

PRÓLOGOS:

Ana Franchi
Dora Barrancos
Luz Lardone

COORDINACIÓN:

Constanza Estepa
Lucía Desuque
Marina Baima

VOCES FEMENINAS EN LA INVESTIGACIÓN

Informes técnicos



VOCES FEMENINAS EN LA INVESTIGACIÓN
Informes técnicos



VOCES FEMENINAS

EN LA INVESTIGACIÓN

Informes técnicos



Franchi, Ana

Voces femeninas en la investigación: Informes técnicos / Ana Franchi;
Dora Barrancos; Luz Lardone; Coordinación general de Constanza
Estepa; Lucía Desuque; Marina Baima.

- 1a ed. - Rafaela: Ediciones UNRaf, 2023.

936 p.; 21 x 15 cm.

ISBN 978-987-4920-56-0

1. Proyectos de Investigación. 2. Informes Técnicos. 3. Mujeres. I. Estepa,
Constanza, coord. II. Desuque, Lucía, coord. III. Baima, Marina,
coord. IV. Título.

CDD 300



VOCES FEMENINAS

EN LA INVESTIGACIÓN

Informes técnicos

Coordinación

Constanza Estepa, Lucía Desuque, Marina Baima

Dirección Editorial

Constanza Estepa

Edición

Constanza Estepa, Julia Bisio, Renata Dumas

Corrección

Lucía Desuque

Diseño de tapa

Carla Gobbi

Maquetación

Lucas Mililli | Estudio Metonimia

Producción y comunicación

Carla Gobbi, Cecilia Pelliza, Facundo Ruiz Baleani

ISBN 978-987-4920-56-0

Queda hecho el depósito que establece la ley 11.723.

Prohibida su reproducción total o parcial.

Este libro se terminó de imprimir en el mes de septiembre de 2023
en **XANTO** [Conceptos Gráficos] | Mattos 3373 | Tel: 4333587 - 5251451
info@xanto.com.ar | Crespo 2300 | Rosario | Santa Fe | Argentina.

Tirada de 120 ejemplares.

AUTORIDADES

Gobernador de la Provincia de Santa Fe
OMAR ÁNGEL PEROTTI

Ministro de Producción, Ciencia
y Tecnología de Santa Fe
DANIEL COSTAMAGNA

Ministra de igualdad, Género
y Diversidad de Santa Fe
FLORENCIA MARINARO

Secretaría de Ciencia,
Tecnología e Innovación
MARINA BAIMA

Secretaria de Administración
MELINA GAVATORTA

ÍNDICE

PRESENTACIÓN	23
por <i>Constanza Estepa y Lucía Desuque</i>	
PREFACIO	31
por <i>Dora Barrancos</i>	
PRÓLOGO	35
por <i>Ana Franchi</i>	
PRÓLOGO	39
por <i>Luz Lardone</i>	

ESTANCIAS DE MOVILIDAD INTERNACIONALES INVESTIGADORAS INVITADAS

Un viaje propio	51
por <i>Marcia Arbusti</i>	
Acuaponia, un modelo sostenible y agroecológico de cultivo de peces, crustáceos y vegetales para la alimentación humana	65
por <i>Débora De Azevedo Carvalho</i>	

Diseño teórico de nuevos materiales para baterías 77
por *Estefanía Colombo*

**Productoras agroecológicas en el sur de Santa Fe.
Un abordaje sobre la historia argentina reciente 87**
por *Laura Pasquali*

**Eje Intestino-Cerebro: ¿cómo se transmite
la información desde la madre a la progenie? 95**
por *María Florencia Rossetti*

**Estadía de perfeccionamiento en técnicas
de caracterización *in-situ* de superficies:
XPS a presiones cercanas al ambiente (NAP-XPS) 109**
por *Ana María Tarditi*

ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN

**Técnicas ecofisiológicas y relaciones
parásito-hospedador en aves 123**
por *Sofía Irene Arce*

**Materiales basados en celulosa para liberación
modificada de componentes activos 137**
por *María Cecilia Balbi*

**Enfoque multitecnológico destinado a mejorar
la farmacoterapia de la enfermedad de Chagas 153**
por *Giselle Rocío Bedogni*

**Política y estética en repertorios de protesta
y activismos políticos en espacio público
de los feminismos 161**
por *Luciana María Bertolaccini*

**Estudio de una estrategia de vacunación
basada en el direccionamiento de antígenos
de *Trypanosoma cruzi* a células dendríticas 179**
por *Lucía Biscari*

**Metodologías participativas para la participación
ciudadana. Una aproximación a la experiencia
de la Red CIMAS de la Universidad Complutense
de Madrid 197**
por *Lucía Caisso*

