



**Programa de Doctorado en Investigación espacial y  
Astrobiología**

**Exploración de los mecanismos de adaptación  
y resistencia a radiación UV en  
microorganismos halófilos extremos**

**Tesis Doctoral presentada por**

**Macarena Benguigui de la Cámara**

**Director: Dr. José Eduardo González Pastor**

**Alcalá de Henares, 2022**



**CENTRO DE ASTROBIOLOGÍA**  
ASOCIADO AL NASA ASTROBIOLOGY INSTITUTE



**CSIC**



# ÍNDICE GENERAL

<b>ABREVIATURAS</b> .....	1
<b>ABSTRACT/RESUMEN</b> .....	5
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	8
<b>1. Radiación ultravioleta</b> .....	9
1.1 Tipos de radiación UV	9
1.2 Daños comunes producidos por la radiación UV	11
1.3 Estrategias de adaptación a la radiación UV	14
1.4 Mecanismos de resistencia a radiación UV en diferentes microorganismos	18
1.5 4-Nitroquinolina 1-óxido, un compuesto químico que mimetiza el efecto de la radiación UV en el ADN	19
<b>2. Microorganismos de ambientes hipersalinos y su interés para el estudio de los mecanismos de resistencia a radiación UV</b> .....	19
2.1 Salinas costeras Bras del Port de Santa Pola	21
2.2 Diversidad microbiana de las Salinas Bras del Port de Santa Pola	22
<b>3. Estudios de los mecanismos de resistencia a UV en microorganismos de ambientes hipersalinos</b> .....	25
3.1 Estudios con métodos independientes de cultivo	28
<b>4. Perclorato en ambientes hipersalinos áridos</b>	29
<b>5. Relevancia astrobiológica del estudio de halófilos extremos</b> .....	30
<b>OBJETIVOS</b> .....	32
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	35
<b>Materiales</b> .....	36
1.1 Cepas bacterianas	36
1.2 Vector de clonaje	36
1.3 Cebadores para PCR	36
1.4 Medios de cultivo y antibióticos	37
1.5 Muestras ambientales de salmueras	38
1.6 Equipamiento para irradiación con UV	38
<b>Métodos</b> .....	39
1.7 Metagenómica funcional	39
1.8 Análisis transcriptómicos	43
<b>RESULTADOS</b> .....	47
<b>1. Búsqueda de genes involucrados en resistencia a radiación UV en microorganismos halófilos extremos</b> .....	48
1.1 Construcción y cribado de bibliotecas metagenómicas	48

1.2 Identificación de los genes que confieren resistencia a UVB	49
1.3 Efecto de los genes resistentes a UVB bajo otras condiciones de estrés	57
<b>2. Análisis transcripcional del efecto de la radiación UVB en <i>Salinibacter ruber</i> y <i>Haloquadratum walsbyi</i></b> .....	<b>62</b>
2.1 Determinación de la dosis subletal de radiación UVB para realizar los experimentos de transcriptómica en <i>Sal. ruber</i> y <i>Hqr. walsbyi</i>	62
2.2 Estudio de los genes de <i>Sal. ruber</i> y <i>Hqr. walsbyi</i> con expresión diferencial después del tratamiento con radiación UVB.	68
2.3 Efecto de la radiación UVB en el perfil transcripcional de <i>Sal. ruber</i>	69
2.4 Efecto de la radiación UVB en el perfil transcripcional de <i>H. walsbyi</i>	83
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>92</b>
<b>1. La metagenómica funcional como técnica eficaz para detectar nuevos genes de resistencia a radiación UVB</b> .....	<b>93</b>
<b>2. Mecanismos de adaptación al daño producido tras la irradiación UVB en <i>Salinibacter ruber</i></b> .....	<b>98</b>
a. Adaptación de los procesos relacionados con la información contenida en el ADN y su procesamiento	98
b. Adaptación de la señalización y procesamiento celular	103
c. Adaptación del metabolismo celular	108
<b>3. Mecanismos de adaptación al daño producido tras la irradiación con UVB en <i>Haloquadratum walsbyi</i></b> .....	<b>112</b>
a. Adaptación de los procesos relacionados con la información contenida en el ADN y su procesamiento	112
b. Adaptación de la señalización y procesamiento celular	116
c. Adaptación del metabolismo	118
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>122</b>
<b>REFERENCIAS</b> .....	<b>126</b>
<b>ANEXOS</b> .....	<b>150</b>

Agradecimiento especial a mis padres, ya que a pesar de nuestras diferencias , siempre me han dado todo su apoyo. Sin ellos jamás habría podido llegar donde estoy, ni tampoco replantearme siquiera empezar ni terminar este camino. Gracias.

## ABREVIATURAS

**4NQO:** 4-Nitroquinolina 1-óxido

**6-4 PPs:** 6-4 fotoproductos

**A<sub>600nm</sub>:** absorbancia a 600 nm

**Aa:** aminoácidos

**ADN:** ácido desoxirribonucleico

**ADNc:** AND complementario

**AER:** proceso replicación alternativa

**ARN:** ácido ribonucleico

**ARNm:** ARN mensajero

**ARNr:** ARN ribosómico

**ATP:** trifosfato de adenosina

**BER:** reparación por excisión de bases

**ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>:** perclorato

**COG:** grupo de genes ortólogos

**CPDs:** dímeros de ciclobutano pirimidina

**dNDPs:** desoxirribonucleótidos difosfato

**dNTP:** desoxirribonucleótidos trifosfato

**Dps:** proteína que protege el DNA en fase estacionaria frente a estrés oxidativo

**DSBs:** roturas de la doble hebra de ADN

**EDTA:** ácido etilendiaminotetraacético

**FC:** fold change

**HR:** recombinación homologa

**Kb:** kilobases

**KEGG:** Enciclopedia de Kioto de genes y genomas

**LB:** Luria-Bertani, medio de cultivo

**LB-Ap:** Luria-Bertani con ampicilina

**MAA:** aminoácidos tipo micosporinas

**MCS:** sitio de clonaje múltiple

**NaCl:** cloruro de sodio

**NADH:** nicotinamida adenina dinucleótido

**NER:** reparación por excisión de nucleotidos

**NUV:** ultravioleta cercano

**ORF:** marcos de lectura abiertos

**pb:** pares de bases

**pBIISK+:** pBluescript II SK(+)

**PCIA:** fenol-cloroformo-isoamil-alcohol

**PCR:** reacción en cadena de la polimerasa

**PHB:** gránulos de polihidroxibutirato

**RCS:** especies reactivas de carbonilo

**RR:** regulador de respuesta

**ROS:** especies ractivas del oxígeno

**Rpm:** revoluciones por minuto

**SDS:** dodecilsulfato sódico

**SMC:** Mantenimiento estructural de los cromosomas

**SOC:** medio super óptimo

**SOD:** superóxido dismutasa

**SSB:** roturas en una hebra de de ADN

**SW:** solución salina

**TAE:** tampón Tris, acetato, EDTA

**TBP:** proteína de unión a la caja TATA

**THF:** ácido tetrahidrofólico

**UV:** ultravioleta

**UVA:** ultravioleta A

**UVB:** ultravioleta B

**UVC:** ultravioleta C

**X-Gal:** 5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-galactopiranosido





**ABSTRACT**

---

**RESUMEN**

## ABSTRACT

The objective of this doctoral thesis was to explore the mechanisms of resistance and adaptation to ultraviolet B radiation (UVB) in extreme halophiles. On one hand, to isolate genes involved in radiation resistance from these microorganisms, we used a culture-independent technique, functional metagenomics. For this, two metagenomic libraries were constructed, using *Escherichia coli* as host, with DNA (metagenome) extracted from brines of two crystallizing ponds from "Bras del Port" saltern (Santa Pola, Alicante), called CR30 and CCAB (39% and 30% salt respectively). Eight UVB resistant clones were isolated by functional screening of metagenomic libraries. In the eight environmental DNA fragments recovered, fifteen bacteria and archaea genes responsible for the phenotype of UVB resistance were identified. These genes encode for proteins previously identified in DNA damage resistance, others with known function but not related to radiation resistance, and several proteins with unknown function, similar to families of hypothetical proteins. Many of the genes also showed resistance to 4-NQO, a compound that mimics the DNA damage produced by UVB radiation, so these genes could be related to DNA protection or repair; furthermore, some of them also showed resistance to the toxic compound perchlorate. On the other hand, to understand how the cellular machinery of extreme halophiles responds and adapts to UVB radiation, a transcriptomic study of the bacteria *Salinibacter ruber* and the archaea *Haloquadratum walsbyi* was carried out, in order to analyze the changes in gene expression after being exposed to a sublethal dose of UVB radiation and recovered in the presence of light or darkness for *Sal. ruber*, and only light for *Hqr. walsbyi*. In both microorganisms, the differential expression of less than 20% of the genes was demonstrated. Both in *Sal. ruber* and *Hqr. walsbyi* genes involved in DNA replication and cell division are repressed, and consistently, also genes involved in transcription, protein translation, and metabolic pathways that provide energy and molecules needed for cell growth and division (with some differences in *Sal. ruber* recovered in light, in which the glyoxylate pathway and gluconeogenesis are induced). The repression of replication would allow the repair of DNA damage caused by UVB radiation, avoiding the division of mutated cells. In both microorganisms is taking place the induction of genes related to: i) DNA repair and protection (exonucleases, endonucleases, Dps); ii) protection, repair of oxidative damage and protein degradation (chaperones, thioredoxins, glutaredoxins and proteases); and iii) antioxidants (superoxide dismutase, glutathione) to eliminate reactive oxygen species generated by UVB. On the other hand, possibly to get the cells to move away from radiation, genes involved in the formation of gas vesicles in *Hqr walsby* are repressed, which allow them to float in the medium, and the motility genes of *Sal. ruber* are induced.

## RESUMEN

El objetivo del estudio de esta tesis doctoral fue la exploración de los mecanismos de resistencia y adaptación a radiación ultravioleta B (UVB) en microorganismos halófilos extremos. Por una parte, para aislar genes implicados en resistencia a radiación de estos microorganismos empleamos una técnica independiente de cultivo, la metagenómica funcional. Para ello, se construyeron dos bibliotecas metagenómicas, empleando a *Escherichia coli* como huésped, con ADN (metagenoma) extraído de salmueras de dos estanques cristalizadores de las salinas “Bras del Port” (Santa Pola, Alicante), denominados CR30 y CCAB (39% y 30% de sal respectivamente). Mediante el cribado funcional de las bibliotecas metagenómicas se aislaron ocho clones resistentes a radiación UVB. En los ocho fragmentos de ADN ambiental recuperados se identificaron quince genes de bacterias y arqueas responsables del fenotipo de resistencia a radiación UVB. Estos genes codifican para proteínas anteriormente identificadas en la resistencia al daño en el ADN, otras con función conocida pero no relacionadas con resistencia a radiación y varias proteínas con función desconocida, similares a familias de proteínas hipotéticas. Muchos de los genes también presentaron resistencia a 4-NQO, un compuesto que imita el daño en el ADN que produce la radiación UVB, por lo que esos genes podrían estar relacionados con protección o reparación del ADN; además, algunos de ellos también presentaron resistencia al compuesto tóxico perclorato. Por otra parte, para comprender como responde y se adapta la maquinaria celular de halófilos extremos a la radiación UVB, se realizó un estudio transcriptómico de la bacteria *Salinibacter ruber* y la arquea *Haloquadratum walsbyi*, para analizar los cambios de expresión génica después ser expuestos a una dosis subletal de radiación UVB y recuperarse en presencia de luz u oscuridad para *Sal. ruber* y sólo de luz para *Hqr. walsbyi*. En ambos microorganismos se observó la expresión diferencial de un porcentaje inferior al 20% de los genes. Tanto en *Sal. ruber* como en *Hqr. walsbyi* se reprimen genes implicados en la replicación del ADN y la división celular, y forma coherente, también en la transcripción, la traducción de proteínas y las rutas metabólicas que proporcionan energía y las moléculas necesarias para el crecimiento y la división celular (con algunas diferencias en *Sal. ruber* recuperado en luz, en el que se induce la ruta del glioxilato y la gluconeogénesis). La represión de la replicación permitiría la reparación de las lesiones en el ADN producidas por la radiación UVB, evitando la división de células con mutaciones. En ambos microorganismos se inducen genes relacionados con: i) la reparación y protección del ADN (exonucleasas, endonucleasas, Dps); ii) la protección, reparación del daño oxidativo y degradación de proteínas (chaperonas, tiorredoxinas, glutarredoxinas y proteasas); y iii) antioxidantes (superóxido dismutasa, glutatión) para eliminar especies reactivas del oxígeno generadas por la radiación UVB. Por otra parte, posiblemente para facilitar el alejamiento de las células de la radiación, se reprimen los genes implicados en la formación de vesículas de gas en *Hqr. walsbyi*, que les permiten flotar en el medio, y se inducen los genes de motilidad de *Sal. ruber*.





# INTRODUCCIÓN

## 1. Radiación ultravioleta

La radiación ultravioleta (UV) es un tipo de radiación electromagnética no ionizante con una longitud de onda comprendida entre los 10 nm y los 400 nm (Figura 1). Presenta una longitud de onda más corta que la del el espectro visible, pero más largas que la de los rayos X. El 10% de la radiación electromagnética emitida por el sol corresponde a radiación UV. Se considera que la radiación UV no es ionizante ya que carece de energía para ionizar átomos, sin embargo, puede afectar a diferentes reacciones químicas, por lo que pueden causar alteración en las moléculas orgánicas.

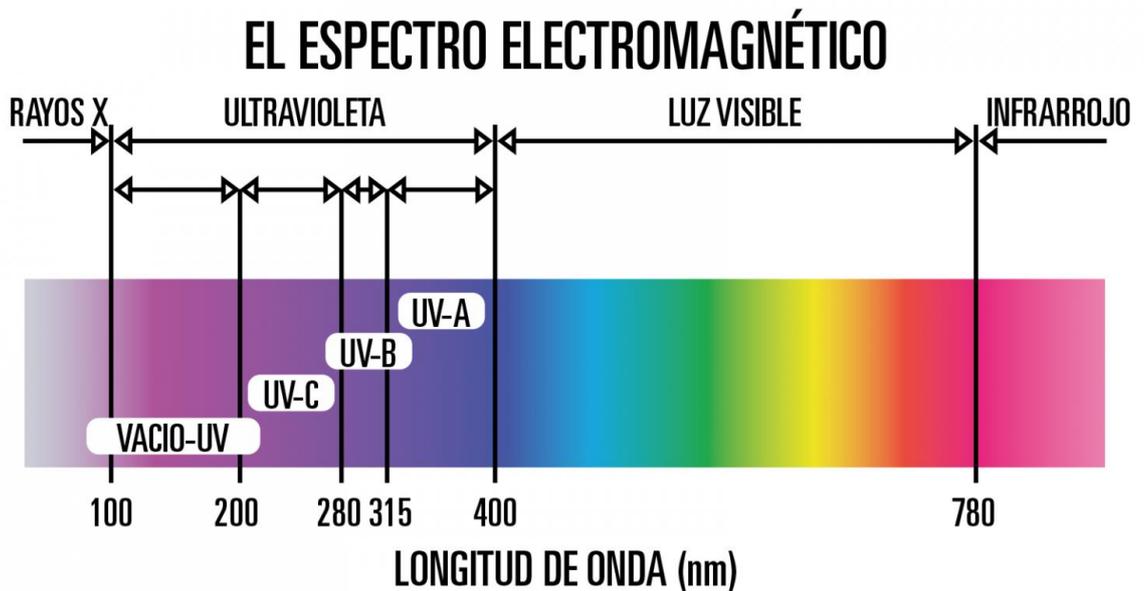


Figura 1. Espectro electromagnético

### 1.1 Tipos de radiación UV

En función de la longitud de onda, la radiación UV puede ser subdividida en tres grandes grupos: UVA, UVB y UVC y, además, otras subcategorías, definidos por la International Commission on Illumination (Slaney, 2007) (Tabla 1).

La clasificación de la radiación UV en UVA, UVB y UVC se propuso inicialmente en función de sus diferentes efectos biológicos. Del total de radiación UV que llega a la superficie de la Tierra, se considera que el 95% es UVA, la cual no es absorbida por la capa de ozono, mientras que el 5% restante corresponde a UVB, que es la responsable de la mayor parte de los daños biológicos ya que, aunque la UVC tenga una longitud de onda más corta y por lo tanto más dañina, es completamente absorbida por la capa de ozono, por lo que no afecta a los organismos terrestres (Tomasko et al, 1999; Perdiz et al., 2000).

**Tabla 1.** Definiciones de las subcategorías espectrales de la radiación UV en función de la normativa ISO standard ISO-21348.

