

Producción de metabolitos secundarios en *Streptomyces*: regulación, estudio y mejora de cepas productoras

RAMÓN I SANTAMARÍA* SÁNCHEZ, CAROLINA RIASCOS CUERO, JAVIER GARCÍA MARTÍN, MARÍA LORENZO SÁNCHEZ, RAMIRO MORÁN CACHO, EVA LÓPEZ DELGADO, MARGARITA DÍAZ MARTÍNEZ*

Instituto de Biología Funcional y Genómica. CSIC/USAL. Salamanca.

✉ santa@usal.es | mardi@usal

N.º 76 DICIEMBRE 2023

StREGTomyces Regulación génica en *Streptomyces*



Componentes del grupo. De izquierda a derecha: Javier García Martín, Ramiro Morán Cacho, María Lorenzo Sánchez, Eva López Delgado, Ramón I Santamaría Sánchez, Margarita Díaz Martínez, Carolina Riascos Cuero.

El grupo de investigación “Regulación génica en *Streptomyces*” del Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG) de Salamanca está liderado por Ramón I. Santamaría (Investigador Científico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas - CSIC) y Margarita Díaz (Profesora Titular de la Universidad de Salamanca - USAL). A lo largo de los últimos años, se ha centrado en contribuir a desentrañar parte de la compleja red de regulación de la producción de antibióticos en bacterias del género *Streptomyces*. Además, el grupo ha aislado gran número de *Streptomyces* a partir de hábitats muy diversos los cuales

tienen elevado potencial frente a hongos fitopatógenos.

El concepto de “Una salud” (“One Health”) integra la salud conjunta de personas, plantas, animales y ecosistemas, considerándolo todo como una unidad. Por lo tanto, se necesita la colaboración de diferentes estrategias para abordar este problema. Una de estas áreas es el aislamiento de nuevas moléculas con actividad antibiótica y/o antifúngica para luchar contra las multirresistencias de diferentes microorganismos patógenos que están en alza y que están suponiendo un grave pro-

blema en la actualidad. En este contexto, las bacterias del género *Streptomyces* juegan un papel muy importante debido a su alta capacidad para producir moléculas bioactivas. Además, la secuenciación de los genomas de múltiples especies ha demostrado que existen gran cantidad de agrupaciones génicas (BCGs) que no se expresan actualmente cuando se realizan cultivos puros en condiciones de laboratorio o industriales. Se denominan BCGs crípticos.

Una estrategia para activar la expresión de estas agrupaciones crípticas produc-

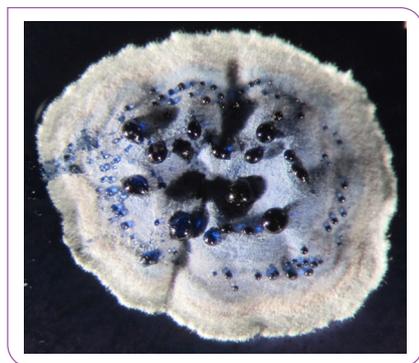


Figura 1. Producción del antibiótico actinorrodina (gotas azules en la foto) por una colonia de *S. coelicolor*.



Figura 2. Efecto de inhibición de tres cepas de *Streptomyces* (tacos en la foto) sobre un hongo fitopatógeno sembrado en el centro de la placa.

toras de antibióticos o antifúngicos, así como de mejorar la producción de compuestos que sí se conocen y producen, pero con poca eficiencia, es modular su red de regulación. Por lo tanto, es crucial comprender la fisiología de esta bacteria y descifrar sus mecanismos de regulación a nivel molecular lo que permitirá su manipulación y aplicación en diversos campos.

Teniendo en cuenta este objetivo y empleando *Streptomyces coelicolor* como modelo, el grupo de investigación ha demostrado el papel de diferentes reguladores globales en la producción de antibióticos; como son los Sistemas de Dos Componentes (Two Component Systems - TCSs) (Rodríguez *et al.*, 2013; Sánchez de la Nieta *et al.*, 2022) y los sistemas XRE/DUF397 (Riascos *et al.*, 2023). De este modo ha establecido la red de regulación de algunos reguladores positivos (que activan la producción), como AbrC (Rico *et al.*, 2014a; Rodríguez *et al.*, 2015), Aor1 (Antoraz *et al.*, 2017) y Scr1/Scr2 (Santamaría *et al.*, 2018); así como reguladores negativos que disminuyen la producción de antibióticos, como AbrA (Rico *et al.*, 2014b) y AbrB (Antoraz, 2018; Sánchez de la Nieta *et al.*, 2020) mediante estudios transcriptómicos. Además, busca la aplicación biotecnológica orientada a la producción de nuevos compuestos con actividad antimicrobiana sobreexpresando genes reguladores positivos en diferentes especies de *Streptomyces* (Rico *et al.*, 2014a;

Becerril *et al.*, 2018), y generando nuevos hospedadores de producción heteróloga eliminando los reguladores negativos (Antoraz, 2018).