Bioindicación con invertebrados acuáticos 205
por *Julieta Capeletti*

**Caracterización de la diversidad de *Leptospira spp.*
en muestras de ambientes acuáticos de Santa Fe,
Argentina 209**
por *Julieta Verónica Carletti*

**Fortalecimiento de la cadena algodonera:
fitomejoramiento y manejo integrado del cultivo
de algodón 215**
por *Antonela Estefanía Cereijo*

**Vigilancia Sanitaria de anomalías congénitas
en la Provincia de Santa Fe: evaluación de factores
de riesgo maternos y ambientales 223**
por *Carlina Colussi*

**Estancia de investigación en el Centro de Estudios
Sociológicos sobre la Vida Cotidiana
y el Trabajo (QUIT) de la Universidad Autónoma
de Barcelona (UAB) 233**
por *Tania Fabrina Corsetti*

Los aportes de las criminologías feministas
a los estudios sobre mujeres y mercados de drogas
ilegalizadas 247
por *Carolina D'Amelio*

Desarrollo de nanocatalizadores a partir
del desecho agroindustrial cáscara de arroz
de la región santafesina para su utilización
en procesos de captura de CO₂ 267
por *Betina María Cecilia Faroldi*

Articulaciones internacionales e interdisciplinarias.
En busca de la arquitectura como “interfaz pedagógica”
en las ciudades de Madrid, Berlín y Rosario 275
por *Florencia Fernández Méndez*

Epigenética y aclimatación de hortalizas
al estrés ambiental 295
por *Lucía Victoria Ferrero*

Informe de la estancia de investigación sobre
organizaciones, políticas y activistas en torno
a las migraciones, los derechos humanos,
el antirracismo y la diversidad de género
en Pamplona, Navarra, España, 2022 297
por *Mariana Beatriz García*

Clara alternativa a surfactantes de origen sintético:
exploración de la producción de biosurfactantes
por *Pseudomonas syringae pv tabaci* mediante
la fermentación en estado sólido y la revalorización
de residuos de la industria alimentaria 307
por *Carla Nahir Haidar*

**Método para estimar un indicador de la calidad
del aire basado en la atenuación de la radiación solar 323**
por *Adriana Ipiña Hernandez*

**Caracterización de plantas de *Arabidopsis thaliana*
sobre-expresantes del gen MsMDHAR de alfalfa
con posible resistencia a estrés abiótico 339**
por *Camila Jaime*

**Resignificar el acceso a la justicia desde la óptica
de la Defensoría Pública de San Pablo, Brasil 349**
por *Claribel Lingardi*

Políticas de género y ciencia en Argentina y España 361
por *Sacha Victoria Lione*

**Modulación de la topología del genoma
por secuencias de repeticiones invertidas (IR)
durante procesos de adaptación en plantas 377**
por *Regina Mencía*

**El *invencible verano* del feminismo universitario
en América Latina. Articulaciones estratégicas
entre México y Argentina 381**
por *Rocío Mariel Moltoni*

**Comportamiento postcosecha de naranjas
“Salustiana” y “Lane Late” durante envíos
a ultramar bajo diferentes condiciones de temperatura.
Estudios físico-químicos y sensoriales 395**
por *Luisina Lourdes Morales*

**Estadía de perfeccionamiento en uso de técnicas
de caracterización de superficies y estudio específico
de materiales lignocelulosos y sus derivados 413**
por *María Fernanda Mori*

**Tendencias de la temperatura mínima
en las últimas décadas y las heladas
en la pampa húmeda 421**
por *Gabriela Viviana Müller*

**Microdissección cromosómica para la síntesis
de una sonda cromosómica específica de *Caiman*
latirostris (yacaré overo) con aplicación futura
en evaluación de daño genotóxico específico 433**
por *Lucía Magdalena Odetti*

**Estancia de investigación en la Faculdade de Ciências
de la Universidad Estadual Paulista (UNESP)
para desarrollar actividades en materiales
compuestos con memoria de forma y estimulación
remota obtenidos a partir de poliuretanos
y nanopartículas de oro 443**
por *María Lis Polo*

**Notas acerca de mi primera estancia de investigación
en el sur de Brasil 461**
por *Agostina Razzetti Koller*

**Optimización de la producción de microalgas
en fotobiorreactores y biorrefinería con especies
de interés biotecnológico 469**
por *Luciana Regaldo*

**Pasantía en el Centro de Ingeniería Biológica,
Universidad de Minho (Campus de Gualtar, Braga,
Portugal) para realizar la extracción de proteínas
de espirulina por técnicas amigables con el medio
ambiente y evaluar la digestión gastrointestinal
de dichos aislados proteicos 485**
por *María Florencia Sanchez*

