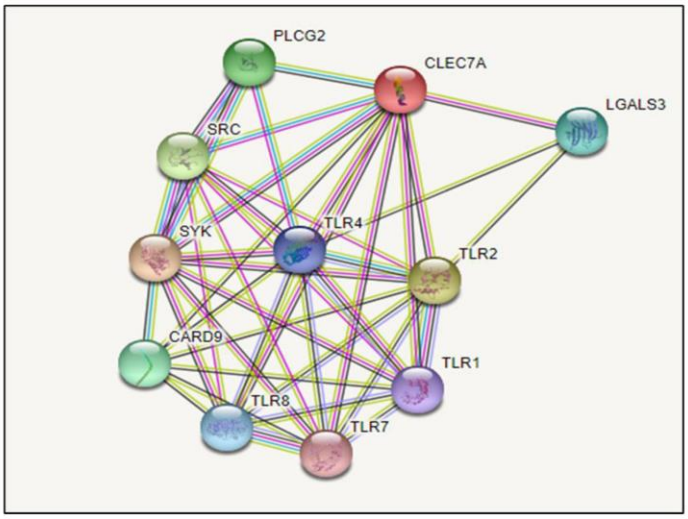

Figura 2. Interacción de dectina-1 de Homo sapiens identificada como CLEC7A con otras proteínas relacionadas con el sistema inmunitario. Las líneas en color rosa fuerte representan interacciones determinadas experimentalmente.

PLCG2

Se trata de una enzima que juega un papel responsable en la regulación de la respuesta inmune así como la transformación y el crecimiento de tumores. En estudios realizados por Donghui, 2019 se ha observado que PLCG2 promueve la proliferación de hepatocitos por la vía de señalización NF-κB lo cual podría relacionarse con nuestro sistema con la proliferación de algunos otros tipos celulares del sistema inmunitario innato o una auto regulación de estos.

SRC

se trata de una proteína no receptora (proteína citosólica) que desempeña papeles fundamentales en una amplia variedad de vías de transducción de señales, regulando procesos como división celular, motilidad, adhesión, angiogénesis. Soto, 2008 menciona en "Proteínas cinasas de la familia SRC en el desarrollo del cáncer" que esta proteína puede dar lugar al crecimiento maligno de un diverso tipo de células. En este caso, dectina-1 podría regular la función de esta proteína inhibiendo o modulando su función evitando dicho crecimiento indeseable en diferentes células.

SYK

Es una proteína tirosina cinasa que media la transducción de señales rio abajo de una variedad de receptores transmembrana. Se ha observado que regula varios procesos biológicos que incluyen la inmunidad innata y la adaptativa. Como menciona Ruland, 2008 la activación de SYK controla la fagocitosis dependiente dedectina-1 lo cual concuerda con este trabajo donde se observó se encontró en el análisis in sílico la interacción entre ambas proteínas.

LGALS3

Las galectinas son un grupo especializado de lectinas que se unen a β-galactósidos. En su estructura contiene una glicina N-terminal y una región C-terminal rica en prolina que tiene un dominio de reconocimiento de carbohidratos. En terapia y biología del cáncer de Carvalho, 2014 menciona que dicha proteína esta relacionada con el desarrollo del cáncer y aún no se conoce la causa. En el sistema que hemos estudiado dectina-1 podría tener un roll en la modulación de dicha proteína evitando el desarrollo de células cancerosas por inmunoestimulación.

CARD 9

Los CARDs son módulos homofílicos de interacción proteína- proteína que media el acoplamiento entre CARD y las moléculas que contiene. La proteína CARD9 tiene una estructura bipartita. Además no es una CARD N-terminal, contiene una región coliled-coil y una C-terminal que media la oligomerización de las proteínas.CARD9 es expresada en varios tejidos como el vazo, pulmón, hígado, placenta, cerebro, hueso, médula e hígado fetal. Tiene una alta expresión en células mieloides particularmente en macrófagos y en células dendríticas. Está relacionada con una respueta proinflamatoria en la cascada de señalización de dectina-1como se muestra en un estudio realizado por Ruland en el 2008 concordando con la interacción de ambas proteínas.

