



## ENSAMBLAJE Y ANOTACIÓN GENÓMICA DE *Texcoconibacillus texcoconensis* CEPA 13CC; ASÍ COMO LA COMPROBACIÓN DE GENES DE RESISTENCIA A ARSÉNICO, COBALTO, COBRE Y ZINC.

Mónica Benítez<sup>1</sup>, Reynold Farrera<sup>2</sup>, Pablo Cruz<sup>3</sup>, Francisco Barona<sup>3</sup> y Luc Dendooven<sup>1</sup>. <sup>(1)</sup>CINVESTAV, Depto. Biotecnología y Bioingeniería. México, D.F., C.P. 07330. <sup>(2)</sup>ENCB-IPN, Depto. Ing. Bioquímica. México, D.F., C.P. 11340. <sup>(3)</sup>CINVESTAV-LANGEBIO. C.P. 36821. Irapuato, Gto. e-mail: mbenitez@cinvestav.mx

*Palabras clave: Texcoconibacillus, ensamblaje, anotación, resistencia.*

**Introducción.** En el suelo del ex Lago de Texcoco hay gran diversidad de microorganismos extremófilos, entre ellos, los halófilos. *Texcoconibacillus texcoconensis* gen. nov., sp. nov., cepa 13CC es una bacteria, Gram-positiva halófila (20% w/v de NaCl), aislada de dicho suelo <sup>(1)</sup>. Para determinar las bases genéticas de su capacidad para sobrevivir en un ambiente extremo, se secuenció, ensambló y anotó su genoma. De este análisis se encontraron posibles genes asociados a la resistencia a concentraciones tóxicas de metaloides y metales, rasgos que fueron analizados experimentalmente.

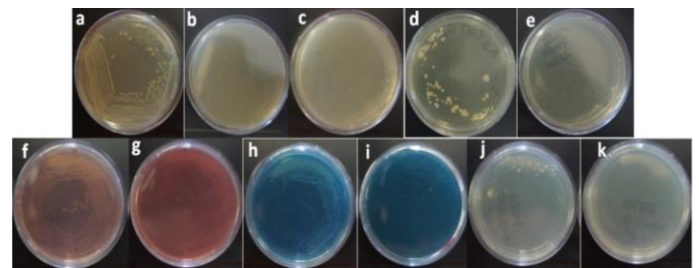
**Metodología.** El genoma de *T. texcoconensis* se secuenció utilizando la plataforma Illumina pair-end, el ensamblaje se realizó con Velvet y la anotación con RAST <sup>(2)</sup>. Con la anotación se identificaron posibles genes, entre ellos, de resistencia a compuestos tóxicos. Se hicieron pruebas con *T. texcoconensis* para corroborar esa resistencia. Las pruebas se hicieron en medio sólido con arsenito, arseniato, cobalto, cobre y zinc, para determinar las concentraciones mínimas inhibitorias (MICs) <sup>(3-7)</sup>. Las concentraciones y compuestos usados fueron: 1-7 mM de As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 5-625 mM de Na<sub>2</sub>HAsO<sub>4</sub>, 1-6 mM de CoCl<sub>2</sub>, 2-16 mM de CuSO<sub>4</sub> y 0.05-1 mM de ZnSO<sub>4</sub>.

**Resultados.** Se obtuvo un genoma de 3.4Mb, organizado en 58 contigs. En la anotación se obtuvieron un total de 1925 posibles genes que codifican para proteínas; de estos, 11 genes sugieren resistencia a arsénico, cobalto, cobre y zinc. Finalmente, el análisis experimental confirmó que *T. texcoconensis* es resistente a estos metales y metaloides tóxicos.