Subcategoría espectral	Abreviatura	Longitud de onda (nm)	Energía por fotón (eV, aJ)	Notas
<b>Ultravioleta A</b>	UVA	315–400	3.10-3.94 (0.497–0.631)	No es absorbida por la capa de ozono
<b>Ultravioleta B</b>	UVB	280–315	3.94–4.43 (0.631–0.710)	La mayoría es absorbida por la capa de ozono
<b>Ultravioleta C</b>	UVC	100-280	4.43-12.4 (0.710-1.987)	Completamente absorbida por la capa de ozono
<b>Ultravioleta cercano</b>	NUV	300-400	3.10–4.13 (0.497–0.662)	
<b>Ultravioleta medio</b>	MUV	200-300	4.13–6.20 (0.662–0.993)	
<b>Ultravioleta lejano</b>	FUV	122–200	6.20–10.16 (0.993–1.628)	
<b>Línea Lyman-<math>\alpha</math></b>	H Lyman- $\alpha$	121–122	10.16–10.25 (1.628–1.642)	
<b>Ultravioleta de vacío</b>	VUV	10-200	6.20–124 (0.993–19.867)	
<b>Ultravioleta extremo</b>	EUV	10-121	10.25–124 (1.642–19.867)	

## 1.2 Daños comunes producidos por la radiación UV

A pesar de que los efectos adversos en los organismos son atribuidos a la pequeña cantidad de UVB que llega a la superficie terrestre, la radiación UVA también puede producir daños indirectos. Una alta intensidad de UVA o una larga exposición pueden dar lugar a una reducción del crecimiento celular y de la supervivencia, a la fotoinhibición de la fotosíntesis en ciertos organismos o la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS, por reactive oxygen species) como iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos que pueden dañar indirectamente al ADN, proteínas, lípidos y polisacáridos (Verdaguer et al., 2016; Brem et al., 2017).

Aunque la radiación UVB también produce efectos dañinos indirectos en diversas macromoléculas por la generación de ROS (daño oxidativo), los más graves son los que afectan directamente al ADN, que puede absorber fotones de UVB produciendo mutaciones. Entre los daños más comunes producidos por la UVB podemos destacar los dímeros de ciclobutano pirimidina (CPDs), los 6-4 fotoproductos (6-4 PPs) (ambos producen distorsiones en la hebra del ADN) y las roturas de la doble hebra del ADN (Sinha and Häder, 2002; Rastogi et al., 2010).

### 1.2.1 CPDs

Este tipo de daño se produce al romperse el doble enlace que une dos carbonos de dos bases de pirimidina adyacentes, en concreto el C5 y C6, y posteriormente una incorrecta reparación, siendo más común los dímeros entre dos timinas adyacentes (TT) o una citosina y una timina (CT), puesto que son más fotoreactivos, y por último entre dos citosinas (CC) (Rastogi et al., 2010). Esto da lugar a una distorsión de la doble hebra del ADN y por lo tanto a su mal funcionamiento. Por ejemplo, se ha demostrado que los CPDs inhiben el progreso de la ADN polimerasa y en mamíferos también bloquea a la ARN polimerasa II. Por tanto, estos daños producen un bloqueo en la replicación y transcripción del ADN y si no se reparan pueden producir errores en la lectura del código genético, ocasionando mutaciones que pueden acarrear la muerte celular. Además, se ha visto que los CPDs se forman fuera y en los extremos de la caja TATA lo que impide la unión de la proteína TBP (TATA-box binding protein) afectando a la transcripción génica en eucariotas (Rastogi et al., 2010).

### 1.2.2 6-4 PPs

Se producen al romperse un doble enlace de C=C en posición 6 y entre C=O en posición 4 de dos pirimidinas sucesivas y la formación de un enlace covalente entre ellas. También pueden dar lugar al llamado fotoproducto de Dewar (DewarPP), que es un isómero de 6-4PPs formado a partir de la fotoisomerización al recibir longitudes de onda de entre 280-360 nm. Las bases asociadas de mayor a menor frecuencia en este tipo de daño son TC, TT y CC (Perdiz et al., 2000).

Aunque se produce con menor frecuencia que los CPDs, los 6-4 PPs pueden tener efectos mutagénicos más serios y por lo tanto más letales, ya que distorsionan la hélice de ADN mucho más que los CPDs (Figura 2). Sin embargo, debido a esto, los daños estructurales son más fáciles de detectar por los mecanismos de reparación, lo que explica su baja frecuencia (Rastogi et al., 2010).

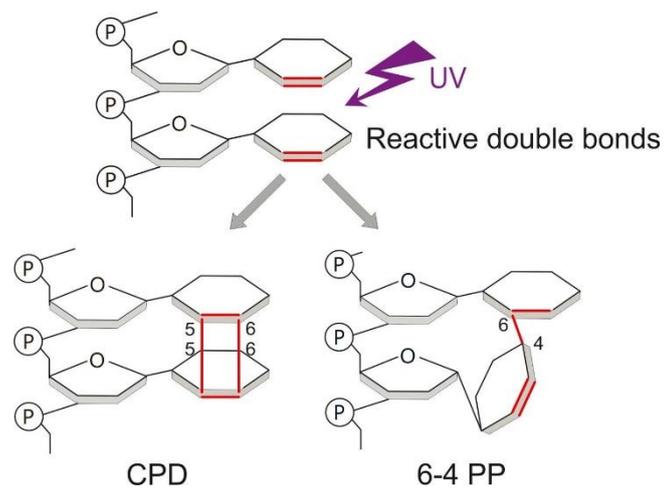


Figura 2. Formación de los CPDs y 6-4PP por efecto de la radiación UV (Seebode et al., 2016).

### 1.2.3 Roturas de hebras de ADN (DSBs)

La rotura de la doble hebra del ADN (DSBs, por sus iniciales en inglés, double strand breaks) es uno de los efectos más dañinos de todos los que afectan al ADN, puesto que puede dar lugar a la pérdida de material genético. Este tipo de daño no se produce como consecuencia directa de la absorción de la radiación UV, si no como resultado de la reparación del daño producido en las bases del ADN por la radiación. Además, diferentes autores han señalado que el principal causante de las

DSB son las especies reactivas de oxígeno (ROS) que pueden aparecer tras la exposición a radiación UV (Rastogi et al. 2010; Jeggo y Löbrich 2007; Greinert et al. 2012).

Uno de los mecanismos sugeridos para la producción de los DSBs propone que cuando se producen varios SSBs, o los daños producidos en una sola hebra, en zonas muy próximas y de forma simultánea, pueden dar lugar a una rotura de la doble hebra (Greinert et al., 2012). Otro de los mecanismos propuesto es debido al bloqueo de la transcripción y la replicación en aquellas posiciones donde las horquillas de replicación colapsan debido a las zonas del ADN con CPDs (Batista et al., 2009). Esto se explica porque cuando la maquinaria de replicación del ADN encuentra un bloqueo, la ADN polimerasa se estanca en ese lugar y la molécula de ADN adquiere una estructura en Y. Esta nueva forma es reconocida por una endonucleasa específica, la cual hace cortes sucesivos en la hebra complementaria, dando lugar a la formación de DSBs en la zona donde se ha bloqueado la replicación (Ohnishi et al., 2009).

#### **1.2.4 Otros tipos de daño**

A pesar de que el daño producido por la radiación UV afecta principalmente a las bases pirimidínicas del ADN, también puede afectar a las purinas, aunque con una frecuencia mucho menor. Se pueden formar productos diméricos entre dos residuos de adeninas adyacentes, o entre una adenina y una timina (Gallagher and Duker, 1986; Kumar et al., 1987). La fotoisomerización de la adenina puede dar lugar a un fotoproducto intermedio denominado acetidina, el cual compite en las vías de reacción de la formación de los dímeros de adenina (A=A). También pueden crearse fotoproductos de A=T. Esto produce reacciones de reordenamiento, por lo que la estructura del ADN se ve comprometida (Pattison y Davies 2006; Rastogi et al. 2010) pudiendo producirse mutaciones en el ADN.

Otro de los daños producidos por la radiación son los sitiosapurínicos/apirimidínicos (AP sites). Son una de las lesiones más frecuentes del ADN y se forman por hidrólisis espontánea de los enlaces N-glicosílicos. También se pueden formar como consecuencia de la acción de la ADN N-glicosilasa al intentar eliminar una base inapropiada, como por ejemplo el uracilo, el cual se puede introducir durante la replicación o reparación del ADN (Boiteux and Guillet, 2004). La eliminación de los sitios AP por las AP endonucleasas o la N-glicosilasas puede dar lugar a la formación de SSBs con los extremos 3' o 5' bloqueados, por lo que no se pueden usar como molde para la ADN polimerasa o

la ADN ligasa. Además, estas zonas SSBs podrían ser convertidas en DSBs tras la replicación (Boiteux and Guillet, 2004).

Además del ADN, las proteínas también pueden sufrir daño, siendo uno de los principales objetivos de la fotooxidación debido a su alta abundancia. Al absorber la radiación UV, las proteínas pueden sufrir daño oxidativo, pudiendo afectar a nivel de aminoácidos y péptidos (Davies and Truscott, 2001). Como consecuencia del daño sufrido, se pueden formar puentes disulfuro y cisteínas oxidadas, pero gracias a la acción de enzimas como las tiorredoxinas y glutaredoxina, con actividad oxidorreductasa, permiten la recuperación de las mismas y, además, son capaces de reducir los niveles de ROS (Harel and Storz, 2000; Karimpour et al., 2002).

### **1.3 Estrategias de adaptación a la radiación UV**

Los microorganismos son capaces de adaptarse a los nocivos efectos de la radiación UV mediante diferentes estrategias moleculares, enfocadas por un lado a la protección frente a la radiación y, por otro lado, a la reparación del daño.

#### **1.3.1 Protección**

Dentro de las estrategias de protección contra la fotooxidación producida por la radiación UV, se encuentra la producción de pigmentos, que son moléculas capaces de absorber la luz de una determinada longitud de onda y reflejarla (Singh and Gabani, 2011). Uno de los más estudiados son los carotenoides. Estos, al ser irradiados se transforman en moléculas electrónicamente excitadas por lo que pueden reaccionar rápidamente con otras moléculas protegiendo así de las reacciones de oxidación. También pueden interactuar con moléculas oxidadas al volver a su estado elemental desactivado (Reis-Mansur et al., 2019). Además de los carotenoides, podemos encontrar multitud de pigmentos tanto en organismos superiores como en microorganismos, como son la violacéina, luteína, astaxantina, etc.

La escitonemina es otro pigmento alcaloide importante estudiado hasta ahora solamente en cianobacterias. Absorbe la radiación de una longitud de onda entre 315-400 nm (UVA), que induce la biosíntesis de este pigmento, que se acumula en la matriz extracelular de estos microorganismos (Garcia-Pichel et al., 1992). Un aumento de la temperatura y del estrés oxidativo produce una mayor biosíntesis de este pigmento. Además de disipar la energía absorbida por la UVA, se ha visto que

puede actuar como un potente antioxidante e incluso reducir la formación de ROS y de los dímeros de timina (Rastogi et al., 2013, 2015). Otro tipo de moléculas protectoras son los llamados aminoácidos tipo micosporinas (MAA por sus iniciales en inglés mycosporine-like amino acids). Se trata de metabolitos secundarios producidos por numerosas especies de microorganismos taxonómicamente diversos y que son capaces de absorber la radiación UV en un rango de 310-365 nm, y que protegen del daño en el ADN mediante la prevención de los dímeros de ADN y protegiendo de la destrucción de las membranas celulares (Singh and Gabani, 2011).

Por otra parte, los organismos pueden usar osmoprotectores, que son pequeñas moléculas orgánicas con carga neutra que ayudan a mantener la integridad celular. Entre ellos encontramos el inositol y la glicina betaina y que protegen el estrés oxidativo producido por altas dosis de radiación UV (Kido et al., 2013; Pérez et al., 2017).

Otras proteínas responsables de proteger a las células frente al estrés oxidativo son la superóxido dismutasa (SOD) y la proteína de protección del ADN en fase estacionaria, Dps (DNA-binding protein from starved cells). En conjunto son capaces de neutralizar los efectos producidos por las ROS. Además, la proteína Dps puede condensarse en los cromosomas y evitar las SSBs y DSBs (Nair and Finkel, 2004).

### **1.3.2 Reparación del daño en el ADN**

Dentro de los mecanismos enfocados a la reparación del daño producido por la radiación en el ADN podemos encontrar algunos que son directamente dependientes de la luz, como es la fotoreparación mediante la expresión de fotoliasas; u otros que no dependen de ésta, como por ejemplo, la reparación por escisión de nucleótidos (NER, nucleotide excision repair), la reparación por escisión de bases (base excision repair), "mismatch repair (MMR), reparación por recombinación homóloga (HR) o la inducción del sistema SOS de respuesta al daño (Goosen and Moolenaar, 2008).

Las fotoliasas son enzimas que se unen específicamente a sitios con daños en el ADN de tipo CPDs o 6-4PPs y los revierten usando la energía de la luz. Para ello, la enzima requiere luz del tipo UV cercano (NUV, near UV) la cual es absorbida por los cromóforos. En el caso de las fotoliasas que reparan los CPDs, presentan dos cromóforos, uno es una FADH y otro un MTHF. Este último es el que absorbe la radiación NUV y la transfiere al otro cromóforo, FADH, quien finalmente transmite el electrón a la lesión CPD induciendo la separación del anillo de ciclobutano (Goosen and Moolenaar, 2008). Entre los tipos de reparación independientes de la luz encontramos diferentes mecanismos:

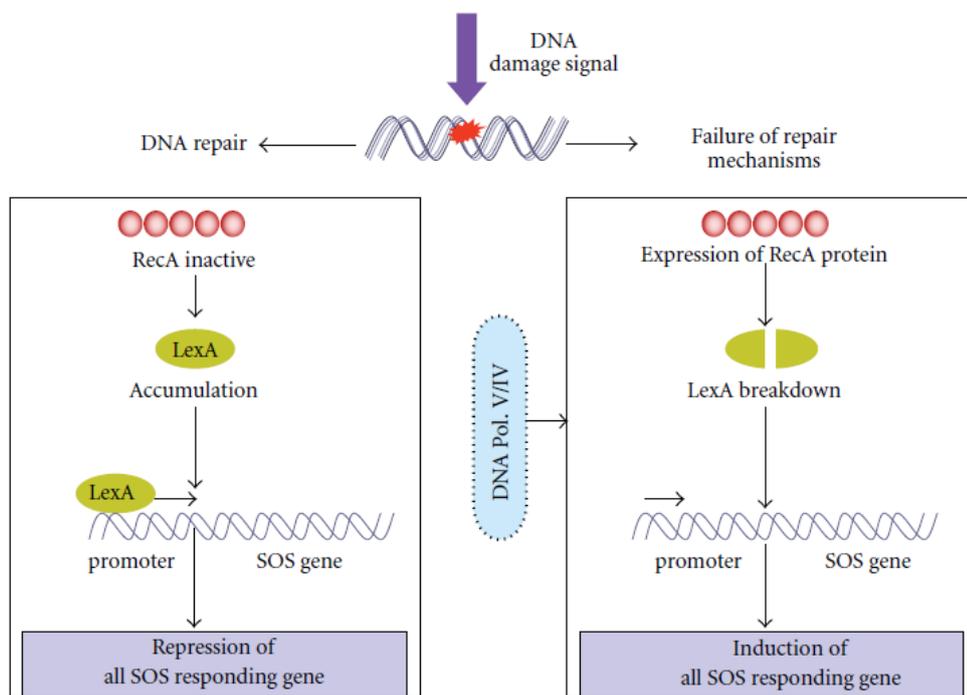
- **BER.** La reparación por escisión de bases protege a las células del daño endógeno producido en el ADN como consecuencia de reacciones de hidrólisis, especies reactivas de oxígeno u otros metabolitos que modifican la estructura del ADN (Sinha and Häder, 2002). La enzima principal en este proceso es la ADN glicosilasa, la cual elimina la base dañada o modificada mediante la eliminación del enlace N-glucosídico entre dos bases adyacentes, formando un sitio AP, el cual es eliminado por la AP endonucleasa o la AP liasa. Finalmente, el hueco producido tras este proceso es reparado por la ADN polimerasa y la hebra es sellada por la ADN ligasa (Seeberg et al., 1995).

- **NER.** Mediante este proceso se eliminan una amplia gama de daños que distorsionan las hebras de ADN, como son los CPDs los 6-4PPs y se eliminan nucleótidos completos dañados, no sólo una base. Participan 3 proteínas denominadas UvrA, B y C. Primero, la proteína UvrA busca daños en el ADN, y cuando los encuentra, UvrB se asocia con UvrA. Si realmente hay una lesión, UvrB se une definitivamente y UvrA se disocia. Entonces, UvrC se asocia a la zona del daño, haciendo una incisión doble en la misma para eliminar la zona dañada. Finalmente se requiere de la presencia de UvrD (helicasa II) para eliminar el oligonucleótido dañado, la ADN polimerasa I añade los nucleótidos correctos y una ligasa los une, restaurando la hebra del ADN (Goosen and Moolenaar, 2008).

