



Introducción

La inactivación del sistema de prevención/replicación de la lesión altamente mutagénica 8-Oxo-Guanina (8-OxoG), compuesto por las proteínas, MutM, MutY y MutA, induce hiper-mutagénesis en *B. subtilis* [1,2,4].

El estrés oxidativo se define como una perturbación del equilibrio existente entre los sistemas pro-oxidantes y antioxidantes en células intactas. La generación de especies reactivas de oxígeno induce alteraciones que al no ser atenuadas mediante los complejos enzimáticos antioxidantes celulares, generan daños estructurales en el ADN, como lo es la lesión mutagénica 8-OxoG que es reparada por el sistema GO (MutM, MutY y MutA) [3].

La acumulación de la 8-OxoG, y su procesamiento, afecta distintos procesos fisiológicos en *B. subtilis*, incluyendo, la entrada a la esporulación [5].

Se ha descrito que antibióticos de las familias de las quinolonas, β-lactámicos, rifamicinas y aminoglucósidos, entre otros, promueven la muerte celular mediante la generación de especies reactivas de oxígeno.

Con base en lo descrito previamente, en este proyecto, se investigará si el fenotipo hiper-mutagénico e hiper-resistente a H₂O₂, impacta la capacidad de la cepa *B. subtilis* deficiente en el sistema GO de incrementar su resistencia a la rifamicina, un antibiótico promotor de estrés oxidativo.

Evaluación de la resistencia a rifamicina a dosis menores de 2.5 µg/mL

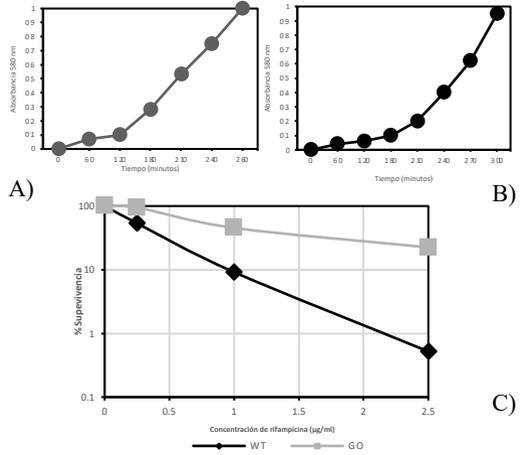


Figura 2. (A) Curva de crecimiento de la cepa WT de *B. subtilis* en medio LB. (B) Curva de crecimiento de la cepa de *B. subtilis* deficiente en el sistema GO. (C) Curvas dosis-respuesta de las cepas WT y GO tratadas con distintas concentraciones de rifamicina (0, 0.25, 1 y 2.5 µg/mL).

Resultados

Curva dosis-respuesta a rifamicina en dos cepas de *B. subtilis*

A)

Antibiótico	Porcentaje de supervivencia (%)	
Rifamicina (µg/mL)	WT	DGO
0	100	100
2.5	0.004109589	0.33
5	2.671232877	2.054545455
15	15.06849315	12.36363636
20	4.109589041	3.636363636

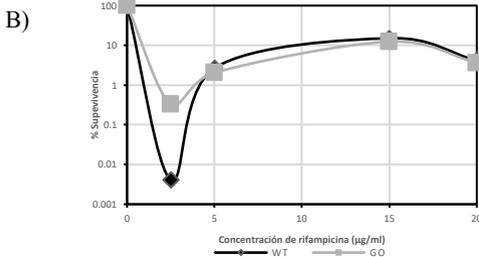


Figura 1. (A) Tabla de resultados obtenidos del porcentaje de supervivencia de las cepas WT Y GO de *B. subtilis* a diferentes dosis de rifamicina. (B) Curva dosis-respuesta de las cepas WT Y GO de *B. subtilis* a distintas concentraciones de rifamicina (0, 2.5, 5, 15 y 20 µg/mL).

Resumen de Resultados y Conclusión

Inicialmente, se encontró que la cepa deficiente en el sistema GO mostró mayor resistencia a Rifamicina a una concentración de 2.5 µg/ml, mientras que a concentraciones mayores, no se observan diferencias entre esta y la cepa parental. Cuando ambas cepas se retaron con el antibiótico, en un rango de concentraciones de 0 – 2.5 µg/mL, la supervivencia de la cepa parental silvestre disminuyó mas rapidamente en referencia a la cepa ΔGO.

La hipermutagénesis de la cepa *B. subtilis* ΔGO promueve la resistencia al antibiótico Rifamicina.

Referencias

- Vidales, L.E., Cárdenas LIC, Robledo, E., Yasbin, R.E., and M. PedrazaReyes. (2009). Defects in the Error Prevention Oxidized Guanine System Potentiate Stationary-Phase Mutagenesis in *Bacillus subtilis*. *J. Bacteriol.* 191 (2): 506-513.
- Debora, B.N., Vidales, L.E., Ramírez, M., Ramírez, R., Robledo, E., Yasbin, R. E. and M. Pedraza-Reyes. (2011). Mismatch repair regulation of MutY activity drives *Bacillus subtilis* stationary-phase mutagenesis. *J. Bacteriol.* 193 (1): 236-245.
- Mena Enriquez M, Flores Contreras L, Sandoval Rodríguez A, Armendáriz Borunda J. Mecanismos de reparación del ADN (2013). *ilogía molecular. Fundamentos y aplicaciones en las ciencias de la salud.* McGraw Hill.
- Leyva-Sánchez HC, Villegas-Negrete N, Abundiz-Yañez K, Yasbin RE, Robledo EA, Pedraza-Reyes M. 2020. Role of Mfd and GreA in *Bacillus subtilis* base excision repair dependent stationary-phase-mutagenesis. *J. Bacteriol.* 2020 Apr 9;202(9)

Agradecimientos

Trabajo apoyado por el CONACYT (Subsidio A-1S-27116) y la Universidad de Guanajuato (subsidió CIIC 107/2022). P. López, agradece la beca otorgada por la DAIP durante la Estancia de Verano 2022.