Cuerpo y género. Diálogos feministas para la cultura y la educación física en la sociedad contemporánea 493
por *María Laura Schaufler*

Estudio del transporte de hemo y hemoglobina en mutantes endocíticas nulas de *Trypanosoma cruzi* 513
por *Evelyn Tevere*

Cría y parasitismo entre *Cerastitis capitata* (Diptera: Tephritidae) y *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae) 523
por *María Amalia Trod*

Difusión e implementación de modelos policiales alternativos en Santa Fe y Uruguay 531
por *Rocío María Truchet*

Sistema de economía circular. Procesamiento de residuos de las empresas agroindustriales para alcanzar el objetivo de cero residuos mientras se produce proteína de microalgas para la alimentación animal y obtención de compuestos bioactivos 541
por *María Belén Velázquez*

PARTICIPACIÓN EN EVENTOS CIENTÍFICOS

La transmisión de valores familiares al gobierno de la empresa 555
por *Noelia Caren Barberis*

Alcances y desafíos de la Economía Popular, Social y Solidaria del sur de Santa Fe como estrategia laboral y productiva para la reactivación económica en la post-pandemia. Difusión de estudios locales y fortalecimiento de las estrategias colectivas y las políticas públicas 567
por *María Victoria Deux Marzi*

El despliegue del gobierno de la (in)seguridad en el marco de la racionalidad neoliberal: desde las estrategias de prevención del delito a las desapariciones forzadas 579
por *Luciana Noelia Ginga*

La vía de utilización de ácido lipoico en *Staphylococcus aureus* es un blanco prometedor para el desarrollo de antimicrobianos 589
por *Albertina Scattolini*

Desarrollos en Suramérica del Conocimiento Matemático para la Enseñanza en la Formación Docente de Profesores en Matemática 601
por *Natalia Fátima Sgreccia*

Presentación del trabajo “Una aproximación metodológica para estudiar las experiencias de las trabajadoras de la educación de la ciudad de Rosario en el marco de la pandemia del COVID-19”. El desafío de entrevistar en la 9ª Conferencia Latinoamericana y Caribeña de Ciencias Sociales 609
por *Lorena Luz Sguigna*

Actividades académicas en clave de género. Breve recorrido sobre una experiencia personal 617
por *Maialen Somaglia*

Diálogos en torno a investigaciones sobre políticas estatales y organizaciones indígenas en Argentina y Colombia	623
por <i>María Victoria Taruselli</i>	

Reflexiones teóricas sobre las migraciones recientes en la ciudad de Rafaela, Santa Fe	635
por <i>Denise Zenklusen</i>	

ESTANCIAS DE MOVILIDAD NACIONALES

ESTANCIAS DE INVESTIGACIÓN

Aspectos ecológicos y filogenéticos como determinantes de las comunidades parasitarias en ofidios del Chaco argentino	657
por <i>Vanesa Arzamendia</i>	

Iniciación en el desarrollo de modelos computacionales: glicomacropéptidos y polielectrolito ácido	663
por <i>Sofía Baldor</i>	

Diversidad y ecología de reptiles y anfibios del Chaco Seco Argentino, un estudio con énfasis en sus características tróficas y reproductivas	671
por <i>Gisela Bellini</i>	

Derivas de las Becas de Movilidad con perspectiva de género: alfabetización académica y escritura profesional en la Licenciatura en Trabajo Social	677
por <i>Pamela Virginia Bórtoli</i>	

Caracterización y análisis estructural de nuevas fases sólidas de ingredientes farmacéuticos activos	687
por <i>Natalia Lorena Calvo</i>	

Temas de indagación: abordaje de la violencia de género contra las infancias en instituciones escolares 705
por *Carolina Cravero*

Pasantía en el Instituto de Tecnología de Alimentos y Procesos Químicos (UBA-CONICET) para evaluar la interacción entre proteínas lácteas y antioxidantes como estrategia de estabilización 713
por *Ornella Ferreyra*

Cartografías diversas: experiencias y prácticas de mujeres y diversidades sexuales en la producción social de espacios de encuentro y visibilidad identitaria en la ciudad de Santa Fe (1980-2024) 723
por *Dianela Jael Gahn*

Calidad bacteriológica en ecosistemas acuáticos circundantes a la ciudad de Santa Fe: caracterización de los mecanismos de resistencia a antibióticos y marcadores genéticos asociados 739
por *María Josefina González*

Comunidades microbianas y reciclado de nutrientes en sistemas acuáticos continentales 745
por *María Florencia Gutiérrez*

***Trypanosoma cruzi* ¿un héroe en la lucha contra el cáncer? Predicción de epítomos T y análisis inmunopeptidómico de la reactividad cruzada como estrategia racional para el diseño de inmunoterapias antitumorales 747**
por *Cintia Daniela Kaufman*