**Tabla 1.** Concentraciones mínimas inhibitorias (MICs) para cada metal evaluado, y la comparación con otros microorganismos

| Microorganismo                            | MIC <sup>a</sup> (mM) |                  |                  |                  |                  |
|---|-----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
|   | As <sup>+3</sup>      | As <sup>+5</sup> | Co <sup>+2</sup> | Cu <sup>+2</sup> | Zn <sup>+2</sup> |
| <i>T. texcoconensis</i>                   | 7                     | 625              | 6                | 16               | 0.5              |
| <i>Bacillus</i> sp. AR-9 <sup>3</sup>     | 5                     | 200              | N.D              | N.D              | N.D              |
| <i>E. faecium</i> <sup>5</sup>            | N.D                   | N.D              | N.D              | 24               | N.D              |
| <i>S. aureus</i> <sup>6</sup>             | N.D                   | N.D              | N.D              | N.D              | 10               |
| <i>E. coli</i> <sup>5,7</sup>             | N.D                   | N.D              | 0.05             | 20               | N.D              |
| <i>Alcaligenes eutrophus</i> <sup>4</sup> | N.D                   | N.D              | 20               | N.D              | N.D              |

a. MIC: es la concentración más baja del compuesto que inhibe totalmente el crecimiento de los microorganismos en medio sólido después de 72h de incubación. N.D. No Data



**Fig. 1.** Resultados MIC; a) Control, cepa sin metales; b) 620 mM de As<sup>+5</sup>; c) 625 mM de As<sup>+5</sup>; d) 6 mM de As<sup>+3</sup>; e) 7 mM de As<sup>+3</sup>; f) 5mM de Co<sup>+2</sup>; g) 6 mM de Co<sup>+2</sup>; h) 15 mM de Cu<sup>+2</sup>; i) 16 mM de Cu<sup>+2</sup>; l) 0.4 mM de Zn<sup>+2</sup>; m) 0.5 mM de Zn<sup>+2</sup>.

**Conclusiones.** El ensamblaje y la anotación del genoma de la cepa 13CC permitieron identificar genes de resistencia a arsénico, cobalto, cobre y zinc en este microorganismo. Estas resistencias fueron corroboradas experimentalmente. Además, durante este trabajo se ha obtenido el primer genoma de un miembro del género *Texcoconibacillus*, creemos que el análisis funcional de este genoma nos permitirá entender mejor su adaptación a ambientes extremos.

La anotación del genoma de la cepa 13CC permitió encontrar genes con funciones conocidas que predicen posibles características fisiológicas sin necesidad de búsquedas aleatorias.

**Agradecimiento.** Se agradece a CONACYT por la beca de maestría otorgada para realizar esta investigación y al Cinvestav por el apoyo económico brindado.

### Bibliografía.

- Ruiz-Romero E., Coutiño-Coutiño M., Valenzuela-Encinas C., López-Ramírez M., Marsch R. y Dendooven L. (2013). *Int J Syst Evol Microbiol.* 63: 3336–3341.
- Aziz R., Bartels D., Best A., DeJongh M., Disz T., Edwards R., Formsa R., Gerdes S., Glass E., Kubal M., Meyer K., Olsen G., Olson R., Osterman A., Overbeek R., McNeil L., Paarmann D., Paczian T., Parrello B., Pusch G., Reich C., Stevens R., Vassieva O., Vonstein V., Wilke A. y Zagnitko O. (2008). *BMC Genomics.* 9(75). DOI: 10.1186/1471-2164-9-75.
- Hsiu-Chuan V., Chu Y., Su Y., Hsiao S., Wei C., Liu C., Liao C., Shen W., Chang F. (2011). *J Contam Hydrol.* 123: 20-29.
- Schmidt T. y Schlegel H. (1989). *FEMS Microbiology Ecology.* 5(5): 315-328.
- Elguindi J., Moffitt S., Hasman H., Andrade C., Raghavan S. y Rensing C. (2011). *Appl Microbiol Biotechnol.* 89(6): 1963–1970.
- Xiong A. y Jayaswal R. (1998). *J. Bacteriol.* 180(16): 4024–4029
- Rodrigue A., Effantin G. y Mandrand-Berthelot M. (2005). *J. Bacteriol.* 187(8): 2912–2916.