

Grupo de biofilms bacterianos

La vida en comunidad de las bacterias

Íñigo Lasa

Universidad Pública de Navarra

ilasa@unavarra.es

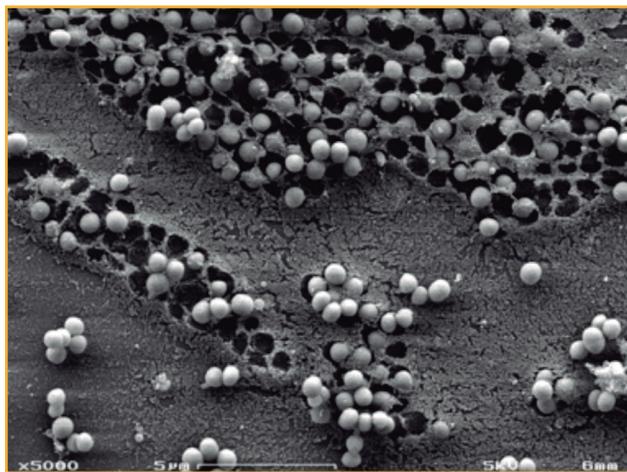


Foto de grupo. De izquierda a derecha: agachados: Igor Ruiz de los Mozos, Begoña García, Maite Villanueva. De pie: Saioa Burgui, Íñigo Lasa, Tana Taglialegna, Sonia Saenz, Carlos Caballero, Maite Villanueva, Cristina Solano, Jaione Valle, Alejandro Toledo, Amaia Sabalza y Juani Prieto.

Al igual que el hombre, las bacterias prefieren vivir en urbes donde la compañía de otras bacterias facilita el desarrollo de una matriz en cuyo interior las bacterias viven protegidas de cambios en las condiciones ambientales y en un entorno donde es más sencillo acumular enzimas degradativas, retener agua o comunicarse. El grupo de Biofilms bacterianos inició su andadura en 1999 y desarrolla su actividad investigadora en el Instituto de Agrobiotecnología, un centro mixto de investigación entre la Universidad Pública de Navarra, el CSIC y el Gobierno de Navarra. Su investigación se centra en las bases moleculares y genéticas del proceso de formación del biofilm de dos bacterias

patógenas: *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis* ser. Enteritidis. La razón que nos llevó a elegir bacterias filogenéticamente tan alejadas para realizar nuestros estudios fue el convencimiento de que esta estrategia nos permitiría reconocer aquellos elementos que son comunes al proceso de formación del biofilm de aquellos otros elementos que son específicos para cada bacteria. *Staphylococcus aureus* es una de las bacterias patógenas que mayores problemas sanitarios causa en los países desarrollados. Esto se debe a (i) la enorme cantidad de factores de virulencia que es capaz de producir y que le proporcionan una gran versatilidad como patógeno; (ii) la existencia de cepas multiresistentes

a los antibióticos (las comúnmente denominadas MRSA); y (iii) a su capacidad para adherirse a los implantes médicos y causar infecciones mediadas por biofilms. Esta última característica fue determinante a la hora de decidimos a utilizarla como modelo de estudio del proceso de formación del biofilm. A lo largo de estos años hemos aprendido que la matriz del biofilm de *S. aureus* puede ser de naturaleza proteica (previamente, existía la idea de que la matriz del biofilm es siempre de naturaleza polisacáridica) y que en la regulación de la síntesis del exopolisacárido interviene una compleja cascada de reguladores cuyas conexiones todavía no entendemos bien (Toledo-Arana et al, 2001; Valle et al, 2003; Toledo-Arana et al, 2005; Valle et al, 2007; Merino et al, 2009; Vergara-Irigaray et al, 2009; Valle et al, 2011; Gil et al, 2014). También hemos estudiado los sistemas de transducción de señal de dos-componentes que conectan los estímulos ambientales con la maquinaria de síntesis de la matriz. Más recientemente, utilizando metodologías de análisis transcriptómico hemos descubierto la existencia de un proceso global de transcripción solapante en bacterias Gram positivas. Según nuestros resultados, que han sido confirmados posteriormente por otros autores, los RNAs solapantes son digeridos por una RNasa específica de RNA de cadena doble, RNasa III, a fragmentos de 19-21 nucleótidos (Lasa et al, 2011; Lybecker et al, 2014). Este proceso de digestión de los RNAs solapantes tiene lugar a lo largo de todo el genoma y proporciona un método muy sencillo para coordinar la expresión de los genes contiguos (Lasa et al, 2012; Sesto et al, 2013; Lasa y Villanueva, 2014). El análisis transcriptómico también nos ha permitido encontrar la existencia de largas regiones no traducidas en el extremo 3' (3' UTR) de muchos genes de *S. aureus*. Estudios dirigidos a investigar la función de la 3' UTR utilizando como modelo de estudio la región 3' UTR del gen *icaR*, un regulador de la síntesis del principal exopolisacárido de la matriz del biofilm, han mostrado que las 3' UTRs bacterianas también pueden contener elementos reguladores de la expresión génica (Ruiz de Los Mozos et al, 2013).



