

	GESTIÓN DE RECURSOS Y SERVICIOS BIBLIOTECARIOS	Código	1610639
	ESQUEMA HOJA DE RESUMEN		Página

## RESUMEN TRABAJO DE GRADO

### AUTOR(ES): NOMBRES Y APELLIDOS COMPLETOS

**NOMBRE(S):** FREDDY ARMANDO **APELLIDOS:** PEÑARANDA FIGUEREDO

### FACULTAD:

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE

### PLAN DE ESTUDIOS:

INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

### DIRECTOR:

**NOMBRE(S):** VERÓNICA MABEL **APELLIDOS:** COCERES

### TÍTULO DEL TRABAJO (TESIS):

ESTUDIO PROTEÓMICO DEL SECRETOMA DEL PARÁSITO *Tritrichomonas foetus* Y POSTULACIÓN DE POSIBLES INMUNÓGENOS MEDIANTE ANÁLISIS BIOINFORMÁTICOS

### RESUMEN

La liberación de proteínas al espacio extracelular forma parte del mecanismo utilizado por muchos organismos patógenos extracelulares, entre los que se encuentra *Tritrichomonas foetus*, para ejercer daño en las células hospedadoras y aumentar el tiempo de prevalencia de las enfermedades que causan. Algunas de estas exoproteínas de *T. foetus*, han sido relacionadas en trabajos publicados previamente con la adhesión, colonización, toxicidad y evasión de la respuesta inmune; procesos que forman parte de la patogénesis de este protozoo. En este contexto las proteínas secretadas también se han convertido en una alternativa de estudio enfocado en el hallazgo de potenciales candidatos para el desarrollo de vacunas.

En el presente trabajo identificamos el proteoma del secretoma de *T. foetus* mediante la utilización de la técnica MudPIT y postulamos posteriormente mediante análisis bioinformático las proteínas: carbamato quinasa, proteína con repeticiones ricas en leucina familia BspA, proteína Clan MH, la familia M20, peptidasa T-like metalopeptidasa, y las proteínas hipotéticas conservadas TVAG\_038420 y TVAG\_293660 como potenciales inmunógenos para el desarrollo de vacunas

**PALABRAS CLAVE:** Secretoma, *Tritrichomona foetus*, Bioinformática e Inmunógenos

### CARACTERÍSTICAS:

PÁGINAS: 179 PLANOS: 0 ILUSTRACIONES: 7 CD ROOM: 1

Elaboró		Revisó		Aprobó	
Equipo Operativo del Proceso		Comité de Calidad		Comité de Calidad	
<b>Fecha</b>	24/10/2014	<b>Fecha</b>	05/12/2014	<b>Fecha</b>	05/12/2014

ESTUDIO PROTEÓMICO DEL SECRETOMA DEL PARÁSITO *Tritrichomonas foetus* Y  
POSTULACIÓN DE POSIBLES INMUNÓGENOS MEDIANTE ANÁLISIS  
BIOINFORMÁTICOS

FREDDY ARMANDO PEÑARANDA FIGUEREDO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
CÚCUTA

2016

ESTUDIO PROTEÓMICO DEL SECRETOMA DEL PARÁSITO *Tritrichomonas foetus* Y  
POSTULACIÓN DE POSIBLES INMUNÓGENOS MEDIANTE ANÁLISIS  
BIOINFORMÁTICOS

FREDDY ARMANDO PEÑARANDA FIGUEREDO

Trabajo de grado presentado para optar por el título de  
Ingeniero Biotecnológico

Directora:

Veronica Mabel Coceres

Médica Veterinaria, Ph.D en Biología Molecular y Biotecnología

Co Directora:

Natalia de Miguel

Bioquímica, Ph.D en Biología Molecular y Biotecnología

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE  
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA  
CÚCUTA

2016

**ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO**

**FECHA:** 5 DE FEBRERO DE 2016

**HORA:** 08:00 A.M.

**LUGAR:** SALA LE 101 EDIFICIO LABORATORIO EMPRESARIAL

**PLAN DE ESTUDIOS:** INGENIERIA BIOTECNOLÓGICA

**TITULO:** "ESTUDIO PRÓTEOMICO DEL SECRETOMA DEL PARÁSITO *Trichostrongylus axei* Y POSTULACIÓN DE POSIBLES INMUNÓGENOS MEDIANTE ANÁLISIS BIOINFORMÁTICOS"