Ensayos de citotoxicidad 759
por *Georgina Martini*

Obtención y caracterización de carbones magnéticos para ser utilizados en descontaminación de efluentes provenientes de la industria ganadera 775
por *María del Rosario Morel*

Los museos de arte y sus públicos 787
por *Alejandra Gabriela Panozzo Zenere*

Nanoecotoxicología: Evaluación de efectos letales y subletales de nanopartículas (NPs) metálicas sobre organismos acuáticos de distinto nivel trófico 801
por *Natalí Romero*

Trabajo de campo en el Instituto de Cultura Popular (INCUPO) en la ciudad de Resistencia y Corrientes 813
por *María Cecilia Telleria*

Caracterización bioquímica, nutricional y anatómica del maqui (*Aristotelia chilensis*), una baya nativa de los bosques Andino Patagónicos 829
por *Karina Eva Josefina Tripodi*

PARTICIPACIÓN EN EVENTOS CIENTÍFICOS

La unidad económica agraria. Un análisis desde su dimensión ecológica como herramienta jurídica para la protección del suelo: el caso Provincia de Santa Fe 839
por *María Valeria Berros*

Síntesis, caracterización y desempeño catalítico de diferentes materiales 851
por *María Verónica Bosco*

**Optimización de catalizadores de Co y Ni
soportados sobre CeO₂ frente al reformado
de etanol con vapor de agua 857**
por *Florencia Dalotto*

**Gasificación catalítica de biomasa a escala banco
para generar energía 863**
por *Lina Vanesa García Peña*

**Participación en la 6° Edición del Congreso
Latinoamericano de Ingeniería y Ciencias Aplicadas
“CLICAP 2022” y su evento asociado,
el 5° Encuentro AUSAL, con el trabajo:
“Incorporación de harina de lentejas fermentada
con kéfir en magdalenas de chocolate:
análisis del perfil de textura” 869**
por *Micaela Parmigiani*

**Presentación de Trabajo de Investigación
en XXII Congreso Argentino de Catálisis:
“Purificación de 1-Penteno en Corrientes
Alqueno/Alquino con Catalizadores de Pd-soportado:
Efecto del Soporte y Cloro Residual” 877**
por *Mónica Quiroga*

**“Caracterización de tars de pirólisis de biombras
residuales” en el XXII Congreso Argentino
de Catálisis 891**
por *Paula Judith Saires*

**Catalizadores porosos de TiO₂, ZrO₂ y TiO₂-ZrO₂
para la conversión de biomasa lignocelulósica 905**
por *Inés Silvia Tiscornia*

Catalizadores basados en óxido de cerio empleados en procesos catalíticos sustentables: divulgación de resultados científicos en el XXII Congreso Argentino de Catálisis	919
por <i>María Julia Vecchiatti</i>	

EPÍLOGO

Nuestras Voces en la Investigación: Género con Ciencia	925
por <i>María Florencia Marinaro</i>	

EPÍLOGO	927
por <i>Marina Baima</i>	

SOBRE LAS AUTORAS	931
--------------------------------	------------

La vía de utilización de ácido lipoico en *Staphylococcus aureus* es un blanco prometedor para el desarrollo de antimicrobianos

ALBERTINA SCATTOLINI

Introducción

El ácido lipoico (AL) es un compuesto organosulfurado distribuido ampliamente en la naturaleza. Es requerido para el funcionamiento de seis complejos multienzimáticos involucrados en el metabolismo oxidativo (piruvato deshidrogenasa, PDH; 2-oxoglutarato deshidrogenasa, ODH; deshidrogenasa de cetoácidos ramificados, BKDH, oxoadipato deshidrogenasa y acetoína deshidrogenasa) y de un carbono (sistema de clivaje de la glicina, GCS). El AL se encuentra unido covalentemente mediante un enlace amida a residuos de lisina presentes en dominios de lipoilación (DL) conservados de las subunidades E2 o la subunidad H del GCS (GcvH).

El conocimiento de las vías de síntesis y utilización de AL ha progresado rápidamente en los últimos años mayormente debido a estudios genéticos, fisiológicos y bioquímicos realizados en *Escherichia coli*. En esta bacteria modelo Gram negativa los residuos lipoilo que modifican las apoproteínas

pueden ser de origen exógeno o endógeno. En la vía exógena el AL ingresa a la célula por difusión y es ligado a los dominios lipoilables de las apoproteínas por la acción de LplA (lipoato ligasa). La vía endógena de biosíntesis de AL consiste en la transferencia de octanoato desde el octanoil-ACP, un intermediario de la síntesis de ácidos grasos, a los dominios lipolables de las apoproteínas catalizada por LipB (octanoil-ACP tranferasa) seguida por la inserción de átomos de azufre en C-6 y C 8 catalizada por LipA (lipoato sintasa), para dar lipoato (Cronan, 2016).

