




Universidad de Concepción.
Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas.
Departamento de Oceanografía.



**Expresión de genes relacionados a la respuesta
inmune del Erizo Antártico *Sterechinus
neumayeri*, expuesto a *Vibrio anguillarum*.**



Carolina Angélica Pérez Troncoso

Seminario de Título presentado al
DEPARTAMENTO DE OCEANOGRAFÍA
DE LA UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN

Para optar al Título de
BIOLOGO MARINO

Director de Tesis: Dr. Marcelo González Aravena

Concepción – Chile

2013

RESUMEN

Los erizos de mar, según genetistas, son la revelación en el descubrimiento de genes únicos y ancestrales entre los deuterostomados (incluyendo *Homo sapiens*), es por eso, que esta clase ha sido por más de un siglo utilizado como modelo en diversos estudios. Pero una de las interrogantes es: ¿Si un erizo del tipo estenotérmico como *Sterechinus neumayeri*, de bajo metabolismo, es capaz de responder a condiciones de estrés a través de la respuesta celular con la regulación de genes inmunes, al igual que especies de metabolismo rápido?.

En el estudio se trato de responder las interrogantes con la determinación de los niveles de expresión de ciertos genes implicados en la respuesta inmune innata de *S. neumayeri*, en presencia de un patógeno del tipo *Vibrio anguillarum*. Los genes seleccionados son codificantes para proteínas inmunes, en el reconocimiento y unión a lipopolisacárido (LBP/BPI y receptores Toll), factores de transcripción NF-kappa B, aloinjerto inflamatorio tipo 1 (AIF-1), y por último proteínas biomarcadoras de estrés como la proteína de estrés térmico HSP70 y metalotioneína (MT).

La evaluación del estrés fue medida a través de PCR semicuantitativa y PCR en tiempo real, en el que se determinó la expresión de los genes (normalizados con el control interno 28s) y se cuantificó el número de celomocitos totales, ameboides rojos y celomocitos atípicos capaces de expresar la proteína HSP70 en los distintos tiempos (1h, 6h y 24 h) de exposición a *V. anguillarum* y estado control.

Respecto a la expresión de los genes (AIF-1, MT, TOLL y HSP70) se evidenció que la mayoría son expresados en celomocitos, tracto digestivo, esófago y órgano axial, a diferencia de los genes LBP/BPI y NF-kappa B, del que se desconoce su razón.

Con los resultados obtenidos también se dedujo que el erizo Antártico es capaz de desarrollar una respuesta al inicio de la exposición a *V. anguillarum*. Aparentemente la respuesta inmune es accionada por los amebocitos rojos, lo que es coincidente con el aumento ($P < 0.05$) de la tasa metabólica a la primera hora de infección y aumento de la expresión del gen MT, significativamente después del contacto con la bacteria en el tracto digestivo, esta característica inducible también es percibida en el gen de la proteína HSP70 desde las 6h de exposición como consecuencia del aumento de proteínas

desnaturadas por condiciones de estrés, siendo no reflejado en los celomocitos atípicos que expresan la proteína HSP70 .

También a partir de la evaluación del sistema inmune innato de *S. neumayeri* fue posible obtener dos secuencias parciales para genes, no descritos para el erizo Antártico, como NF-kappa B que aparentemente es constitutiva y cualitativamente no inducible; se obtuvo una secuencia de 399 pb el que es 93% similar al dominio Rel de la proteína NF-kappa B de *Strongylocentrotus purpuratus*. Y el otro caso fue Toll, que si mostró una tendencia a sobreexpresarse después de la inyección con *V. anguillarum*, sin embargo no fue significativa, y presentó una homología de un 86% aproximadamente con los receptores Toll de *S. purpuratus* con TLR 4 en el tracto digestivo y órgano axial, y TLR 1 en los celomocitos; lo que confirmaría la diversidad de estos receptores en el grupo equinoidea.

En conclusión este estudio aportó en la comprensión de las respuestas a condiciones estresantes, siendo bastante útil para el descubrimiento de nuevas moléculas e incluso en el entendimiento de los mecanismos regulatorios de organismo que habitan ambientes fríos.

