

Análisis transcriptómico de *Arthrobacter* sp. Helios cultivado en condiciones de baja actividad de agua

Gabriel Hernández Fernández*, Beatriz Galán* & José Luis García*

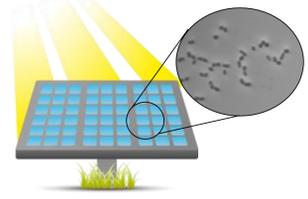
(gabriel.hernandez@cib.csic.es)

*Departamento de Biotecnología Microbiana y de Plantas, Centro de Investigaciones Biológicas "Margarita Salas" CIB-CSIC. Madrid, España.



INTRODUCCION

La bacteria *Arthrobacter* sp. Helios se ha aislado a partir de placas solares localizadas en Valencia mediante un cribado de resistencia a la desecación descrito en M. Castillo *et al.* (2021). Existen distintas estrategias desarrolladas por las bacterias para sobrevivir a los ambientes áridos, tales como la acumulación de iones potasio y otros solutos compatibles (glicina betaína, trealosa) y la eliminación de ROS (2). Con el fin de estudiar los mecanismos desarrollados por *Arthrobacter* sp. Helios para resistir al estrés hídrico y sobrevivir en este tipo de ambientes, en este trabajo se ha secuenciado su genoma y se ha estudiado su transcriptoma en condiciones de baja actividad de agua generadas mediante estrés mátrico en crecimiento en presencia de polietilenglicol 6000.



RESULTADOS

1. *Arthrobacter* sp. Helios es una bacteria xerotolerante

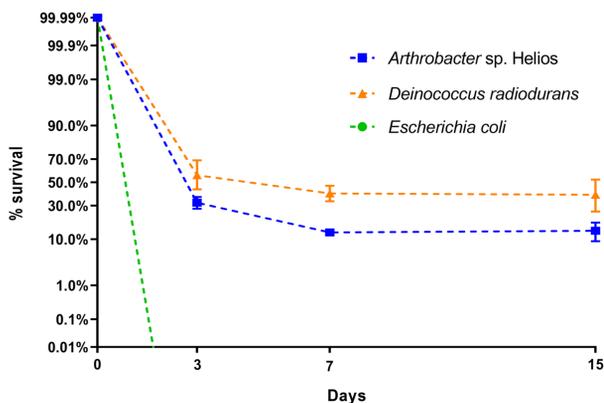


Figura 1. Ensayo de desecación. Las bacterias se crecieron en LB hasta la fase exponencial, se desecaron en filtros de celulosa a 37°C durante 3, 7 y 15 días y se calculó el porcentaje de supervivencia mediante UFCs.

2. Secuenciación del genoma de *Arthrobacter* sp. Helios

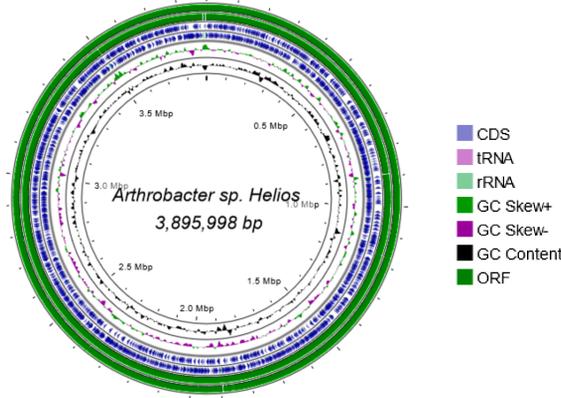


Figura 2. Genoma de *Arthrobacter* sp. Helios. La secuenciación se realizó por Illumina y minION. El genoma tiene un contenido de GC del 66% y presenta 3586 genes, de los cuales 2275 tienen función asignada. El número de acceso en el NCBI es CP095402

3. Características generales del genoma de *Arthrobacter* sp. Helios

El genoma de *Arthrobacter* sp. Helios codifica múltiples proteínas relacionadas con la resistencia a distintos estreses que le permiten sobrevivir en ambientes extremos. Entre estas destacan:

Chaperonas (ArtHe_06610, ArtHe_10200, ArtHe_10205, ArtHe_11930, ArtHe_12040). **Factores sigma alternativos** (ArtHe_03030, ArtHe_04605, ArtHe_09840, ArtHe_15815, ArtHe_17530). **Catalasas** (ArtHe_01810, ArtHe_11075, ArtHe_14120, ArtHe_14485). **SOD** (ArtHe_05980). **Peroxidasas** (ArtHe_01040, ArtHe_08610, ArtHe_10990, ArtHe_11330, ArtHe_12570). **Sensores de estrés oxidativo SoxR** (ArtHe_01455, ArtHe_15110).

