

**PLANTILLA OFICIAL PARA LA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS II CONVENCIÓN
CIENTÍFICA INTERNACIONAL "II CCI UCLV 2019"**

**DEL 23 AL 30 DE JUNIO DEL 2019.
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.**

COMISIÓN II: VII CONFERENCIA "CIENCIAS QUÍMICAS"

**Un triple mutante de la toxina Sticholysina II, probablemente incapaz de
interactuar con membranas lipídicas**

*A triple mutant of the toxin Sticholysin II, probably unable of interacting with
lipid membranes*

**Ada Laura Rivero Hernández¹, Felipe Adonis Escalona Rodríguez², Mario Ernesto Valdés
Tresanco³, Yadira de la Patria Hervis Valdés⁴, Uris Ross Quincoces⁵, Belinda Sánchez
Ramírez⁶, María Eliana Lanio Ruiz⁷, Fabiola Pazos Santos⁸**

1- Ada Laura Rivero Hernández. Departamento de Bioquímica, Facultad de Biología, Universidad
de La Habana, Cuba. E-mail: ada.rivero@fbio.uh.cu

2- Felipe Adonis Escalona Rodríguez. Centro de Estudio de Proteínas, Facultad de Biología,
Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: felipe@fbio.uh.cu

3- Mario Ernesto Valdés Tresanco. Centro de Estudio de Proteínas, Facultad de Biología,
Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: mevaldes@fbio.uh.cu

4- Yadira de la Patria Hervis Valdés. Centro de Estudio de Proteínas, Facultad de Biología,
Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: patria@fbio.uh.cu

5- Uris Ross Quincoces. Interfaculty Institute of Biochemistry, Universidad de Tübingen,
Alemania. E-mail: urislianne@gmail.com

6- Belinda Sánchez Ramírez. Dirección de Inmunología Tumoral, Centro de Inmunología
Molecular, Cuba. E-mail: belinda@cim.sld.cu

**PLANTILLA OFICIAL PARA LA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS II CONVENCION
CIENTÍFICA INTERNACIONAL “II CCI UCLV 2019”**

**DEL 23 AL 30 DE JUNIO DEL 2019.
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.**

7- María Eliana Lanio Ruiz. Centro de Estudio de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: mlanio@fbio.uh.cu

8- Fabiola Pazos Santos. Centro de Estudio de Proteínas, Facultad de Biología, Universidad de La Habana, Cuba. E-mail: fpazos@fbio.uh.cu

Resumen:

- **Problemática:** StII, proteína formadora de poros de la anémona *Stichodactyla heliantus*, co-encapsulada en liposomas con ovoalbúmina, ha sido explorada como candidato vacunal para potenciar la respuesta citotóxica de linfocitos T antígeno-específica. La capacidad para estimular dicha respuesta parece no depender de la capacidad formadora de poros y sí de la activación de TLR4 en las células presentadoras de antígeno, lo que pudiera deberse a una interacción directa o a cascadas de señalización desencadenadas por su unión a la membrana lipídica. La disponibilidad de un mutante de StII con capacidad de unión a membranas lipídicas limitada podría ayudar a profundizar en este fenómeno.
- **Objetivos:** Caracterizar conformacional y funcionalmente el mutante StII W110.114A_Y111A (StII3A).
- **Metodología:** Con vistas a la caracterización estructural, se evaluó la emisión de fluorescencia de los triptófanos en solución y su atenuación por acrilamida. Para la caracterización funcional, se evaluó la actividad hemolítica frente a eritrocitos humanos, la interacción con monocapas lipídicas de composición palmitoil-oleil-fosfatidilcolina (POPC): esfingomiélin (SM) 85:15 y POPC:SM:colesterol 1:1:1 y la unión a liposomas de igual composición mediante ensayos de fluorescencia de los triptófanos.
- **Resultados y Discusión:** StII3A alcanzó el valor máximo de emisión de fluorescencia de los triptófanos a una menor longitud de onda y con menor intensidad, no se insertó en

PLANTILLA OFICIAL PARA LA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS II CONVENCIÓN
CIENTÍFICA INTERNACIONAL “II CCI UCLV 2019”

DEL 23 AL 30 DE JUNIO DEL 2019.
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.

monocapas ni se unió a liposomas de las composiciones lipídicas evaluadas y no mostró actividad hemolítica.

- **Conclusiones:**

- ✓ StII3A exhibe una conformación similar a la de la proteína salvaje.
- ✓ StII3A no se une a membranas lipídicas de composición POPC:SM 85:15 y POPC:SM:colesterol 1:1:1.
- ✓ StII3A no presenta actividad formadora de poros.

Abstract:

- **Problem:** *StII, a pore-forming protein (PFP) from the anemone Stichodactyla heliantus, co-encapsulated in liposomes with ovalbumin, has been explored as a vaccine candidate to enhance antigen-specific cytotoxic T lymphocyte (CTL) response. The capacity to stimulate such response seems not to depend on the pore-forming activity, but on the activation of TLR4 in the antigen-presenting cells, which may be due to a direct interaction or to signaling cascades triggered by its binding to the lipid membrane. The availability of a StII mutant with limited capacity of binding to lipid bilayers could help to deepen into this phenomenon.*
- **Objectives:** *To conformationally and functionally characterize the mutant StII W110.114A_Y111A (StII3A).*
- **Methodology:** *With a view to the structural characterization, it was assessed the fluorescence emission of tryptophan in solution and its attenuation by acrylamide. For the functional characterization, it was evaluated the hemolytic activity against human erythrocytes, the interaction with lipid monolayers of palmitoyl-oleyl-phosphatidylcholine*

**PLANTILLA OFICIAL PARA LA PRESENTACIÓN DE TRABAJOS II CONVENCION
CIENTÍFICA INTERNACIONAL “II CCI UCLV 2019”**

**DEL 23 AL 30 DE JUNIO DEL 2019.
CAYOS DE VILLA CLARA. CUBA.**

(POPC): sphingomyelin (SM) 85:15 and POPC: SM: cholesterol 1:1:1 composition and the binding to liposomes of the same composition by tryptophan fluorescence assays.

- **Results and Discussion:** *StII3A achieved the tryptophan fluorescence emission maximum value at a lower wavelength and with a lower intensity, did not insert into monolayers neither bind to liposomes of the evaluated lipid compositions and did not show hemolytic activity.*
- **Conclusions:**
 - ✓ *StII3A exhibits a similar conformation to that of the wild-type protein.*
 - ✓ *StII3A does not bind to lipid membranes of POPC:SM 85:15 and POPC:SM:cholesterol 1:1:1 composition.*
 - ✓ *StII3A does not have pore-forming activity.*

Palabras claves: Proteína Formadora de Poros; Sticholysina II; Interacción Proteína-Membrana.

Keywords: *Pore-forming Protein; Sticholysin II; Protein-Membrane Interaction.*