

RNAs reguladores de cianobacterias

ALICIA M. MURO PASTOR

Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (CSIC-Universidad de Sevilla) (España)

✉ alicia@ibvf.csic.es

🌐 <https://www.ibvf.us-csic.es/grupos-investigacion/rnas-reguladores-de-cianobacterias/>

Los acercamientos globales al análisis del transcriptoma bacteriano revelan un paisaje transcripcional complejo que incluye numerosos RNAs no codificantes, cuya expresión podría tener consecuencias reguladoras. En los últimos años se han identificado RNAs no codificantes implicados en la regulación de prácticamente cualquier aspecto de la fisiología bacteriana. Uno de los grupos más estudiados es el de los RNA pequeños (*small RNAs*, sRNAs), que se han revelado como elementos clave en la regulación de la patogénesis, la asimilación de distintos nutrientes o el *quorum sensing*. La otra gran categoría de RNAs no codificantes esta constituida por los llamados RNAs antisentido (*antisense RNAs*, asRNAs), codificados en la hebra contraria de una región transcrita. Mientras los pequeños RNAs exhiben complementariedad imperfecta con sus RNAs diana, que pueden ser varios, los RNAs antisentido son perfectamente complementarios de su RNA diana, que suele ser único. De esta manera, mientras los primeros pueden ejercer efectos reguladores sobre varios RNAs, constituyendo nodos de regulación similares a los factores de transcripción, los RNAs antisentido suelen afectar específicamente a un RNA concreto.

En nuestro laboratorio estamos analizando los mecanismos de regulación mediada por RNAs no codificantes en cianobacterias, y en concreto en *Nostoc* sp. PCC 7120, una cianobacteria filamentosa modelo que nos interesa por varios motivos. Por un lado, las cianobacterias son organismos fotosintéticos expuestos habitualmente a entornos cambiantes, no sólo en lo que se refiere a la fluctuante disponibilidad de nutrientes en medios acuáticos sino también en cuanto a la disponibilidad de luz, su "nutriente" fundamental. En este contexto, tanto la luz intensa como la



De izquierda a derecha: Sara Belén Hernández Piñero, Agustín Vioque Peña, Alicia M. Muro Pastor, Isidro Álvarez Escribano y Belén Suárez Murillo.

oscuridad provocan cambios dramáticos en el transcriptoma cianobacteriano. En segundo lugar, este organismo modelo es capaz de diferenciar un tipo celular especializado (los heterocistos), dedicado a una misión metabólica concreta, la fijación de nitrógeno atmosférico en ausencia de otra fuente de nitrógeno disponible. En condiciones de fijación de nitrógeno el filamento funciona como un organismo multicelular con división de tareas metabólicas (fijación fotosintética de CO₂ en las células vegetativas y fijación de N₂ en los heterocistos) y con intercambio de nutrientes entre ambos tipos celulares. La diferenciación de heterocistos y el subsiguiente crecimiento a expensas de nitrógeno atmosférico requieren de la operación simultánea de programas transcripcionales diferentes en los dos tipos celulares.

Nuestro trabajo reciente se centra en el estudio de la participación de RNAs reguladores, tanto pequeños RNAs (sRNAs) como RNAs antisentido, en los procesos de adaptación al estrés de carencia de nitrógeno y diferenciación de heterocistos. Hemos definido el "paisaje transcripcional" de nuestro organismo modelo en distintas condiciones nutricionales mediante una metodología que combina un acercamiento de RNA-Seq específica de extremos 5' (Mitschke et al., 2011), RNA-Seq convencional y predicción de terminadores transcripcionales (Brenes-Álvarez et al., 2023). Además, la inclusión en nuestros estudios de un mutante *hetR*, que no diferencia heterocistos, nos ha permitido definir grupos de transcritos específicamente vinculados con la diferenciación de heterocistos mediante análisis de co-expresión

(Brenes-Álvarez et al., 2019). Entre los transcritos que se expresan específicamente en heterocistos aparecen tanto pequeños RNAs como RNAs antisentido potencialmente reguladores. De entre todos ellos hemos verificado la regulación mediada por varios *nitrogen stress induced RNAs* (Nsir), alguno de los cuales está vinculado al proceso de diferenciación de heterocistos, bien en lo que se refiere al establecimiento del patrón de heterocistos en los filamentos, como es el caso de Nsir1 (Muro-Pastor 2014; Brenes-Álvarez et al., 2020, 2022) o en los aspectos que tienen que ver con la remodelación metabólica que acompaña a la diferenciación de este tipo celular especializado, como en los casos de Nsir3 (Álvarez-Escribano et al., 2021) o Nsir4 (Brenes-Álvarez et al., 2021). Por otro lado, hemos descrito varios asRNAs cuya expresión está regulada por nitrógeno y que afectan a la acumulación de distintas enzimas implicadas en la asimilación de nitrógeno, como la glutamina sintetasa (Álvarez-Escribano et al., 2024), o en la asimilación fotosintética de CO₂ (Olmedo-Verd et al., 2019).

En resumen, en los últimos años hemos contribuido a definir circuitos reguladores mixtos que implican a los reguladores transcripcionales NtcA (regulador global de la asimilación de nitrógeno) y HetR (regulador específico de diferenciación) y a moléculas de RNA no codificantes cuya expresión está bajo control de los mismos, y que en algunos casos, como Nsir1, Nsir3 o Nsir4, se expresan más fuertemente en las células que se están diferenciando como heterocistos (Figura 1). La expresión diferencial de RNAs no codificantes que actúan como reguladores a nivel post-transcripcional contribuye al establecimiento de patrones de expresión génica diferentes, aunque simultáneos, en los dos tipos celulares que coexisten en los filamentos cianobacterianos (heterocistos y células vegetativas).

