

Elementos ocultos en los genomas bacterianos: reguladores post-transcripcionales y mini-proteínas

ALEJANDRO TOLEDO-ARANA

Laboratorio de Regulación Génica Bacteriana. Instituto de Agrobiotecnología (IdAB-CSIC), Consejo Superior de Investigaciones Científicas – Gobierno de Navarra. Avda. Pamplona 123, Mutilva-31192, Navarra (España)

✉ a.toledo.arana@csic.es

Los recientes avances tecnológicos han hecho posible que en pocas horas podamos conocer la secuencia completa de los genomas de cualquier bacteria cultivable o no, desde una muestra pura o de una tan compleja como la de cualquier microbiota. La gran mayoría de elementos codificados en estos genomas, como proteínas, RNA ribosomales, RNAs de transferencia, pueden ser rápidamente anotados gracias a algoritmos computacionales cada vez más potentes. Sin embargo, los genomas contienen elementos adicionales que se escapan a los criterios básicos de detección de estos algoritmos. Por ejemplo, podemos encontrar RNAs no codificantes con funciones reguladoras, RNA mensajeros con regiones 5' y 3' largas (5'UTRs, 3'UTRs) para controlar la expresión de sus genes asociados, y mini-proteínas menores a 50 aminoácidos con diversas funciones.

En el Laboratorio de Regulación Génica Bacteriana del Instituto de Agrobiotecnología (CSIC) de Navarra nos dedicamos a la identificación y caracterización de los elementos reguladores posttranscripcionales y mini-proteínas que normalmente están ocultos en los genomas bacterianos secuenciados, utilizando como modelo *Staphylococcus aureus*, una de las bacterias patógenas más relevantes en el entorno hospitalario. Para ello, combinamos las últimas tecnologías de secuenciación masiva y proteómica para determinar variantes genómicas, transcriptomas, traductomas, y proteomas, que nos ayudan a identificar estos elementos y aplicamos técnicas de biología molecular de precisión para caracterizar sus funciones.

Comprender cómo, cuándo y para qué se activan cada uno de estos elementos "ocultos" nos permite conocer los mecanismos moleculares que controlan procesos fundamentales para las bacterias como, por



Foto de grupo. De izquierda a derecha, Marta Vergara-Irigaray, Miriam Torguet, Coral García-Gutiérrez, Alejandro Toledo-Arana, Ane Muruzabal-Galarza, Maite de los Arcos, Carlos J. Caballero.

ejemplo, una ruta metabólica específica, la patogenicidad, la resistencia a los antimicrobianos, la persistencia en el ambiente, o su transmisibilidad entre la población. El conocimiento de estos mecanismos permite identificar posibles dianas para el desarrollo de nuevos fármacos que ayuden a combatir las infecciones multiresistentes, que hoy constituyen un grave problema de salud pública.

➤ RNA mensajeros como elementos multifuncionales en *S. aureus*

La identificación precisa de los extremos de cada RNA producido en una bacteria ha abierto un abanico de posibilidades a la hora de entender los procesos de regulación génica. Nuestro Laboratorio ha trabajado ampliamente en la caracterización del transcriptoma de *Staphylococcus aureus*, lo

que nos ha permitido demostrar la importancia de las 5'UTRs y 3'UTRs como parte de RNA mensajeros multifuncionales en procesos de regulación post-transcripcional.

Por un lado, hemos descubierto que las 5'UTRs contienen estructuras de RNA capaces de contralor la expresión de genes involucrados en la respuesta al estrés por frío y en la formación de biofilm (Caballero *et al.*, 2018; Catalan-Moreno *et al.*, 2021) (Fig. 1). En uno de estos trabajos mostramos que ciertas 5'UTRs de *S. aureus* actúan como termosensores, mediante la reconfiguración de sus estructuras para inhibir o activar post-transcripcionalmente la expresión de los genes asociados, dependiendo de la temperatura ambiente. De esta manera, estos ribosensores monitorizan los cambios de temperatura durante la transición de la bacteria entre el hospedador y el ambiente (y viceversa), modulando la adaptación bacteriana y permitiendo una transmisión

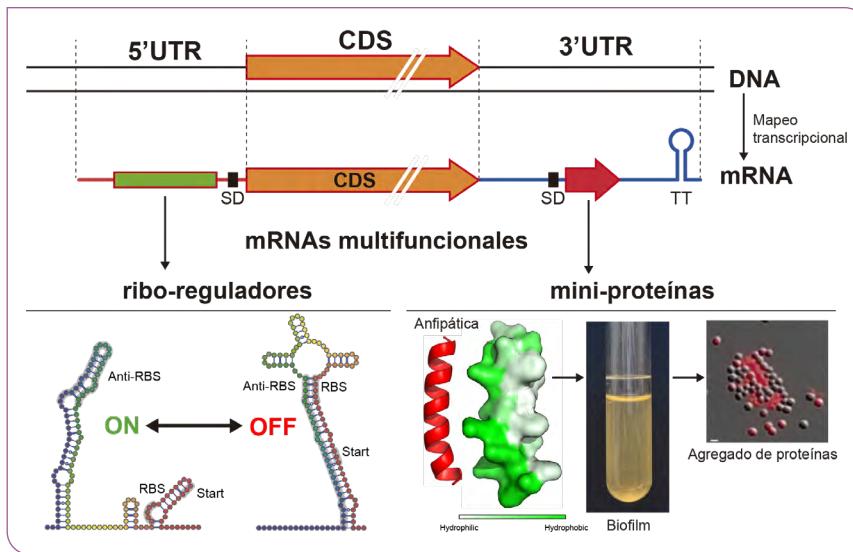


Figura 1. mRNA multifuncionales. Los mapas transcriptómicos de precisión han permitido identificar elementos reguladores y mini-proteínas contenidas en las regiones 5' y 3' de los RNA mensajeros. Como resultado, además de producir la proteína principal, estos transcritos pueden cumplir múltiples funciones. Por ejemplo, controlar la expresión de su propia proteína mediante elementos riboreguladores o producir pequeñas proteínas que se encuentran asociadas funcionalmente con la principal.

eficiente del patógeno entre humanos a través de las superficies de contacto (Catalan-Moreno *et al.*, 2021).

