



### INTERACCIÓN DE LAS PROTEÍNAS LER Y H-NS EN LA REGULACION TRANSCRIPCIONAL DE LOS GENES *escD* Y *sepL* DE *Escherichia coli* ENTEROPATÓGENA

Mauricio Hernández Arroyo, , Margarita Maria de la Paz Arenas Hernández, Claudia F. Martínez de la Peña José Luis Puente G. 4; Ygnacio Martínez Laguna<sup>1</sup>.  
Lab. Bioquímica y Genética Microbiana<sup>2</sup>. Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas del ICUAP, Edificio 103J. CU. Puebla, Pue., Instituto de Biotecnología , UNAM Cuernavaca Morelos.  
igmatine@siu.buap.mx

Palabras clave: *Ler*, *H-NS*, *escD*, *sepL*.

**Introducción.** *Escherichia coli* enteropatógena (EPEC) pertenece a un grupo de patógenos entéricos causantes de una lesión histopatológica característica llamada de adherencia y destrucción (Attaching and Effacing "A/E"). Los genes *escD* y *sepL* se encuentran localizados dentro de la Isla de patogenicidad LEE de manera divergente. Se ha visto que los genes algunos genes de LEE son reprimidos transcripcionalmente por regulador global H-NS y activados por la proteína Ler (1), así como también se ha observado cambios en la expresión de ciertos genes de virulencia bajo distintas condiciones ambientales. En estudios previos se determinó que para *escD* y *sepL* existen elementos genéticos adicionales incluidos entre la región -274 del sitio de inicio de transcripción para *sepL* y -281 para el de *escD* que pudieran estar involucrados en un tipo de control negativo y positivo sobre la expresión de ambos genes.

**Metodología.** Para el crecimiento de las cepas se utilizó el medio de cultivo de Luria-Bertani (LB) y DMEM. La purificación de las proteínas se llevó a cabo mediante una columna de afinidad a níquel. Se obtuvieron por PCR fragmentos, de diferente longitud de la región intergénica *escD* y *sepL*, para ser usados en los ensayos tipo EMSA. Se realizaron ensayos de RT-PCR y Slot blot con muestras de RNA extraído de la cepa EPEC silvestre crecidas bajo diferentes condiciones de cultivo para analizar el transcrito de los genes *sepL* y *escD*.

#### Resultados y discusión.

Se identificaron zonas sobre las que interactúan ambas proteínas (H-NS y Ler), una de ellas se localizada dentro de la región intergénica *escD-sepL* y la otra dentro de la región estructural del gen *sepL*, así como también una zona de pegado exclusivo para la proteína Ler dentro de esta misma región, estos datos sugieren una tercera presunta secuencia reguladora de silenciamiento "PSRS3" que abarca desde la posiciones +375 a -555, coordenadas a partir del sitio de inicio de la transcripción para *sepL* y *escD* respectivamente, donde la proteína H-NS se una al DNA de esta zona junto con la (PRS1 o PRS2) formando un asa que atrape a la RNA polimerasa o bien escondiendo a los promotores *escD-LEE<sub>4</sub>*, impidiendo de esta manera el proceso de transcripción: En contraste Ler podría competir por la unión sobre estas

zonas con H-NS o bien unirse a zonas ajenas, ejerciendo un cambio en la topología del DNA que rompa el efecto represor provocado por H-NS. Por otro lado la expresión de estos genes se da en condiciones variables de osmolaridad, amonio, medio de cultivo y temperatura, sin embargo, a diferencia de otros genes de virulencia de EPEC, se observó un aumento significativo de los transcritos a 29°C y no se observa disminución en presencia de amonio.

**Conclusiones** Se identificó la presencia de una tercera presunta región de silenciamiento (PRS3) para la expresión de los promotores *escD* y *LEE<sub>4</sub>*, dentro de la región estructural de *sepL*. La proteína Ler reconoce una zona exclusiva de pegado, dentro de la región estructural del gen *sepL*, la cual no es reconocida por la proteína H-NS. El modelo a partir de este estudio plantea que H-NS reprime la expresión de los promotores *escD* y *LEE<sub>4</sub>* uniéndose a la PRS1 y a cualquiera de la otras PRSs bloqueando u ocluyendo los promotores y evitando el proceso de la transcripción, por el contrario Ler interacciona con estas zonas o sitios vecinos permitiendo el proceso de transcripción. La diferencia en la regulación de estos genes sugiere que los genes *sepL* y *escD* son regulados de manera diferencial por H-NS y Ler en respuesta a señales ambientales presentes en el hospedero.

#### Bibliografía.

- 1.- Elliott, S. J., Sperandio, V., Girón, J. A., Mellies, J. L., Wainwright, L. A., Hutcheson, S. W., et al. 2000. The LEE encoded regulator (Ler) controls the expression of both LEE non-LEE encoded virulence factors in enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Infect Immun.* 68: 6115 – 6126.
- 2.- Bustamante, V. H., Santana, F. J., Calva, E., and Puente, J. L. 2001. Transcriptional regulation of type III secretion genes in enteropathogenic *Escherichia coli*: Ler antagonize H-NS dependent repression. *Mol. Microbiol.* 37: 664 – 678.
- 3.- Rosenshine I., Ruschkowski S., Finlay B., 1996. Expression of Attaching/Effacing Activity by Enteropathogenic *Escherichia coli* Depends on Growth Phase, Temperature, and Protein Synthesis upon Contact with Epithelial Cells. *Infect Immun* 64: 966–973