Mediante estrategias genéticas y bioquímicas, en nuestro laboratorio se ha dilucidado el mecanismo de lipoilación de proteínas en *Bacillus subtilis*, la bacteria modelo Gram positiva, y de esta manera se ha postulado el primer modelo para la biosíntesis de este compuesto en este grupo de bacterias (Figura 1). En la vía endógena, el octanoato sintetizado en el interior celular es transferido desde ACP a la proteína GcvH (subunidad H del GCS) mediante la acción de LipM, una octanoil-ACP:proteína-N octanoiltransferasa (Martin *et al.*, 2011). Posteriormente, la GcvH:E2 amidotransferasa, LipL, cataliza la transferencia desde GcvH a las subunidades E2 de los complejos deshidrogenasa (Christensen *et al.*, 2011). Los dominios octanoilados son sustrato de la lipoato sintasa, LipA, que cataliza la incorporación de los átomos de azufre en la cadena hidrocarbonada del octanoilo (Martin *et al.*, 2009). LipA puede utilizar tanto octanoil GcvH como octanoil-ODH como sustrato (Rasetto *et al.*, 2019).

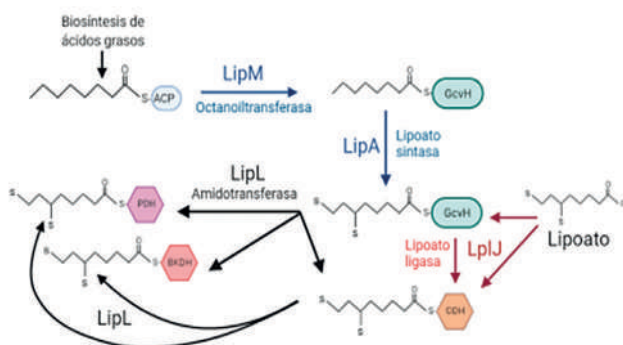


FIGURA 1. Modelo actual de la biosíntesis y utilización de AL en *B. subtilis*.
 Flechas azules: biosíntesis de AL. Flechas rojas: captación de ácido lipoico.
 Flechas negras: pasos comunes entre las vías endógena y exógena.

El lipoato proveniente de la vía exógena es transferido a los dominios lipoilables de GcvH y E2-ODH en una reacción de dos pasos dependiente de ATP, catalizada por una lipoato ligasa, LplJ. LipL está involucrada en la transferencia de la porción lipoilo al resto de las subunidades E2, por lo que se trata de una vía de lipoilación del tipo “lipoyl-relay” (Christensen *et al.*, 2011; Rasetto *et al.*, 2019).

En bacterias, las vías de biosíntesis de AL y de lipoilación proteica han tomado considerable importancia debido a su relación con la patogénesis. Por ejemplo, en *Listeria monocytogenes*, una cepa mutante que carece de actividad LplA, es deficiente en su habilidad de crecer en el citosol de las células hospedadoras y es menos virulenta en animales debido a que depende del AL derivado de los mismos (O’Riordan *et al.*, 2003). Por otra parte, ha sido reportado que cepas multiresistentes de *Mycobacterium tuberculosis* tienen aumentada la expresión de LipB, como un mecanismo de protección y evasión de los sistemas de defensa del hospedador, por lo cual la lipoilación de proteínas se constituye en un promotor blanco para nuevas terapias antimicrobianas (Rachman *et al.*, 2006; Ma *et al.*, 2006).

Staphylococcus aureus presenta vías metabólicas de lipoilación proteica similares a las descritas para *B. subtilis* (Zorzoli *et al.*, 2016). Sin embargo, *S. aureus* posee dos enzimas involucradas en la captación de AL, LplA1 y LplA2. Únicamente LplA1 es esencial para la captación de AL *in vitro*, pero se necesita de la presencia de ambas para promover la infección renal producida por *S. aureus* en ratones (Zorzoli *et al.*, 2016). Se observó, además, que *S. aureus* sintetiza una GcvH adicional, GcvH-L, que se encuentra en el mismo operón que LplA2 (Rack *et al.*, 2015). La habilidad de producir dos lipoato ligasas y dos proteínas H es una característica única de *S. aureus*, que no se encuentra en otras bacterias Gram positivas. Se demostró además que la presencia de la subunidad E2-PDH lipoilada de *S. aureus* funciona como un inmunosupresor y bloquea la activación de macrófagos (Grayczyk *et al.*, 2017). La síntesis de lipoil-proteínas suprime la respuesta de los macrófagos durante la infección y promueve la virulencia.

