

- García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C.** (2015). Optimized expression conditions for enhancing production of two recombinant chitinolytic enzymes from different prokaryote domains. *Bioprocess Biosyst Eng* 38: 2477-2486.
- García-Fraga B, da Silva AF, López-Sijas J y Sieiro C.** 2015. A novel family 19 chitinase from the marine-derived *Pseudoalteromonas tunicata* CCUG 44952T with antifungal activity. *Biochem Eng J* 93: 84-93.
- Rodríguez-Argüelles MC, González-Ballesteros N, Rodríguez-Domínguez G, Campanini N, Nasi L, Vázquez I y Sieiro C.** (2015). Broad-spectrum antimicrobial activity of silver nanoparticles in different types of chitosan matrices. *Chem J* 1: 165-171.
- da Silva AF, García-Fraga B, López-Seijas J y Sieiro C.** (2014). Characterization and optimization of heterologous expression in *Escherichia coli* of the chitinase encoded by the *chiA* gene of *Bacillus halodurans* C-125. *Process Biochem* 49: 1622-1629.
- Sieiro C, Villa TG, da Silva AF, García-Fraga B y Vilanova M.** (2014). Albariño wine aroma enhancement through the use of a recombinant polygalacturonase from *Kluyveromyces marxianus*. *Food Chem* 145:179-185.
- García-Fraga B, da Silva AF, López-Seijas J y Sieiro C.** (2014). Functional expression and characterization of a chitinase from the marine archaeon *Halobacterium salinarum* CECT 395 in *Escherichia coli*. *Appl Microbiol Biotechnol* 98: 2133-2143.
- Ladeira A, Sieiro C y Álvarez M.** (2013). Change in the food ingestion induces rapid shifts in the diversity of microbiota associated with cutaneous mucus of Atlantic salmon *Salmo salar*. *J Fish Biol* 82: 893-906.
- Sieiro C, García-Fraga B, López-Seijas J, da Silva AF y Villa TG.** (2012). Microbial pectic enzymes in the food and wine industry. In: *The Food Industrial Processes-Methods and Equipment*. InTech pp 201-218.
- Rodríguez-Argüelles MC, Sieiro C, Cao R y Nasi L.** (2011). Chitosan and silver nanoparticles as pudding with raisins with antimicrobial activity. *J Colloid Interf Sci* 363: 80-84.
- Sieiro C, Sestelo ABF y Villa TG.** (2009). Cloning, characterization and functional analysis of the *EPG1-2* gene: a new allele coding for an endopolygalacturonase in *Kluyveromyces marxianus*. *J Agr Food Chem* 57: 8921-8926.
- Vilanova M, Zamuz S, Vilarino F y Sieiro C.** (2007). Effect of terroir on the volatiles of *Vitis vinifera* cv. Albariño. *J Sci Food Agr* 87: 1252-1256.
- Vilanova M y Sieiro C.** (2006). Contribution by *Saccharomyces cerevisiae* yeasts to fermentative flavour compounds in wines from cv. Albariño. *J Ind Microbiol Biotechnol* 33: 929-933.

