

Evaluación del efecto de la salinidad en el procesamiento del tRNA^{Cys} durante la germinación de esporas de *Bacillus subtilis* usando RNA-seq

Arvizu Hernández Iván¹, Caballero Pérez Juan², Jones George H.³, Campos Guillén Juan¹,

¹Laboratorio de Bacteriología molecular, Facultad de Química, Universidad Autónoma de Querétaro, Cerro de las Campanas S/N, 76010 Querétaro, Qro., México.

²Databiology Ltd, Oxford, OX4 4GA, United Kingdom.

³Department of Biology, Emory University, Atlanta, Georgia, USA.

email: arvizu.ivan2907@gmail.com

Palabras clave: Estrés osmótico, secuenciación de RNA, esporulación

Introducción. En su hábitat natural, la bacteria del suelo *Bacillus subtilis*, está expuesta a condiciones ambientales fluctuantes, principalmente a estrés osmótico y estrés por deficiencia de nutrientes (Marles-Wright y Lewis, 2007; Schultz et al., 2007). Al agotarse los nutrientes, esta bacteria genera esporas que germinan para formar células vegetativas cuando los nutrientes vuelven a estar disponibles en el medio (Bremer, 2002). En este sentido, los mecanismos moleculares de acumulación tRNAs durante la esporulación son una prioridad, ya que desempeñan un papel esencial en la traducción durante la germinación de esporas y su fase de crecimiento posterior (Keijser et al., 2007). Los efectos del estrés salino en la expresión génica se han analizado previamente durante la germinación y el crecimiento. Sin embargo, no se ha estudiado ampliamente el procesamiento de los tRNAs en estas condiciones. En este estudio investigamos el perfil de tRNA^{Cys} en esporas de *B. subtilis* y en crecimiento en ausencia/presencia de 1.2M de NaCl.

Metodología. Las condiciones experimentales para obtener RNA de esporas de *B. subtilis* y en crecimiento bajo estrés salino están descritas en (Nagler et al., 2016). Se analizaron los datos de RNA-seq obtenidos de la base de datos GEO de GeneBank (acceso GSE81238). Se utilizó el programa FastQC para evaluar la calidad de la secuenciación, BWA e IGV para alinear al genoma de referencia. El análisis de los motivos 5', 3' se hizo en CLC Genomics work bench 12.0.2.

Resultados. Las esporas almacenan diferentes moléculas relacionadas con el tRNA^{Cys}. En la Figura 1 se observa que el 60% del total de tRNA^{Cys}, estaba compuesta por fragmentos. La mitad de estos fragmentos (3'-tRF) poseía CC, CCA o adiciones incorrectas en el extremo 3'. Secuencias con adiciones correctas de CCA en el 3' estuvo representado en 22.8% del total, mientras que con adiciones incorrectas 7%. En los diferentes tiempos del crecimiento se observa cambio en la densidad de tales moléculas (Figura no mostrada).

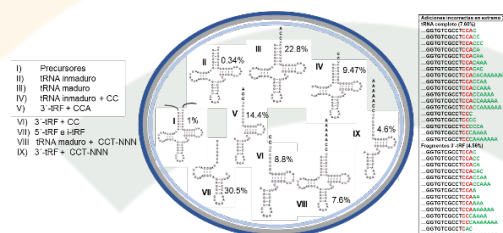


Figura 1. Densidad de moléculas de tRNA^{Cys} en la espora de *B. subtilis*.

Conclusiones. El estrés salino produjo un efecto modesto en la expresión de tRNA^{Cys} y la acumulación de especies cortas. Los tRNA^{Cys} de esporas se someten a un procesamiento dinámico para producir moléculas funcionales y para sintetizar RNA de novo. El estrés salino provoca un retardo en la síntesis de nuevas moléculas, lo que sugiere que hay un efecto en el procesamiento de los tRNAs.

Agradecimientos. A Databiology Ltd. Al financiamiento de la UAQ (FONDEC-UAQ, 2019 y FONDO "QUÍMICA SOMOS TODOS" 2019).

Bibliografía.

- Bremer, E. (2002). "Adaptation to changing osmolarity," in *Bacillus subtilis* and its Closest Relatives: From Genes to Cells, eds A. L. Sonnenschein, R. M. Losick, and J. A. Hoch (Washington, DC: ASM Press), 385–391.
- Keijser, B. J., Ter Beek, A., Rauwerda, H., Schuren, F., Montijn, R., van der Spek, H., & Brul, S. (2007). Analysis of temporal gene expression during *Bacillus subtilis* spore germination and outgrowth. *Journal of bacteriology*, 189(9), 3624–3634.
- Marles-Wright, J., & Lewis, R. J. (2007). Stress responses of bacteria. *Current opinion in structural biology*, 17(6), 755–760.
- Nagler, K., Krawczyk, A. O., De Jong, A., Madela, K., Hoffmann, T., Laue, M., Kuipers, O. P., Bremer, E., & Moeller, R. (2016). Identification of Differentially Expressed Genes during *Bacillus subtilis* Spore Outgrowth in High-Salinity Environments Using RNA Sequencing. *Frontiers in microbiology*, 7, 1564.
- Schultz, D., Wolynes, P. G., Jacob, E. B., & Onuchic, J. N. (2009). Deciding fate in adverse times: sporulation and competence in *Bacillus subtilis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(50), 21027–21034.