La aparición de bacterias Gram positivas resistentes a múltiples antibióticos se está convirtiendo en un problema crítico en los centros de salud públicos, demandando de forma urgente el desarrollo de drogas contra nuevos blancos bacterianos.

Resultados

Las infecciones producidas principalmente por *S. aureus* resistente a la meticilina y por otras bacterias Gram positivas son un problema mundial. La creciente aparición de cepas resistentes a múltiples fármacos requiere urgentemente enfoques terapéuticos novedosos. Postulamos a la lipoilación proteica como un buen blanco para el desarrollo de nuevos antimicrobianos. Nuestros colaboradores diseñaron

diferentes compuestos por docking molecular utilizando las estructuras de las proteínas involucradas en la vía de síntesis y captación de AL. Los compuestos lpl-004, lpl-008, lpl-013 y lpl-023 fueron diseñados contra la lipoato ligasa LplA2 de *S. aureus* mientras que el compuesto AM-F342 es un análogo de sustrato de LipL.

Para evaluar el efecto de estos compuestos generados por síntesis química, se realizó un análisis de viabilidad bacteriana en medio mínimo RPMI. Los compuestos lpl-004, lpl-008 y lpl-023 presentaron actividad inhibitoria en el crecimiento de la cepa salvaje de *S. aureus*, mientras que lpl-013 y AM-F342 no inhibieron el crecimiento. Sorprendentemente, ninguno de los compuestos presentó actividad contra *B. subtilis* (Figura 2). Seleccionamos entonces los compuestos lpl-004, lpl-008 y lpl-023 para continuar realizando ensayos y así poder dilucidar el blanco y mecanismo de acción de los mismos. En las imágenes se muestran los experimentos realizados para lpl-004 a modo de ejemplo, ya que los demás compuestos producen efectos similares.

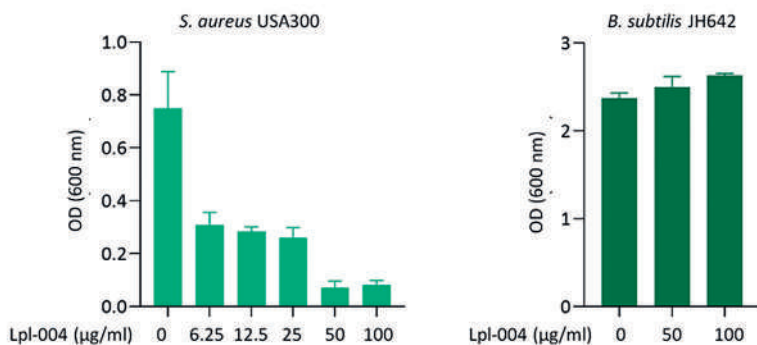


FIGURA 2. Efecto de Lpl-004 en el crecimiento de *S. aureus* y *B. subtilis*. Las cepas de *S. aureus* USA300 y *B. subtilis* JH642 fueron inoculadas en los medios RPMI y SPI, respectivamente, con diferentes concentraciones del compuesto lpl-004. Los cultivos fueron incubados por 12 h a 37°C. Cada barra representa la media $\pm$ SD de tres experimentos independientes.

Se observó que la inhibición producida por los compuestos podía ser restaurada mediante el agregado de los precursores de los ácidos grasos de cadena ramificada (BCFAP) y acetato, los productos de las enzimas dependientes de AL al utilizar 50 y 100 µg/ml (Figura 3) pero decidimos utilizar menores concentraciones de los compuestos para realizar los experimentos debido a que estos resultados en algunas ocasiones no fueron reproducibles.

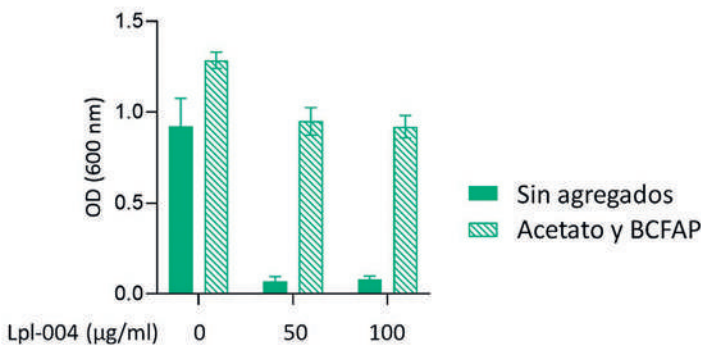


FIGURA 3. El efecto del inhibidor puede ser contrarrestado por la adición de los productos de los complejos dependientes de AL. Crecimiento de *S. aureus* USA 300 en RPMI en presencia de diferentes concentraciones de lpl-004, con y sin el agregado de los productos de las enzimas lipoiladas. BCFAP, precursores de los ácidos grasos de cadena ramificada. Cada barra representa la media $\pm$ SD de tres experimentos independientes.