- **Recombinación Homóloga (HR).** Este mecanismo es muy eficiente reparando los DSBs y SSBs. En el caso de los procariontes, el gen *recA* es esencial para este mecanismo de recombinación. La proteína que codifica, RecA, es una ATPasa dependiente de ADN que se une a la cadena simple de ADN y promueve el intercambio entre moléculas de ADN homólogas (Rastogi et al., 2010)

- **Sistema de respuesta SOS.** La acumulación de numerosas lesiones en el ADN provocadas por diferentes factores como por ejemplo elevadas dosis de radiación UV, desencadena la activación del sistema SOS. En esta respuesta participan dos proteínas esenciales, RecA implicado en la recombinación homóloga, y LexA un represor transcripcional. Al producirse daños en el ADN, estos son reconocidos por la proteína RecA que forma filamentos en la cadena sencilla del ADN y adquiere una actividad proteasa que cataliza la hidrólisis de la proteína LexA, disminuyendo su concentración celular. Los genes

que se inducen por el sistema SOS tienen el represor LexA unido a una secuencia palindrómica presente en su región promotora (caja SOS), reprimiendo su transcripción (Figura 3). Por ello, en ausencia de LexA se pueden expresar estos genes dando lugar a la reparación del daño. Una vez reparado, los niveles de RecA disminuyen, y la proteína LexA vuelve a expresarse en cantidades mayores, reprimiendo de nuevo al sistema SOS, compuesto por más de 40 genes (Radman, 1975; Aksenov, 1999; Janion, 2008; Kreuzer, 2013). Entre ellos están los genes que codifican para las proteínas UmuC y UmuD, las cuales permiten que la ADN polimerasa III continúe la replicación a pesar del daño, aunque se generen mutaciones por sustitución de base, o bien detienen la reanudación de la replicación, por lo que habría más tiempo para que se repare el daño (Peat et al., 1996; Kreuzer, 2013); el grupo de proteínas UvrA, B y C, los cuales participan en la reparación por escisión de nucleótidos (NER) (Goosen and Moolenaar, 2008); o las proteínas RuvABC, que participa en los procesos de recombinación homóloga (Dickman et al., 2002).



**Figura 3.** Representación esquemática del sistema SOS de respuesta al daño en el ADN (Rastogi et al., 2010)

#### 1.4 Mecanismos de resistencia a radiación UV en diferentes microorganismos

Numerosos estudios se han centrado en la búsqueda de mecanismos de resistencia a radiación UV de diferentes microorganismos (Battista, 1997; Nicholson et al., 2000; Pattanaik et al., 2007; Albarracín et al., 2012). Uno de los microorganismos extremadamente resistente a la radiación UV y, por lo tanto, uno de los más estudiados, es *Deinococcus radiodurans*, descubierto por primera vez en el año 1956 (Anderson, 1956). Se trata de una bacteria gran positiva, pigmentada, de forma esférica con un diámetro que va desde 1.5  $\mu\text{m}$  – 3.5  $\mu\text{m}$  y tiene varias copias de su genoma (poliploide). La dosis  $D_{37}$  de *D. radiodurans* para la luz UV, es decir, la dosis de radiación necesaria para reducir el número de individuos de una población a 37%, es de 600  $\text{J}/\text{m}^2$  mientras que para *E. coli* es de 30  $\text{J}/\text{m}^2$ . La alta resistencia a la radiación UV de esta especie hace posible que acumulen numerosos daños en el ADN, pudiendo llegar a formarse 1 lesión CPD por cada 600 pares de bases a dosis de 500  $\text{J}/\text{m}^2$  (Battista, 1997). Se ha propuesto que la alta capacidad de resistencia de *D. radiodurans* no se debe a su capacidad para evitar el daño en el ADN, sino que es debida a la integridad de su proteoma, el cual incluye proteínas de reparación del ADN, proteostasis (homeostasis de proteínas) y mantenimiento estructural. Por lo tanto es su proteoma el responsable de la protección frente a las especies reactivas del oxígeno (ROS) producidas por el estrés oxidativo tras la radiación con UV, lo que sugiere que la capacidad de esta bacteria para sobrevivir a altas dosis de radiación es determinada por la cantidad de daño en sus proteínas y no en el ADN (Daly, 2009; Slade and Radman, 2011; Krisko and Radman, 2013).

Otro género muy estudiado debido a su capacidad de producir esporas es *Bacillus sp* ya que se ha visto que pueden ser entre 10 – 100 veces más resistentes a UV que las correspondientes células vegetativas (Nicholson et al., 2000; Horneck et al., 2001). Uno de los mecanismos que las hacen tan resistentes es la acumulación de pigmentos en la capa externa y la expresión de sistemas de reparación muy eficientes, como el sistema NER y la SP liasa (spore photoproducts lyase). Sin embargo, los efectos de la radiación sobre las esporas pueden variar en función del nivel de hidratación que poseen en el momento en el que son irradiadas, así como diferentes factores ambientales como pueden ser la temperatura, el pH o la disponibilidad de nutrientes (Nicholson et al., 2005; Bressuire-Isoard et al., 2018).

### **1.5 4-Nitroquinolina 1-óxido, un compuesto químico que mimetiza el efecto de la radiación UV en el ADN**

La 4-Nitroquinolina 1-óxido (4NQO) es una quinolina, es decir, un compuesto aromático heterocíclico con la fórmula química  $C_9H_6N_2O_3$ , carcinogénico y mutagénico. La 4NQO sólo es mutagénica después de activarse metabólicamente, y convertirse en 4-hidroxiquinolina 1-óxido (4HAQO), provocando lesiones en el ADN mediante la generación de aductos en la posición C<sup>8</sup> y N<sup>2</sup> de la guanina y en la posición N<sup>6</sup> de la adenina (Ikenaga et al., 1975). La mayoría de las lesiones, alrededor del 80%, son producidos por los aductos N<sup>2</sup> de la guanina (Galiègue-Zouitina et al., 1985). Estos bloquean la acción de la ADN polimerasa I, impidiendo la replicación del ADN. Además, pueden producir formas inestables de 8-hidroxiguanina lo que acaba produciendo roturas de la doble hebra de ADN (DSBs). La nitroquinolina también puede producir especies reactivas del oxígeno (ROS) (Arima et al., 2006). La reparación del daño producido por la nitroquinolina se hace en su mayoría mediante escisión de nucleótidos (NER). Durante este proceso de reparación se genera un hueco en la hebra de ADN que se rellena normalmente con la polimerasa PolI. También se pueden llevar a cabo procesos de recombinación homóloga (Williams et al., 2010; Downes et al., 2014).

Debido a que los daños producidos por la nitroquinolina así como los mecanismos de reparación que se ponen en marcha tras el daño son similares a los producidos por la radiación UV, la nitroquinolina es conocida por imitar los efectos de la radiación UV, y por ello ha sido ampliamente utilizada en estudios de mutagénesis inducida por esta radiación tanto en procariontas como en eucariotas (Hömme et al., 2000; Miao et al., 2006; Williams et al., 2010; Downes et al., 2014; Lampreth-Grandío et al., 2020).

## **2. Microorganismos de ambientes hipersalinos y su interés para el estudio de los mecanismos de resistencia a radiación UV**

El estudio de los microorganismos que viven en ambientes salinos resulta especialmente útil a la hora de explorar nuevos mecanismos de resistencia a radiación UV, debido a la gran incidencia de radiación solar en estos ambientes. Se define como ambientes hipersalinos aquellos ambientes que posean una concentración salina mayor a la de los hábitat acuáticos y oceánicos, es decir, mayor de 35 g/L o 3.5% (Mcgenity and Oren, 2012). En estos ambientes, la concentración de sal no es el único factor que puede limitar la biodiversidad, ya que además pueden tener baja concentración de

oxígeno, temperaturas extremas (altas o bajas), pH extremos, o estar expuestos a elevadas dosis de radiación UV (Ventosa, 2006). Comúnmente, a los microorganismos capaces de vivir en ambientes hipersalinos se les conoce como halófilos. Kushner definió diferentes categorías de microorganismos en función de su crecimiento óptimo en relación a la concentración de sal en el ambiente: i) no halófilos, aquellos que crecen mejor en medios que contienen menos de 0,2 M de NaCl (menos de 1%), aunque algunos de los cuales, los halotolerantes, pueden tolerar altas concentraciones de sales; ii) halófilos leves, con un crecimiento óptimo a concentraciones de sal entre 0,2 y 0,5 M (1% y 3%); iii) halófilos moderados, entre 0,5 y 2,5 M (3% y 15%); y iv) halófilos extremos, más de 2.5 M (15%) (Kushner, 1988).

Los ambientes hipersalinos acuáticos pueden ser clasificados en dos grandes grupos: talasohalinos, si tienen un origen marino y una composición iónica similar a las aguas marinas; y los atalasohalinos, en los que la composición iónica es diferente a la del agua de mar ya que su composición refleja la del ambiente que le rodea, por lo que la composición de estas aguas varía mucho. Un ejemplo de talasohalino, muy estudiado, son las salinas solares costeras que son ambientes artificiales creados para la producción de sal para consumo humano, y están formadas por una serie de estanques poco profundos en los que el agua de mar se evapora hasta que las sales precipitan (Ventosa et al., 2015). Las salinas solares constituyen un ecosistema muy popular a la hora de estudiar a los microorganismos halófilos. Al estar constituidas por una serie de estanques poco profundos y con diferentes concentraciones de salinidad constituyen unos laboratorios de campo perfectos (Oren, 2019). En ellos el agua comienza a transferirse a diferentes estanques, donde se van embalsando, y periódicamente esta agua se va transfiriendo a otros estanques, cada vez con una concentración de sal mayor (Ventosa et al., 2014). Estas altas concentraciones de sales se deben a la evaporación del agua por efecto de la radiación solar en los diferentes estanques de forma secuencial (estanques de evaporación). En estos, debido a la alta concentración de sales (superiores al 30%), el NaCl puede llegar a precipitar, produciendo los llamados estanques cristalizadores (Antón et al., 2000; Javor, 2002). Por lo tanto, en estos ambientes los microorganismos, además de estar expuestos a altas concentraciones de sal, están expuestos a altas dosis de radiación UV por lo que son buenos sistemas a la hora de buscar genes de resistencia a radiación. Muchas de estas salinas poseen un color rosado y se ha sugerido que puede ser debido a la expresión de carotenoides por parte de los microorganismos halófilo presentes para protegerse de la radiación UV (Trigui et al., 2011).

El estudio del habitat de los microorganismos es importante ya que se sabe que pueden llegar a ganar o perder genes en función del mismo. Por ejemplo, muchos microorganismos que viven en ambientes sin exposición a la radiación UV, como lagos profundos, han perdido los genes de la

fotoliasa (Goosen and Moolenaar, 2008). En algunos casos no parece ser que esto haya sucedido por la falta de exposición en sí mismo, sino por una presión selectiva para reducir el tamaño de su genoma. Ejemplos de microorganismos que han ganado genes de reparación del daño a UV son los halófilos del orden *Halobacteriales*. Todos tienen más de un homólogo de la fotoliasa y han adquirido tres genes que codifican el sistema NER (Goosen and Moolenaar, 2008).

## 2.1 Salinas costeras Bras del Port de Santa Pola

Uno de los ambientes hipersalinos más estudiados son las Salinas Bras del Port de Santa Pola (Figura 4). Están localizadas a unos 20 km del sur de Alicante y están sujetas a un clima mediterráneo árido, con pocas lluvias anuales y una temperatura moderada entre 12 y 26°C (Ventosa et al., 2014). Están compuestas por diferentes estanques, de forma rectangular y con un área de alrededor de 20,000 m<sup>2</sup> y una profundidad de 30 cm (Ventosa et al., 2014).

En concreto, los dos estanques analizados en este trabajo son los llamados CR30 y CCAB, con un porcentaje de sales de 39% y 30% respectivamente, tratándose, por lo tanto, de estanques cristalizadores. Los estanques que presentan una mayor concentración de sales, como en CR30 y CCAB, suelen presentar valores de pH bajos y temperaturas más altas. Además, el nitrógeno total y la concentración de fósforo aumenta a salinidades altas, mientras que el contenido de oxígeno se reduce (Rodríguez-Valera et al., 1985; Ventosa et al., 2014). Por ello, los microorganismos que viven en este tipo de ambientes son poliextremófilos.



**Figura 4.** Vista aérea de las Salinas Bras del Port (Ventosa et al., 2014)

## 2.2 Diversidad microbiana de las Salinas Bras del Port de Santa Pola

Se han realizado numerosos estudios analizando la composición microbiana de estas salinas, incluso de virus (Santos et al., 2010), tanto con métodos dependientes de cultivo como independientes de cultivo. Los datos aportados por los diferentes análisis han confirmado que en los estanques cristalizadores CR30 y CCAB la abundancia de procariotas es de  $10^7$ - $10^8$  células/ml, de los cuales alrededor del 80% pertenece al dominio Archaea y el 20%, al Bacteria. Dentro del dominio Archaea el más abundante es la especie *Haloquadratum walsbyi*, y de las bacterias, *Salinibacter ruber*, pero también aparecen otros géneros como *Halorubrum* o *Natrosomonas* (Ventosa et al., 2014). En concreto, en este estudio, tras analizar las poblaciones del estanque CR30, comprobaron que el género *Haloquadratum* aparece con un porcentaje del 58%, *Salinibacter*, un 9,1%, *Candidatus* con un 5,7%, *Halorubrum*, un 3,2% y *Halomicrobium* con 1% (Ventosa et al., 2014).

### 2.2.1 *Haloquadratum walsbyi*

La especie *Haloquadratum walsbyi* fue descubierta por primera vez por E. A. Walsby en 1980, mientras estudiaba unas salmueras de la península del Sinaí (Walsby, 1980). Sin embargo, no se consiguió aislar hasta pasados 25 años. En 2004, dos grupos independientes que estudiaban salinas solares en España y Australia, respectivamente, publicaron una descripción más detallada de esta especie e identificaron dos cepas diferentes: *Hqr. walsbyi* HBSQ001 y *Hqr. walsbyi* C23 aisladas en España y en Australia respectivamente (Bolhuis et al., 2004; Burns et al., 2004). La cepa HBSQ001 presenta 3,132,494 pb y 2819 genes (Bolhuis et al., 2006). La cepa C23 presenta un número de bases similar, de 3,148,033 pb y 2894 genes (Dyall-Smith et al., 2011).

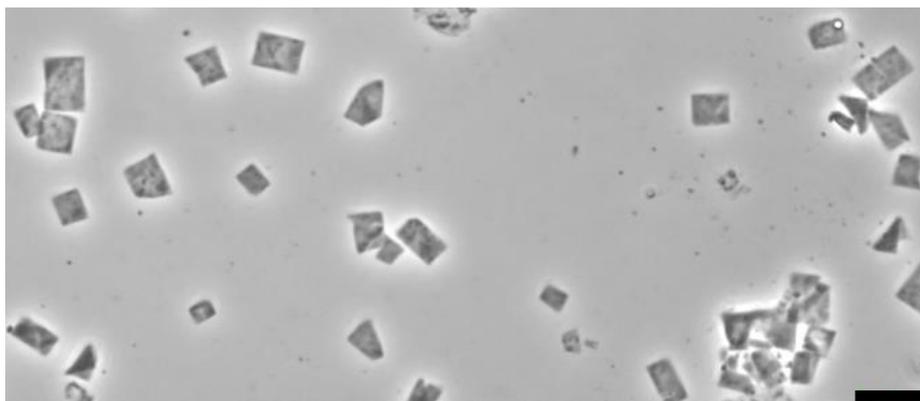
Las células presentan una característica forma cuadrada y muy delgadas (Figura 5), con tan solo 0.2  $\mu\text{m}$  de espesor. Como diferencia, el aislado C23 presenta un tamaño de 12  $\mu\text{m}$  por cada lado, mientras que la HBSQ001 es de 40x40  $\mu\text{m}$  y, a pesar de la distancia geográfica que hay entre los dos aislados, tan solo presentan 2 nucleótidos diferentes en los genes de ARN 16S. Crecen a un pH entre 5.5-8.5, a una temperatura entre 25 – 45°C y un porcentaje de sal entre 14% - 36 %, con lisis celular a concentraciones de sal menores del 14% (Burns et al., 2007).

Para poder sobrevivir a pesar de la baja actividad del agua ( $A_w$ , cantidad de agua disponible para los procesos biológicos) en estos ambientes, poseen una gen gigante, de 27,480 pb que codifica para una proteína de 9159 aminoácidos, llamada halomucina (Hmu1), que protege a las células frente

a la desecación, mediante la creación de un escudo acuoso que recubre a las células debido a las cargas negativas. Además, otra posible función de esta proteína es la de ayudar a mantener la estructura y la rigidez de las células (Bolhuis et al., 2006). Otra característica de esta especie es la producción de vesículas de gas, aunque no es exclusivo de ellas, ni de las arqueas, ya que también se han identificado en bacterias. Las vesículas de gas son estructuras cilíndricas huecas, formadas por proteínas, y con un tamaño entre 0.2 -1.5  $\mu\text{m}$  de largo y 0.2  $\mu\text{m}$  de diámetro (Walsby, 1994). Estas vesículas permiten a las células flotar hacia capas más superficiales de agua, evitando la limitación del oxígeno, facilitando que alcancen zonas con más luz y orientándolas en una posición óptima para la absorción de luz (Oren, 2012). Otros genes importantes presentes en *Hqr. waslbyi* son las bacteriorrodopsinas, las cuales son proteínas transmembranas que actúan como bomba de protones, transportando protones del citoplasma al exterior de la membrana celular, convirtiendo la energía de la radiación solar en energía química (Li et al., 2018). De esta forma mantienen una alta concentración de potasio intracelular, lo que le permite resistir las altas concentraciones de sal del medio (Oren et al., 2002).

