

Identificación de nuevos componentes del divisoma de *Corynebacterineae* mediante una estrategia proteómica de marcado por proximidad en las células vivas

Rodríguez, Azalia¹; **Martínez, Mariano**²; **Alzari, Pedro**²; **Wehenkel, Anne Marie**²; **Durán, Rosario**¹

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

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 del divisoma, que en el caso de *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis* han sido 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. Este trabajo se centra en descifrar la arquitectura molecular del divisoma en este grupo de bacterias. Para ello, desarrollamos y optimizamos una estrategia proteómica basada en la biotilación por proximidad para estudiar el divisoma de *Corynebacterium glutamicum*. Generamos una cepa que expresa FtsZ fusionada 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. Esto nos permitió marcar el entorno proteómico de FtsZ en la célula viva para su purificación e identificación por Espectrometría de Masa. Obtuvimos así una lista de 159 proteínas, la cual fue filtrada utilizando criterios proteómicos y un exhaustivo análisis bibliográfico para seleccionar candidatos a validar. Se expresaron en *C. glutamicum* los candidatos fusionados a mNeon para evaluar su localización subcelular. Con esto pudimos identificar 6 proteínas sin función asignada previamente que localizan en el septo, como promitentes nuevos integrantes del divisoma. Futuros estudios permitirán la caracterización de estas proteínas y su rol en la división celular de *Corynebacterineae*.

Palabras clave: divisoma, APEX, proteómica