

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA**

**LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**



**“TAMIZADO GENÉTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN  
DE OLIGOPÉPTIDOS DE SECUENCIAS SEMIALEATORIAS  
QUE CONFIEREN RESISTENCIA A HIERRO EN  
*Saccharomyces cerevisiae*”**

Presentada por:

**ALONDRA IBRIZA BADILLO ACUÑA**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGA**

Lima – Perú

**2021**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA  
LA MOLINA**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**“TAMIZADO GENÉTICO PARA LA IDENTIFICACIÓN  
DE OLIGOPÉPTIDOS DE SECUENCIAS SEMIALEATORIAS  
QUE CONFIEREN RESISTENCIA A HIERRO EN  
*Saccharomyces cerevisiae*”**

Presentada por:

**ALONDRA IBRIZA BADILLO ACUÑA**

Tesis para Optar el Título Profesional de:

**BIÓLOGA**

Sustentada y aprobada por el siguiente jurado:

---

Mg.Sc. Patricia Angélica Moreno Díaz de Saco  
PRESIDENTE

---

Dra. Ada del Pilar Aliaga Rota  
MIEMBRO

---

Mg.Sc. Yvette Ludeña Hinojosa  
MIEMBRO

---

Dra. Ana Akemi Kitazono Sugahara  
ASESORA

## RESUMEN

La alta prevalencia de anemia a nivel mundial en infantes, mujeres embarazadas y mujeres en edad fértil; así como la falta de suplementos con alta biodisponibilidad de hierro ha conducido a la búsqueda de alternativas de suplementación. En este sentido, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* es una candidata atractiva debido a su uso extendido como suplemento nutricional, por su elevado contenido de vitaminas del complejo B. Sin embargo, para incrementar el contenido de hierro en las células de levadura, es esencial incrementar simultáneamente su resistencia al metal. Este trabajo tiene como objetivo identificar oligopéptidos que confieren resistencia a hierro, mediante el tamizado de una biblioteca de plásmidos que permite la síntesis de oligopéptidos semialeatorios. Para la construcción de la biblioteca, los oligonucleótidos semialeatorios fueron obtenidos por PCR, y posteriormente fueron clonados en el plásmido p416GPD en la cepa de levadura sensible a hierro *Δccc1*, usando la estrategia de clonación *in vivo*. Las colonias resistentes de transformantes de levadura fueron seleccionadas mediante siembra en medio sólido que contenía cloruro de hierro. Se seleccionaron las colonias más resistentes para la extracción de plásmidos, purificación y análisis de secuencia de nucleótidos. Se dedujeron las secuencias de aminoácidos de cada uno de los oligopéptidos codificados y su comparación permitió identificar una secuencia consenso, que potencialmente podría promover una mayor especificidad en la formación del complejo péptido-hierro.

**Palabras clave:** clonación *in vivo*, péptidos quelantes, anemia, biblioteca de plásmidos

## ABSTRACT

The high worldwide prevalence of anemia in infants, pregnant women and women of reproductive years; and the lack of supplements with high iron bioavailability have led to the search for alternatives. In this regard, the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is an attractive candidate because it is widely used as a nutritional supplement because of its high vitamin B content. However, in order to increase the iron content in yeast cells it is essential to simultaneously increase its resistance to the metal. This work aims at identifying oligopeptides that confer iron resistance, through the screening of a plasmid library that allows synthesis of semi-random oligopeptides. For the library construction, the semi-random oligonucleotides were first obtained by PCR and then cloned into the plasmid p416GPD in the iron-sensitive yeast strain  $\Delta ccc1$ , using an *in vivo* cloning strategy. The resistant transformant yeast colonies were selected through plating on solid medium containing iron chloride. The most resistant colonies were selected for plasmid extraction, purification, and nucleotide-sequence analysis. The amino acid sequences of each of the encoded oligopeptides were deduced and their comparison allowed identification of a consensus sequence, which could potentially promote greater specificity in the formation of the peptide-iron complex.

**Keywords:** *in vivo* cloning, chelating peptides, anemia, plasmid library