La delgadez de las células les permite tener una mayor relación de superficie/volumen (s/v). Esto le proporciona una enorme ventaja a la hora de sobrevivir en ambientes extremos salinos, ya que la solubilidad del oxígeno y la cantidad de nutrientes esenciales disponibles están muy disminuidos. Además esta delgadez le permite captar luz como fuente alternativa de energía, haciendo un uso óptimo de ambos lados de la membrana (Bolhuis et al., 2006). También presenta numerosos gránulos de polihidroxibutirato (PHB) los cuales son importantes almacenes de compuestos de carbono y energía (Bresan et al., 2016).

Todas estas características le hacen ser extremadamente resistente a un alto porcentaje de salinidad, por ello no es de extrañar que sea el organismo más abundante en los estanques cristalizadores (Ventosa et al., 2014).



**Figura 5.** Imagen de microscopía óptica obtenida en el laboratorio de la cepa *Hqr. walsbyi* HBSQ001B. Se pueden apreciar las diferencias de tamaño de una misma cepa. Además, arriba a la derecha vemos una célula con una vesícula de gas. La barra representa un tamaño de 8  $\mu\text{m}$

### 2.2.2 *Salinibacter ruber*

Se trata de la principal especie del dominio *Bacteria* más abundante en las salinas y en otros ambientes hiperhalófilosco. Pertenece al filo *Bacteroidetes*, clase II *Sphingobacteria* y descubierta en el año 2000 (Antón et al., 2000). Es una bacteria aerobia estricta y crece de forma óptima con una concentración de sales entre 20-30% (Antón et al., 2002). La cepa DSM 13855 utilizada en este trabajo posee 3,551,823 pb, 2934 genes y un alto contenido en G+C (66.29%). También posee un plásmido de 35,505 pb (57.9% G+C) y 33 genes (Mongodin et al., 2005). Además, presenta una forma bacilar alargada y en los cultivos tanto en líquido como en sólido tiene una coloración rojiza, debido a la acumulación del carotenoide C40 salinixantina lo que le da protección frente a las elevadas dosis de radiación. Este carotenoide presenta un máximo de absorción a 478 nm y podría ser utilizado como biomarcador para caracterizar las comunidades microbianas de los ambientes hipersalinos (Oren, 2013).

Para poder sobrevivir en ambientes salinos, las bacterias halófilas o halotolerantes suelen producir o acumular solutos orgánicos compatibles, como ectoína, glicina o betaína, para mantener la presión osmótica de su citoplasma. Este método está regulado por la concentración de sal extracelular por lo que las bacterias pueden ir adaptándose a los cambios de salinidad que se produzcan en el medio, permitiéndoles una cierta plasticidad. Sin embargo, el método utilizado por *Sal. ruber* para adaptarse al medio es similar al del orden de los *Halobacteriales*: manteniendo una alta concentración de potasio intracelular. Y, al igual que *Hqr. walsbyi*, expresan bacteriorrodopsinas (Mongodin et al., 2005). Para ello, todos los procesos intracelulares tienen que estar muy bien adaptados a altas concentraciones de sal, por lo que la plasticidad de estos microorganismos es menor, impidiéndoles vivir bajo concentraciones de sales menores (Oren et al., 2002).

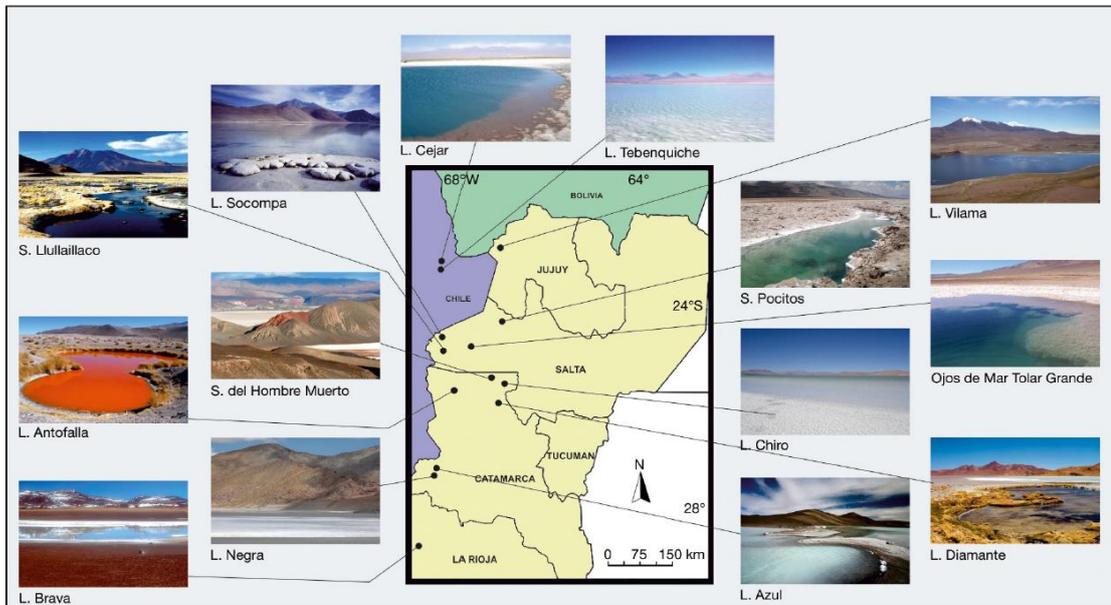
A pesar de no estar relacionada filogenéticamente con la familia de los *Halobacteriaceae*, fenotípicamente *Salinibacter* presenta muchas similitudes con el género *Haloquadratum* y *Halobacterium* (Oren, 2013). Se ha sugerido que estas similitudes se deben a un proceso de transferencia lateral de genes a partir de las arqueas con las que comparte hábitat (Antón et al., 2008). Las islas metagenómicas podrían jugar un papel importante en este proceso. Se trata de regiones enriquecidas en transposasas en donde los genes suelen compartir homología con muchos microorganismos filogenéticamente diversos, pudiendo actuar como zonas calientes para la transferencia horizontal de genes, aumentando así la plasticidad de los microorganismos del mismo ambiente (Pašić et al., 2009). De esta forma, se podrían haber transferido genes entre *Hqr. walsbyi* y *Sal. ruber* en los ambientes hipersalinos.

### **3. Estudios de los mecanismos de resistencia a UV en microorganismos de ambientes hipersalinos**

Diferentes estudios han analizado el efecto de la radiación UV en función de la altitud y la latitud (Quesada and Vincent, 1997; Zenoff et al., 2006; Albarracín et al., 2012; Albarracin et al., 2015; Rasuk et al., 2017). Estos estudios han demostrado que la radiación solar aumenta con la altitud (Blumthaler et al., 1997). Por ello, es interesante estudiar los lagos hipersalinos del altiplano andino (Figura 6), ya que nos pueden proporcionar mucha información acerca de los mecanismos de resistencia a radiación UV. En alguno de los lagos que componen esta región, la radiación UV puede llegar a alcanzar los 17 W/m<sup>2</sup> (a nivel del mar es entre 0.1-0.4 W/m<sup>2</sup>) (Ordoñez et al., 2009). Gracias a estos estudios se han descubierto nuevas especies del género *Acitenobacter*, aislados de las lagunas del altiplano andino llamadas Lago Azul, Lago Verde y Lago Negro, con un porcentaje de salinidad de 5%, 5% y 32% respectivamente (Ordoñez et al., 2009; Albarracín et al., 2012). Existen tres mecanismos que explican la alta resistencia de las especies que viven en esta región: i) protección frente a las especies reactivas del oxígeno (ROS). Este mecanismo ha sido confirmado gracias a la enorme actividad catalasa que presente el género *Acitenobacter* de esta región; ii) mecanismos para tolerar el daño en el ADN sin reparar durante la replicación, pues se ha comprobado que pueden llegar a acumular grandes cantidades de fotoproductos; iii) Una eficiente reparación de los fotoproductos del ADN, implicando a fotoliasas encargadas de reparar los CPDs de forma mucho más eficientes que otras cepas (Albarracín et al., 2012; Albarracin et al., 2013)

La laguna Tebequiche, situado en el salar de Atacama, en el altiplano central chileno, también ha sido muy estudiada. Los microorganismos aislados en este lago han sido asignados al género

*Vibrio*, *Halomonas*, *Acinetobacter*, *Alteromonas*, *Psychrobacter*, *Marinococcus*, todos pertenecientes a la clase *Gammaproteobacteria*. Dentro de grupo de arqueas, las cepas descubiertas pertenecen al género *Halorubrum*, *Haloarcula*, *Halobacterium*, y *Haloferax* (*phylum Euryarchaeota*) (Fernandez et al., 2016), lo que demuestra que estos lugares pueden actuar como laboratorios naturales a la hora de estudiar los mecanismos de resistencia a radiación en microorganismos hiperhalófilos.



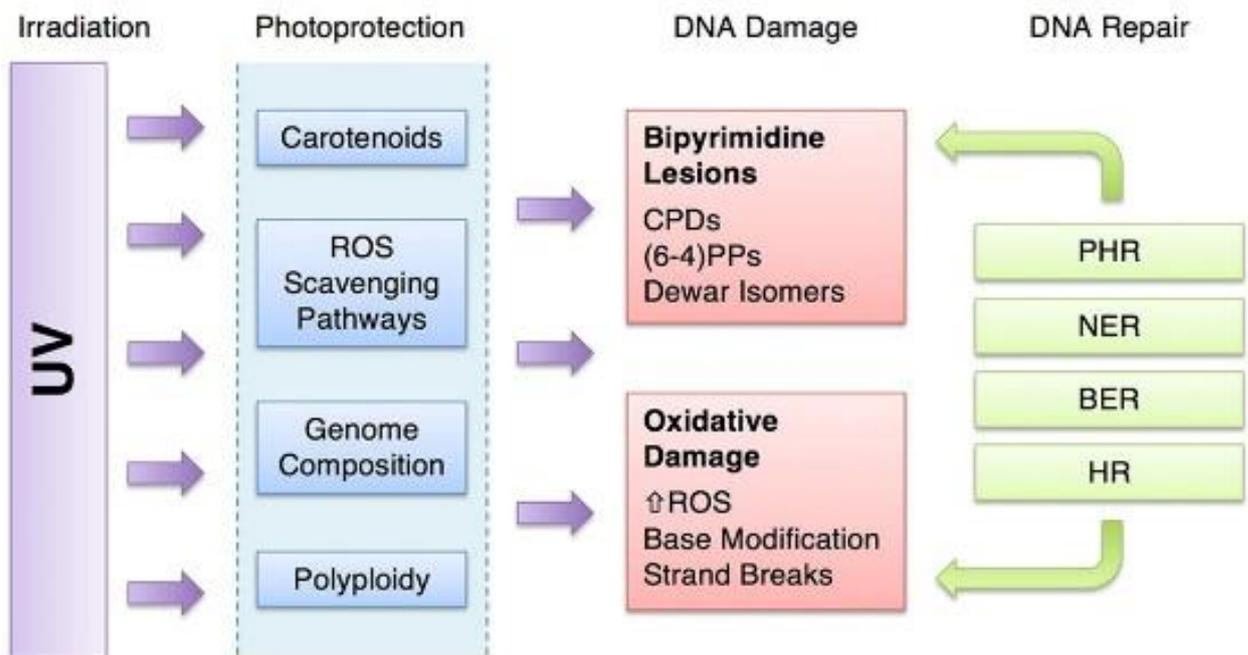
**Figura 6.** Localización geográfica de los lagos del altiplano andino (HAAL) (Maldonado et al., 2018).

En otro estudio llevado a cabo por Abrevaya et al (2011) se comparó la resistencia a radiación UV de dos especies halófilas como son *Haloferax volcanii* y *Natrialba magadii*, junto con *D. radiodurans*, intentando también simular otras condiciones interplanetarias, como la presión y la temperatura. Demostraron que, a pesar de que *Haloferax* y *Natrialba* son dos haloarqueas muy resistentes a la desecación, *D. radiodurans* sigue siendo muy resistente a la radiación UV y por lo tanto el mejor candidato para sobrevivir en las condiciones espaciales o en las superficies de otros planetas y sus lunas (Abrevaya et al., 2011).

McCready analizó la resistencia del género *Halobacterium*, el cual vive en ambientes con concentraciones de sal saturantes y muy expuestos a radiación UV, y se ha visto que posee un mecanismo de fotoreparación del ADN extremadamente eficiente (McCready and Marcello, 2003). Demostraron que la recombinación homóloga juega un papel muy importante en este género a la hora de resistir a la radiación, ya que el gen *radA1*, homólogo al gen *recA*, (McCready et al., 2005),

es el que más se induce tras la irradiación. Además, otros genes implicados en la recombinación homóloga se vieron inducidos tras la irradiación, como el gen *dpb*, que codifica para una proteína de unión al ADN; el gen *arj1*, que codifica para una exonucleasa homóloga al gen *recJ*; y un operón que codifica para proteínas de unión al ADN de cadena simple (McCready et al., 2005).

Tras todos estos estudios se puede comprobar la importancia de la reparación homóloga en las arqueas halófilas, así como las estrategias enfocadas a la fotoprotección del ADN. Pero también se ha sugerido que, además de los mecanismos típicos expresados por el resto de microorganismos, la poliploidía y la composición genómica de estas arqueas pueden estar jugando un papel importante en la resistencia a ultravioleta. Las arqueas halófilas presentan más de una copia de su genoma, es decir, son poliploides, lo que les podría suponer una ventaja a la hora de sobrevivir a la radiación UV, ya que, si los genes están duplicados y uno de ellos se encuentra dañado, la copia intacta podría estar disponible y funcionar rápidamente con normalidad. Sin embargo, hasta la fecha no hay estudios que demuestren esta ventaja. Otra estrategia tiene que ver con su composición genética, ya que se ha visto que muchas de ellas presentan alto contenido en G+C, y bajo TT, por lo que se limitaría la incidencia del daño debido al estrés oxidativo y a la fotoreacción. Sin embargo, arqueas halófilas como *Hqr. walsbyi* tiene un contenido de G+C similar al de otros microorganismos, un 49%, y aun así es muy resistente, por lo que también se pone en duda este mecanismo de resistencia (Figura 7) (Jones and Baxter, 2017).



**Figura 7.** Diferentes estrategias de resistencia a UV en arqueas hiperhalófilas (Jones and Baxter, 2017)

### 3.1 Estudios con métodos independientes de cultivo

Debido al alto número de microorganismos que no se pueden cultivar en el laboratorio (Giovannoni et al., 1990; Ward et al., 1990) cada vez es más común el uso de técnicas independientes de cultivo. Entre ellas, está muy extendida el uso de la metagenómica, la cual consiste en la extracción de todo el ADN de un ambiente determinado y la construcción de una biblioteca de genes para una posterior búsqueda funcional en función de su actividad (González-Pastor and Mirete, 2010). En los últimos años esta técnica se ha utilizado para para identificar nuevos genes implicados en la adaptación a condiciones extremas, como ambientes hipersalinos, ácidos, de altas y bajas temperaturas y también, a radiación UV (Mirete et al., 2007, 2015; Lampreth-Grandío et al., 2020). De hecho, en la laguna de Diamante y la de Ojo seco, situadas en el altiplano andino, ha servido de referencia para buscar nuevos genes de radiación UV, dando como resultado nuevos genes que codifican para proteínas hipotéticas y otros genes que codifican para proteínas ya conocidas implicadas en procesos de reparación del ADN, como la proteína RecA, pertenecientes alguno de estos genes a los géneros de Gammaproteobacteria y otros a la especie *Haloferax volcanii* (Lampreth-Grandío et al., 2020).

A pesar de ser muy útil la metagenómica a la hora de identificar nuevos genes y nuevas especies, tiene la limitación de no saber distinguir entre genes activos e inactivos en los diferentes microorganismos de una comunidad, por lo que no podríamos distinguir aquellos genes que realmente están contribuyendo en determinadas condiciones al funcionamiento y la supervivencia de los microorganismos. Por ello, el uso de técnicas metatranscriptómicas (ARN de una comunidad microbiana) y transcriptómicas (RNA de microorganismos en cultivos puros (Shakya et al., 2019) nos permite identificar que genes se están expresando o se inhiben, lo que nos ayuda a tener una idea más realista y global de la respuesta de los microorganismos a cambios en las condiciones bióticas o abióticas. De hecho, un estudio realizado por Baliga et al, 2004, en el que analizaron la reparación con luz y en oscuridad tras someter a radiación UV a la arquea halófila *Halobacterium NRC-1*, mediante el uso de transcriptómica les permitió analizar e identificar diferentes mecanismos implicados en la reparación del ADN, así como las redes reguladoras que son moduladas por el daño en el ADN. Confirmaron así el papel de la proteína Phr2 (proteína de respuesta a la inanición del fosfato) en la fotoregulación, descartaron el papel de la Phr1 y el de los pigmentos, y observaron que la luz facilita cambios globales en la regulación de la reparación del ADN en este género y, además,

anotaron la función de 26 proteínas en función de su secuencia y estructura (Baliga et al., 2004), demostrando el enorme potencial que tiene este tipo de análisis.