Biofilm de bacterias de *Staphylococcus aureus*.

En el caso de *Salmonella*, nuestros estudios inicialmente se centraron en identificar elementos de la matriz del biofilm, donde contribuimos con la identificación de los operones responsables de la síntesis de celulosa y de una proteína de superficie con homología a una proteína de *S. aureus* (Solano et al, 2002; Latasa et al, 2005). Posteriormente nos focalizamos en el sistema de transducción de señal mediado por c-di-GMP donde realizamos un original abordaje que consistió en la eliminación de los elementos de esta ruta de transducción de señal de esta bacteria (García et al, 2004; Solano et al, 2009; Zorraquino et al, 2013). La utilización de esta cepa nos está permitiendo investigar los procesos regulados por el c-di-GMP en esta bacteria y averiguar los mecanismos de especificidad que permiten al c-di-GMP producido ante un determinado estímulo influir específicamente en sus dianas, sin interferir con las dianas activadas por otros estímulos ambientales.

Aunque la motivación principal de nuestra investigación es responder a preguntas básicas de cuándo, cómo, y para qué las bacterias forman los biofilms, siempre intentamos identificar aplicaciones biotecnológicas en nuestros resultados. Fruto de esa vocación, el grupo cuenta con dos patentes internacionales en explotación, y varios miembros del grupo han constituido una empresa de base tecnológica dedicada al diseño y construcción de microorganismos modificados genéticamente «a la carte».

Nuestro grupo mantiene colaboraciones con muchos grupos para el desarrollo de sus investigaciones. Mantenemos una larga y estrecha colaboración con el grupo del Dr. José R. Penadés, anteriormente en Segorbe, pero que recientemente se ha desplazado a la Universidad de Glasgow. También mantenemos colaboraciones para la caracterización de las proteínas de la matriz del biofilm con el grupo del Dr. Jean Marc Ghigo (Instituto Pasteur), el grupo de la Dra. P. Romby (Universidad de Estrasburgo), la Dra. Cecilia Arraiano (Universidad de Lisboa) y el Dr. F. Vandenesch (Universidad de Lyon) para el análisis del proceso de transcripción solapante. En los aspectos de virulencia y genética de *Salmonella*, siempre hemos contado con el consejo y la ayuda de los grupos del Dr. F. García del Portillo (CNB, Madrid) y el Dr. J. Casadesus (Universidad de Sevilla).

REFERENCIAS

- García B, Latasa C, Solano C, García-del Portillo F, Gamazo C, Lasa I. (2004). Role of the GGDEF protein family in *Salmonella* cellulose biosynthesis and biofilm formation. *Mol Microbiol* 54: 264-277.
- Gil C, Solano C, Burgui S, Latasa C, García B, Toledo-Arana A, et al. (2014). Biofilm Matrix Exoproteins Induce a Protective Immune Response against *Staphylococcus aureus* Biofilm Infection. *Infect Immun* 82:1017-1029.
- Lasa I, Villanueva M. (2014). Overlapping transcription and bacterial RNA removal. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:2868-2869.
- Lasa I, Toledo-Arana A, Gingeras T. (2012). An effort to make sense of antisense transcription in bacteria. *RNA biology* 9:1039-1044.
- Lasa I, Toledo-Arana A, Dobin A, Villanueva M, de Los Mozos IR, Vergara-Irigaray M, et al. (2011). Genome-wide antisense transcription drives mRNA processing in bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108:20172-20177.