Nuestro trabajo se lleva a cabo en colaboración con el laboratorio dirigido por Wolfgang R. Hess (Genetics and Experimental Bioinformatics, Universidad de Freiburg, Alemania) y está financiado actualmente por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (PID2022-138128NB-I00).

Referencias

Álvarez-Escribano I, Brenes-Álvarez M, Olmedo-Verd E, Georg J, Hess WR, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2024). Antisense RNA regulates glutamine synthetase in a heterocyst-forming cyanobacterium. *Plant Physiol* 195: 2911-2920.

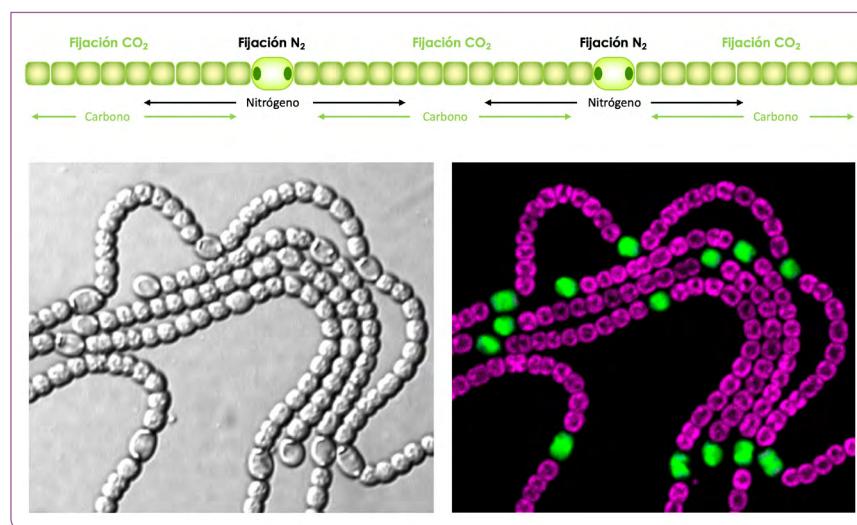


Figura 1. Las cianobacterias formadoras de heterocistos son organismos multicelulares con división de tareas metabólicas entre los heterocistos, células especializadas en la fijación de nitrógeno atmosférico, y las células vegetativas, que llevan a cabo la fijación fotosintética del CO₂. Las imágenes muestran la expresión de la proteína testigo GFP (green fluorescent protein) desde el promotor de un sRNA (Nsir4, nitrogen stress induced RNA 4), ilustrando la existencia de mecanismos de regulación post-transcripcional exclusivos de heterocistos. La fluorescencia magenta corresponde a los pigmentos fotosintéticos de las células vegetativas, ausentes en los heterocistos.

que A, Muro-Pastor AM. (2021). Nsir3, a nitrogen stress-inducible small sRNA, regulates proline oxidase expression in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120. *FEBS J.* 288: 1614-1629.

Álvarez-Escribano I, Suárez-Murillo B, Brenes-Álvarez M, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2024). Antisense RNA regulates glutamine synthetase in a heterocyst-forming cyanobacterium. *Plant Physiol* 195: 2911-2920.

Brenes-Álvarez M, Minguet M, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2020). Nsir1, a small RNA with multiple copies, modulates heterocyst differentiation in the cyanobacterium *Nostoc* sp. PCC 7120. *Environ Microbiol* 22: 3325-3338.

Brenes-Álvarez M, Mitschke J, Olmedo-Verd E, Georg J, Hess WR, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2019). Elements of the heterocyst-specific transcriptome unravelled by co-expression analysis in *Nostoc* sp. PCC7120. *Environ Microbiol* 21: 2544-2558.

Brenes-Álvarez M, Olmedo-Verd E, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2021). A nitrogen stress-inducible small RNA regulates CO₂ fixation in *Nostoc*. *Plant Physiol* 187: 787-798.

Brenes-Álvarez M, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2022). The heterocyst-specific

small RNA Nsir1 regulates the commitment to differentiation in *Nostoc*. *Microbiol Spectrum* 10: e02274-21.

Brenes-Álvarez M, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2023). Nitrogen-regulated antisense transcription in the adaptation to nitrogen deficiency in *Nostoc* sp. PCC 7120. *PNAS Nexus* 2: pgad187.

Mitschke J, Vioque A, Haas F, Hess WR, Muro-Pastor AM. (2011). Dynamics of transcriptional start site selection during nitrogen stress-induced cell differentiation in *Anabaena* sp. PCC7120. *Proc Nat Acad Sci USA* 108: 20130-20135.

Muro-Pastor AM. (2014). The heterocyst-specific Nsir1 small RNA is an early marker of cell differentiation in cyanobacterial filaments. *mBio* 5: e01079-14.

Olmedo-Verd E, Brenes-Álvarez M, Vioque A, Muro-Pastor AM. (2019). A heterocyst-specific antisense RNA contributes to metabolic reprogramming in *Nostoc* sp. PCC 7120. *Plant Cell Physiol* 60: 1646-1655.