Receptores tipo toll

Los receptores tipo toll son proteínas transmembranales que forman una familia de receptores que reconocen PAMPs. Muchos de estos receptores están implicados en el reconocimiento de patógenos fúngicos tal como Cándida albicans. Esta interacción entre receptor y levadura causa una respuesta inflamatoria y mediadores inmunomoduladores que dan forma a la respuesta inmune del huésped. TLR2 reconoce los blastoconidios y las hifas de Cándida albicans también forma heterodímeros con TLR1 y TLR6 dando lugar a procesos inflamatorios en presencia de levaduras como se muestra en el estudio realizado por Choteau, 2017. Por otro lado, el receptor TLR4 se encuentra dentro de las células del sistema inmunitario reconoce lipopolisacáridos bacterianos (LPS) dando lugar a una respuesta inflamatoria y también tiene importancia en la función de los macrófagos como se muestra en el

estudio realizado por Stephens, 2021. TLR7 y TLR8 detectan material genético viral como se describe en un estudio realizado por Krieg y Vollmer, 2007.En cuanto a nuestro sistema, los TLRs podrían activar vías de señalización activando a dectina-1 o viceversa dando lugar a la producción de moléculas que a su vez activan a otras células (como los macrófagos) o dando lugar a una respuesta inflamatoria.

Discusión y Conclusiones

El modelo de dectina-1 de humano concuerda con la estructura y es muy similar en cuanto a forma a dectina-1 en ratones lo que es trascendental porque se visualizan elementos importantes como los dominios y el posible lugar de unión a antígeno. Cabe mencionar que al momento de realizar el alineamiento proteína-proteína la identidad es del 60% lo que puede deberse a que ciertas variaciones en algunas regiones de dectina-1 de *Homo sapiens* y *Mus musculus*.

Es importante considerar el splicing alternativo que se realiza en *Homo sapiens*, por tal motivo el modelado realizado en el programa *Swiss model* es tal cual una representación de lo que realmente es el receptor en humanos y es más parecido al modelo proteico de murino (Brown, 2007).

Es necesario el diseño experimental para establecer adecuadamente la unión de β-glucano a dectina-1 y delucidar los mecanismos de acción con precisión dentro de la actividad inmunoestimulante en distintas células del sistema inmunológico.

Referencias

Brown, J., O'Callaghan, C. A., Marshall, A. S., Gilbert, R. J., Siebold, C., Gordon, S., Brown, G. D., & Jones, E. Y. (2007). Structure of the fungal beta-glucan-binding immune receptor dectin-1: implications for function. Protein science : a publication of the Protein Society, 16(6), 1042–1052. https://doi.org/10.1110/ps.072791207

Cabrera, E., Marcelo, Z., Reyes, W., & Azañero, C. (2019). Efecto de dietas con alta concentración de Saccharomyces cerevisiae sobre la proliferación de hemocitos en camarones *Cryphiops caementarius* machos. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 30(3), 1057-1067.

Carvalho, R. S., Fernandes, V. C., Nepomuceno, T. C., Rodrigues, D. C., Woods, N. T., Suarez-Kurtz, G., Chammas, R., Monteiro, A. N., & Carvalho, M. A. (2014). Characterization of LGALS3 (galectin-3) as a player in DNA damage response. Cancer biology & therapy, 15(7), 840–850. https://doi.org/10.4161/cbt.28873

Choteau, L., Vancraeyneste, H., Le Roy, D. et al. Role of TLR1, TLR2 and TLR6 in the modulation of intestinal inflammation and Candida albicans elimination. Gut Pathog 9, 9 (2017). https://doi.org/10.1186/s13099-017-0158-0

Galán, M. (2010). Papel del receptor Dectin-1 humano en la respuesta inmune frente a *Candida albicans*: implicación de la ruta mediada por la MAP quinasa fúngica Cek1 TESIIS DOCTORAL Marta Galán Díez 2010 (Doctor). Universidad Autónoma de Madrid.Cabello-Pasini, A. (2014, octubre). Caracterización bioquímica del pasto marino Zostera marina en el límite sur de su distribución en el Pacífico Norte. Scielo.