La cepa posee genes para la síntesis de **glucógeno** (ArtHe_06185-06190) y **trehalosa** (ArtHe_00035-00040; ArtHe_10285-10290) implicados en la resistencia a **estrés osmótico**, así como los genes del transporte y síntesis de **glicina-betaína** (ArtHe_04665-04675; ArtHe_11940-11950), el **transporte de potasio** (ArtHe_17380-17395) o el flujo de agua por **acuaporinas** (ArtHe_08770, ArtHe_06700).

4. Análisis global de la respuesta al estrés hídrico mediada por PEG6000

El PEG6000 simula eficazmente la condición de estrés hídrico en los cultivos bacterianos sin los efectos tóxicos que generan las condiciones con altas concentraciones de iones. Se ha obtenido el transcriptoma de *Arthrobacter* sp. Helios cultivado con 35% w/v de PEG6000 y se ha comparado con el transcriptoma de la cepa cultivada en ausencia de PEG6000. Se encontraron un total de 364 genes diferencialmente expresados (DEG), de los cuales 184 están sobre-expresados y 140 sub-expresados.

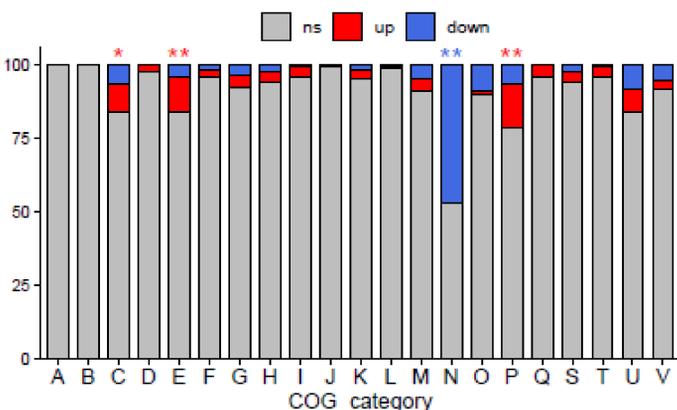
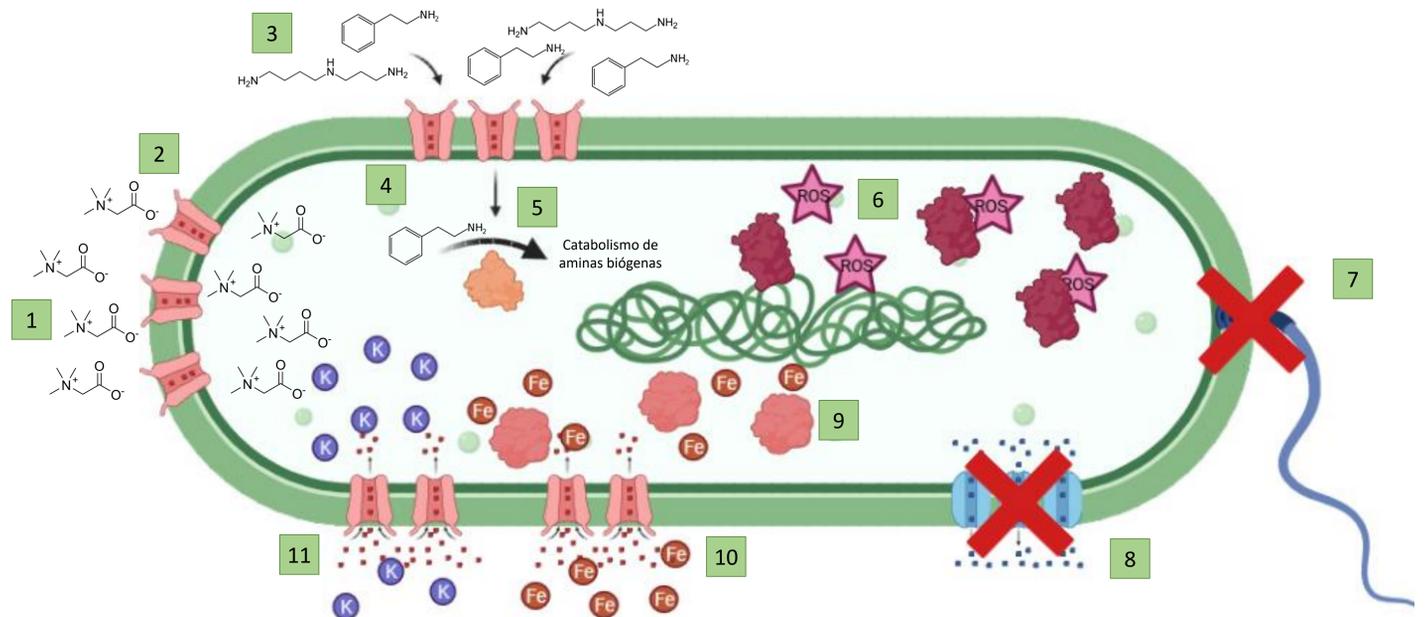