## NUESTRA CIENCIA

## MÁS ALLÁ DE LA CONJUGACIÓN. NUEVOS MECANISMOS DE TRANSFERENCIA HORIZONTAL GÉNICA

Informa: José Berenguer

Los nichos termófilos albergan microorganismos con una plasticidad génica extraordinaria, consecuencia de un intenso flujo horizontal de material genético entre poblaciones. En las bacterias, estos intercambios de información génica pueden ocurrir, además de por los mecanismos clásicos que aparecen en todos los libros de Microbiología (conjugación, transformación y transducción), por estrategias alternativas de más reciente descripción tales como nanotubos, agentes de transferencia génica (GTA) o vesículas de membrana, que protegen DNA durante la transferencia. Recientemente, hemos identificado en *Thermus thermophilus*, una bacteria termófila de origen antiguo empleada como modelo de laboratorio, un nuevo sistema de transferencia al que hemos denominado "Transjugación" por compartir propiedades de la conjugación y la transformación clásicas (Alba Blesa y cols. **PLoS Genet.** 2017 Mar 10;13(3):e1006669. doi: 10.1371/journal.pgen.1006669.). Como en la conjugación, este sistema permite la transferencia de grandes fragmentos de DNA por contacto entre una célula donadora y una célula receptora. Sin embargo, el mecanismo de transferencia presenta grandes diferencias con la conjugación clásica, tales como el no requerir de un sistema de transferencia derivado de los sistemas de secreción tipo 4, el no disponer de un sistema de reconocimiento de un origen de transferencia específico, sino iniciar la transferencia de forma simultánea desde múltiples sitios en el genoma, y el de ser bidireccional, de forma que ambas bacterias en el proceso son a la vez donadoras y receptoras de DNA. Más aún, la transjugación depende de la actividad de la maquinaria de competencia natural de la bacteria que actúa como receptora, de manera que el mecanismo implica una transferencia en dos pasos (*push-pull*) llevados a cabo en ambas direcciones por maquinarias independientes. En el artículo mencionado de Plos Genetics, se identifica además una translocasa de DNA codificada en un nuevo tipo de elemento conjugativo e integrativo (ICEth1), como componente fundamental del mecanismo de donación del DNA. La transferencia de este ICEth1 a otra cepa de *T. thermophilus* originalmente carente de él confiere a la receptora la capacidad para actuar de donador en transjugación.

El análisis de este nuevo proceso de transferencia horizontal, que muestra tasas de eficiencia mayores que las de transformación, sugiere que es la transjugación el motor principal de intercambio génico en las poblaciones de *Thermus*, corroborando el dinamismo en transferencias laterales de DNA en ambientes termófilos.

**Blesa A, Baquedano I, Quintáns NG, Mata CP, Castón JR, Berenguer J.** **PLoS Genet.** 2017 Mar 10;13(3):e1006669. doi: 10.1371/journal.pgen.1006669. eCollection 2017. The transjugation machinery of *Thermus thermophilus*: Identification of TdtA, an ATPase involved in DNA donation.

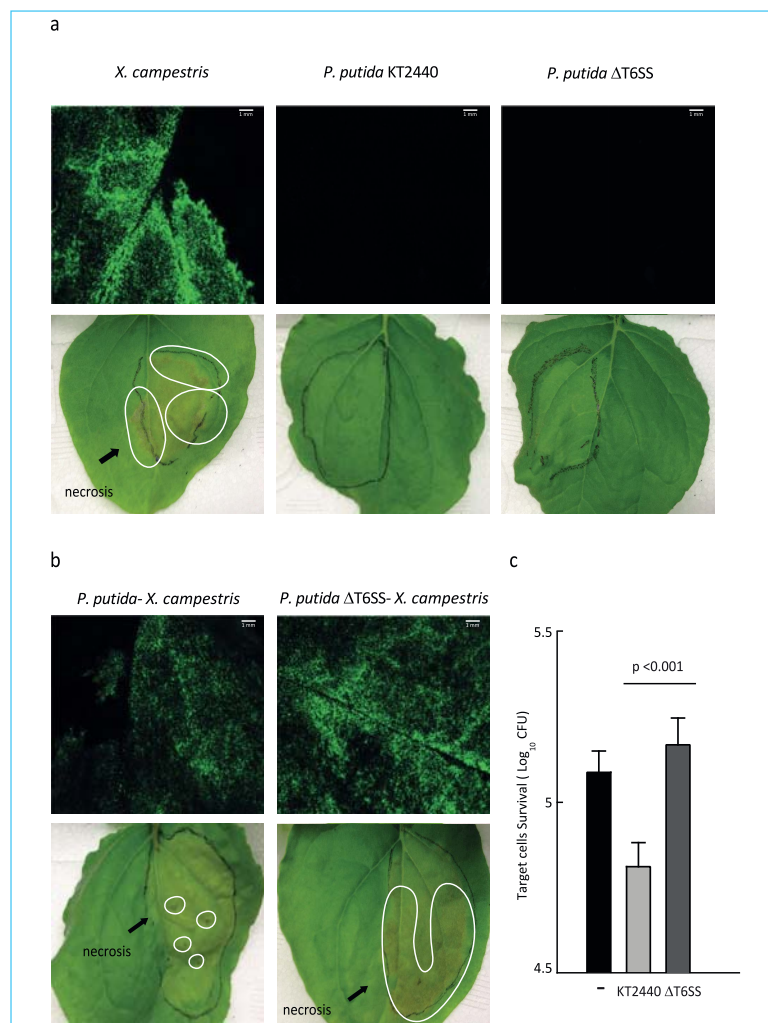
**EL SISTEMA DE SECRECIÓN DE TIPO VI (T6SS) DE *PSEUDOMONAS PUTIDA* PROTEGE A LAS PLANTAS DEL ATAQUE DE FITOPATÓGENOS**



