

ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DE BACTERIOCINAS EN *Enterococcus faecium* QD-2

Sac Nicté Fuentes, Cindy A. Estrada y Maricarmen Quirasco, Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Depto. de Alimentos y Biotecnología, Ciudad de México, 04510, quirabma@unam.mx.

Palabras clave: Enterocinas, *E. faecium*, expresión génica

Introducción. Las bacterias ácido lácticas son responsables de procesos de fermentación en alimentos como productos lácteos. El género *Enterococcus* forma parte de éstas y es subdominante en varios tipos de quesos artesanales, contribuyendo en el desarrollo de sabores y aroma durante la maduración (1). Especies de *Enterococcus* son productoras de bacteriocinas clase II (enterocinas), cepas de *E. faecalis* y *E. faecium* pueden producirlas (2). Se ha reportado que las enterocinas exhiben una fuerte actividad antimicrobiana contra patógenos, incluidos *S. aureus*, *L. monocytogenes* y *S. enterica*, así como contra microorganismos de deterioro en alimentos (3). Un factor de estrés común en quesos es el osmótico, asociado a la presencia de NaCl (4). El objetivo del presente trabajo es analizar la expresión de bacteriocinas de *E. faecium* QD-2 y estudiar el efecto del NaCl en la transcripción.

Metodología. Se analizó bioinformáticamente el contexto genómico de ORFs codificantes para bacteriocinas putativas en el genoma de *E. faecium* QD-2 a través de BLAST sobre GeneBank, UniProt y Pfam. La búsqueda de posibles promotores se realizó con IPro70-FMWin y BProm. Se empleó TRIzol™ para extraer RNA y el kit SCRIPT RT-qPCR SybrMaster (Jena Bioscience) para la reacción RT-qPCR. Para el análisis de expresión se utilizó a *rpoA* como gen endógeno y al *entA* (ORF 621) como referencia. Se realizó el análisis de expresión en medio MRS con 0%, 3% y 5% de NaCl. Cada condición se analizó por sextuplicado.

Resultados. El genoma de *E. faecium* QD-2 contiene ocho genes con anotación para bacteriocinas putativas, Tabla 1, de los cuales los genes 615, 616, 621, 901 y 902 son los que tuvieron un promotor fuerte, por lo que se prosiguió a analizar sus transcritos. La RT-qPCR tuvo alta reproducibilidad y especificidad. Los cinco genes estudiados se expresaron en las tres concentraciones de NaCl, Tabla 1. El método $\Delta\Delta Ct$ indica que los genes 901 y 902 se cotranscriben y tienen menor expresión que *entA*, mientras que los genes 615 y 616 (operón bicistrónico) se expresaron más que *entA*, independientemente de las diferentes concentraciones de NaCl, Figura 1.

Tabla 1. Enterocinas codificadas en el genoma *E. faecium* QD-2

Gen	Bacteriocina	Promotor fuerte	RT-qPCR
615	Bacteriocina IIc	✓	✓
616	Acidocina_LF221B	✓	✓
621	Enterocina A *	✓	✓
718	Bacteriocina Uvi B	✗	---
901	Enterocina X, cadena α *	✓	✓
902	Enterocina X, cadena β *	✓	✓
2142	Enterolisina A	✗	---
2596	Enterocina B *	✗	---

* Bacteriocinas ya caracterizadas.

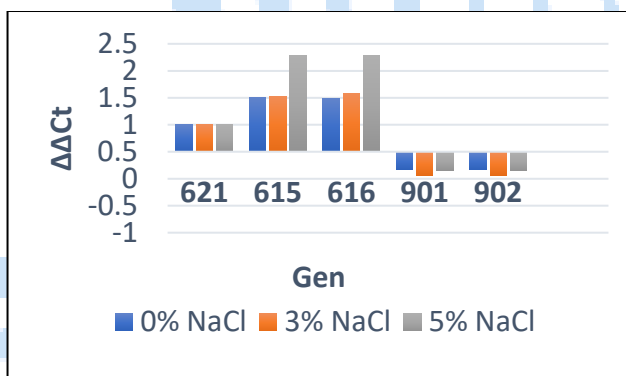


Fig. 1. Expresión de ORFs codificantes para bacteriocinas en *E. faecium* QD-2, en diferentes concentraciones de NaCl.

Conclusiones. Los ORFs 615 y 616 se encuentran en operón bicistrónico, al igual que los 901 y 902. Existe una expresión diferencial de los operones en concentraciones crecientes de NaCl, sobresale la expresión de los ORFs 615 y 616, cuyas bacteriocinas no se han reportado previamente.

Agradecimiento. PAPIIT IN220921, PAIP 5000-9102.

Bibliografía.

- Coelho M, Malcata F & Silva C (2022). *Foods*. 11(15): 2276.
- Cleveland J et al (2001) *Int J Food Microbiol*. 71: 1-20.
- Franz C, Schillinger U & Holzapfel W (1996) *Int J Food Microbiol*. 29: 255-270
- Zarzecka U, Zadernowska A & Chajęcka W (2022). *Food Microbiol*. 102: 1-9.