

IDENTIFICACIÓN DE LA RUTA DE BIOSÍNTESIS DE METIONINA EN UN METANÓTROFO TERMOACIDÓFILO

Jacqueline Eduardo, Alexis Saldivar, Sergio Revah, Departamento de Procesos y Tecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Cuajimalpa, Ciudad de México, 05370, srevah@cua.uam.mx.

Palabras clave: metanótrofo, extremófilos, genómica

Introducción. En un trabajo previo de nuestro laboratorio se secuenció y ensambló el genoma del metanótrofo *Methylacidiphilum fumariolicum Pic* aislado del lago volcánico en “El Chichonal” Chiapas. En el genoma no se encontraron proteínas de biosíntesis de metionina, a pesar de que crece en medio sin este aminoácido. Una limitante en el ensamblado es la generación de genomas fragmentados que no contienen todas las secuencias de proteínas [2]. Además, es posible que los métodos de detección de proteínas mediante homología de secuencias no sean adecuados debido a sesgos en las bases de datos.

En el presente trabajo, se realizó el ensamblado de los datos de secuenciación a nivel de proteína, ya que de esta forma se recuperan más secuencias [4]. Además, se construyeron Modelos Ocultos de Markov (HMM) para proteínas del filo verrucomicrobia. Con esto se pretende mejorar la sensibilidad de la búsqueda de las proteínas de interés, al reducir el sesgo usando una base de datos curada manualmente.

Metodología. Los datos de secuenciación obtenidos previamente (sin publicar) se re-ensamblaron con Plass v4-687d7 [2]. Las secuencias de proteínas resultantes se de-replicaron con MMseqs2 [1]. De NCBI se descargaron las secuencias de proteínas para tres rutas de biosíntesis de metionina (Tabla 1), usando las que pertenecen a los filos verrucomicrobia, planctomicetes y cianobacteria. Para cada proteína, las secuencias se alinearon usando COBALT y con los alineamientos se construyeron HMMs usando la función hmmbuild del paquete HMMERv3.3.2 [3].

Tabla 1. Proteínas obtenidas de MetaCyc

Ruta	Proteínas
I	I.a Homoserina O-succiltransferasa I.b O-succinilhomoserina (tiol) liasa I.c Cistationina β-liasa
III	III.a Homoserina O-acetiltransferasa III.b O-acetilhomoserina sulfhidrilasa
IV	IV.a Aspartato-semialdehído dehidrogenasa IV.b L-aspartato semialdehído sulfurtransferasa IV.c Metionina sintasa dependiente de MtrA

Después, se usó hmsearch para identificar los potenciales homólogos presentes. De las secuencias detectadas, se escogieron las cinco con menor e-value, y se agregaron al alineamiento previo, adicionando

secuencias de los filos firmicutes y fusobacteria, para construir un árbol filogenético en MEGA7.

Resultados. En la ruta I, para las proteínas I.b y I.c se encontró la misma secuencia, lo que sugiere que esta proteína tiene una doble función de cistationina liasa y sintasa en la cepa *Pic*. En la ruta III, se encontraron las secuencias para ambas proteínas, por lo que esta ruta se encuentra completa. En la ruta IV se encontraron datos para las proteínas IV.a y IV.b. La filogenia de la proteína I.b (figura 1), sugiere que las secuencias encontradas comparten un origen con las del filo verrucomicrobia y, por lo tanto, pueden ser homólogos entre sí.

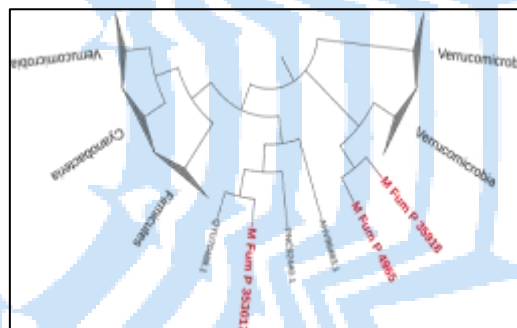


Fig. 1. Árbol filogenético de la proteína Cistationina β-liasa. En rojo las secuencias encontradas con HMM.

Conclusiones. Mediante la utilización de ensambladores a nivel de proteína y la construcción de HMMs, se encontraron proteínas para la biosíntesis de metionina en los datos de secuenciación *M. fumariolicum Pic*. Los resultados sugieren que esta bacteria posee al menos dos rutas distintas para producir metionina.

Bibliografía.

- [1] Eddy, SR. (2011) *Accelerated Profile HMM Searches*. *PLoS Comput Biol* 7(10): e1002195. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1002195>
- [2] Steinegger, M., Mirdita, M. & Söding, J. (2019) *Protein-level assembly increases protein sequence recovery from metagenomic samples*. *Nat Methods* 16, 603–606 <https://doi.org/10.1038/s41592-019-0437-4>
- [3] Steinegger, M., Söding, J. (2017). *MMseqs2 enables sensitive protein sequence searching for the analysis of massive data sets*. *Nat Biotechnol* 35, 1026–1028 <https://doi.org/10.1038/nbt.3988>