



## II Micro-simposio Interinstitucional de Microbiología

<http://doi.org/10.5281/zenodo.7558177>

### Identificación de genes regulados por el sistema CpxAR en *Serratia marcescens*

Samantha A. Barahona<sup>1,2</sup>, K. Lizeth DeAnda<sup>1</sup>, Faviola Tavares-Carreón<sup>2</sup> y Angel Andrade<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Nuevo León. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León. Correo-electrónico: samantha.bg04@gmail.com

Los sistemas de dos componentes (TCS, por sus siglas en inglés) son mecanismos de señalización utilizados por las bacterias para regular la expresión diferencial de múltiples genes. El sistema CpxAR es un TCS conservado cuya función se ha relacionado principalmente con la respuesta al estrés de envoltura, sin embargo, también se ha reportado que contribuye en la regulación de genes de virulencia y de resistencia a antibióticos en bacterias de importancia clínica. *Serratia marcescens* es un patógeno emergente que ha cobrado relevancia durante las últimas décadas debido al incremento en el número de infecciones y la letalidad de las mismas, aspecto asociado con la multi-resistencia intrínseca de esta bacteria. A la fecha se conoce muy poco sobre el sistema CpxAR de *S. marcescens* y los genes regulados por este TCS, no obstante, los antecedentes sugieren que la secuencia de DNA que reconoce CpxR se encuentra conservada entre bacterias relacionadas. Con el objetivo de identificar los posibles genes regulados por el sistema CpxAR en *S. marcescens* en este proyecto se utilizaron 2 motivos consenso a partir de secuencias de unión de CpxR previamente reportadas, estos 2 motivos se utilizaron para analizar el genoma de *S. marcescens* mediante el programa FIMO. La curación manual de los resultados obtenidos arrojó un total de 92 (motivo 1) y 109 (motivo 2) posibles genes blanco de CpxR en *S. marcescens*. Para validar experimentalmente la predicción de sitios de unión de CpxR en primer lugar se amplificó el gen *cpxR* a partir de DNA genómico de *S. marcescens* y se clonó en el plásmido pET19b. La construcción pET19b-cpxR se utilizó para purificar mediante cromatografía de afinidad una versión recombinante de His-CpxR. Por otra parte, se amplificó mediante PCR la región promotora de los genes *slyA* y *ssmE* (motivo 1), y *mdtH* y *eepR* (motivo 2). La interacción *in vitro* de His-CpxR con las regiones promotoras ( $P_{slyA}$ ,  $P_{ssmE}$ ,  $P_{mdtH}$ , y  $P_{eepR}$ ) se evaluó mediante ensayos de cambio en la movilidad electroforética (EMSA). Los resultados confirmaron la interacción de CpxR con los promotores correspondientes a los motivos 1 y 2. Adicionalmente, una mutante puntual espontánea de CpxR en la leucina 208 de la  $\alpha$ -hélice 8, evidenció un papel importante de dicho residuo hidrofóbico en la interacción de CpxR con las moléculas de DNA. Los resultados obtenidos en este trabajo indican que el sistema CpxAR contribuye a la regulación de factores de virulencia y genes asociados con la resistencia a antimicrobianos en *S. marcescens*.