

## Estudio funcional y estructural de la región B de Bap y su rol en el desarrollo de biofilms en *S. aureus*.

**Agustina Taglialegna, Alejandro Toledo-Arana, Cristina Solano, Iñigo Lasa y Jaione Valle**

Laboratorio de Biofilms Microbianos. Idab-Universidad Pública de Navarra-CSIC. Pamplona

[agustina.taglialegna@unavarra.es](mailto:agustina.taglialegna@unavarra.es)

**Introducción:** La familia de proteínas BAP (Biofilms-Associated Protein) constituye uno de los elementos comunes al proceso de formación de la matriz del biofilm en diversas especies bacterianas. Los miembros de esta familia presentan varias características comunes: (i) alto peso molecular; (ii) número elevado y variable de repeticiones; (iii) pueden estar contenidas en islas de patogenicidad. La proteína Bap de *S. aureus* fue el primer miembro de la familia BAP identificado. Bap es una proteína de 2,276 aminoácidos que promueve el desarrollo de biofilms sobre superficies abióticas así como la adhesión intercelular, siendo ambos procesos inhibidos en presencia de  $\text{Ca}^{+2}$ . Se ha observado además, que esta proteína contiene dos motivos coiled-coil que podrían permitir la interacción entre proteínas Bap, y varios motivos EF-hand involucrados en la interacción con  $\text{Ca}^{+2}$  (Cucarella *et al.* 2001; Arrizubiet *et al.*, 2004).

**Métodos:** Se construyeron proteínas quiméricas conteniendo diferentes regiones de Bap fusionadas con el dominio R del Clumping Factor A para determinar cual es la mínima región de la proteína necesaria para mediar la formación de biofilm. Además, se realizó un estudio estructural de la región B de Bap mediante el uso de diversas técnicas biofísicas (velocidad de sedimentación, SEC-MALLS, 1D-NMR, dicroísmo circular y filtración en gel) para poder determinar su estado conformacional y oligomérico en ausencia y presencia de  $\text{Ca}^{+2}$ .

**Resultados:** El análisis fenotípico de las complementaciones con las proteínas quiméricas conteniendo diferentes regiones de Bap muestra que la mínima región de Bap capaz de inducir la formación del biofilm es la región B. Cepas de *S. aureus* biofilm-negativas complementadas con la región B son capaces de formar biofilm. Mediante técnicas biofísicas se observa que la región B de Bap forma dímeros en ausencia de calcio, encontrándose en forma monomérica cuando el catión está presente en el medio. La espectroscopia de dicroísmo circular sugiere que el calcio genera un leve cambio conformacional en la estructura de Bap, aumentando su estabilidad

**Conclusiones:** El calcio juega un papel clave en la regulación del proceso de formación del biofilm proteico mediado por Bap: (i) su ausencia en el medio permitiría que dos proteínas Bap provenientes de células diferentes interaccionen entre sí a través de la región B formando dímeros anti-paralelos que conducirían a la formación del biofilm; (ii) el calcio interaccionaría con los motivos EF-hand, evitando la formación de dímeros e irrumpiendo la formación del biofilm.

### Referencias:

Cucarella C, Solano C, Valle J, *et al.* (2001) Bap, a Staphylococcus aureus surface protein involved in biofilm formation. Journal of bacteriology, 183, 2888-2896.

Arrizubieta, M. J., Toledo-Arana, A., Amorena, B., Penadés, J. R., & Lasa, I. (2004). Calcium inhibits bap-dependent multicellular behavior in *S. aureus*. Journal of Bacteriology, 186(22), 7490–7498