Informa: Patricia Bernal

Los sistemas bacterianos de secreción de tipo VI (T6SS) son herramientas moleculares diseñadas para inyectar efectores/toxinas en el interior de células dianas. Estas nano-máquinas juegan un papel extremadamente importante en la competición entre bacterias. Las cepas bacterianas que expresan de forma activa este sistema de secreción presentan grandes ventajas con respecto al resto de organismos presentes en ambientes polimicrobianos. En este trabajo hemos analizado el genoma del agente de biocontrol *Pseudomonas putida* KT2440 donde hemos identificado tres T6SSs (K1-, K2- y K3-T6SS). Además, este estudio ha revelado la presencia de diez pares de efectores/proteínas de inmunidad asociados al T6SS, incluyendo nucleasas putativas y colicinas. El análisis de los T6SSs de *P. putida* nos ha permitido demostrar que K1-T6SS es un potente dispositivo antibacteriano que secreta al menos una toxina denominada Tke2. Cabe destacar que *P. putida* es capaz de erradicar una amplia gama de bacterias usando el K1-T6SS y entre las que se incluyen importantes fitopatógenos, demostrando que el T6SS es fundamental en la lucha contra competidores en *P. putida*. Igualmente, esta propiedad se advierte en experimentos *in planta* donde observamos que la necrosis producida en las hojas de *Nicotiana benthamiana* por el patógeno *Xanthomonas campestris* se reduce drásticamente durante la coinfección con *P. putida* y dicha protección depende de la actividad del T6SS. Aquí desvelamos un nuevo mecanismo para el control biológico de plantas que debe considerarse para la selección de futuros agentes de biocontrol con la capacidad de manipular la composición microbiana de la rizosfera y la filosfera.

**Patricia Bernal, Luke P. Allsopp, Alain Filloux and María A. Llamas (2017).** The *Pseudomonas putida* T6SS is a plant warden against phytopathogens. The ISME journal 11: 972-987, DOI: 10.1038/ismej.2016.169, PMID: 28045455.



**En la figura se muestra un ensayo de competición *in planta* entre la cepa de biocontrol *P. putida* KT2440 y el fitopatógeno *X. campestris*.**

La sección (a) muestra hojas de *N. benthamiana* tras 24 h (panel superior) y 5 días (panel inferior) después de ser infiltradas con *X. campestris* expresando un plásmido (pRL662-gfp) que codifica una proteína de fluorescencia verde (gfp), con la cepa silvestre *P. putida* KT2440 (WT), o con su triple mutante isogénico ΔtssA1ΔtssM2ΔtssM3 (ΔT6SS).

La sección (b) muestra hojas de *N. benthamiana* 24 h (panel superior) y 5 días (panel inferior) después de ser co-infiltradas con *X. campestris* (pRL662-gfp) y la cepa indicada de *P. putida*. En el panel superior de las secciones (a) y (b), las hojas fueron visualizadas con microscopía de fluorescencia usando un estereomicroscopio modelo Leica M205FA.