- Latasa C, Roux A, Toledo-Arana A, Ghigo JM, Gamazo C, Penadés JR, Lasa I.** (2005). BapA, a large secreted protein required for biofilm formation and host colonization of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis. *Mol Microbiol* 58:1322–1339.
- Lybecker M, Zimmermann B, Bilusic I, Tukhtubaeva N, Schroeder R.** (2014). The double-stranded transcriptome of *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:3134–3139.
- Merino N, Toledo-Arana A, Vergara-Irigaray M, Valle J, Solano C, Calvo E, et al.** (2009). Protein A-mediated multicellular behavior in *Staphylococcus aureus*. *J Bacteriol* 191:832–843.
- Ruiz de Los Mozos I, de Los Mozos I.R, Vergara-Irigaray M, Segura V, Villanueva M, Bitarte N, et al.** (2013). Base pairing interaction between 5'- and 3'-UTRs controls *icaR* mRNA translation in *Staphylococcus aureus*. *PLoS Genetics* 9:e1004001–e1004001.
- Sesto N, Wurtzel O, Archambaud C, Sorek R, Cossart P.** (2013). The excludon: a new concept in bacterial antisense RNA-mediated gene regulation. *Nat Rev Micro* 11:75–82.
- Solano C, García B, Latasa C, Toledo-Arana A, Zorraquino V, Valle J, et al.** (2009). Genetic reductionist approach for dissecting individual roles of GGDEF proteins within the c-di-GMP signaling network in *Salmonella*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106:7997–8002.
- Solano C, García B, Valle J, Berasain C, Ghigo JM, Gamazo C, Lasa I.** (2002). Genetic analysis of *Salmonella enteritidis* biofilm formation: critical role of cellulose. *Mol Microbiol* 43:793–808.
- Toledo-Arana A, Merino N, Vergara-Irigaray M, Débarbouillé M, Penadés JR, Lasa I.** (2005). *Staphylococcus aureus* develops an alternative, *ica*-independent biofilm in the absence of the *arlRS* two-component system. *J Bacteriol* 187: 5318–5329.
- Toledo-Arana A, Valle J, Solano C, Arrizubieta MJ, Cucarella C, Lamata M, et al.** (2001). The Enterococcal Surface Protein, Esp, Is Involved in *Enterococcus faecalis* Biofilm Formation. *Appl Environ Microbiol* 67:4538–4545.
- Valle J, Latasa C, Gil C, Toledo-Arana A, Solano C, Penadés JR, Lasa I.** (2011). Bap, a biofilm matrix protein of *Staphylococcus aureus* prevents cellular internalization through binding to GP96 host receptor. *PLoS Pathog* 8:e1002843–e1002843.
- Valle J, Toledo-Arana A, Berasain C, Ghigo JM, Amorena B, Penadés JR, Lasa I.** (2003). SarA and not sigmaB is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. *Mol Microbiol* 48:1075–1087.
- Valle J, Vergara-Irigaray M, Merino N, Penadés JR, Lasa I.** (2007). sigmaB regulates IS256-mediated *Staphylococcus aureus* biofilm phenotypic variation. *J Bacteriol* 189:2886–2896.
- Vergara-Irigaray M, Valle J, Merino N, Latasa C, García B, Ruiz de los Mozos I, et al.** (2009). Relevant role of fibronectin-binding proteins in *Staphylococcus aureus* biofilm-associated foreign-body infections. *Infect Immun* 77:3978–3991.
- Zorraquino V, García B, Latasa C, Echeverez M, Toledo-Arana A, Valle J, et al.** (2013). Coordinated cyclic-di-GMP repression of *Salmonella* motility through YcgR and cellulose. *J Bacteriol* 195:417–428.

NOTA DEL EDITOR

Queridos socios de la SEM,

En esta etapa editorial hemos abierto en SEM@foro a los Grupos Especializados un espacio sin restricciones en las secciones monográficas, que estuvo más limitado en la etapa anterior. Ello implica que no todos los socios interesados tuvieron la oportunidad en su momento de publicar una reseña de su línea de investigación en Actualidad SEM, mientras que en SEM@foro, que ya lleva 3 años de rodaje, no ha habido limitaciones más allá de las exigidas por los Presidentes co-editores de los números. Ello ha creado una desigualdad de oportunidades y la aparición, esporádicamente, de números más grandes, como este n.º 58 dedicado al prolífico y transversal grupo de Microbiología Molecular. Esto además supone un coste adicional para la SEM en épocas de austeridad en las que hemos tenido que tomar decisiones tan dolorosas como limitar la tirada en papel de la revista a 250 ejemplares.

Como responsable de la edición pido disculpas a los co-editores y socios que se sintieron limitados. Abrir la revista a todos los socios sin restricción de espacio no ha sido una decisión meditada, sino una tendencia improvisada por la demanda sin otra intención de hacer de esta revista un verdadero «foro» de la SEM. Con el SEM@foro en verde, hemos acelerado sin mirar atrás y sin acordarnos de los compañeros que tuvieron que esperar en la luz roja.

En aras del orden público y para evitar embotellamientos, en lo sucesivo vamos a regular el tráfico de artículos. En la próxima e inminente ronda de secciones especiales, pues esta la acabamos en junio de 2015, el SEM@foro estará verde hasta los 10 artículos y en ámbar hasta los 15. Pasarse el SEM@foro en rojo implicará una «multa» para el Grupo, que quizás le interese asumir. Recordad que es cómodo utilizar también el transporte público: NoticiaSEM sale cada mes.

Victor J. Cid.
Director editorial.