



Participación de las bacterias lácticas en la salud humana y en la calidad alimentaria

**6ª Reunión de la Red Temática BAL
Libro de Resúmenes
Tarragona, 28-29 junio 2012**

Edición:
Manuel Zúñiga Cabrera
Albert Bordons de Porrata-Doria

24. Análisis proteómico de *Oenococcus oeni* ATCC-BAA1163 y *Lactobacillus plantarum* WCFS1

M^a Luz Mohedano¹, Pasquale Russo², Vivian de los Rios¹, Pilar Fernández de Palencia¹, Giuseppe Spano² y Paloma López¹

¹Departamento de Microbiología Molecular y Biología de las Infecciones, Centro de Investigaciones Biológicas, Ramiro de Maeztu 9, 28040 Madrid. ²Departamento de Ciencia de la Alimentación, Universidad de Foggia, Via Napoli 25, 71100 Foggia, Italia

Durante los últimos años, el grupo de la Dra. Paloma López, del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), ha estandarizado el análisis del proteoma de *Lactococcus lactis* y de otras bacterias lácticas (BAL) mediante la utilización de geles bidimensionales (2D) y posterior identificación de los péptidos utilizando análisis de MALDI-TOF, después de su separación electroforética y digestión triptica.

En colaboración con el grupo del Prof. Giuseppe Spano (Universidad de Foggia, Italia, UF), se ha optimizado una metodología para caracterizar el proteoma de *Oenococcus oeni*. Esta bacteria que realiza la fermentación maloláctica, es responsable de la desacidificación del vino después de la fermentación alcohólica. Por ello es de interés industrial el conocimiento de las proteínas implicadas en las rutas metabólicas y en los sistemas de transporte de esta bacteria. Así, las predicciones in silico inferidas de la secuencia del genoma pueden ser complementadas con datos proteómicos.

En este trabajo se describe la caracterización del proteoma de *O. oeni* ATCC-BAA116, microorganismo seleccionado debido a que la secuencia de su genoma ha sido determinada lo que permite la identificación de las proteínas codificadas por él. En el estudio 225 polipéptidos diferentes han sido identificados, clasificados por su función putativa y sometidos a análisis bioinformático para predecir su localización topológica.

Por otra parte, *Lactobacillus plantarum* es una BAL que está presente en alimentos fermentados de origen animal y vegetal, como integrante del cultivo iniciador o formando parte de la microbiota indígena y también es un microorganismo comensal del tracto digestivo humano. Esta amplia distribución de *L. plantarum* indica su capacidad para adaptarse a diversos ecosistemas y el estudio de su respuesta a distintas situaciones de estrés puede contribuir al conocimiento de sus mecanismos de adaptación a los diferentes nichos ecológicos. Además, el análisis del proteoma bacteriano puede ser utilizado para caracterizar las respuestas globales de los microorganismos a distintos tipos de estrés. En bacterias Gram-positivas incluyendo las BAL, CtsR es un regulador transcripcional global, que controla la expresión de la denominada clase III de genes, cuyos productos, incluyendo las chaperonas, están implicados en la respuesta a distintos estreses. La capacidad de CtsR para unirse al DNA es dependiente de la temperatura. Así, en este trabajo y en colaboración los grupos del CIB y de la UF, se ha utilizado el análisis proteómico para caracterizar en *Lactobacillus plantarum* la función de CtsR en condiciones fisiológicas normales y en condiciones de choque térmico. Las estirpes silvestre (*ctsR*) y mutante (Δ *ctsR*) de *Lactobacillus plantarum* WCFS1 se crecieron a la temperatura óptima de 30°C y sometidas posteriormente a un tratamiento de 30 min a 42°C. Los extractos totales de los cultivos tratados o sin tratar obtenidos, fueron analizados en geles 2D. La posterior cuantificación de las manchas peptídicas detectadas revelaron la alteración de los niveles de 23 péptidos cuya identidad fue determinada. Los niveles de proteínas típicas de respuesta al estrés, tales como Hsp1, Hsp3, GroEI, GroEs y DnaK se incrementaron después de la exposición al calor, mientras que los niveles de la proteína CspC implicada en la respuesta al choque por frío disminuyeron. A temperaturas óptimas, los niveles de ClpB, ClpE y ClpP (correspondientes a 13 manchas proteicas) observados en el mutante Δ *ctsR*, difirieron considerablemente de los niveles encontrados en la estirpe salvaje. Finalmente el análisis de qRT-PCR de la expresión de los genes relevantes, confirmó los resultados obtenidos mediante el análisis proteómico.

Palabras clave: proteoma de *O. oeni*, respuesta a estrés de *L. plantarum*