#### 4. Perclorato en ambientes hipersalinos áridos

El ión perclorato,  $\text{ClO}_4^-$ , es un anión no volátil compuesto por un átomo de cloro y cuatro de oxígeno y debido a sus características, es un excelente agente ionizante. Lo más frecuente es encontrar al perclorato formando sales, debido a su alta solubilidad y su estabilidad en el agua al disolverse, siendo lo más común la formación de las sales con el magnesio y con el sodio (Morrison et al., 1964). Diversos estudios han reportado la presencia de percloratos en aguas potables, lo que supone un riesgo ya que puede causar mutaciones en las bacterias y toxicidad en humanos, ya que el ion  $\text{ClO}_4^-$  interactúa con los receptores de yodo en la glándula tiroidea, disminuyendo así la producción de la tiroidea (Richardson et al., 2007; Jung et al., 2010). De forma natural, el perclorato se acumula en ambientes áridos e hipersalinos, como en el desierto de Atacama (Chile), donde se encuentra en grandes concentraciones asociado con depósitos de nitrato (Vega et al., 2018).

En los últimos años han aumentado los estudios del perclorato debido a su interés en astrobiología, ya que se ha demostrado su presencia en Marte y de forma muy extendida (Hecht et al., 2009; Glavin et al., 2013). Gracias a estos estudios se ha podido comprobar que diversos halófilos extremos presentan una elevada resistencia a perclorato (Oren et al., 2014) y, además, se han podido identificar genes de resistencia a este compuesto procedentes de halófilos extremos de sedimentos de un salar de Atacama, responsables de la resistencia (Díaz-Rullo et al., 2021). Esto tiene enormes implicaciones a la hora de la búsqueda de vida en el planeta ya que si, junto a la presencia de peróxidos, superóxidos y los radicales hidroxilos formados en las células por la constante irradiación UV, añadimos la presencia de perclorato que también es capaz de producir especies reactivas del oxígeno (ROS), las posibilidades de existencia de vida al menos en la superficie de Marte son ínfimas (Georgiou et al., 2017). Además, un estudio llevado a cabo por Wadsworth y Cockell (2017) demostraron que el efecto combinado de la radiación UV con el perclorato produce un efecto bacteriocida, reduciendo drásticamente la viabilidad de la especie *Bacillus subtilis* al usar radiación UV y perclorato, en comparación con la exposición solamente a radiación. Demostraron también que el efecto bacteriocida se producía por un aumento en la producción de fotoproductos dañinos, midiendo el espectro de absorción de las soluciones tratadas con perclorato (Wadsworth and Cockell, 2017). Sin embargo, recientemente se ha demostrado que ciertos genes que dan resistencia a

radiación UV, también son capaces de aumentar la resistencia a perclorato, incluso combinando los dos tipos de estrés al mismo tiempo (Lamprechth-Grandío et al., 2020; Díaz-Rullo et al., 2021).

## 5. Relevancia astrobiológica del estudio de halófilos extremos

En los últimos años el interés por la exploración espacial y concretamente el estudio de Marte a aumentado. Está previsto que en estos años aterricen varias misiones en Marte y, una de ellas, la misión Mars2020 tiene como objetivo obtener datos de la potencial vida en el planeta, tanto pasada como presente. Por ello, se están desarrollando estrategias que ayuden al posterior análisis científico de los datos, y una de estas estrategias es establecer los límites de la vida en los sistemas planetarios (Astrobiology Strategy for the Exploration of Mars Committee et al., 2007), y para establecer estos límites, los estudios de los microorganismos que viven en ambientes extremos son imprescindibles.

En la actualidad, la superficie de Marte recibe una alta cantidad de radiación UV, lo que hace que sea muy poco probable que exista vida tal y como la conocemos en su superficie (Fairén et al., 2010). Sin embargo, al aumentar los conocimientos sobre los mecanismos de resistencia a ultravioleta y los microorganismos extremófilos, los límites de la vida podrían verse ampliados. Por otra parte, los estudios que se pretenden realizar en las siguientes misiones se centrarán en la búsqueda de vida en el subsuelo marciano, un ambiente más protegido de las condiciones tan extremas de la superficie. Se ha confirmado la presencia de agua en Marte en el pasado (Fairén et al., 2005), pero se estima que gran parte de esa agua se evaporó, y si se detectase agua en el subsuelo, las concentraciones de sales serían elevadas.

Por otra parte, la presencia de perclorato en Marte puede estar permitiendo la presencia de agua líquida en el subsuelo, gracias a las capacidades higroscópicas (absorción de humedad) y a su baja temperatura eutéctica (Zorzano et al., 2009), lo que podría suponer un refugio para los microorganismos halófilos. En consecuencia, el estudio de ambientes hipersalinos como análogos terrestres, puede ayudar a entender mejor la habitabilidad en el planeta vecino. Por otra parte, el estudio de las haloarqueas tiene implicaciones astrobiológicas debido a su poliextremofilia. Además de ser muy resistente a las altas concentraciones de sal, a la radiación UV y a bajas temperaturas, la haloarquea *Halorubrum lacosprofundi* también resiste a perclorato, pudiendo mantener su actividad a concentraciones de perclorato mayores que las que se encuentran en Marte (Laye and DasSarma, 2018).





# OBJETIVOS

## OBJETIVOS

Los objetivos de este trabajo fueron:

- I. Identificar nuevos genes y mecanismos de resistencia a radiación UVB mediante la exploración de bibliotecas metagenómicas de microorganismos de ambientes hipersalinos, concretamente de salinas costeras, que están expuestas a elevadas dosis de radiación.
  
- II. Averiguar los cambios en los diferentes procesos celulares y en el metabolismo relacionados con la adaptación y resistencia a radiación UVB, en los dos microorganismos más abundantes en las salinas costeras: la bacteria *Salinibacter ruber* y la arquea *Haloquadratum walsbyi*. Para ello se estudiarán las alteraciones en el perfil transcripcional de estos microorganismos después de ser expuestos a radiación UVB.





# **MATERIALES Y MÉTODOS**

## Materiales

### 1.1 Cepas bacterianas

Tabla 2. Cepas utilizadas en este trabajo

Cepas	Genotipo	Referencia
<i>Escherichia coli</i> DH10B	<i>mcrA</i> $\Delta$ ( <i>mrr-hsdRMS-mcrBC</i> ) $\phi$ 80 <i>lacZ</i> $\Delta$ M15 $\Delta$ <i>lacX74 recA1</i> <i>endA1 araD139</i> $\Delta$ ( <i>ara-leu</i> )7697 <i>galU galK</i> $\lambda$ - <i>rpsL</i> (Str <sup>R</sup> ) <i>nupG</i>	Invitrogen
<i>Haloquadratum walsbyi</i> HBSQ001	Aislado natural	(Burns et al., 2007)
<i>Salinibacter ruber</i> DSM 13855	Aislado natural	(Antón et al., 1999)

### 1.2 Vector de clonaje

Tabla 3. Vector de clonaje utilizado en este trabajo

Vector	Marcador/Utilidad	Referencia
pBluescript II SK(+)	Vector de clonaje derivado de pUC19. El sitio de clonaje (multiple cloning site, MCS) se ubica dentro del fragmento $\alpha$ del gen $\beta$ galactosidasa, permitiendo selección por color de colonias blanco/azul en presencia del compuesto X-Gal. Resistencia a ampicilina.	Stratagene

### 1.3 Cebadores para PCR

Tabla 4. Cebadores utilizados en este trabajo

Nombre	Secuencia
CR30.92_ORF1_Fw	CAGTCTCGAGCACC GGATATCGGCTCAGAA
CR30.92_ORF1_Rv	CAGTTCTAGACCGTTTGTGGACACGCAT
CR30.92_ORF2_Fw	CAGTCTCGAGGGTTGCCTGCACAATCGAAT
CR30.92_ORF2_Rv	CAGTTCTAGAAGCGACACTCGTTGATCATT
CR30.462_ORF1_Fw	GTACTCGAGTTGAAGAGAGTTGTCTGCG
CR30.462_ORF1_Rv	GTATCTAGAATCACGACAGGAGACAAACC

CR30.462_ORF2_Fw	GTCTCGAGTCTGTGCGAAAATCGTCCGCC
CR30.462_ORF2_Rv	GTCTCTAGAGAACGACCAGATACAACCTCC
CR30.462_ORF3_Rv	GTCTCTAGAAAACATCTTGAATCATCGTCC
CR30_472_ORF1_Rv	TGATCTAGAAAGATACGTGCCCTCGGCAT
CR30_472_ORF2_Fw	TGAAAGCTTGCGAACACCGTGAGTGATAT
CR30_500_ORF1_Rv	CGATCTAGAGTCTCGTTTGAAACCTTCC
CR30_500_ORF2_Fw	CGACTCGAGTTACAGGAGGCTGATGAACC
CR30_500_ORF2_Rv	CGATCTAGATCACTCCAACAAACACCC
CR30_500_ORF3_Fw	CGACTCGAGTGGTCGATGAGGTATTGTCC
CR30_500_ORF3_Rv	CGATCTAGATGCTCACGACCCGTAACC
CR30_500_ORF4_Fw	CGACTCGAGAGGGTTTCATCGGTTCAACG
CR30_534_ORF1_Rv	TGAAAGCTTGGCCTTATCCATCAGGGCTA
CR30_534_ORF2_Fw	TGATCTAGAGAGATTCAGGCGCAGAACAT
CCAB_65_ORF1_Rv	ATGCTCTAGATCGTCTACCCTTCTCTAA
CCAB_65_ORF2_Fw	TAGTAAGCTTCGACAACCTATACCTGTCAA
CCAB_65_ORF2_Rv	TAGTTCTAGAAAGGCATCGCTCGATGAGAT
CCAB.112_ORF1_Fw	TAGTTCTAGACAGAGCCCGCCATCAGCAA
CCAB.112_ORF2_Fw	TAGTAAGCTTTGCTCAGTGCGTGTGCG AA
CCAB.112_ORF2_Rv	TAGTTCTAGACATCTCCATTCGCCCGAGAA
CCAB.112_ORF3_Fw	TAGTAAGCTTGATGACCTCCCGGATTTGAT
CCAB.241_ORF1_Fw	TAGTTCTAGAAGGATTCGCTCCCTGATGAA
CCAB.241_ORF2_Fw	TAGTTCTAGATTCGTC AACGAAATCAA CTA

#### 1.4 Medios de cultivo y antibióticos

Todos los medios de cultivo y soluciones fueron esterilizados por calor húmedo, en autoclave a 120°C y a 1 atmósfera de presión. Los antibióticos y las soluciones que no se pueden autoclavar, se esterilizaron por filtración en condiciones de esterilidad utilizando filtros de nitrocelulosa de 0.45 µm de diámetro de poro (Millipore).

El crecimiento de la cepa DH10B de *E. coli* en medio líquido rico se realizó en Luria-Bertani (LB) (1% Bacto-triptona, 0.5% extracto de levadura, 1% NaCl). Para el crecimiento en medio sólido se utiliza medio LB suplementado con 1.5% Bacto agar. Para mantener el plásmido pBlueScript II SK(+) (pBIISK+) en DH10B se añadió al medio el antibiótico ampicilina, a una concentración 100 µg ml<sup>-1</sup> (sólo se empleó a una concentración de 50 µg ml<sup>-1</sup> para amplificar las bibliotecas metagenómicas). Para seleccionar las cepas de *E. coli* que han sido transformadas, utilizamos además de ampicilina

(Ap), el compuesto 5-bromo-4-cloro-3-indolil- $\beta$ -D-galactopiranosido (X-Gal) a una concentración de  $40 \mu\text{g ml}^{-1}$ .

El medio de cultivo de *Hqr. walsbyi* (DBCM2) está compuesto por: una solución salina (SW) al 25%,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  a una concentración final de 5 mM, el buffer  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  (0.2%), una solución de vitaminas (Vit 10) al 0.3%, una solución metálica compuesta por elementos traza (SL10) al 0.1%, un aporte de piruvato sódico (0.11%) y un 1.15% del medio MGM, específico de haloarqueas y compuesto por SW, peptona y extracto de levadura. Los cultivos se incubaron a  $42^\circ\text{C}$  sin agitación y con luz constante proporcionada por una lámpara LED de 11 W.

*Sal. ruber* se creció en medio DSMZ compuesto de ( $\text{g l}^{-1}$ ):  $\text{NaCl}$ , 195;  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ , 34;  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ , 49;  $\text{CaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ , 1.25;  $\text{KCl}$ , 5;  $\text{NaHCO}_3$ , 0,25;  $\text{NaBr}$ , 0.625; Extracto de levadura, 1; agua destilada hasta llegar al litro y un pH final de 7.2. Los cultivos se incubaron a  $37^\circ\text{C}$  a 150 rpm

## 1.5 Muestras ambientales de salmueras

Se recogieron muestras de salmueras de las salinas de Santa Pola, localizadas en la provincia de Alicante, en la Comunidad Valenciana (coordenadas  $38^\circ 11' 05'' \text{N}$   $0^\circ 37' 46'' \text{O}$ ). En concreto, se seleccionaron dos estanques en los que precipita la sal que se destina a consumo humano: CR30, y CCAB, con un 39% y un 30% de salinidad respectivamente. Para aislar los microorganismos de las muestras se filtraron alícuotas de 40 ml de cada una de ellas, empleando membranas Durapore de PVDF con tamaño de poro de  $0.22 \mu\text{m}$  (Merck Millipore). Los filtros con los microorganismos se conservaron a  $-80^\circ\text{C}$ .

## 1.6 Equipamiento para irradiación con UV

Los experimentos de radiación se llevaron a cabo usando la cámara de irradiación modelo BS-02 UV/VIS de la empresa Opsytec Dr. Gröbel, cuyo interior tiene un área de  $46 \times 32 \text{ cm}$  y una altura de 29 cm y opera a una temperatura de  $25^\circ\text{C}$ . Puede irradiar tanto con UVC como con UVB, presentando una alta uniformidad en su interior.

## Métodos

### 1.7 Metagenómica funcional

#### 1.7.1 Aislamiento del ADN metagenómico de las muestras de salmueras

El ADN metagenómico de los microorganismos de las salmueras se extrajo a partir de las células retenidas en los filtros conservados a  $-80^{\circ}\text{C}$ . Para ello, en primer lugar, se fragmentaron los filtros y se incubaron a  $65^{\circ}\text{C}$  en presencia de 5 ml de un tampón de lisis (100 mM Tris, 100 mM EDTA, 100 mM  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  (pH 8.6) y 1% de SDS), agitando regularmente con vortex. A continuación, las muestras se centrifugaron a 4500 rpm durante 5 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$ , se recogió el sobrenadante y se le añadió 1.7 ml de NaCl 5M y 1,7 ml de CTAB 10% y se incubaron a  $65^{\circ}\text{C}$  durante 10 minutos agitando regularmente con vortex. Se añadió el mismo volumen de fenol-cloroformo-isoamil-alcohol (25:24:1; PCIA), se mezcló con vortex y se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente. La fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo, se le añadió el mismo volumen de cloroformo y se mezcló con vortex. Se centrifugó a 12,000 rpm durante 15 minutos a temperatura ambiente y la fase acuosa se transfirió a un tubo nuevo. Para precipitar el ADN, se añadió 0.6 volúmenes de isopropanol a cada tubo y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora, tras la cual se centrifugaron a 12,000 rpm durante 20 minutos. El precipitado que se obtuvo se lavó con 1 ml de etanol 70% (vol/vol) y se centrifugó a 12,000 rpm durante 5 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, cuando el precipitado estuvo totalmente seco, se resuspendió en 100  $\mu\text{l}$  de agua Milli-Q estéril.

#### 1.7.2 Construcción de las bibliotecas metagenómicas

Para la construcción de las bibliotecas metagenómicas se siguió el protocolo descrito por González-Pastor y Mirete (González-Pastor and Mirete, 2010). Para ello, el ADN metagenómico se digirió parcialmente usando la enzima *Sau3AI*, para obtener fragmentos de un rango de tamaño entre 1 y 8 kb, que se aislaron mediante electroforesis en gel de agarosa 0.8% de bajo punto de fusión (Pronadisa) en tampón TAE (Tris-acetato de 0,04 M, EDTA 1 mM, pH 8,0). Se escinde con una cuchilla el gel que contiene los fragmentos de ADN y para purificarlos se emplea el kit QIAquick Gel Extraction (Qiagen). Por otra parte, se preparó el vector pBluescript II SK(+) en el que se van a clonar los fragmentos de ADN metagenómico y para ello se digirió con la enzima *BamHI*, que genera extremos compatibles con los de *SauIII*A, se defosforiló empleando fosfatasa alcalina de intestino de ternera (CIAP, Roche) y se inactivó la enzima mediante fenolización. El ADN metagenómico purificado se

mezcló con el vector tratado en una relación molar vector:inserto de 1:1, y para la ligación se empleó la enzima ligasa T4 (Roche), incubando la reacción a 16°C durante al menos 16 h. Posteriormente, se incubó la ligación a 65°C durante 15 minutos para inactivar la ligasa y se empleó para transformar por electroporación células DH10B electrocompetentes (Invitrogen) mediante un electroporador MicroPulser (Bio-Rad) y siguiendo las instrucciones del fabricante. Se añadió 1 ml de medio SOC (Invitrogen, 2% triptófano, 0,5% extracto de levadura, 10 mM NaCl, 2,5 mM KCl, 10mM MgCl<sub>2</sub>, 10mM MgSO<sub>4</sub>, 20 mM glucosa) a las células transformadas, se incubaron durante 1 h a 37°C para su recuperación y se conservaron a -80°C en el mismo medio suplementado con glicerol al 20%.