Por otro lado, demostramos que las 3'UTRs bacterianas también contienen elementos reguladores que controlan la expresión de la proteína codificada en el mismo mRNA, de manera similar a lo que ocurre en organismos eucariotas (Ruiz De Los Mozos *et al.*, 2013; Menendez-Gil *et al.*, 2020; Menendez-Gil and Toledo-Arana, 2021; Menendez-Gil *et al.*, 2022). Además, mostramos cómo las 3'UTRs bacterianas son objeto de una evolución diferencial, que crea variaciones de regulación funcionales en las 3'UTRs de genes ortólogos en especies estrechamente relacionadas (Menendez-Gil *et al.*, 2020), o incluso entre cepas de *S. aureus* (Bastet *et al.*, 2022). Curiosamente, la mayoría de los mRNAs que codifican proteínas ortólogas en bacterias filogenéticamente relacionadas, tienen 3'UTRs con diferentes longitudes y secuencias, que afectan de forma diferencial a la expresión de la proteína ortóloga. Hasta ese momento, los análisis de conservación de nucleótidos se hacían tratando las secuencias codificantes (CDSs) y las regiones intergénicas (IGR, que albergan las 3'UTRs) como unidades aisladas. Sin embargo, este sesgo evolutivo de las 3'UTRs sugiere una estrecha relación entre las CDSs y las 3'UTRs como parte de unidades transcripcionales indivisibles que han evolucionado

para generar vías de regulación post-transcripcional específicas para cada especie (Menendez-Gil *et al.*, 2020; Menendez-Gil *et al.*, 2022).

➤ El proteoma oculto de *S. aureus*: mini-proteínas en las UTRs

Contar con mapas de alta resolución de los transcriptomas nos permitió también reanalizar, mediante la combinación de enfoques multiómicos, las regiones anotadas previamente como no-codificantes. Así observamos que, en realidad, varias de estas regiones producían proteínas de pequeño tamaño que no se encontraban anotadas en las bases de datos e identificamos 31 nuevas mini-proteínas en *S. aureus* (Muruzabal-Galarza *et al.*, 2025) (Fig. 1). Con el fin de comprender sus funciones, nos centramos en la caracterización de aquellas mini-proteínas asociadas a factores de virulencia del patógeno. En concreto, descubrimos que desde la 5'- y 3'UTR del mRNA que expresa una de las lipasas extracelulares necesarias para la virulencia de *S. aureus*, se producían dos mini-proteínas, LspU y LspD, respectivamente. Ambas mini-proteínas estaban altamente conservadas en miembros del género *Staphylococcus* y presentaban una estructura de hélice anfipática similar a las de las *Phenol Soluble Modulins* (PSMs), una de las familias de proteínas

pequeñas más importantes para la virulencia de esta bacteria. Nuestras investigaciones mostraron que LspU se exportaba a través de los mismos transportadores que las PSMs, posicionando a esta mini-proteína como un nuevo miembro de la familia PSM. Además, nuestros resultados sugerían que esta mini-proteína actúa como nucleador de las lipasas en la superficie celular para evitar su dispersión, ayudando a localizar la actividad lipasa en el sitio de la infección (Muruzabal-Galarza *et al.*, 2025).

En resumen, estos trabajos han puesto de manifiesto que, a pesar de la inmensa cantidad de información disponible en las bases de datos, los genomas aún guardan elementos ocultos importantes para la biología de las bacterias que esperan a ser descubiertos.

Referencias

- Bastet, L., et al.** (2022) Regulation of heterogeneous LexA expression in *Staphylococcus aureus* by an antisense RNA originating from transcriptional read-through upon natural mispairings in the *sbrB* intrinsic terminator. *IJMS* 23: 576.
- Caballero, C.J., et al.** (2018) The regulon of the RNA chaperone CspA and its auto-regulation in *Staphylococcus aureus*. *Nucleic Acids Research* 46: 1345-1361.
- Catalan-Moreno, A., et al.** (2021) RNA thermoswitches modulate *Staphylococcus aureus* adaptation to ambient temperatures. *Nucleic Acids Research* 49: 3409-3426.
- Menendez-Gil, P., et al.** (2020) Differential evolution in 3'UTRs leads to specific gene expression in *Staphylococcus*. *Nucleic Acids Research* 48: 2544-2563.
- Menendez-Gil, P., et al.** (2022) *Staphylococcus aureus* *fthA* 3'-untranslated region modulates Ferritin production facilitating growth under iron starvation conditions. *Front Microbiol* 13: 838042.
- Menendez-Gil, P., and Toledo-Arana, A.** (2021) Bacterial 3'UTRs: A useful resource in post-transcriptional regulation. *Front Mol Biosci* 7: 617633.
- Muruzabal-Galarza, A., et al.** (2025) Multiomic data analyses unveiled a novel phenol-soluble modulin that induces trapping of extracellular lipases at the surface of *Staphylococcus aureus* cells. *mBIO* in press
- Ruiz De Los Mozos, I., et al.** (2013) Base pairing interaction between 5'- and 3'-UTRs controls *icaR* mRNA translation in *Staphylococcus aureus*. *PLoS Genet* 9: e1004001.