

NBC

Unidad de diseño y síntesis de péptidos:

Hace parte de la división en la que se desarrollan proyectos de investigación y desarrollo.

Tiene básicamente dos áreas de desarrollo

Diseño y análisis bioinformático.

Los péptidos sintéticos tienen un amplio campo de aplicación y en investigación existen muchas áreas en las cuales son valiosas herramientas. El diseño de una secuencia adecuada para una aplicación determinada es un paso importante. Aunque existe la posibilidad de diseñar secuencias *de novo*, es más común utilizar secuencias derivadas de proteínas que se presentan de manera natural, ya sea como parte de una proteína de interés, o modificada partir de otras secuencias para mejorar una actividad determinada.

La Bioinformática es una disciplina que hace un gran aporte en esta tarea y actualmente es posible realizar muchos análisis *in silico*, antes de implementar la parte experimental, ganando tanto en tiempo como en inversión al enfrentar un estudio que involucre péptidos.

Existen actualmente muchos recursos bioinformáticos en la red, desde bases de datos (Genbank, EMBL), hasta software para diversos análisis; por lo que el uso adecuado y eficiente de estos recursos se vuelve una parte importante en la fase inicial de diseño de péptidos como herramientas en investigación.

Síntesis química de péptidos y su caracterización.

El laboratorio tiene amplia experiencia en la síntesis química de péptidos utilizando la estrategia Fmoc (Guzmán et al 2007).

En el laboratorio se encuentra implementada tanto la síntesis manual, ya sea utilizando la metodología de "bolsas de te" para la síntesis simultánea de múltiples secuencias, o individual pro reactores, o utilizando el sintetizador automático de péptidos Liberty Blue (CEM Corporation) que hace parte del equipamiento con que cuenta la unidad.

La caracterización inicial de los péptidos se realiza por cromatografía líquida de alta resolución, (HPLC) y espectrometría de masas, para lo cual se cuenta con un equipo HPLC JASCO system (JASCO Corp., Tokyo, Japan) y un espectrómetro de masas (ESI-MS) LCMS-2020 ESI-MS (Shimadzu Corp., Kyoto, Japan).

Adicionalmente la Unidad cuenta con un espectrometro de dicroísmo circular JASCO J-815 CD 265 (Jasco Corp., Tokyo, Japan) para estudios de estructura secundaria y un calorímetro diferencial de barrido DSC1 (Mettler Toledo, Switzerland) con un sensor de alta sensibilidad HSS8 y una unidad de enfriamiento Huber TC45 (Offenburg, Germany)

La unidad ha estado involucrada en diferentes proyectos:

1. Fondecyt regular: "Structure and function relationship of short cationic peptides with antimicrobial activity" IR Fanny Guzmán. 2010-2012

2. Corfo I+D L2: "Péptidos antimicrobianos de bacterias antárticas síntesis y optimización para el control de bacterias patógenas en alimentos" IR Sergio Marshall. 2012-2015
3. Corfo I+D L3: "Péptidos Sintéticos Diseñados y Dirigidos contra el Ensamblaje del Virus de la Necrosis Pancreática". Infecciosa IPNV IR Constanza Cárdenas. 2012-2013.
4. Fondecyt regular: "Polyproline II Antimicrobial Peptides. Using a Sequence Template as a Guide to Establish Structure-Activity Relationship" IR Fanny Guzmán. 2014-2016
5. Fondecyt posdoc Paula Santana "First evidence of the Kinocidine antimicrobial function of the Y-core motif and the alpha-helix domain of salmonid interleukin 8 in specific biological contexts". Patrocinadora Fanny Guzmán. 2015-2017
6. Fondecyt posdoc Claudio Andrés Alvarez. "Isolation, characterization and synthesis of cyclotides extracted from medicinal plants of Chile with potential therapeutic use" Patrocinadora Fanny Guzmán. 2016-2018.
7. Fondecyt posdoc Johana Gomez "Design, synthesis, characterization and evaluation of bioorganometallic compounds based on therapeutic peptides" Patrocinadora Fanny Guzmán. 2017-2020
8. Fondecyt posdoc Nicolas Ojeda "Role of C-Type Lectin Receptors in the infective process of *Salmo salar* by the Infectious Salmon Anemia Virus: implications for strain-specific virulence and fish susceptibility" Patrocinadora Constanza Cárdenas, 2018-2020.
9. Fondecyt regular: "First approach for purification and characterization of antimicrobial peptides (AMPS) from microalgae" IR Fanny Guzmán. 2017-2020.

La unidad organiza el workshop de péptidos terapéuticos para bioaplicaciones desde el año 2016, con su tercera version en agosto de 2019. Este taller reúne investigadores y estudiantes, tanto chilenos como internacionales, como una instancia para compartir los trabajos desarrollados en el area y establecer redes de información y colaboración.