Las áreas necróticas resultantes de la infección con *X. campestris* aparecen marcadas. Las zonas necróticas de color marrón intenso se extienden a una gran porción de la hoja (panel superior), mientras que esta zona está mucho más restringida cuando el patógeno se inocula junto con la cepa de biocontrol que expresa el T6SS (panel izquierdo).

La sección (c) muestra la cuantificación de las unidades formadoras de colonias (UFC) de *X. campestris* (pRL662-gfp) recuperadas de las hojas de *N. benthamiana* después de 24 h de co-infiltración con la cepa indicada de *P. putida*.

## ANÁLISIS DEL DNA GENÓMICO Y DETERMINACIÓN DE SU MECANISMO DE EMPAQUETAMIENTO DE TRES NUEVOS BACTERIOFAGOS VIRULENTOS DE *SALMONELLA*

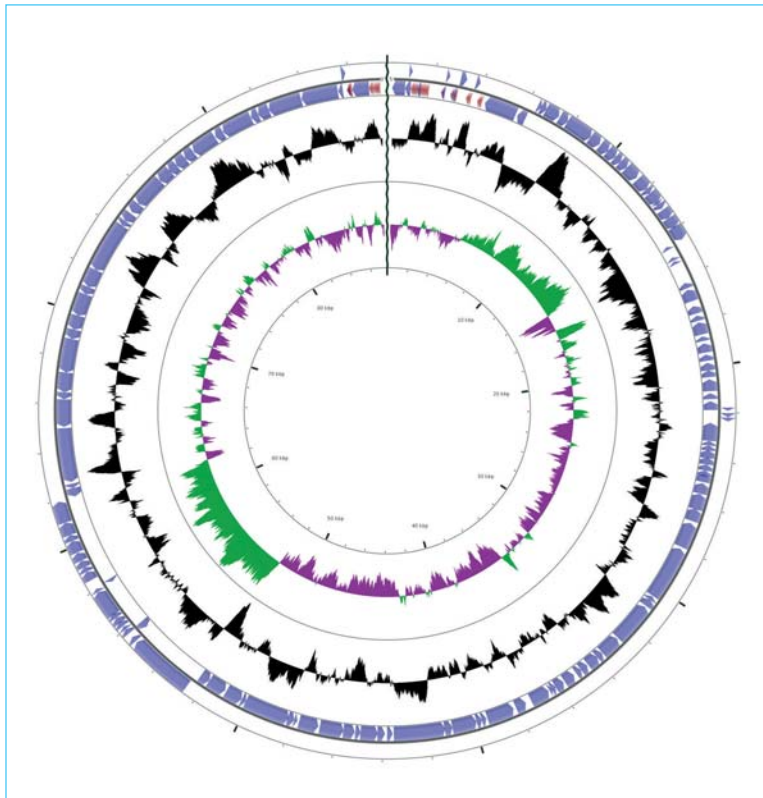
Informa: Montserrat Llagostera

*Salmonella* no tifoidea es el principal patógeno asociado a las enfermedades transmitidas por los alimentos en todo el mundo. La extensión de las resistencias a los antibióticos ha afectado negativamente a la salud humana y ha alentado la búsqueda de agentes antimicrobianos alternativos. Los avances desarrollados en terapia con bacteriófagos destacan su uso en el control de un amplio espectro de patógenos transmitidos por los alimentos. Hoy en día, el uso de bacteriófagos como antibacterianos obliga a la secuenciación de todo su genoma para asegurar que está libre de los genes que codifican factores de virulencia conocidos de bacterias y alérgenos potenciales. Por otra parte, la secuenciación ayuda a entender el ciclo de multiplicación de bacteriófagos a nivel molecular, y también otros rasgos biológicos importantes.

En este sentido, un grupo de investigadores de la UAB ha secuenciado y ha analizado el genoma de tres nuevos bacteriófagos virulentos específicos de *Salmonella* que han demostrado un gran efecto en terapia fágica oral y en el biocontrol de *Salmonella* en diversas matrices alimentarias, refrendado por diversas publicaciones previas.