En la actualidad, uno de los objetivos de nuestra investigación es ampliar el conocimiento en relación con la red de señalización de los TCSs. Los sistemas de dos componentes (TCSs) compuestos por una histidina quinasa sensora (HK) y un regulador de respuesta (RR) constituyen el sistema de transducción de señales predominante en los organismos procariontes. Dentro de la cascada de señalización, la etapa más problemática de cara a su análisis es precisamente la inicial, la activación de la histidina quinasa. La identificación de los estímulos que activan los TCSs y modulan sus cascadas de señalización es uno de los mayores obstáculos en el estudio de estos sistemas de regulación. De los casi 100 TCS presentes en el genoma de *Streptomyces coelicolor*, tan solo se ha conseguido determinar de forma precisa la señal de activación en dos de ellos: VanR/S (Koteva *et al.*, 2010) y GluK/R (Li *et al.*, 2017).

En el grupo se ha diseñado y construido una plataforma denominada HKASP (Histidine Kinase Activating Signal Platform) para determinar *in vivo* las señales y estímulos que activan a las histidina quinasa en *Streptomyces* (Sánchez de la Nieta, 2022). Esta plataforma se basa en la construcción de HK quiméricas (qHK) que permiti-

rá identificar las señales activadoras de los sistemas TCSs implicados en la producción de antibióticos y modular la expresión de los reguladores y activarlos o reprimirlos atendiendo a si son reguladores positivos o negativos.

Otro de sus objetivos es seguir estudiando la red de regulación de los TCSs. En este sentido, estamos trabajando en identificar las quinasa implicadas en la activación de un Regulador de Respuesta huérfano muy importante en la producción de antibióticos, Aor1 (Antoraz *et al.*, 2017); y también se trabaja en analizar cuál es el papel directo o indirecto de algunas de las dianas que se han encontrado a través de los estudios transcriptómicos. Entre estas dianas se encuentra una bacterioferritina codificada por el gen *SCO2113*, por lo que se está analizando la relación de este gen con la disponibilidad de hierro, la producción de antibióticos y el metabolismo general.

De modo complementario, el grupo explora la capacidad de varias nuevas cepas de *Streptomyces* seleccionadas por producir compuestos activos tanto frente a las bacterias "ESKAPE-like" (similares a las responsables de muchas de las resistencias a antibióticos), así como contra hongos fitopatógenos que afectan a nuestra agricultura. Ya se han aislado varias cepas interesantes y se está obteniendo la secuencia de sus genomas, analizando

las moléculas bioactivas producidas, y su potencial para producir nuevos metabolitos secundarios.

El objetivo final es identificar nuevas moléculas bioactivas y contribuir al conocimiento en el campo de la regulación de la producción de antibióticos, mediante una aproximación dual que combina la investigación en el campo de la regulación de la producción de antibióticos (descifrando las señales y elementos implicados) con el aislamiento y estudio de nuevas cepas productoras de Productos Naturales (NPs) novedosos. A medio plazo, los resultados esperados se podrían aplicar con fines biotecnológicos, tanto en salud humana como agrícola teniendo un papel importante en la lucha contra uno de los problemas emergentes a nivel mundial como son las resistencias a antibióticos y antifúngicos.

Adicionalmente, el grupo está muy implicado en divulgación. Así, desde el año 2017, participamos en el programa MicroMundo-SWI en Salamanca y en otras múltiples actividades como la noche de los investigadores, la semana de la ciencia, las visitas guiadas a nuestro Instituto, exposiciones de fotografías, etc. Todas estas actividades permiten llegar al público general y dar a conocer la labor de los científicos en esta área de la microbiología.