**MODALIDAD:** INVESTIGACIÓN

**JURADO:** LILIANA YANETH SUÁREZ CONTRERAS  
MAYRA CONTRERAS ROJAS  
JUAN CARLOS RAMÍREZ BERMÚDEZ

**DIRECTOR:** VERÓNICA MABEL COCERÉS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES BIOTECNOLÓGICAS -  
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE CHASCOMÚS, ARGENTINA (IIB -  
INTECH)

NOMBRE DEL ESTUDIANTE	CODIGO	CALIFICACION
FREDDY ARMANDO PEÑARANDA FIGUEROA	1610639	4,7

**OBSERVACIONES:**  
MERITORIO

**FIRMA DE LOS JURADOS:**

Juan Y. Suarez      Mayra Contreras      [Firma]

Vo.Bo. Coordinador Comité Curricular

[Firma]

## RESUMEN

La liberación de proteínas al espacio extracelular forma parte del mecanismo utilizado por muchos organismos patógenos extracelulares, entre los que se encuentra *Tritrichomonas foetus*, para ejercer daño en las células hospedadoras y aumentar el tiempo de prevalencia de las enfermedades que causan. Algunas de estas exoproteínas de *T. foetus*, han sido relacionadas en trabajos publicados previamente con la adhesión, colonización, toxicidad y evasión de la respuesta inmune; procesos que forman parte de la patogénesis de este protozoo. En este contexto las proteínas secretadas también se han convertido en una alternativa de estudio enfocado en el hallazgo de potenciales candidatos para el desarrollo de vacunas.

En el presente trabajo identificamos el proteoma del secretoma de *T. foetus* mediante la utilización de la técnica MudPIT y postulamos posteriormente mediante análisis bioinformático las proteínas: carbamato quinasa, proteína con repeticiones ricas en leucina familia BspA, proteína Clan MH, la familia M20, peptidasa T-like metalopeptidasa, y las proteínas hipotéticas conservadas TVAG\_038420 y TVAG\_293660 como potenciales inmunógenos para el desarrollo de vacunas

## AGRADECIMIENTOS

*En primera instancia a Dios todo poderoso, por las bendiciones recibidas; y a quien dedico este nuevo logro ya que él ha permitido en su infinita bondad que yo escale los peldaños hasta ahora alcanzados en este recorrer de la vida.*

*A mi madre, por todo su amor, dedicación y lucha; quien día tras día me forjó en valores y expuso su mayor esfuerzo para permitirme la oportunidad de formarme como profesional. Y a quien no me alcanzará la vida para agradecerle y retribuirle todo lo que ha hecho por mí.*

*A mi hermano por su constante acompañamiento y respaldo en todas las decisiones que he tomado y han marcado mi vida.*

*A la Dra. Verónica Coceres, por la capacitación que recibí de su parte; por haber dispuesto de su tiempo, conocimientos, trabajo y compromiso en el desarrollo de esta investigación. Y ser promotora de una gran experiencia para mí, como lo fue compartir con la cultura Argentina.*

*A la Dra. Natalia de Miguel por ser partícipe en este proyecto mediante el aporte de sus conocimientos y experiencias, muy valiosos para el proyecto y para mi formación.*

*Al Instituto de Investigaciones Biotecnológicas (IIB-INTECH), por haber sido parte en mi formación como profesional y permitirme el provechamiento de sus instalaciones, equipos y residencia.*

*Y mi alma Mater UFPS, que me capacitó como Ingeniero Biotecnológico y a la que siempre  
llevare con orgullo a donde quiera que vaya*

## TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	1
1. PROBLEMA.....	5
1.1. TÍTULO .....	5
1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
1.3. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	7
1.4. JUSTIFICACIÓN.....	7
1.5. OBJETIVOS.....	10
1.5.1. Objetivo general .....	10
1.5.2. Objetivos específicos.....	10
1.6. ALCANCES Y LIMITACIONES .....	11
1.6.1. Los alcances.....	11
1.6.2. Limitaciones .....	12
1.7. DELIMITACIONES .....	13
1.7.1. Delimitación espacial .....	13
1.7.2. Delimitación temporal .....	13
1.7.3. Delimitación conceptual.....	14
2. MARCO REFERENCIAL .....	15
2.1. ANTECEDENTES.....	15
2.2 MARCO TEÓRICO.....	22
2.2.1. <i>Tritrichomonas foetus</i> : diferencias en el establecimiento de la infección en los bovinos machos y hembras.....	22
2.2.2. Proteínas de secreción .....	23



