"Detección de proteínas inmunogénicas de *Mycobacterium tuberculosis* con suero de pacientes en el estadio latente de la enfermedad"

Layseca-Gress, RM1, Vázquez-Tovar B[2]; Mosqueda-Gualito JJ[1], Cervantes-Chávez JA[1], Pérez-Serrano RM[1], Barrios-Payán JA[2], Carvajal-Gamez BI[1]. Universidad Autónoma de Querétaro[1]. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán[2].
correo de contacto: rlayseca28@alumnos.uaq.mx

INTRODUCCIÓN

Entre las enfermedades más importantes a nivel mundial se encuentra la tuberculosis, la cual es causada por *Mycobacterium tuberculosis*
Existen diversos factores que dificultan el diagnóstico de esta enfermedad, uno de ellos es el estadio de latencia que puede durar meses, incluso años permaneciendo en el paciente sin poder ser diagnosticada de manera temprana. La proteómica, nos brinda una perspectiva dinámica de todas las proteínas expresadas por un organismo en un momento dado y bajo determinadas condiciones, lo que puede ayudarnos a dilucidar claves importantes en las interacciones de estas redes presentes en la enfermedad.

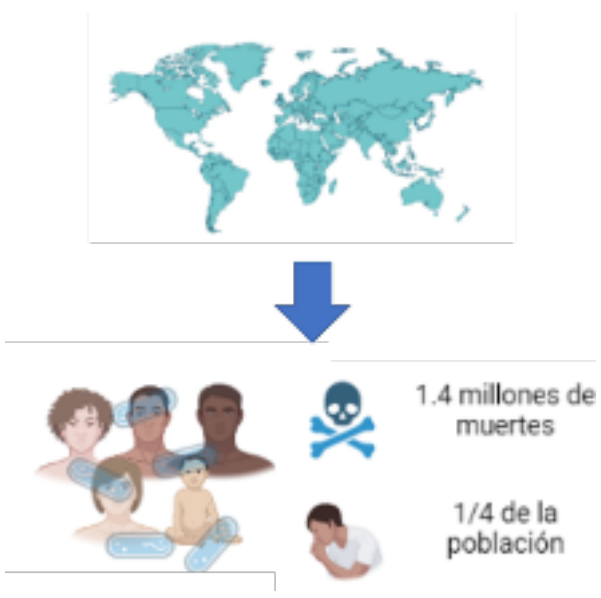

Fig 1. Esquema de la población susceptible a tuberculosisLa Organización Mundial de la Salud ha estimado que existen 1.4 millones de muertes debido a la tuberculosis y que cerca de un cuarto de la población mundial se encuentra infectada por la bacteria en estadio de latencia.

METODOLOGÍA

La preparación de las muestras se realizarán dos partes. La primera consistió en la elaboración de un cultivo de tres cepas de *Mycobacterium tuberculosis* que se inducirá a fase latente estado el cual se comprobará por una RT-PCR. Estas cepas son H37RV, 36226 y 1556. Para comprobar el estado de latencia se realizó una RT-PCR, del gen *icl* (Fig. 2). Una vez confirmado el estado de latencia, el cultivo fue fraccionado, con la intensión de separar el sobrenadante y la biomasa bacteriana. El cultivo fue filtrado utilizando un filtro de 0.22 µm. Por otra parte, la biomasa fue lisada utilizando microperlas de vidrio estériles. Una vez terminado las dos extracciones se adicionóa un coctel con inhibidores de proteasas. Ambos procedimientos se realizaron en BSL3. Una vez obtenido los extractos se realizará la extracción y purificación de proteínas totales, con la finalidad de realizar un análisis en 2DE y el inmunoproteoma (Fig. 3, 4 y 5).

Fig 2. Esquema donde se decribe el procedimiento de crecimiento e inducción de fase de latencia, así como también de la extracción de ARN y RT-PCR en donde se amplificó el gen *icl*.

Fig 3. Esquema de la purificación de proteínas y obtención del proteoma apartir del cultivo bacteriano, una vez se haya realizado la comprobación del estado de latencia.

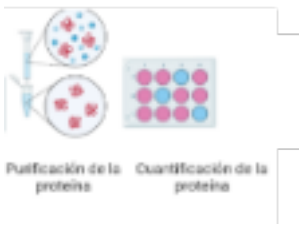

Fig 4. Esquema de obtención de sueros a partir de pacientes con tuberculosis en etadio latente.

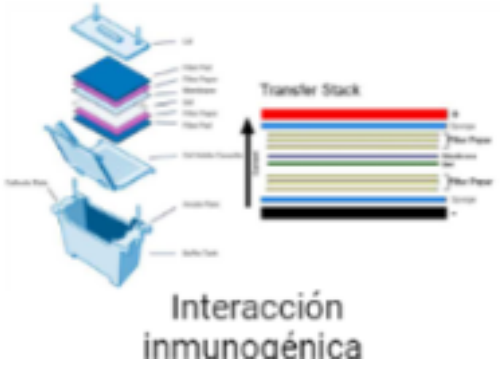

Fig 5. Esquema donde se muestra la interacción entre el proteoma de *Mycobacterium tuberculosis* con los sueros de pacientes con tuberculosis latente,

RESULTADOS

La *isocitrato liasa* es una enzima que se utiliza en el ciclo del giolxilato. Junto con la malato sintasa , pasa por alto los dos pasos de descarboxilación del ciclo del ácido tricarboxílico (ciclo TCA) y es utilizado por bacterias, hongos y plantas. Esta es una vía alternativa que utiliza la micobacteria para obtener glucosa en medios hostiles, por lo que se uso como marcador de la fase de latencia.

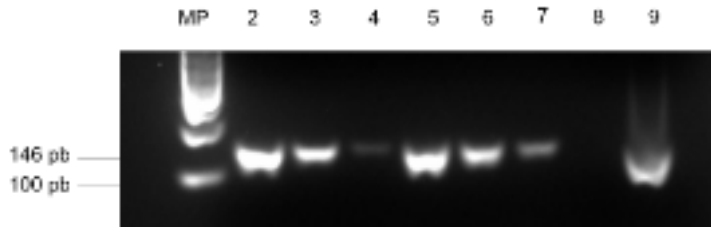

Fig 6. Gel de agarosa del RT-PCR; . Carril 1: marcador de talla molecular, Carril 2 y 5 cepa H37Rv, Carril 3 y 6: cepa1556, Carril 4 y 7: cepa 36226, Carril 8: Control negativo, Carril 9: Control Positivo: DNA de *Mycobacterium tuberculosis.*

DISCUSIÓN Y PERSPECTIVAS

Se evaluaron diferentes cepas de *Mycobacterium tuberculosis,* entre todas estas cepas se pudo observar que todas, al someterse a un estrés, podían expresar el gen de la *isocitrato liasa*. Los resultados obtenidos indican que el cultivo se encuentra en fase de latencia, por lo que la extracción de proteínas es el siguiente paso a realizar para poder obtener el proteoma, para posteriormente poder detectar proteínas inmunogénicas en los sueros de pacientes con tuberculosis latente.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realiza gracias a la cooperación con el Instituto Nacinal de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, Departamento de Patología y Anatomía Patológica, sección de Patología Experimental, en colaboración con el Dr Jorge Alberto Barrios-Payán y la Maestra en Ciencias Blanca Tovar Vázquez, la cual realizó el cultivo de la bacteria así como también el RT-PCR.

Created with BioRender Poster Builder