Para determinar el tamaño medio de los fragmentos de ADN clonados en los vectores de la biblioteca, se aislaron los plásmidos recombinantes de 40 colonias seleccionadas al azar mediante el kit QIAprep Spin Miniprep (Qiagen), y se digirieron con las enzimas de restricción *Xba*I y *Xho*I. Se comprobó mediante electroforesis en gel de agarosa al 0.8% que el tamaño medio de inserto era el adecuado. Para amplificar las bibliotecas, las células transformadas se diluyeron en medio LB con ampicilina 50 mg ml<sup>-1</sup> a una A<sub>600</sub>=0.05 y se incubaron a 37°C con agitación (200 rpm) hasta que el cultivo alcanzo una A<sub>600</sub>=2. Posteriormente, el cultivo se centrifugó a 7500 rpm a 4°C y las células precipitadas se resuspendieron en LB con glicerol al 20% y se conservaron a -80°C hasta su uso.

### 1.7.3 Cribado de las bibliotecas metagenómicas

Se inocularon un total de 15 placas con LB y ampicilina 100 µg ml<sup>-1</sup>. Cinco de ellas con 200 µl de la metagenoteca CR30, otras cinco con 100 µl de las metagenotecas CCAB, en placas con LB y ampicilina 100 µg ml<sup>-1</sup> y las últimas cinco con 100 µl de un cultivo de *E. coli* DH10B para usarlas de control, de esta forma se asegura que la cantidad de células por placa sea similar, alrededor de 10<sup>7</sup> células por placa.

Fueron sometidas a una dosis de 10 W/m<sup>2</sup> de UVB (312 nm). Se eligió esta condición ya que se vio que la cepa control, *E. coli* DH10B con el vector pBluescript II SK(+) no es capaz de crecer. Posteriormente se incubaron las placas a 37°C en ausencia de luz sin agitación. Las colonias que consiguen crecer se las considera resistentes a radiación UV y se recolectan juntas las procedentes de cada biblioteca. Se extrajo el conjunto de vectores de cada biblioteca mediante el kit de Qiagen de extracción de plásmidos (QIAprep Spin Miniprep Kit), y se utilizaron para transformar de nuevo la cepa de *E. coli* DH10B. Por ultimo, se reaislaron 900 clones de cada biblioteca metagenómica en LB-Ap-XGal y se probó la resistencia a radiación UV de cada uno de forma independiente mediante goteo

de diluciones seriadas. Mediante este proceso se eliminan aquellos clones cuya resistencia a radiación UV sea debida a mutaciones en el genoma, por lo que solo crecerán aquellos que porten genes de resistencia en el vector pBIISK+.

#### **1.7.4 Test de resistencia mediante goteo**

Para probar la resistencia de las cepas de *E. coli* DH10B portadores de vectores recombinantes a radiación UV y a los compuestos 4-nitroquinolina 1-óxido (nitroquinolina) (Sigma) y perclorato (Sigma), se crecieron durante 16 h en medio líquido LB-Ap, con agitación a 30°C. Se midieron los valores de  $A_{600}$  de los cultivos, y se diluyeron para ajustarlos todos a un valor de  $A_{600}=1$ . Se realizaron diluciones seriadas con un factor de dilución de 1/10 y/o 1/2 dependiendo del experimento. De cada dilución se inoculan gotas de 10  $\mu$ l en placas con medio agar LB-Ap y se dejan secar. La resistencia a radiación se probó exponiendo las placas a una dosis de 4 W m<sup>-2</sup> de UV-B. Para las pruebas de resistencia a compuestos tóxicos, estos se añadieron al medio agar LB-Ap en las siguientes concentraciones: nitroquinolina a 0,2  $\mu$ M y perclorato sódico a 125  $\mu$ M. Las placas se incubaron a 37°C. Para comprobar que las diferencias en resistencia no eran debidas a variaciones en el número de células viables en el cultivo de cada clon, se realizaron controles en ausencia de radiación UV y de los compuestos tóxicos. Cada experimento se repitió al menos 3 veces.

#### **1.7.5 Secuenciación y análisis *in silico* de los fragmentos de ADN metagenómico que confieren resistencia a UV**

Los fragmentos de ADN ambiental clonados en el vector pBluescript II SK (+) de los clones con resistencia a radiación UVB se secuenciaron en ambas hebras utilizando los cebadores universales M13forward y M13reverse que hibridan en las zonas adyacentes al sitio múltiple de clonaje del pBluescript II SK (+) y con otros cebadores específicos que hibridan en el fragmento de ADN metagenómico clonado (“primer walking”). El ensamblaje de las secuencias y su análisis se realizaron mediante el programa Bioedit. La predicción de los marcos de lectura abiertos (ORF, por las siglas en inglés de Open Reading Frame) se realizaron utilizando los programas ORF Finder y GeneMark, disponibles en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf/gorf.html> y <http://opal.biology.gatech.edu/GeneMark/>. En la predicción se utilizaron para la traducción de las posibles proteínas los codones de inicio ATG y también otros codones alternativos como CTG, GTG y TTG. Para realizar la asignación funcional de los ORFs identificados, las secuencias de aminoácidos traducidas de aquellos con una longitud de más de 90 pb se compararon mediante el programa BlastP

con las secuencias de las bases de datos nr (non-redundant) y se empleó el programa Pfam (Protein families) para identificar la presencia de dominios funcionales previamente caracterizados. Aquellas secuencias con un E value mayor a 0.001 en las búsquedas de BlastP y con una longitud mayor a 300 pares de bases se consideraron como de función desconocida.

#### **1.7.6 Clonaje de los ORFs para identificar aquellos que confieren resistencia a radiación UVB**

Los ORFs que confieren resistencia a radiación UV se identificaron mediante el clonaje de cada ORF individual procedentes de los clones metagenómicos originales introducidos en pBIISK+ usando cebadores específicos.

La amplificación de los ORFs mediante PCR se llevó a cabo mediante la siguiente reacción: 50 ng de ADN plasmídico, 500  $\mu$ M de cada uno de los cuatro dNTPs, 2.5 U de Pfu Ultra ADN polimerasa (Stratagene) y 100 nM de cada pareja de cebadores (forward y reverse), en un volumen final de 50  $\mu$ l. El programa que se usó para la amplificación por PCR fue: 1 ciclo de 5 minutos a 94°C, 30 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 58°C, 10 minutos a 72°C y finalmente 1 ciclo de 10 min a 72°C. Los fragmentos de DNA amplificados por PCR se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa 0.8% y las bandas que se correspondían con el tamaño esperado se aislaron y purificaron del gel mediante el kit de extracción en gel de Qiagen (QIAquick gel extraction kit). Los productos purificados se digirieron con las enzimas de restricción apropiadas y se ligaron al vector pBIISK+ como se describe en el apartado 1.7.2. Para poder incorporar la expresión nativa de las secuencias (promotores y sitios de unión al ribosoma), la amplificación de cada ORF incluyó la región localizada unas 200 pb antes del codón de inicio. Las ligaciones se emplearon para transformar mediante electroporación células de *E. coli* DH10B, seleccionando colonias blancas (recombinantes) resistentes a Ap en medio sólido LB-Ap-XGal. Las colonias obtenidas se reaislaron dos veces y su resistencia a radiación UV-B se probó mediante goteo.

## 1.8 Análisis transcriptómicos

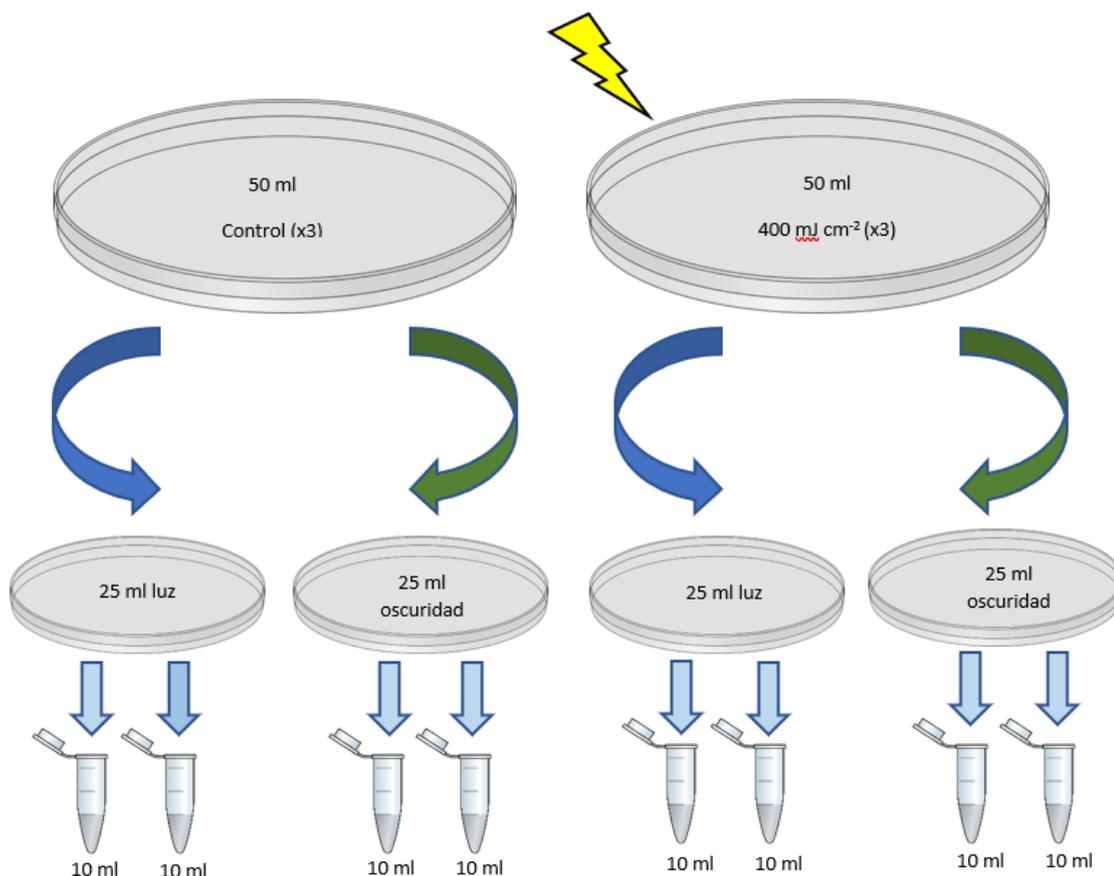
### 1.8.1 Test de radiación UVB

Con el fin de averiguar la intensidad de radiación UVB a utilizar de tal forma que las células sean capaces de adaptarse expresando diferentes mecanismos de protección o de reparación, sin que la viabilidad esté afectada de forma drástica, se realizaron análisis de viabilidad mediante una tinción fluorescente que permite distinguir entre células vivas y muertas, como se describe a continuación. Primero, una vez que el cultivo ha llegado a la densidad óptica deseada, se coge una alícuota de 1 ml y se centrifuga durante 5 minutos a 8000 rpm, tras lo cual, se elimina el sobrenadante y el precipitado que queda se resuspende en 200  $\mu$ l del medio deseado. Se repite el paso anterior dos veces más hasta que en último paso se resuspende el precipitado de células en 200  $\mu$ l de la mezcla de compuestos fluorescentes Live/Dead BacLight dye (Molecular Probes). Se incuban las células a temperatura ambiente durante alrededor de 20 minutos. A continuación se centrifugan y resuspenden en SW 25%, para eliminar la tinción, se vuelven a centrifugar durante 5 minutos a 8000 rpm y el precipitado se vuelve a resuspender en SW 25% para su posterior observación en el microscopio (Leica CTR600) (Figura 8).

El análisis transcriptómico de células tanto de *Sal. ruber* como de *Hqr. walsbyi* expuestas a radiación UVB se llevó a cabo como se describe a continuación. En primer lugar, para *Sal. ruber* se inocularon 6 matraces con 55 ml de medio DMSZ hasta alcanzar una  $A_{600}=0.05$  y se incubaron a 37°C con 150 rpm de agitación en presencia de luz, hasta que llegaron a una  $A_{600}=0.7$ . Se recolectaron 50 ml de cada cultivo que se depositaron en cada una de las 6 placas Petri circulares (150 mm de diámetro x 20 mm de altura) en las que se realizará la exposición a radiación UV. Tres de ellas se expusieron a 400  $\text{mJ cm}^{-2}$  de UVB y las otras tres se usaron como control, y por tanto no recibieron radiación UVB. A continuación, se dividió el contenido de cada placa en otras dos placas de Petri circulares (92 mm de diámetro x 16 mm de altura), 25 ml en cada placa, y una de ellas se cubrió con papel de aluminio. Se incubaron en una cámara con iluminación constante (Fisher, Medcenter™ Climacell Climatic Cabinet) durante 1 hora a 37 °C y el contenido de cada placa (25 ml), se repartió en dos tubos de polipropileno en los que se añadió 10 ml, se centrifugaron durante 25 minutos a 7800 rpm, el sobrenadante fue descartado y las células precipitadas se conservaron a -80°C. Este proceso se hizo con cada una de las tres repeticiones experimentales tanto de los controles como de los cultivos irradiados.

Con *Hqr. walsbyi* se procedió de manera similar con algunas variaciones. Los cultivos se crecieron en medio DBCM2 a 42°C sin agitación y con iluminación constante hasta que alcanzaron

una  $A_{600}=0,2$ . La dosis de radiación UVB utilizada fue de  $800 \text{ mJ cm}^{-2}$  y el experimento se llevó a cabo exclusivamente en presencia de luz.



**Figura 8. Representación esquemática de los experimentos con radiación UVB para los análisis transcriptómicos de *Sal. ruber* y *Hqr. walsbyi*.** La radiación utilizada para *Sal. ruber* fue de  $400 \text{ mJ cm}^{-2}$  mientras que para *Hqr. walsbyi* fue de  $800 \text{ mJ cm}^{-2}$ . Con *Hqr. walsbyi* solo se llevó a cabo el experimento bajo condiciones de luz.

### 1.8.2 Extracción de ARN

Para extraer el ARN total a partir de las células congeladas se empleó el kit RNeasy mini (Qiagen) siguiendo las indicaciones del fabricante, pero utilizando  $\beta$ -mercaptoetanol en el primer paso, de forma que se mezcló  $10 \mu\text{l}$  de este compuesto por cada  $1 \text{ ml}$  de Buffer RLT. Por último, para comprobar el estado y la calidad de las muestras de ARN extraídas, se analizaron mediante el instrumento Bioanalyzer (Agilent). Este instrumento indica la degradación del ARN mediante el valor RIN, ofreciendo un valor del 1 al 10, siendo el 1 lo más degradado y el 10, el ARN intacto. Además, también proporciona valores que nos indica, la concentración y la proporción entre en ARNr 28S y 18S.

### 1.8.3 Análisis bioinformático

Las muestras se enviaron al Servicio de secuenciación masiva de la Fundación Fisabio (Valencia) para su posterior secuenciación y análisis. La secuenciación se llevó a cabo mediante Illumina NextSeq (1x75 pb). Los genomas de referencia, *Sal. ruber DSM 13855* y *Hqr. walsbyi*, se ensamblaron con el software BWA1 (Li, 2013) y cada muestra alineada con su genoma de referencia fue exportada en un archivo bam. El programa Htseqcount se utilizó para asignar cada fragmento con cada genoma de referencia y el Deseq2, para calcular el número de contigs y para el análisis de expresión diferencial basado en la distribución binomial negativa de esta asignación (Love et al., 2014; Anders et al., 2015).

Para anotar cada muestra a las bases de datos KEGGs y EGGNOG se utilizó el programa Diamond blastp (Jensen et al., 2008; Buchfink et al., 2015; Kanehisa et al., 2017) y para anotar cada proteína con la base de datos Pfam se utilizó el programa hmmsearch (Eddy, 2011).

Finalmente, para crear los archivos que contuviesen el análisis funcional de los genes, se utilizó un script de Perl mediante el SqueezeMeta (Tamames and Puente-Sánchez, 2019) que realiza los asignamientos funcionales (COG, KEGG, Pfam) usando los archivos Diamond/hmmer obtenidos previamente, y los resultados se fusionan en un archivo único por muestra.





