

**Título: ESTUDIO PROTEÓMICO DE *Staphylococcus aureus* RESISTENTE A METICILINA (MRSA) Y *Escherichia coli* O157:H7 FRENTE A LA ACCIÓN DE PÉPTIDOS SINTÉTICOS ANTIMICROBIANOS**

**DESCRIPCIÓN**

**Convocatoria No. 657-2014**

**Entidad:** UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER - UIS

**Grupo de Investigación:** COL0012909 - Laboratorio de Espectroscopía Atómica y Molecular, COL0036879 - Grupo de Investigación en Bioquímica y Microbiología, NN - Núcleo de Biotecnología de Curauma-Universidad Católica de Valparaíso-Chile.

**Investigador Principal:** Rodrigo Gonzalo Torres Sáez

**Resumen Ejecutivo:** Las infecciones bacterianas son la mayor causa de morbilidad y mortalidad en el mundo. Por esta razón, es necesario ampliar nuestro conocimiento del proceso de patogénesis a nivel molecular. En este sentido, las tecnologías proteómicas, en conjunto con los métodos de análisis de expresión génica, juegan un rol importante en el entendimiento de los mecanismos de patogénesis bacteriana.

Por otro lado, existe un gran interés por desarrollar nuevos antibióticos contra bacterias patógenas debido esencialmente a la creciente resistencia bacteriana de éstos contra antibióticos convencionales. Por esta razón, en el último tiempo, ha surgido la necesidad de obtener nuevos compuestos antimicrobianos efectivos en el tratamiento de enfermedades infecciosas de alta prevalencia e infecciones sistémicas de difícil manejo terapéutico.

Recientemente, los péptidos sintéticos con propiedades antimicrobianas (AMPs) han surgido como una alternativa promisoría para el tratamiento de infecciones microbianas. Sin embargo, a pesar de las grandes ventas de los péptidos antimicrobianos, estos presentan algunas desventajas como baja estabilidad a proteasas o alto costo de síntesis. Además, si bien se ha sugerido que su mecanismo de acción tiene que ver con la desestabilización y permeabilización de la membrana celular, se conoce muy poco sobre el efecto de los péptidos antimicrobianos sobre blancos intracelulares y los mecanismos de susceptibilidad y resistencia de las bacterias patógenas ante la acción de los péptidos antimicrobianos. En consecuencia, el uso de la proteómica in vitro, permitiría identificar biomarcadores proteicos de virulencia y cómo éstos pueden ser correlacionados con la infección bacteriana, y cómo actúan los péptidos antimicrobianos sobre las bacterias patógenas, así como las posibilidades de resistencia bacteriana a estos péptidos.

En este estudio, el objetivo principal del proyecto será estudiar la expresión diferencial de bacterias patógenas *E. coli* O157:H7 y *Staphylococcus aureus* tratadas con péptidos sintéticos

antimicrobianos, de manera de establecer las diferencias y similitudes entre los patrones de expresión de proteínas entre las cepas patógenas tratadas con los péptidos sintéticos y aquellas no tratadas.

Los péptidos sintéticos serán diseñados mediante técnicas bioinformáticas basados en secuencias de aminoácidos de otros péptidos disponibles en bases de datos de péptidos antimicrobianos y en algoritmos desarrollados en nuestro grupo de investigación apoyados en máquinas de soporte vectorial. A continuación, los péptidos diseñados (análogos de lactoferrina, cecropina, beta-defensina) serán sintetizados mediante la técnica de síntesis Fmoc en fase sólida. Los péptidos serán caracterizados mediante dicroísmo circular (CD), espectrometría de masas MALDI-TOF y RMN, para confirmar masas moleculares y estructura 2D and 3D de las secuencias sintetizadas. Además, se evaluará la actividad antimicrobiana de los péptidos sintéticos determinando tanto su concentración inhibitoria como bactericida mínima. Alternativamente, se comparará su actividad antimicrobiana con la producida con antibióticos convencionales contra bacterias Gram (+) y Gram (-) infectivas.

Posteriormente, se llevará a cabo el estudio proteómico de los microorganismos patógenos frente a la acción de los mejores péptidos antimicrobianos, mediante el desarrollo de análisis de electroforesis 2D e identificación de los spots expresados de manera diferencial mediante Espectrometría de Masas (MS) MALDI-TOF. Finalmente, se analizarán los proteomas de *E.coli* O157:H7 y SARM que permitan correlacionar los patrones de expresión de las proteínas de ambas cepas patógenas con los blancos de acción de los péptidos sintéticos.