La investigación ha sido publicada en el mes de abril en la revista *Frontiers in Microbiology* con el título "Genomics of three new bacteriophages useful in the biocontrol of *Salmonella*" y ha sido realizada por el Grupo de Microbiología Molecular del Departamento de Genética y Microbiología de la UAB, coordinado por la Dra. Montserrat Llagostera.

En este nuevo trabajo, se ha realizado la secuenciación así como diversos análisis moleculares de los genomas de tres bacteriófagos (UAB\_Phi20, UAB\_Phi78, y UAB\_Phi87) capaces de infectar una amplia gama de cepas de *Salmonella*. Los análisis *in silico* de las secuencias de los genomas no han evidenciado la presencia de genes asociados con la virulencia y resistencia a los antibióticos conocidos y a potenciales alérgenos alimentarios. Tras los estudios filogenéticos, el genoma del bacteriófago UAB\_Phi20 de 41,81 kilobases (kb) mostró una alta homología con el genoma del bacteriófago P22 y otros bacteriófagos del género tipo P22 de la familia *Podoviridae*, incluyendo ST64T y ST104. En el genoma del fago UAB\_Phi78 de 44,11 kb se identificaron repeticiones terminales directas de 179 pb, característica exhibida por fagos del género tipo SP6 de la familia *Podoviridae*. Además, este fago mostró una similitud con los bacteriófagos K1-5, K1E, y K1F, los cuales infectan a *Escherichia coli*. Por último, el genoma del bacteriófago UAB\_Phi87 de 87,67 kb presentó repeticiones directas terminales de 608 pb, y similitud con los bacteriófagos del género tipo Felix O1 de *Salmonella* y con el fago wV8 de *E. coli*. Además, un análisis filogenético de las subunidades mayores de las terminasas de los tres fagos confirmó sus estrategias de empaquetamiento agrupándolos en sus correspondientes géneros tipo.



Todos los datos obtenidos contribuyen a una mejor comprensión de la biología de estos fagos, y evidencia la necesidad de este tipo de aproximaciones para el desarrollo y el uso de un cóctel eficiente con aplicaciones comerciales en la terapia de bacteriófagos contra *Salmonella*.

Bardina C, Colom J, Spricigo DA, Otero J, Sánchez-Osuna M, Cortés P, Llagostera M. Genomics of three new bacteriophages useful in the biocontrol of *Salmonella*. *Frontiers in Microbiology* (2016). 7: 545.

Bardina C, Colom J, Spricigo DA, Otero J, Sánchez-Osuna M, Cortés P, Llagostera M. Genomics of three new bacteriophages useful in the biocontrol of *Salmonella*. *Frontiers in Microbiology* (2016). 7: 545.

Mapa circular del genoma del bacteriófago UAB\_Phi87.

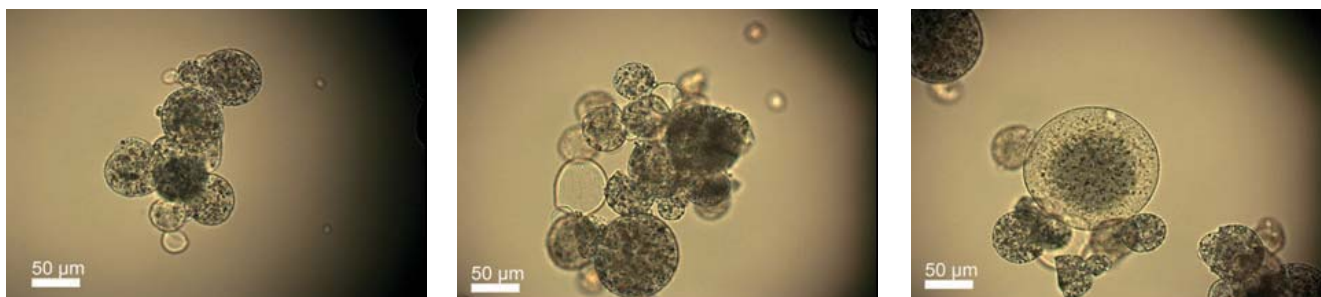
## MICROENCAPSULACIÓN CON ALGINATO: UNA ESTRATEGIA DE MEJORA DE LA TERAPIA CON FAGOS