# RESULTADOS

# 1. Búsqueda de genes involucrados en resistencia a radiación UV en microorganismos halófilos extremos

## 1.1 Construcción y cribado de bibliotecas metagenómicas

Con la finalidad de aislar nuevos genes que confieren resistencia a la radiación UV, se construyeron y cribaron bibliotecas metagenómicas de microorganismos de un ambiente hipersalino altamente expuesto a la radiación, las salinas de “Bras del Port” en Santa Pola (Alicante). Para ello, se extrajo ADN metagenómico de los estanques cristalizadores CR30 y CCAB, con 39% y 30% de salinidad respectivamente. El ADN de cada muestra se digirió parcialmente con enzimas de restricción para obtener fragmentos de diferente tamaño (entre 1 y 10 kpb). Posteriormente se ligó con el vector pBIISK+, para obtener una colección de vectores recombinantes, que se introdujeron en la bacteria huésped *E. coli* DH10B. Finalmente, la biblioteca resultante se amplificó para obtener numerosas copias. Se obtuvieron, aproximadamente, 164,000 y 240,000 clones recombinantes a partir de bibliotecas CR30 y CCAB, respectivamente. El tamaño medio de los insertos de ADN clonados fue de 4 kb para la biblioteca CR30 y de 2 kb para la biblioteca CCAB. Cada biblioteca se amplificó como se describe en métodos.

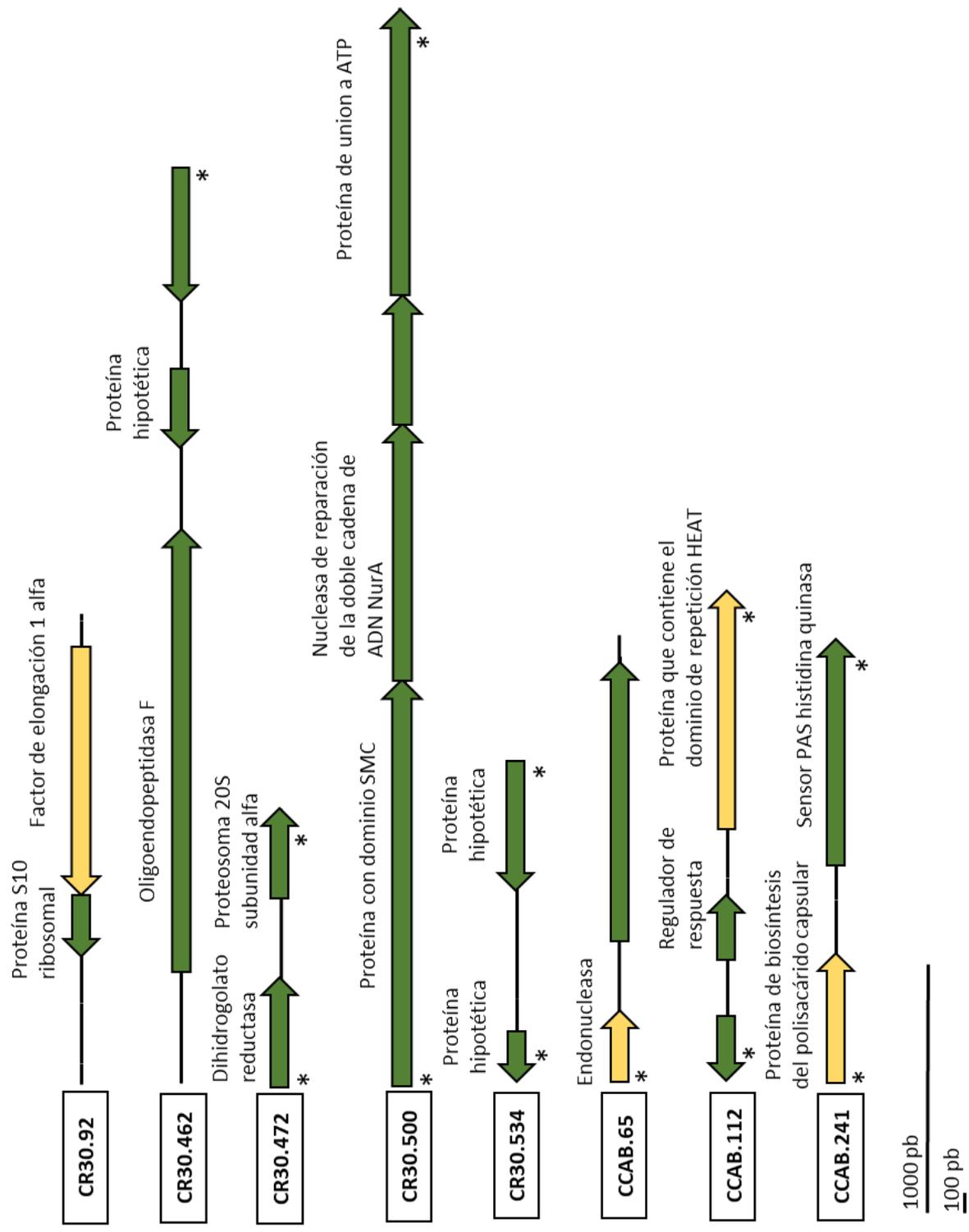
Para identificar clones resistentes a radiación UVB, se sembraron cinco alícuotas de aproximadamente  $10^7$  células de cada biblioteca amplificada en LB-Ap-XGal y se expusieron a una dosis de UV-B de  $10 \text{ mJ cm}^{-2}$ , condición que es letal para la cepa hospedadora *E. coli* DH10B/ pBIISK+. Se obtuvieron un total 326 y 445 clones resistentes de CR30 y CCAB respectivamente. Para excluir aquellos en los que la resistencia a UVB fuese el resultado de mutaciones cromosómicas, las colonias resistentes de cada biblioteca se juntaron y se extrajeron sus plásmidos. Estos plásmidos se usaron para transformar de nuevo la cepa *E. coli* DH10B. Para seleccionar aquellas que contenían un plásmido recombinante responsable de la resistencia a UVB, se aislaron un total de 900 colonias de cada biblioteca en placas de agar LB-Ap-XGal y se probó la resistencia a UVB mediante un test de goteo de cada uno de ellos. Finalmente, se seleccionaron 8 clones que contenían vectores recombinantes con fragmentos de ADN ambiental diferentes. Cinco de ellos proceden de la biblioteca CR30: pCR30.92, pCR30.462, pCR30.472, pCR30.500 y pCR30.534; y los otros 3, a CCAB: pCCAB.65, pCCAB.112 y pCCAB.241.

## 1.2 Identificación de los genes que confieren resistencia a UVB

Los fragmentos de ADN ambiental responsables de conferir resistencia a radiación UVB se secuenciaron mediante el método Sanger por “primer walking”. La longitud de los insertos varió de 1.3 a 4.8 kb y el contenido de G + C de 44% a 61%, lo que indicaba una afiliación filogenética diversa.

Una vez obtenida la secuencia de cada fragmento, se anotaron un total de veinte genes, 11 de ellos truncados. La organización de genes en los insertos, sus similitudes, dominios putativos y las funciones de la familia de proteínas que codifican se resumen en la Figura 9 y la Tabla 5. Trece de los genes obtenidos codificaban para proteínas similares a otras ya conocidas mientras que siete codificaban para proteínas hipotéticas conservadas. Las proteínas codificadas por estos genes eran similares a proteínas de diferentes especies de halófilos extremos como la bacteria *Sal. ruber* y arqueas de la familia *Halobacteriaceae*, principalmente *Hqr. Walsbyi*, y también *Natrosomonas*, *Halorubrum* y *Halovenus*. Para determinar qué genes de cada clon eran responsables del fenotipo de resistencia a la radiación UVB, se subclonaron individualmente en el vector pBIISK+, se expresaron en la cepa DH10B y se analizó su capacidad para conferir resistencia a la radiación UVB mediante test de goteo (Figura 10).

En los clones pCR30.92, pCCAB.65 y pCCAB.241, de los dos genes anotados en cada uno de ellos, solo uno confería resistencia a radiación UVB cuando se expresaba aisladamente. En el caso de pCR30.92, solo la expresión del *orf2*, que codifica una proteína idéntica a la proteína ribosomal S10 de la subunidad 30S de *Hqr. walsbyi* (con una predicción robusta de un dominio de unión al ADN) produjo resistencia, aunque no restauró los niveles de resistencia alcanzados por el fragmento completo (Figura 10). Por lo tanto, es posible que el *orf1*, que codifica un posible factor de elongación de traducción 1-alfa asignado a *Hqr. walsbyi*, también contribuya a la resistencia. Por otro lado, se probó si la sobreexpresión de la proteína S10 (codificada por el gen *rpsJ*) de *E. coli*, que tiene una similitud de 51% (identidad 32%) con la de *Hqr. walsbyi* también pudiera conferir resistencia a radiación UVB. Sin embargo, no confiere este fenotipo (Figura 10), por lo que se puede concluir que específicamente la proteína S10 de *H. walsbyi* confiere resistencia a radiación UVB a *E. coli*, y no se debe simplemente a una mayor concentración de S10 en la célula.

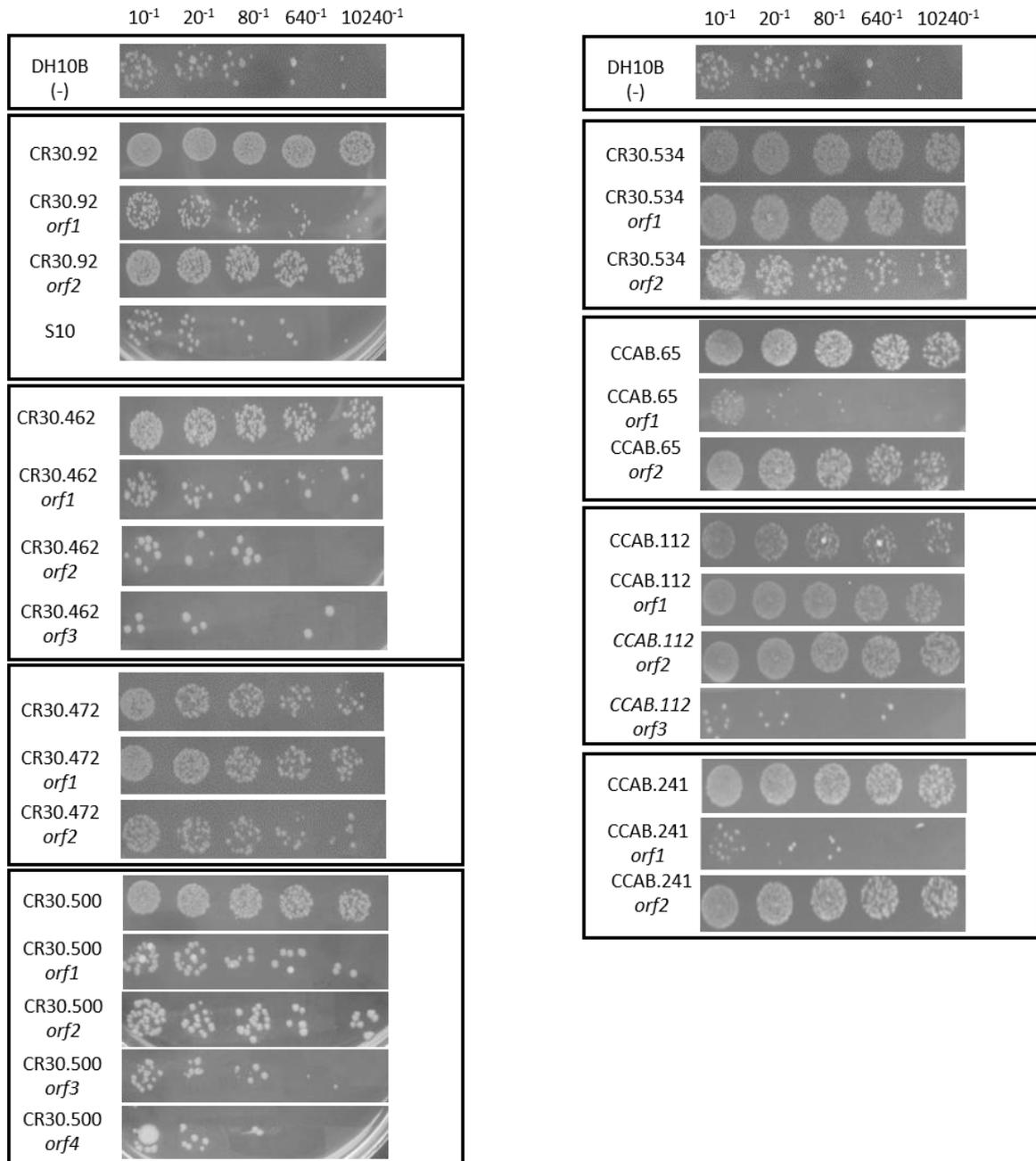


**Figura 9. Organización de los genes identificados en los fragmentos de ADN ambiental que confieren resistencia a radiación UVB.** Las flechas indican la orientación transcripcional de los genes. Los genes implicados en la resistencia a radiación se indican con flechas verdes; las flechas amarillas indican los genes que no contribuyen a la resistencia. Los genes truncados se indican con un asterisco.

En el caso de pCCAB.65, solo la expresión del *orf2*, que codifica para una proteína hipotética conservada, similar a otra de *Natrosomonas* (25% de identidad) y con un dominio de unión a ADN, conseguía restaurar la resistencia a UV que presenta el fragmento de ADN entero. Y lo mismo ocurre con el *orf2* de pCCAB.241, que codifica para una proteína similar a un sensor histidina quinasa con un dominio PAS, asignada de *Haloquadratum sp.*

También se identificaron dos genes en cada uno de los fragmentos pCR30.472 y pCR30.534. En pCR30.472 la expresión del *orf1* aislado, que codifica una proteína idéntica a la enzima dihidrofolato reductasa de *H. walsbyi*, restauró la resistencia producida por todo el fragmento de ADN. Además, la expresión del *orf2* aislado, que codifica una proteína similar (78%) a la subunidad alfa del núcleo 20S del proteosoma 26S de *Hqr. walsbyi*, también confiere resistencia, aunque menor que el *orf1* (Figura 10). De manera similar, los dos genes de pCR30.534, que codifican dos proteínas idénticas a proteínas hipotéticas conservadas de *Sal. ruber*, ambas con una fuerte predicción de dominios de unión al ADN, proporcionaron resistencia a la radiación UVB cuando se sobreexpresaron por separado, mayor en el caso del *orf1*. En el caso de pCCAB.112 ocurre algo similar, presenta tres genes, pero solo dos de ellos proporcionaban resistencia a UV cuando se expresan por separado: el *orf1*, que codifica una proteína truncada muy similar a una proteína hipotética de *Halorubrum ezzemoulense*, y el *orf2*, que codifica una proteína similar a un regulador de respuesta de *Halovenus aranensi*. Cabe señalar que el fragmento de ADN pCCAB.112 completo proporcionó un nivel más bajo de resistencia a la radiación UVB que los *orf1* y *orf2* expresados por separado. Una posibilidad es que la expresión de *orf3* o la combinación de los tres genes tuviera un efecto tóxico para la célula.

Por otro lado, en el caso de pCR30.462 y pCR30.500, se identificaron tres y cuatro genes respectivamente, pero ninguno de ellos, al expresarse de forma independiente, confería resistencia a la radiación UVB, por lo que se concluyó que dos o más genes serían necesarios para este fenotipo. Los genes de pCR30.462 codifican proteínas muy similares a una oligoendopeptidasa F y dos proteínas hipotéticas de *H. walsbyi*, todas con predicciones de dominios de unión al ADN, pero ninguna de ellas previamente relacionada con la resistencia a radiación UV. En el caso de pCR30.500, dos de los cuatro genes codifican proteínas similares a otras que están involucradas en la reparación del daño del ADN: el *orf1*, que codifica una proteína que contiene un dominio SMC, y el *orf2*, que codifica una nucleasa de reparación de la rotura de la doble cadena de ADN (NurA), ambos de *H. walsbyi* y con predicciones de dominios de unión al ADN (Tabla 1). Por otra parte, el *orf3*, codifica una proteína hipotética con un dominio de unión al ADN y el *orf4*, una proteína de unión a ATP, y podrían ser también necesarias para la resistencia.



**Figura 10. Test de resistencia a radiación UVB mediante goteo de los ocho clones completos y los clones que expresan los genes individuales.** Se utilizó la cepa de *E. coli* DH10B pBIISK+ como control negativo. Se inocularon gotas de 10  $\mu$ l de las diluciones seriadas de cada clon en medio sólido LB-Ap y se expusieron a una dosis de 4  $\text{mJ cm}^{-2}$  de radiación UVB, y se incubaron a 37°C durante 24h. Estos experimentos se repitieron tres veces empleando cultivos independientes y proporcionaron resultados similares. En el Anexo, se muestra en la Figura A como control el test de goteo de todos los clones completos y los genes individuales en ausencia de radiación UVB.