Bibliografía

- Antoraz, S.** (2018) Mejora genética de cepas de *Streptomyces coelicolor* para la producción de metabolitos secundarios mediante el estudio de su regulación por sistemas de dos componentes. In: University of Salamanca. Spain, p. Doctoral Thesis. <https://digital.csic.es/handle/10261/183634>
- Antoraz, S., Rico, S., Rodríguez, H., Sevillano, L., Alzate, J.F., Santamaría, R.I. et al.** (2017) The Orphan Response Regulator Aor1 Is a New Relevant Piece in the Complex Puzzle of *Streptomyces coelicolor* Antibiotic Regulatory Network. *Front Microbiol* 8: 2444. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02444>
- Becerril, A., Álvarez, S., Braña, A.F., Rico, S., Díaz, M., Santamaría, R.I. et al.** (2018) Uncovering production of specialized metabolites by *Streptomyces argillaceus*: Activation of cryptic biosynthesis gene clusters using nutritional and genetic approaches. *PLoS One* 13: e0198145. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198145>
- Koteva, K., Hong, H.J., Wang, X.D., Nazi, I., Hughes, D., Naldrett, M.J. et al.** (2010) A vancomycin photoprobe identifies the histidine kinase VanSsc as a vancomycin receptor. *Nat Chem Biol* 6: 327-329. <https://doi.org/10.1038/nchembio.350>
- Li, L., Jiang, W., and Lu, Y.** (2017) A Novel Two-Component System, GluR-GluK, Involved in Glutamate Sensing and Uptake in *Streptomyces coelicolor*. *J Bacteriol* 199. <https://doi.org/10.1128/JB.00097-17>
- Riscos, C., Martínez-Carrasco, A., Díaz, M., and Santamaría, R.I.** (2023) Role of fourteen XRE-DUF397 pairs from *Streptomyces coelicolor* as regulators of antibiotic production and differentiation. New players in a complex regulatory network. *Front Microbiol* 14: 1217350. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1217350>
- Rico, S., Santamaría, R.I., Yepes, A., Rodríguez, H., Laing, E., Bucca, G. et al.** (2014a) Deciphering the Regulon of *Streptomyces coelicolor* AbrC3, a Positive Response Regulator of Antibiotic Production. *Applied and Environmental Microbiology* 80: 2417-2428. doi: <https://doi.org/10.1128/AEM.03378-13>
- Rico, S., Yepes, A., Rodríguez, H., Santamaría, J., Antoraz, S., Krause, E.M. et al.** (2014b) Regulation of the AbrA1/A2 two-component system in *Streptomyces coelicolor* and the potential of its deletion strain as a heterologous host for antibiotic production. *PLoS one* 9: e109844. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0109844>
- Rodríguez, H., Rico, S., Díaz, M., and Santamaría, R.I.** (2013) Two-component systems in *Streptomyces*: key regulators of antibiotic complex pathways. *Microbial cell factories* 12: 127. doi: <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-127>
- Rodríguez, H., Rico, S., Yepes, A., Franco-Echevarría, E., Antoraz, S., Santamaría, R.I. et al.** (2015) The two kinases, AbrC1 and AbrC2, of the atypical two-component system AbrC are needed to regulate antibiotic production and differentiation in *Streptomyces coelicolor*. *Frontiers in microbiology* 6: 450. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00450>
- Sánchez de la Nieta, R.** (2022) Sistemas de dos componentes de *Streptomyces coelicolor*, pilares en la producción de antibióticos. In: University of Salamanca. Spain, Doctoral Thesis. <https://digital.csic.es/handle/10261/306195>
- Sánchez de la Nieta, R., Santamaría, R.I., and Díaz, M.** (2022) Two-Component Systems of *Streptomyces coelicolor*: An Intricate Network to Be Unraveled. *International Journal of Molecular Sciences* 23: 15085. <https://doi.org/10.3390/ijms232315085>
- Sánchez de la Nieta, R., Antoraz, S., Alzate, J.F., Santamaría, R.I., and Díaz, M.** (2020) Antibiotic Production and Antibiotic Resistance: The Two Sides of AbrB1/B2, a Two-Component System of *Streptomyces coelicolor*. *Front Microbiol* 11: 587750. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.587750>
- Santamaría, R.I., Sevillano, L., Martín, J., Genilloud, O., González, I., and Díaz, M.** (2018) The XRE-DUF397 Protein Pair, Scr1 and Scr2, Acts as a Strong Positive Regulator of Antibiotic Production in *Streptomyces*. *Frontiers in Microbiology* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02791>