

SÍNTESIS BIOGÉNICA DE SELENOCISTEÍNA POR *Enterococcus faecium* ABMC-05 NO DEPENDIENTE DE *selA* Y *selD*

Meyli C. Escobar-Ramírez¹, Gabriela M. Rodríguez-Serrano², Eduardo Zúñiga-León³, Mario García Montes⁴, Emmanuel Pérez-Escalante⁴ y Luis G. González-Olivares⁴

¹CENID FyMA, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias, Querétaro 76280.

²Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Ciudad de México 09340.

³Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca 50295.

⁴Centro de Investigaciones Químicas, Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. Mineral de la Reforma, 42184. lgonzalez@uaeh.edu.mx

Palabras clave: selenio, selenocisteína, bacterias ácido lácticas.

Introducción. El selenio (Se) es un micronutriente esencial para la mayoría de los organismos vivos y ha sido identificado como selenocisteína (Sec) en el sitio activo de varias selenoproteínas. Las bacterias ácido lácticas (BAL) han demostrado incorporar Se inorgánico en su metabolismo transformándolo en Sec. La ruta a través de la cual las BAL logran esta transformación ha sido poco estudiada. Se sabe que dos genes presentes en el genoma de algunas BAL, *selD* y *selA*, están involucrados en el metabolismo del selenio y su incorporación a las proteínas [1, 2]. El objetivo de este trabajo fue demostrar la presencia de *cysK* en la ruta de síntesis de Sec y la ausencia de los genes *selA* y *selD* en *Enterococcus faecium* ABMC-05.

Metodología. *Enterococcus faecium* ABMC-05 con el número de entrada OL413240 en el NCBI se cultivó en un medio enriquecido con la concentración mínima inhibitoria de selenito de sodio (80 y 184 mg/L) y se determinó el grado de bioconversión a selenocisteína por RP-HPLC. La presencia de los genes *selD*, *selA* y *cysK* se determinaron mediante una amplificación por PCR utilizando ADN genómico. Los iniciadores *SelA* y *CysK* se diseñaron a partir de secuencias consenso de *Enterococcus faecium* (Figura 2A) utilizando un algoritmo en lenguaje Python. Los iniciadores de *SelD* se realizaron con secuencias de *Enterococcus* sp.

Resultados. El cromatograma del estándar de Sec y las muestras a diferentes concentraciones (Fig 1) indicó que *E. faecium* ABMC-05 es capaz de biotransformar Se inorgánico en Sec independientemente de la concentración inicial de Se en el medio. Sin embargo, los genes *selD* y *selA* no amplificaron por PCR. Lo cual indicó que Se se incorporó a la Sec a través de una vía alterna a la síntesis de selenoproteínas. Debido a la ausencia de *SelD* y *SelA*, se realizó un estudio *in silico* para

determinar una ruta alterna de incorporación del Se en *Enterococcus faecium*, ya que en *E. coli*, la O-acetilserina sulfhidrilasa (*CysK*) puede generar Cys y Sec como aminoácido libre a partir de sulfuro (HS) y seleniuro (HSe), respectivamente. Como resultado, se encontró que los dos iniciadores probados para *cysK* amplificaron por PCR (Fig 2).

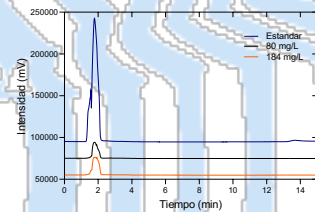


Fig. 1. Cromatograma de carboximetil-selenocisteína como estándar de Sec y células de *enterococcus faecium* ABMC-05 expuestas a 80 y 184 mg/L Na₂SeO₃ después de 120 h de incubación.



Fig. 2. A) Análisis filogenético de probabilidad máxima (ML) de los genes *cysK* y *selA* para cepas de *Enterococcus faecium* basado en secuencias de nucleótidos disponibles en GenBank. B) fragmentos del gen *cysK* de 509 (carril 2) y 499 (carril 3) pb, respectivamente, obtenidos con los primers: *cysK_c2F* (5'-TAATCATCGTGATGCCTGAGAC-3') y *cysK_c2R1* (5'-TTCTTTTCGCCCACTTCTCT-3') y *cysK_c2R2* (5'-CCAACCTCTCTAGCTGTTTCCA-3')

Conclusiones. La presencia del gen *cysK* en *Enterococcus faecium* ABMC-05 indicó otra posible ruta para producir Sec como aminoácido libre, aún no estudiada en especies de *Enterococcus*.

Bibliografía.

- Zhang, Y., Turanov, A.A., Hatfield, D.L. et al. (2008). BMC Genomics 9, 251
- Estrada, A. M., Olivares, L. G. G., López, E. C., & Serrano, G. R. (2020). International Dairy Journal, 103, 104629.