

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA
FACULTAD DE CIENCIAS**



**“BÚSQUEDA DE OLIGOPÉPTIDOS ALEATORIOS CON
CAPACIDAD FOTOPROTECTORA EN *Saccharomyces cerevisiae*”**

Presentada por:

JOSHELIN HUANCA JUAREZ

Tesis para optar el título profesional de:

BIÓLOGA

Lima- Perú

2020

La UNALM es la titular de los derechos patrimoniales de la presente investigación

(Art. 24. Reglamento de Propiedad Intelectual)

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA

LA MOLINA

FACULTAD DE CIENCIAS

**“BÚSQUEDA DE OLIGOPÉPTIDOS ALEATORIOS CON
CAPACIDAD FOTOPROTECTORA EN *Saccharomyces cerevisiae*”**

Presentada por:

JOSHELIN HUANCA JUAREZ

Tesis para optar el título profesional de:

BIÓLOGA

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

Dra. Ilanit Samolski Klein

PRESIDENTE

Ph.D. Ada del Pilar Aliaga Rota

MIEMBRO

M.Cs. Yvette Ludeña Hinojosa

MIEMBRO

Ph.D. Ana Akemi Kitazono Sugahara

ASESORA

RESUMEN

Los altos niveles de radiación, el riesgo de contaminación de mares y ríos, y la poca seguridad que otorgan algunos activos presentes en los bloqueadores solares han dado lugar a la búsqueda de nuevos componentes fotoprotectores que los reemplacen. El presente trabajo tuvo como objetivo principal el encontrar oligopéptidos con capacidad fotoprotectora a partir de una biblioteca de plásmidos que permite la síntesis de oligopéptidos aleatorios, construida mediante clonaje *in vivo* en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Para la construcción de la biblioteca primero se obtuvieron los fragmentos aleatorios mediante PCR, los cuales fueron insertados en el plásmido de expresión pEGH. Para el clonaje *in vivo*, una cepa de *S. cerevisiae* sensible a radiación UV fue cotransformada con el plásmido linealizado y los productos de PCR. Las colonias transformantes fueron luego tamizadas mediante tratamiento con radiación UVB. Aquellas colonias que mostraron mayor resistencia fueron seleccionadas y los plásmidos respectivos fueron extraídos, purificados y analizados. Luego de verificar la actividad fotoprotectora conferida se seleccionaron tres plásmidos, los cuales fueron secuenciados. Las secuencias deducidas de aminoácidos de los tres oligopéptidos mostraron la presencia de varios residuos aromáticos o que incluyen azufre, los mismos que presentan altas absorptividades en el rango UV.

Palabras clave: clonaje *in vivo*, biblioteca de plásmidos, radiación UV, fotoprotección.

ABSTRACT

The high radiation levels on one side and on the other, the risk of pollution of seas and rivers, and the possible safety hazard of some sunscreen compounds have motivated the search for new types of substances that offer photoprotection. The present work aimed at finding oligopeptides with photoprotective capacity using a plasmid library that allows production of random oligopeptides. The library was constructed using the *in vivo* cloning method in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. For the construction of the library, the random fragments were first obtained by PCR, and then inserted into the expression plasmid pEGH. For the *in vivo* cloning, an *S. cerevisiae* strain that is sensitive to UV radiation was co-transformed with both products. The transformed colonies were screened following their resistance levels towards UVB irradiation. The colonies that showed increased resistance were selected, and the respective plasmids were extracted, purified and analyzed. After verifying their photoprotective capacities, three plasmids were selected, and submitted to nucleotide sequencing analysis. The inferred amino acid sequences showed that all oligopeptides included a few aromatic or sulfur-containing residues that present high absorptivities in the UV range.

Key words: *in vivo* cloning, plasmid library, UV radiation, photoprotection.