Para dilucidar el efecto o blanco de acción de estos compuestos utilizamos diferentes cepas de *S. aureus* mutantes en las enzimas involucradas en las vías de síntesis y captación del AL. Mediante el crecimiento de las cepas mutantes $\Delta lplA1$ y $\Delta lplA2$ y la doble mutante $\Delta lplA1 \Delta lplA2$ pudimos observar que es esencial la presencia de alguna de las ligasas para que el compuesto lpl-004 muestre un efecto inhibitorio, mientras que en la doble mutante se observa un crecimiento similar al control (Figura 4). Se observó el mismo efecto para los compuestos lpl-008 y lpl-023.

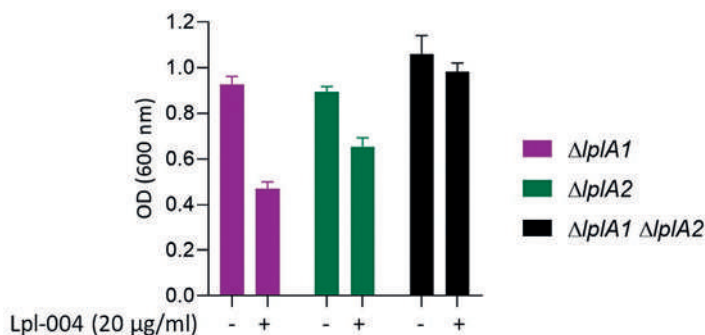


FIGURA 4. Crecimiento de las cepas de *S. aureus* NE1257 ($\Delta lplA1$), NE266 ($\Delta lplA2$) and FA-S912 ($\Delta lplA1 \Delta lplA2$). Las cepas crecieron en RPMI conteniendo CAA libres de vitamina 0,05%, con y sin el agregado de 20 $\mu\text{g/ml}$ de lpl-004. Los cultivos fueron incubados por 12 h a 37°C. Cada barra representa la media $\pm$ SD de tres experimentos independientes.

Las lipoato ligasas no son enzimas esenciales para crecimiento, por lo que la inhibición que se observa en presencia de estos compuestos puede deberse a que los mismos sean ligados por acción de estas enzimas y se unan a las E2s, inactivándolas, como se ha reportado para el seleno-lipoato (Morris *et al.*, 1994). Realizamos un Western blot con anticuerpos anti-AL para evidenciar el sitio de acción. Los extractos proteicos de cultivos de la cepa salvaje y de las mutantes $\Delta lipA$ y $\Delta lipA \Delta lplA1 \Delta lplA2$ de *S. aureus* crecidas en medio mínimo suplementado con los productos de las enzimas dependientes de AL en ausencia y en presencia de los inhibidores fueron analizados por Western blot (Figura 5).

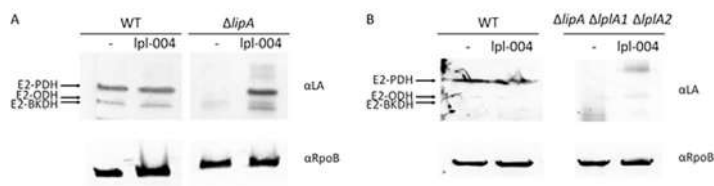


FIGURA 5. Lpl-004 se uniría a las E2s mediante la actividad de la lipoato ligasa. Extractos proteicos de las cepas de *S. aureus* USA300 comparada con (A) NE264 ($\Delta lipA$) o (B) FA-S1178 ($\Delta lipA \Delta lplA1 \Delta lplA2$) crecidas en RPMI suplementado con CAA libre de vitaminas BCFAP y acetato durante 24 h. Fueron analizados por Western blot con anticuerpos anti-AL.

La cepa WT presenta el patrón de lipoilación de las E2s característico en todas las condiciones, ya que esta cepa tiene la capacidad de sintetizar AL. En la mutante $\Delta lipA$, que es incapaz de sintetizar AL, se observa ausencia de lipoilación. Sin embargo, en presencia de los compuestos, se observan las E2s marcadas (Figura 5A). Esto indicaría que los anticuerpos anti-AL reconocen los compuestos unidos a las E2s. La ausencia de E2s marcadas mediante el agregado del compuesto lpl-004 en la mutante $\Delta lipA \Delta lplA1 \Delta lplA2$ indicaría que la actividad de la lipoato ligasa sería esencial para la unión del inhibidor, como se había observado con los datos de crecimiento (Figura 5B). Estos compuestos podrían ser útiles para el desarrollo de drogas contra el patógeno *S. aureus*.

