

2022

II JORNADAS LATINOAMERICANAS DE BACTERIÓFAGOS

22 Y 23 DE NOVIEMBRE

UNIVERSIDAD NACIONAL DE
JOSÉ C. PAZ (UNPAZ)
BUENOS AIRES, ARGENTINA

LIBRO DE RESUMENES

II JORNADAS LATINOAMERICANAS DE BACTERIOFAGOS

22 Y 23 de Noviembre de 2022 - Universidad Nacional de José C. Paz

COMITÉ ORGANIZADOR

Leticia Bentancor, Universidad Nacional de José C. Paz, Argentina

Paula Lucchesi, CIVETAN- CONICET, FCV, UNCPBA, Argentina

Alejandra Krüger, CIVETAN-CONICET, FCV, UNCPBA, Argentina

Mariana Piuri, IQUBICEN-CONICET, FCEN, UBA, Argentina

COMITÉ CIENTIFICO

Raul Raya, CERELA-CONICET, Argentina

Andrea Quiberoni, INLAIN-CONICET, Argentina

Alejandro Reyes, Universidad de Los Andes, Colombia

Roberto Bastías, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, Chile

Maite Muniesa, Universidad de Barcelona, España

Martha Vives, Universidad de Los Andes, Colombia

Ricardo Morbidoni, Universidad Nacional de Rosario, Argentina.

EXPRESIÓN DE SIALATO O-ACETIL ESTERASAS CODIFICADAS POR PROFAGOS Stx2a

Pascal, S.B. (1); Lucchesi, P.M.A. (1); Nieto Farías, M.V, (1); Krüger, A (1).

1. Centro de Investigación Veterinaria de Tandil (CIVETAN, CONICET-CIC-UNCPBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires, Tandil, Buenos Aires, Argentina.

La producción de toxinas Shiga (Stx), codificada y regulada por bacteriófagos, es el principal factor de virulencia de un grupo de cepas *E. coli* que pueden causar severas enfermedades en el hombre, como colitis hemorrágica y síndrome urémico hemolítico. Las Stxs comprenden una familia que contiene varios subtipos diferencialmente asociados a manifestaciones clínicas. Las cepas productoras de la toxina Stx2a son altamente virulentas y causan las enfermedades más severas. Los análisis genómicos de los profagos Stx muestran una considerable variabilidad genética y un alto porcentaje de genes con funciones desconocidas. En estudios de profagos Stx2a, se identificó la presencia de un gen que codifica para una sialato O-acetilesterasa. Esta enzima (NanS-p) presenta un dominio catalítico (SASA) homólogo a la esterasa bacteriana de *E. coli* (NanS) con actividad frente a los ácidos siálicos, pero además posee un dominio N-terminal (DUF1737) y otro C-terminal. El gen *nanS-p* se encuentra localizado inmediatamente aguas abajo del operón *stx* y aguas arriba de los genes que median la lisis bacteriana. Esta ubicación sugiere que *nanS-p* está regulado y es cotranscrito con los genes tardíos del fago. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar si la expresión de estas sialato O-acetilesterasas aumenta bajo condiciones que inducen el ciclo lítico de fagos. Se cuantificó la expresión génica relativa de 14 cepas STEC *stx2a*-positivas utilizando la técnica de qPCR. Por medio de análisis bioinformáticos, se diseñaron *primers* que permiten la amplificación de la región DUF-SASA de subtipos de *nanS-p* presentes principalmente en profagos Stx y se utilizaron *primers* descriptos en la bibliografía para la amplificación del gen de referencia *tufA*. Se utilizó ADNc preparado previamente a partir de los cultivos de STEC inducidos (0,5 µg/ml de mitomicina C) y no inducidos, que había sido empleado para determinar la expresión de *stx* y está conservado a -20°C. Las curvas estándares se realizaron con diluciones seriadas de un *pool* de muestras de ADNc. Para cada reacción se utilizó 10 µl de FastStart Universal SYBR Green Master Rox (Roche Diagnostics GmbH) y 4 µl de muestra (ADNc) diluida 1/10. Las reacciones se realizaron en un equipo StepOne Plus Real-Time PCR System (Applied Biosystems). Los resultados se analizaron por el método $\Delta\Delta CT$. Se observó un aumento en la expresión de NanSp bajo tratamiento con mitomicina C, en niveles entre 1 a 2 Log. La excepción fue la cepa 355, la cual previamente tampoco había mostrado expresión de Stx2a. Los resultados obtenidos confirmaron que el gen *nanS-p* se ve expresado tanto en condiciones que inducen el ciclo lítico como en estado basal y que la expresión de este gen aumenta en condiciones que inducen el ciclo lítico. Este aumento ocurre en órdenes de magnitud comparables a *stx2a*, el cual se encuentra aguas arriba de *nanS-p* y está orientado en la misma dirección transcripcional.