

Estudio de la participación de la proteína MB-XPP1 en la regulación del metabolismo secundario en *M. bruneum*.

Karla Yadira Cervantes Quintero, Juan Carlos Torres Guzmán, Israel Enrique Padilla Guerrero, Gloria Angélica González Hernández. Universidad de Guanajuato, División de Ciencia Naturales y Exactas, Departamento de Biología. Guanajuato. C.P 36050. gonzang@ugto.mx.

Palabras clave: metabolitos secundarios, Xpp1, *Metarhizium*.

Introducción. La resistencia de las bacterias a los antimicrobianos es un problema mundial con un mal pronóstico (1). El incremento en esta problemática reside en el mal uso de los fármacos y la falta de nuevos compuestos terapéuticos para tratar las infecciones bacterianas y como resultado la frecuencia con que aparece la resistencia incrementa rápidamente. Las plantas y los microorganismos son fuentes atractivas para descubrir nuevos agentes terapéuticos (2). *Metarhizium* es un género de hongos entomopatógenos que posee la capacidad de generar metabolitos secundarios bioactivos, entre ellos metabolitos con actividad antibacteriana, sin embargo, se conocen muy pocos de ellos (3). En 2016 se reportó que la proteína Xpp1 participa en el metabolismo secundario en el hongo *Trichoderma reesei* funcionando como un switch metabólico (4).

En este trabajo, se realizó la búsqueda de metabolitos secundarios con actividad antibacteriana, en diferentes especies de *Metarhizium*. Seleccionando una cepa *M. bruneum* para realizar una mutante nula en el gen *MB-XPP1*, con la finalidad de esperar un incremento en la producción de metabolitos secundarios y por tanto un incremento en la actividad antibacteriana.

Metodología. Para promover el metabolismo secundario en *Metarhizium spp.* se crecieron las cepas en 3 diferentes medios de cultivo durante 120 horas en agitación. Se obtuvieron los sobrenadantes por filtración y se concentraron por liofilización. Los metabolitos secretados por las cepas se probaron sobre 2 bacterias gram negativas (*Escherichia coli*, y *Salmonella*) y la bacteria gram positiva (*Bacillus subtilis*). Los ensayos de actividad antimicrobiana se realizaron por el método de difusión en agar modificado y se cuantificó midiendo D.O a 600 nm en una microplaca de 96 pozos. Para realizar la delección del gen se diseñaron oligonucleótidos específicos para amplificar las regiones río arriba y río abajo del gen *MB-XPP1*, se clonaron en un vector binario y se realizó la transformación de *Metarhizium* mediada por la cepa AGL-1 de *Agrobacterium tumefaciens* (5).

Resultados.

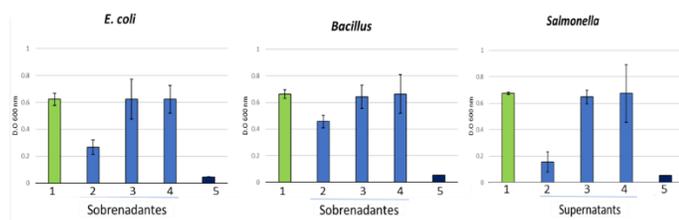


Fig.1. Efecto cuantitativo antibacteriano de *M. bruneum*. Efecto antibacteriano de los sobrenadantes 2,3,4 obtenidos de la cepa CARO19 crecida en 3 diferentes medios de cultivo, control negativo de

inhibición 1 y control positivo de inhibición 5, sobre las bacterias de *E.coli*, *Salmonella spp.*, y *Bacillus subtilis*

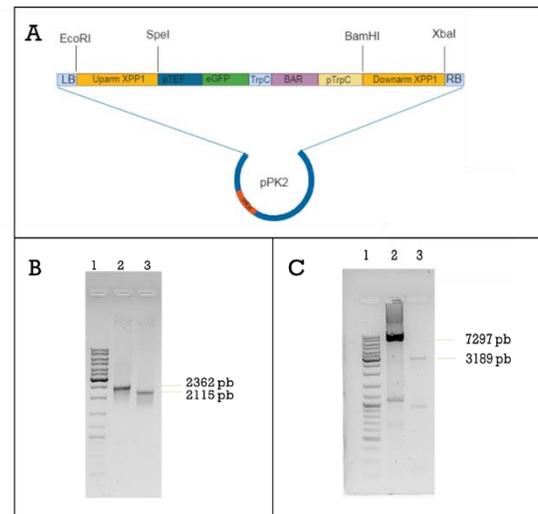


Fig.2. Construcción y comprobación molecular del vector de interrupción del gen *MB-XPP1*. En el panel A se muestra el mapa del vector, en el panel B se muestra la amplificación de los brazos río arriba y abajo del gen *XPP1* en el vector, en el panel C se muestra la comprobación por amplificación del cassette de interrupción y la amplificación de un fragmento dentro del cassette.

Conclusiones. El ensayo cualitativo y cuantitativo de la actividad antimicrobiana muestra resultados positivos para la cepa CARO19 de *M.bruneum*. Se tiene la mutante nula del gen *MB-XPP1* en la cepa CARO19 para poder evaluar su posible rol como regulador del metabolismo secundario.

Agradecimientos. Al apoyo económico de CONACYT(PDCPN2014-248622) para la realización de este proyecto

Bibliografía.

- O'Neill, J. I. M. (2014). Rev. Antimicrob. Resist. Vol.20, 1-16.
- Spatafora, J. W., & Bushley, K. E. (2015). *Curr. Opin. Plant Biol*, vol 26, 37-44.
- Gibson, D. M., et al (2014). *Nat Prod Rep*. Vol 31(10), 1287-1305.
- Derntl, C., Kluger et al (2017). *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* Vol. 114(4), E560-E569.
- Padilla-Guerrero, I. E., & Bidochka, M. J. (2017). *Mycobiology*, Vol. 45(2), 84-89