2.2.3. Proteínas hasta ahora descritas que intervienen en la patogénesis de <i>Tritrichomonas foetus</i> .....	25
2.2.4. Identificación de genes mediante espectrometría de masas .....	28
2.2.5. La vacunología inversa.....	29
2.3 MARCO CONCEPTUAL.....	30
2.3.1. Tritrichomonosis bovina.....	30
2.3.2. <i>Tritrichomonas foetus</i> .....	31
2.3.3. Proteómica .....	32
2.3.4. Secretoma o exoproteoma .....	33
2.3.5. Espectrometría de masas .....	33
2.3.6. MudPIT.....	33
2.3.7. Análisis de secuencias .....	34
2.3.8. Ontología de genes .....	34
2.3.9. Vías de secreción de proteínas.....	35
2.3.10. Determinante antigénico o epítipo .....	36
2.3.11. Antígeno .....	36
2.3.12. Inmunógeno .....	37
2.3.13. Vacuna.....	37
2.3.14. Transportador asociado a procesamiento de antígenos (TAP) .....	38
2.3.15. Complejo mayor de histocompatibilidad.....	38
2.3.16. Células T y B .....	39
2.3.17. Presentación antigénica .....	40
2.3.18. Vacunología clásica y vacunología inversa.....	41
2.4 MARCO CONTEXTUAL .....	44
2.5 MARCO LEGAL.....	44

3. DISEÑO METODOLÓGICO.....	48
3.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	48
3.2 POBLACIÓN Y MUESTRA.....	49
3.2.1. Población.....	49
3.2.2. Muestra.....	49
3.3 HIPÒTESIS.....	50
3.4 VARIABLES.....	50
3.4.1. Variables dependientes.....	50
3.4.2. Variables independientes.....	51
3.5 FASES DE LA INVESTIGACIÓN.....	51
3.5.1. Ensayo de secreción.....	51
3.5.2. Análisis de proteínas por espectrometría de masas.....	52
3.5.3. Identificación de las proteínas.....	52
3.5.4. Organización de la información.....	53
3.5.5. Ontología génica.....	53
3.5.6. SecretomeP 2.0 y signalP 4.1.....	54
3.5.7. TMHMM.....	54
3.5.8. Filtración de proteínas ribosomales.....	55
3.5.9. Determinación de la homología de las proteínas seleccionadas con proteínas de los genomas del Homo sapiens y Bos taurus.....	55
3.5.10. TAPPred.....	56
3.5.11. Rankpep e IPD-MHC.....	56
3.5.12. CTLPred.....	57
3.5.13. ABCpred.....	58
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	59

4.1 Preparación de soluciones .....	59
4.2 Preparación de medio de cultivo “Diamond” para <i>trichomonas</i> .....	60
4.3 Congelado de parásitos.....	60
4.4 Descongelado de parásitos .....	60
4.5 Cultivos de parásitos .....	61
4.6 Ensayo de secreción .....	61
4.7 Preparación de las muestras para <i>Western blot</i> .....	62
4.8 SDS-PAGE.....	63
4.9. <i>Western Blot</i> o inmunoblot.....	64
4.10. Separación por MudPIT e identificación de proteínas por espectrometría de masas..	65
4.11. Generación del formato multifasta.....	66
4.12. Ontología de genes .....	66
4.13. Identificación de manera <i>in silico</i> de proteínas secretadas .....	67
4.14. Identificación de dominios transmembrana .....	68
4.15. Selección de proteínas .....	68
4.16. Análisis de péptidos de unión a MHC I y MHC II .....	70
4.17. Predicción de péptidos de unión a proteínas transportadoras .....	70
4.18. Predicción de péptidos de unión a células T .....	71
4.19. Predicción de péptidos de unión a células B mediante ABCPred.....	72
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	74
5.1 Obtención de las proteínas secretadas .....	74
5.2 Control de lisis .....	75
5.3 Organización de la información .....	77
5.4 Bibliográfica sobre algunas proteínas que fueron identificadas en el secretoma de <i>T. foetus</i> . .....	79

5.5 Ontología de genes GO .....	82
5.6 Selección de inmunógenos mediante análisis bioinformáticos .....	86
CONCLUSIONES .....	95
RECOMENDACIONES .....	96
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	97