Krieg, A. M., & Vollmer, J. (2007). Toll-like receptors 7, 8, and 9: linking innate immunity to autoimmunity. Immunological reviews, 220(1), 251-269.

Ma, D., Lian, F., & Wang, X. (2019). PLCG2 promotes hepatocyte proliferation in vitro via NF-κB and ERK pathway by targeting bcl2, myc and ccnd1. Atificial cells, Nanomedicine, and Biotechnology, 47(1), 3786–3792. https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1669616

Ruland, J. (2008). CARD9 Signaling in the Innate Immune Response. Annals of the New York Academy of Sciences Annals of the New York Academy of Sciences, 1143, 35-44. https://doi.org/10.1196/annals.1443.024

Soto, I. (2008). PROTEÍNAS CINASAS DE LA FAMILIA SRC EN EL DESARROLLO DEL CÁNCER. Vertientes, 11, 1-2. http://www.revistas.unam.mx/index.php/vertientes/article/view/26742

Stephens, M., Liao, S. & von der Weid, PY. Ultra-purification of Lipopolysaccharides reveals species-specific signalling bias of TLR4: importance in macrophage function. Sci Rep 11, 1335 (2021). https://doi.org/10.1038/s41598-020-79145-w

Suárez-Machín, Caridad, & Garrido-Carralero, Norge Antonio, & Guevara-Rodríguez, Carmen Amarilys (2016). Levadura Saccharomyces cerevisiae y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 50(1),20-28. [fecha de Consulta 10 de febrero de 2021]. ISSN: 0138-6204. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=2231/223148420004.

Véliz R., Tania y Noa P., Mario y Noa L., Elizabeth (2008). glucano de Saccharomyces cerevisiae: validación de un método de análisis para el control de la calidad de una formulación farmacéutica. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, 39 (1), 25-31. [Fecha de Consulta 10 de febrero de 2021]. ISSN: 1870-0195. https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=579/57939105.

Notas Biográficas

El **Dr. Hugo Sánchez Hernández** es Biólogo Experimental por la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM), Maestro y Doctor en Ciencias en Infectómica y Patogénesis Molecular por el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (CINVESTAV-IPN). Actualmente está adscrito como docente al Programa Educativo de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Politécnica de Quintana Roo. Participa en proyectos de investigación científica apoyados por el CONACYT para el estudio de las propiedades farmacológicas del sargazo del mar caribe mexicano. Ha publicado artículos originales, de difusión y divulgación científica en

revista nacionales e internacionales. Actualmente, es miembro del Consejo Técnico Asesor de sargazo (CTA) para asesorar al gobernador del Estado de Quintana Roo en la atención a las problemáticas de los arribazones de sargazo y en el año 2017 fue nombrado Investigador Honorífico del Estado de Quintana Roo por el Consejo Quintanarroense de Ciencia y Tecnología (COQCYT) y por el gobierno del Estado.

Alma Suny Acuña Castillejos es especialista en el área de Biotecnología y actualmente desarrolla el proyecto de investigación sobre el efecto farmacológico de los extractos de *Carica papaya y realiza estudios In sílico* del receptor del Beta-glucano de *Saccharomyces cerevisiae* y su efecto inmunoestimulante en el área de Biotecnología de la Universidad Politécnica de Quintana Roo. Ha sido conferencista en espacios de divulgación y difusión de la ciencia.