Informa: Montserrat Llagostera

Los bacteriófagos son prometedores agentes terapéuticos que pueden aplicarse en las diferentes etapas de la producción alimentaria. En este sentido, pueden ser administrados de forma oral a los animales de granja para protegerlos contra diferentes patógenos intestinales, como *Salmonella*. Sin embargo, el bajo pH del estómago, y el efecto de la bilis y las enzimas del tracto intestinal limitan su eficacia en terapia fágica. Estrategias como la encapsulación han demostrado ser útiles en la protección de los bacteriófagos contra estos efectos adversos y en el aumento de su efectividad en terapia fágica oral. Como continuación de anteriores trabajos relacionados con la encapsulación de bacteriófagos, el grupo de Microbiología Molecular del Departamento de Genética y Microbiología de la UAB, dirigido por la Dra. Montserrat Llagostera, en colaboración con el grupo Supramolecular Nanochemistry and Materials del ICN2, dirigido por el profesor ICREA Daniel Maspoch, ha desarrollado un método de microencapsulación de bacteriófagos con alginato/CaCO<sub>3</sub> que ha mostrado una gran eficacia en pollos de engorde comerciales, infectados experimentalmente con *Salmonella*. Este trabajo ha sido publicado recientemente en la revista *Scientific Reports*, del grupo Nature. El trabajo publicado demuestra la utilidad de un método de encapsulación con matrices de alginato/CaCO<sub>3</sub> adecuado para encapsular bacteriófagos con diferentes morfologías y con eficacias de encapsulación de alrededor de un 100%. Aunque el alginato ha sido utilizado anteriormente como material para encapsular bacteriófagos, esta es la primera vez que se han aplicado bacteriófagos encapsulados en alginato/CaCO<sub>3</sub> en terapia fágica oral. De esta forma, un cóctel de tres bacteriófagos encapsulados en alginato/CaCO<sub>3</sub> se administró de forma oral a pollos de engorde comerciales infectados con *Salmonella* y en condiciones parecidas a las de una granja. La encapsulación evitó la destrucción de los bacteriófagos por el jugo gástrico y permitió una mayor retención intestinal de los bacteriófagos. También se demostró la liberación de los fagos de las cápsulas cuando éstas eran incubadas en fluido intestinal simulado. El tamaño de las cápsulas (125-150 µm) es inferior al descrito hasta ahora en la bibliografía y su pequeño tamaño permite su uso en terapia oral y en otras aplicaciones en terapia con fagos.

Los resultados obtenidos permiten concluir que un cóctel formado por tres bacteriófagos líticos encapsulados con alginato/CaCO<sub>3</sub> muestra una eficacia mayor y más duradera que un cóctel de los mismos fagos no encapsulados como terapia oral en pollos de engorde contra *Salmonella*, uno de los patógenos alimentarios más comunes a nivel mundial.

**Colom J, Cano-Sarabia M\*, Otero J, Ariñez-Soriano J, Cortés P\*, Maspoch D, Llagostera M.** 2017. Microencapsulation with alginate/CaCO<sub>3</sub>: A strategy for improved phage therapy. *Scientific Reports* 7:41441 | DOI: 10.1038/srep41441.



Imágenes de microscopía óptica de las microcápsulas de alginato/CaCO<sub>3</sub> conteniendo los bacteriófagos encapsulados.

La sección «nuestra ciencia» publica reseñas de artículos científicos producidos por nuestros socios. La extensión máxima es de 250 palabras. Envía tus reseñas a la Dirección de las revistas o al delegado de Difusión de tu Grupo Especializado.

[semaforo@semicrobiologia.org](mailto:semaforo@semicrobiologia.org)  
[noticiasem@semicrobiologia.org](mailto:noticiasem@semicrobiologia.org)