

## CARACTERIZACIÓN TRANSCRIPTOMICA DE LA CEPA $\Delta$ gsu1771 DE *Geobacter sulfurreducens* EN CONDICIONES DE FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA

Juan B. Jaramillo Rodríguez, Alberto Hernández Eligio, Leticia Vega Alvarado, Luis Rodríguez Torres, Guillermo Huerta Miranda y Katy Juárez. Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Av. Universidad 2001, CP 62210 Cuernavaca, Morelos.

[juan.jaramillo@ibt.unam.mx](mailto:juan.jaramillo@ibt.unam.mx), [katy.juarez@ibt.unam.mx](mailto:katy.juarez@ibt.unam.mx)

*Palabras clave:* transcriptoma, biopelícula, *Geobacter sulfurreducens*, GSU1771

**Introducción.** *Geobacter sulfurreducens* es una bacteria anaerobia que degrada materia orgánica y respira una gran variedad de óxidos metálicos insolubles (1). Tiene aplicaciones biotecnológicas en la biorremediación de agua contaminada con metales pesados y la producción de bioelectricidad. Para ello es esencial la formación de biopelículas que tienen características conductivas gracias a un proceso de transferencia extracelular de electrones (TEE) que es dirigido por un repertorio de citocromos tipo-c, la producción de pili conductivo y de exopolisacáridos (1). Una cepa de *G. sulfurreducens* con mutación del gen *gsu1771* (que codifica un regulador transcripcional, cepa  $\Delta$ gsu1771), produce una biopelícula más gruesa y electroconductiva, mejora la reducción de Fe(III) además de aumentar la producción de pili conductivo, así como de algunos citocromos tipo-c (2). Sin embargo, se desconocen los genes que son regulados por la proteína GSU1771 y que participan en la TEE y síntesis de exopolisacáridos.

En este trabajo se caracterizó la respuesta transcriptómica de la cepa  $\Delta$ gsu1771 en condiciones de formación de biopelícula en vidrio, así como la producción de pili y de citocromos tipo-c.

**Metodología.** Se obtuvieron biopelículas de *G. sulfurreducens* (parental y  $\Delta$ gsu1771) desarrolladas sobre vidrio en medio NBAF en condiciones anaerobias a 25°C por 48 hrs (3). Las biopelículas se procesaron para extraer ARN y realizar estudios de RNA-seq. Los genes diferencialmente expresados (DE) se obtuvieron con la plataforma IDEAMEX tomando aquellos con un "p value" <0.05 y un "Log fold change" > 1.5. Algunos genes DE se validaron por RT-qPCR (3). Se evaluó la producción de PilA, OmcS y OmcZ mediante inmunoblot así como el perfil de citocromos tipo-c mediante tinción hemo. Finalmente se evaluó la interacción de GSU1771 con las regiones promotoras de algunos genes DE mediante ensayos EMSA (3).

**Resultados.** El resultado del RNA-seq mostró 467 genes DE (167 estuvieron sobregulados y 300 subregulados). Entre los genes DE se identificaron aquellos que codifican para la producción de

exopolisacáridos, transporte, metabolismo energético, transducción de señales, regulación, entre otros. Se identificaron genes DE que podrían favorecer la formación de biopelícula y la TEE. Los datos obtenidos por RNA-seq se validaron por analizar la expresión de varios genes DE por RT-qPCR. La tinción hemo mostró un aumento en la producción de citocromos tipo-c por la cepa  $\Delta$ gsu1771 mientras que mediante Inmunoblot, se determinó que la cepa  $\Delta$ gsu1771 produce una mayor cantidad de OmcS y OmcZ, dos citocromos ampliamente estudiados por su participación directa en la TEE. Por otro lado, PilA, la proteína estructural del pili conductivo, a pesar de estar subregulado en el RNA-seq, a nivel de proteína se encuentra en la misma proporción que la cepa parental, sugiriendo la existencia de un mecanismo de regulación postranscripcional en esta cepa que favorece la síntesis de PilA, probablemente a través de CsrA y LepA. Mediante ensayos de interacción DNA-proteína, se comprobó la interacción entre la proteína GSU1771 y las regiones reguladoras de algunos genes blanco como *pgcA*, *pulF*, *gsu1771* y *relA*. Para determinar los posibles sitios de unión de la proteína GSU1771, se realizó un análisis *in silico* de las regiones promotoras de estos genes, y se identificaron los posibles motivos de unión WTYTKYTYTT y GHGGMGGG.

**Conclusiones.** GSU171 es un regulador global que controla la expresión de al menos 467 genes, entre los que se encuentran aquellos relacionados a la producción de exopolisacáridos, transporte y metabolismo energético que están relacionados con fenotipos observados en la cepa  $\Delta$ gsu1771. GSU1771 regula directamente a algunos de sus genes blanco, posiblemente interactuando con los motivos WTYTKYTYTT y GHGGMGGG localizados en la región promotora.

**Agradecimiento.** PAPIIT-UNAM No. IN212022.

### Bibliografía.

1. Lovley, D.R., et al. (2011) *Adv Microb Physiol* 59, 1-100.
2. Hernández-Eligio, J. A., et al. (2022) *Bioelectrochem* 145, 1567-5394.
3. Jaramillo-Rodríguez J.B., et al. (Sometido PlosOne).