

Desarrollo de una estrategia proteómica basada en el marcado por proximidad *in vivo* para la identificación de vecinos de la proteína de división celular FtsZ de *Corynebacterium glutamicum*

Azalia Rodríguez Taño¹, Mariano Martínez², Leonel Malacrida³, Pedro M. Alzari², Anne Marie Wehenkel², Rosario Durán¹

1. Unidad de Bioquímica y Proteómica Analíticas, Institut Pasteur de Montevideo e Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay

2. Unidad de Microbiología Estructural, Institut Pasteur de París, Francia

3. Unidad de Bioimagenología Avanzada, Institut Pasteur de Montevideo/Instituto de Higiene, Facultad de Medicina, UdelaR

Resumen:

La división celular bacteriana es un proceso dirigido por el divisoma, un complejo macromolecular cuyo ensamblaje comienza con la polimerización de la proteína FtsZ en el sitio de división. FtsZ participa en el posterior reclutamiento de otras proteínas componentes del divisoma, que en el caso de *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* fueron identificadas y caracterizadas. Sin embargo, el suborden *Corynebacterineae* (que incluye importantes patógenos humanos) carece de homólogos reconocibles para muchas de estas proteínas de división celular, sugiriendo una composición y arquitectura diferente del divisoma.

Este trabajo se centra en el desarrollo de estrategias proteómicas basadas en la biotinylación por proximidad para estudiar el divisoma de *Corynebacterium glutamicum*. Para ello generamos una cepa que expresa FtsZ unida a una ascorbato peroxidasa ingenierizada (APEX2). APEX2 cataliza la oxidación de fenol biotina en presencia de H₂O₂ dando lugar a un radical que reacciona con aminoácidos de proteínas cercanas y permite su purificación por afinidad e identificación por espectrometría de masa (MS). La utilidad de esta estrategia depende en forma crítica de diseño experimental y la inclusión de controles adecuados. Evaluamos los niveles de expresión FtsZ-APEX2 y sus efectos sobre la división celular y la composición del proteoma. Además, optimizamos las condiciones del marcado *in vivo* y de la purificación e identificación de péptidos biotinylados por MS. Esto nos permitió obtener una lista de proteínas en la vecindad de FtsZ, incluyendo su principal interactor reportado, lo que valida la estrategia experimental. Futuros estudios permitirán seleccionar candidatos a validar como nuevos integrantes del divisoma.