Figura 3. Análisis COG de los genes diferencialmente expresados. Transcriptoma de *Arthrobacter* sp. Helios cultivado en estrés hídrico (35% (p/v) de PEG6000) comparado con el control (0% PEG6000). Hay una expresión diferencial de genes involucrados en **Metabolismo y transporte de aminoácidos (E)**, **Movilidad celular (N)** y **Metabolismo y transporte de iones inorgánicos (P)**.

1. Glicina betaína
2. Transportadores de glicina betaína
3. Aminoácidos biógenos (espermidina, feniletilamina)
4. Transportadores de aminoácidos biógenos
5. Catabolismo de aminoácidos biógenos
6. Peroxidasa
7. Flagelo
8. Acuaporina
9. Hemo-oxidasa
10. Transportadores de hierro
11. Transportadores de potasio

| Genes sobre-expresados | |
|--|---|
| Estrés osmótico: <ul style="list-style-type: none">• Transportadores de glicina betaína• Transportadores de potasio• Proteínas de la cápsula de polisacáridos | Daño oxidativo: <ul style="list-style-type: none">• Peroxidasa• 8-oxoguanina desaminasa |
| Homeostasis del Fe: <ul style="list-style-type: none">• Transportadores de hierro y sideróforos• Hemo-oxidasa | Metabolismo de aminos biógenas: <ul style="list-style-type: none">• Transportadores de espermidina/putrescina• Catabolismo de la feniletilamina |

| Genes sub-expresados |
|--|
| Motilidad celular: <ul style="list-style-type: none">• Cluster de síntesis y ensamblaje del flagelo |
| Estrés osmótico: <ul style="list-style-type: none">• Acuaporina |
| Homeostasis del Fe: <ul style="list-style-type: none">• Ferritina |



CONCLUSIONES

- El genoma de *Arthrobacter* sp. Helios codifica un gran número de proteínas relacionadas con la resistencia a distintos tipos de estrés.
- El análisis del transcriptoma en condiciones de estrés hídrico en PEG6000 mostró 324 genes expresados diferencialmente de los cuales 184 se encontraron sobre-expresados y 140 sub-expresados.
- De los genes sobre-expresados destacan genes involucrados en la resistencia a estrés osmótico, el transporte y el catabolismo de aminoácidos biógenos, la homeostasis del hierro y la respuesta al daño oxidativo.
- Los genes sub-expresados están implicados en la síntesis del flagelo, el metabolismo del nitrógeno, y genes que codifican las proteínas acuaporina y ferritina.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha financiado con el proyecto nacional RTI2018-095584-B-C44 del Ministerio de Ciencia e Innovación de España.

REFERENCIAS

1. Castillo, M. *et al.* Xerotolerance: a new property in *Exiguobacterium* genus. *Microorganisms* 9, (2021).
2. Yao, Y., Tang, H., Su, F. & Xu, P. Comparative genome analysis reveals the molecular basis of nicotine degradation and survival capacities of *Arthrobacter*. *Scientific Reports* 5, (2015).