Algunas publicaciones relevantes:

- Riveros AL, Eggeling C, Riquelme S, Adura C, López-Iglesias C, Guzmán F, Araya E, Almada M, Juárez J, Valdez MA, Fuentevilla IA, López O, Kogan MJ. Improving Cell Penetration of Gold Nanorods by Using an Amphipathic Arginine Rich Peptide. *Int J Nanomedicine*. 2020 Mar 17;15:1837-1851. doi: 10.2147/IJN.S237820.
- Prada-Prada S, Flórez-Castillo J, Farfán-García A, Guzmán F, Hernández-Peñaranda I. Antimicrobial activity of Ib-M peptides against *Escherichia coli* O157: H7. *PLoS One*. 2020 Feb 13;15(2):e0229019. doi: 10.1371/journal.pone.0229019.
- Portuondo DL, Dores-Silva PR, Ferreira LS, de Oliveira CS, Téllez-Martínez D, Marcos CM, de Aguiar Loesch ML, Guzmán F, Gava LM, Borges JC, Pereira SA, Batista-Duharte A, Carlos IZ. Immunization with recombinant enolase of *Sporothrix* spp. (rSsEno) confers effective protection against sporotrichosis in mice. *Sci Rep*. 2019 Nov 20;9(1):17179. doi: 10.1038/s41598-019-53135-z.

- León R, Ruiz M, Valero Y, Cárdenas C, Guzman F, Vila M, Cuesta A. Exploring small cationic peptides of different origin as potential antimicrobial agents in aquaculture. *Fish Shellfish Immunol.* 2020 Mar;98:720-727. doi: 10.1016/j.fsi.2019.11.019.
- Valero Y, Arizcun M, Cortés J, Ramírez-Cepeda F, Guzmán F, Mercado L, Esteban MÁ, Chaves-Pozo E, Cuesta A. NK-lysin, dicentracin and hepcidin antimicrobial peptides in European sea bass. Ontogenetic development and modulation in juveniles by nodavirus. *Dev Comp Immunol.* 2020 Feb;103:103516. doi: 10.1016/j.dci.2019.103516.
- Prada YA, Guzmán F, Ortíz C, Cabanzo R, Torres R, Mejía-Ospino E. New Synthetic Peptides Conjugated to Gold Nanoclusters: Antibiotic Activity Against *Escherichia coli* O157:H7 and Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Protein J.* 2019 Oct;38(5):506-514. doi: 10.1007/s10930-019-09840-9.
- Guzmán F, Wong G, Román T, Cárdenas C, Álvarez C, Schmitt P, Albericio F, Rojas V. Identification of Antimicrobial Peptides from the Microalgae *Tetraselmis suecica* (Kyllin) Butcher and Bactericidal Activity Improvement. *Mar Drugs.* 2019 Aug 1;17(8):453. doi: 10.3390/md17080453.
- Ojeda N, Cárdenas C, Marshall S. Interaction of the Amino-Terminal Domain of the ISAV Fusion Protein with a Cognate Cell Receptor. *Pathogens.* 2020;9(6):E416. Published 2020 May 27. doi:10.3390/pathogens9060416
- Cárdenas C, Ojeda N, Labra Á, Marshall SH. Molecular features associated with the adaptive evolution of Infectious Salmon Anemia Virus (ISAV) in Chile. *Infect Genet Evol.* 2019;68:203-211. doi:10.1016/j.meegid.2018.12.028
- Álvarez CA, Santana PA, Luna O, Cárdenas C, Albericio F, Romero MS, Guzmán F. Chemical Synthesis and Functional Analysis of VarvA Cyclotide. *Molecules.* 2018 Apr 19;23(4):952. doi: 10.3390/molecules23040952.

Participación en trabajos de tesis en el programa DBT PUCV-UTFSM

Tesis Suleivys Nuñez “Funcionalidad tecnológica de colágeno hidrolizado identificación de péptidos con capacidad de retención de agua” Constanza Cárdenas Cotutora. 2020

Tesis Nicolás Ojeda “Estudio del mecanismo de fusión del virus ISA a la célula: influencia de la región HPR de HE, rol de la proteína F1 y desarrollo de péptidos interferentes”. Constanza Cárdenas Cotutora. Finalizada 2016

Tesis Alvaro Sequeira: “Aplicación de efectores del tipo activadores de la transcripción (TALE) para el incremento de la expresión de IL-8 en un modelo celular de infección con *Piscirickettsia salmonis*”. Constanza Cárdenas Cotutora. Finalizada 2016

Tesis Dina Beltrán: “Uso de la fracción deacilsaponina 1 (DS-1) de quillay saponaria como un sistema de liberación del péptido inmunomodulador hepcidina 20 en la

administración oral a trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*)” Fanny Guzmán Cotutora. 2019

Tesis Monica Aróstica: “Péptidos antimicrobianos derivados de Catelicidina de trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) mejorados contra *Piscirickettsia salmonis*” Fanny Guzmán Cotutora. 2018

Tesis Adriana Gauna “Formulación de un revestimiento resistente al agua inspirado en la adhesión de los mejillones del género *Mytilus*” Directora. 2016

Tesis Ivonne Bartsch. “Establecimiento de un modelo in vitro para demostrar el uso de péptidos como una innovadora alternativa para el control de la obesidad” Fanny Guzmán Cotutora 2016