Conclusiones

El compuesto Lpl-004 generó una inhibición selectiva del crecimiento de *S. aureus* mientras que no produjo ningún efecto en el crecimiento de *B. subtilis*. El efecto inhibitorio del compuesto puede ser contrarrestado por el agregado de BCFAP y acetato, los productos de las deshidrogenasas dependientes de AL esenciales para el crecimiento en *S. aureus*, resaltando la especificidad del compuesto por la lipoilación

proteica. Los análisis de Western blot sugieren que el inhibidor se uniría a las E2s y las inactivaría. Además, el efecto inhibitorio depende de la actividad lipoato ligasa.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva (subsidio EULACH 16/T02-0161) y llevado a cabo con una beca doctoral del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Beca P-UE-0039 2016).

Referencias bibliográficas

- CHRISTENSEN, Q. H., MARTIN, N., MANSILLA, M. C., de MENDOZA, D., & CRONAN, J. E. (2011). A novel amido-transferase required for lipoic acid cofactor assembly in *Bacillus subtilis*. *Molecular Microbiology*, 80(2), 350–363.
- CRONAN J. E. (2016). Assembly of Lipoic Acid on Its Cognate Enzymes: an Extraordinary and Essential Biosynthetic Pathway. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 80(2), 429–450. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00073-15>
- GRAYCZYK, J. P., HARVEY, C. J., LACZKOVICH, I., & ALONZO, F. (2017). A Lipoylated Metabolic Protein Released by *Staphylococcus aureus* Suppresses Macrophage Activation. *Cell Host & Microbe*, 22(5), 678–687. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2017.09.004>
- MA, Q., ZHAO, X., NASSER EDDINE, A., GEERLOF, A., LI, X., CRONAN, J. E., KAUFMANN, S. H., & WILMANN, M. (2006). The *Mycobacterium tuberculosis* LipB enzyme functions as a cysteinylsine dyad acyltransferase. *Pro-*

- ceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(23), 8662–8667. <https://doi.org/10.1073/pnas.0510436103>
- MARTIN, N., CHRISTENSEN, Q. H., MANSILLA, M. C., CRONAN, J. E., & de MENDOZA, D. (2011). A novel two-gene requirement for the octanoyltransfer reaction of *Bacillus subtilis* lipoic acid biosynthesis. *Molecular microbiology*, 80(2), 335–349. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2011.07597.x>
- MARTIN, N., LOMBARDÍA, E., ALTABE, S. G., de MENDOZA, D., & MANSILLA, M. C. (2009). A lipA (yutB) Mutant, Encoding Lipoic Acid Synthase, Provides Insight into the Interplay between Branched-Chain and Unsaturated Fatty Acid Biosynthesis in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 191(24), 7447–7455. <https://doi.org/10.1128/JB.01160-09>
- MORRIS, T. W., REED, K. E., & CRONAN, J. E. (1994). Identification of the gene encoding lipoate-protein ligase A of *Escherichia coli*. Molecular cloning and characterization of the lplA gene and gene product. *The Journal of Biological Chemistry*, 269(23), 16091–16100.
- O'RIORDAN, M., MOORS, M. A., & PORTNOY, D. A (2003). *Listeria* intracellular growth and virulence require host-derived lipoic acid. *Science*, 302, 462–465.
- RACHMAN, H., STRONG, M., ULRICHS, T., GRODE, L., SCHUCHHARDT, J., MOLLENKOPF, H., KOSMIADI, G. A., EISENBERG, D., & KAUFMANN, S. H. (2006). Unique transcriptome signature of *Mycobacterium tuberculosis* in pulmonary tuberculosis. *Infect Immun*, 74(2), 1233–1242.
- RACK, J. G., MORRA, R., BARKAUSKAITE, E., KRAEHENBUEHL, R., ARIZA, A., QU, Y., ORTMAYER, M., LEIDECCKER, O., CAMERON, D. R., MATIC, I., PELEG, A. Y., LEYS, D., TRAVEN, A., & AHEL, I. (2015). Identification

- of a Class of Protein ADP-Ribosylating Sirtuins in *Microbial Pathogens*. *Molecular cell*, 59(2), 309–320. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.06.013>
- RASETTO, N., LAVATELLI, A., MARTIN, N., & MANSILLA, M. C. (2019). Unravelling the lipoyl-relay of exogenous lipoate utilization in *Bacillus subtilis*. *Molecular microbiology*, 112(1), 302–316. <https://doi.org/10.1111/mmi.14271>
- ZORZOLI, A., GRAYCZYK, J. P., & ALONZO, F., 3rd. (2016). *Staphylococcus aureus* Tissue Infection During Sepsis Is Supported by Differential Use of Bacterial or Host-Derived Lipoic Acid. *PLoS pathogens*, 12(10), e1005933. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005933>