En resumen, se han identificado tres grupos de genes implicados en la resistencia a la radiación UV: i) genes que codifican proteínas con funciones conocidas pero no relacionadas previamente con esta resistencia, como los que codifican la proteína ribosómica S10, la enzima dihidrofolato reductasa, la oligoendopeptidasa F, un sensor PAS (histidina quinasa) y un regulador de respuesta; ii) genes que codifican proteínas con funciones relacionadas con la protección frente la radiación UV, como la nucleasa NurA y SMC, posiblemente implicadas en reparación de lesiones en el ADN; y iii) proteínas de función desconocida: una proteína de unión a ATP y siete proteínas hipotéticas que podrían estar involucradas en nuevos mecanismos de resistencia a la radiación UV.

**Tabla 5. Descripción de los fragmentos de ADN metagenómico y de los genes que confieren resistencia a UVB**

a. Los ORFs implicados en la resistencia a radiación UVB se indican entre paréntesis

b. aa, aminoácidos.

c. Cada signo (+) significa una predicción positiva con uno de los tres programas bioinformáticos utilizados para predecir los dominios de unión al ADN descritos en Materiales y métodos.

Plásmidos	Biblioteca	Longitud del inserto (bp)	% GC	ORF <sup>a</sup>	ORFs truncados	Longitud (aa) <sup>b</sup>	Proteína similar más cercana (Microorganismo; número de acceso)	Identidad (E value)	Longitud (aa)	Predicción de dominio de unión al ADN <sup>c</sup>	Posible función
pCR30.92	CR30	2320	48%	1		421	Factor de elongación 1 alfa ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_011572579.1)	98% (0.0)	421	No	Podría servir como una proteína portadora GTPasa tanto para $\alpha$ RF1 como para $\alpha$ Pelota en el ribosoma
				(2)		102	Proteína ribosomal 30S S10 ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_011572578.1)	100% (2e-66)	102	+++	Une el ARNt con el ribosoma y también funciona como factor de elongación transcripcional
pCR30.462	CR30	4050	48%	1		599	Oligoendopeptidasa F ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014555043.1)	100% (0.0)	599	+	Hidroliza péptidos que contienen entre 7 y 17 aminoácidos
				2		130	Proteína hipotética ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_048066626.1)	99.23% (2e-90)	130	++	Desconocida
				3	C-terminal	210	Proteína hipotética ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_048066905.1)	99.53% (2e-147)	238	+	Desconocida
pCR30.472	CR30	1280	48%	(1)	N-terminal	184	Dihidrofolato reductasa ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014556168.1)	100% (1e-131)	199	None	Enzima que reduce el ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico, necesario para producir purinas
				2	C-terminal	155	Subunidad alfa del proteosoma 20S ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; ERG92296.1)	78% (8e-37)	245	+	Implicado en una vía proteolítica no lisosomal dependiente de ATP / ubiquitina.

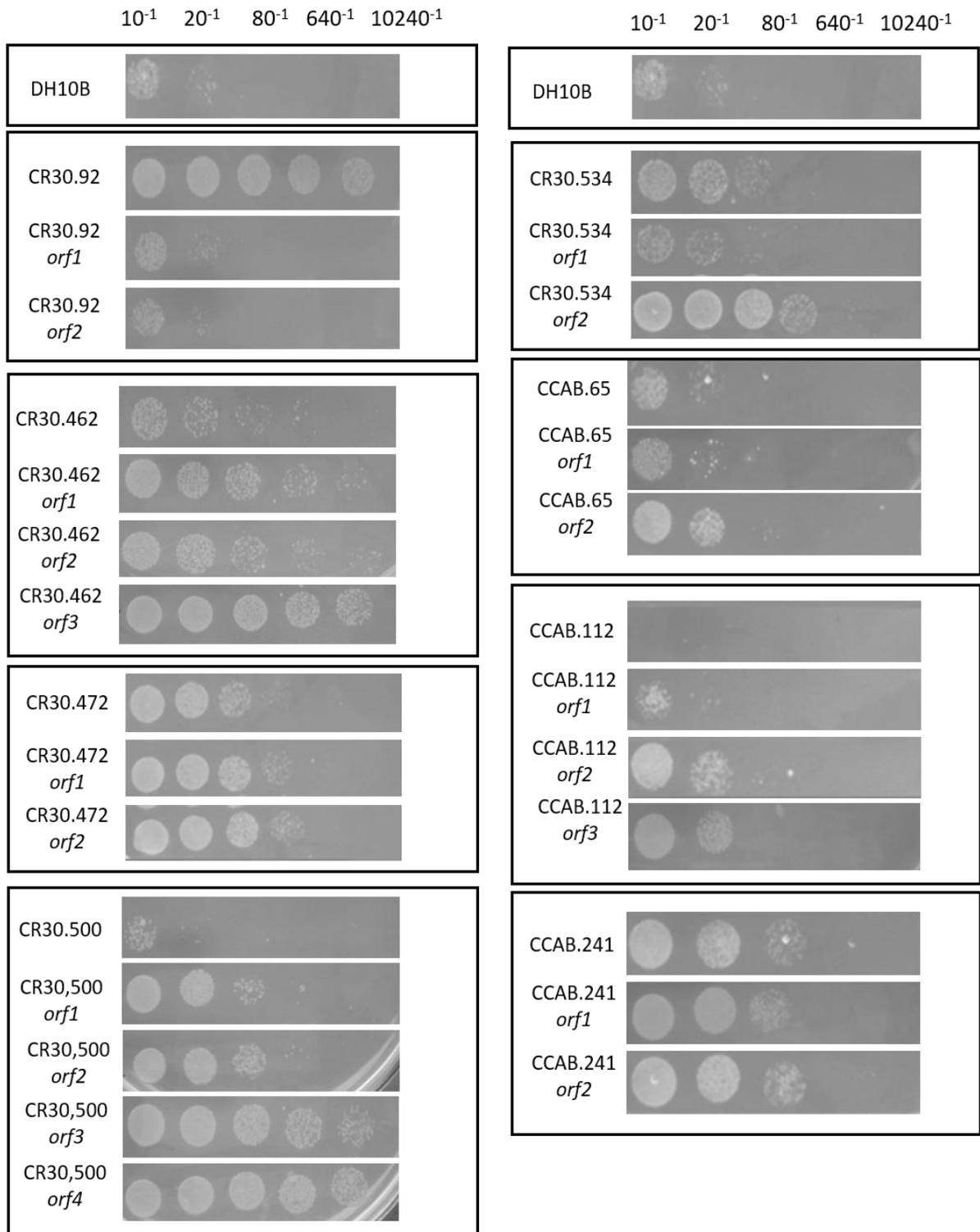
pCR30.500	CR30	4827	51%	1	N-terminal	524	Proteína con el dominio SMC [ <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014555879.1]	100% (0.0)	905	++	Transacciones cromosómicas, incluida la condensación de cromosomas, la cohesión de cromátidas hermanas, la recombinación, la reparación del ADN y el silenciamiento epigenético de la expresión génica
				2		403	Nucleasa NurA [ <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014555880.1]	99.50% (0.0)	403	+	Actúa junto con HerA en estimular la resección de la hebra de 5' y producir la hebra única larga de 3' que se requiere para la carga de RadA
				3		208	Proteína hipotética [ <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014555881.1]	99.04% (2e-148)	208	+	Desconocida
				4	C-terminal	462	Proteína de unión a ATP [ <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014555882.1]	99.35% (0.0)	537	None	Desconocida
pCR30.534	CR30	1375	61%	(1)		203	Proteína hipotética ( <i>Salinibacter ruber</i> ; WP_118827536.1)	100% (4e-137)	295	+++	Desconocida
				(2)	N-terminal	95	Proteína hipotética ( <i>Salinibacter ruber</i> ; WP_011405567.1)	100% (3e-61)	165	++	Desconocida
pCCAB.65	CCAB	2310	51%	1	N-terminal	119	Endonucleasa ( <i>Halobacterium sp.</i> CBA1132; WP_082678884.1)	92% (6e-76)	320	++	Enzimas que rompen el enlace fosfodiéster dentro de una cadena de polinucleótidos
				(2)		381	Proteína hipotética ( <i>Natronomonas sp.</i> CBA1134; WP_075936853.1)	25% (4e-15)	378	++	Desconocida
pCCAB.112	CCAB	2482	51%	(1)	C-terminal	115	Proteína hipotética DJ79_14310 ( <i>Halorubrum ezzemoulense</i> ; OYR65779.1)	86% (5e-54)	640	None	Desconocida

				(2)		112	Regulador de respuesta ( <i>Halovenus aranensis</i> ; WP_092699465.1)	89% (6e-54)	112	+	Sensores de cambios ambientales
				3	C-terminal	317	Proteína que contiene el dominio repetido HEAT ( <i>Halovenus aranensis</i> ; WP_092698936.1)	83% (0.0)	362	+++	Procesos de transporte intracelular
pCCAB.241	CCAB	2254	44%	1	C-terminal	206	Proteína de biosíntesis del polisacárido de la capsula ( <i>Haloquadratum walsbyi</i> ; WP_014555022.1)	99% (7e-138)	403	+	Parte de un complejo que dirige la polimerización coordinada y la exportación a la superficie celular del polisacárido capsular.
				(2)	C-terminal	320	Sensor PAS de la histidina quinasa ( <i>Haloquadratum sp.</i> J07HQX50; ERG97675.1)	99% (0.0)	727	None	Sensores de cambios ambientales

### 1.3 Efecto de los genes resistentes a UVB bajo otras condiciones de estrés

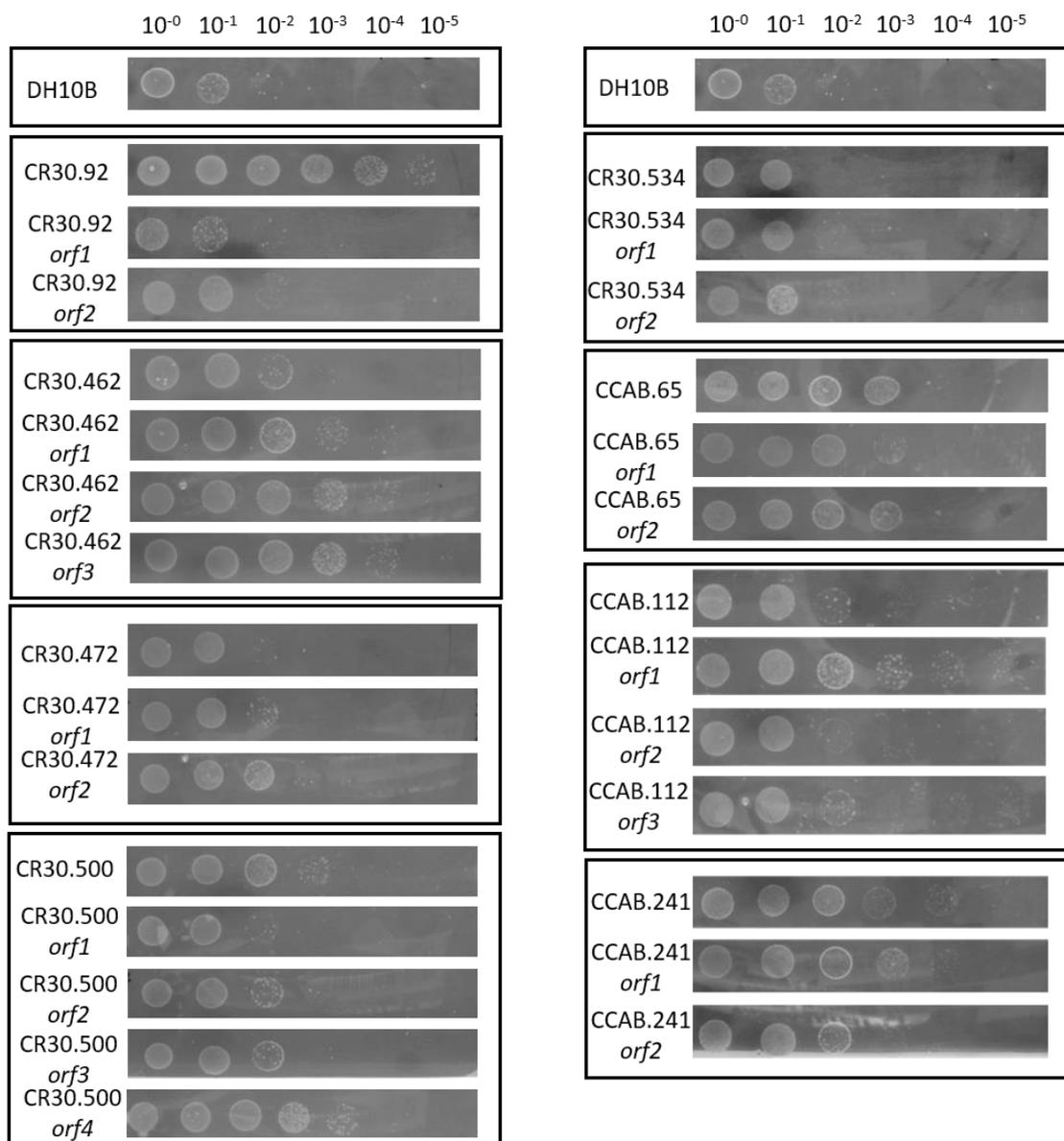
Con el fin de averiguar si el mecanismo de acción de los genes resistentes a UVB en *E. coli* está relacionado con la protección o reparación del daño en el ADN, se expusieron al compuesto químico 4-NQO, que imita los efectos de la radiación UVB en el ADN, tanto los clones completos como los genes expresados individualmente. Los cultivos de DH10B que portan los plásmidos recombinantes se sometieron a un test de resistencia por goteo en medio sólido con 4-NQO (0.2  $\mu$ M) (Figura 11, Tabla 6). El clon completo que mostró más resistencia a 4-NQO fue el pCR30.92, pero no sus dos genes clonados individualmente. Los clones completos pCR30.462, pCR30.472 y pCR30.534 también presentaron resistencia, aunque más reducida. Sin embargo, los genes individuales de pCR30.462, eran más resistentes a 4-NQO que el clon completo y, además, se detectaron dominios de unión a ADN en las proteínas hipotéticas conservadas que codifican (*orf2* y *orf3*). Además, el gen pCR30.534 *orf2* también confiere resistencia a 4-NQO, codifica una proteína hipotética conservada y también presenta dominios de unión al ADN.

Por otra parte, los clones con los fragmentos ambientales completos pCR30.500, pCCAB.65 y pCCAB.112 no mostraron resistencia a 4-NQO. Sorprendentemente, los cuatro genes clonados individualmente de pCR30.500, que apenas conferían resistencia a radiación UVB, mostraron un nivel elevado de resistencia a 4-NQO a diferencia del clon completo. Dos de ellos codifican proteínas similares a otras relacionadas con la reparación del daño del ADN, la nucleasa NurA y la proteína que contiene el dominio SMC y, como era de esperar, se detectaron en ellas la presencia de dominios de unión al ADN (Tablas 5 y 6), lo que sugiere que el mecanismo de acción de dichos genes estaría relacionado con la protección o reparación del ADN. En el caso de pCCAB.65 y pCCAB.112, solo algunos de sus genes clonados individualmente conferían resistencia a 4-NQO, aunque muy reducida.

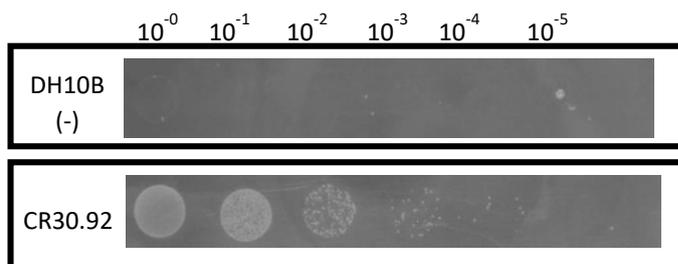


**Figura 11. Test de resistencia a 4-NQO mediante goteo de los ocho clones completos y de clones que expresan los genes individuales.** Se utilizó la cepa de *E. coli* DH10B pBIISK+ como control negativo. Se inocularon gotas de 10  $\mu$ l de las diluciones seriadas de cada clon en medio sólido LB-Ap con 0.2  $\mu$ M de 4-NQO, y se incubaron a 37°C durante 24h. Estos experimentos se repitieron tres veces empleando cultivos independientes y proporcionaron resultados similares. En el Anexo, se muestra en la Figura A como control el test de goteo de todos los clones completos y los genes individuales en ausencia de tratamiento.

También se analizó la resistencia de los clones completos y sus genes individuales al compuesto oxidante perclorato, ya que es capaz de inducir estrés oxidativo y daño al ADN (Yu et al., 2019; Díaz-Rullo et al., 2021). Se realizó un test de resistencia por goteo de todos los clones en medio sólido con perclorato sódico (125 mM) (Figura 12, Tabla 6). Se observó que los clones completos pCR30.92, pCR30.500, pCCAB.65 y pCCAB.241 confieren mayor resistencia al perclorato que el control. El clon CR30.92 es el que mayor resistencia presenta, y se decidió exponerlo a simultáneamente a perclorato y a radiación UV-B, ya que se demostró que la combinación de ambos tenía un efecto bactericida fuerte (Wadsworth and Cockell, 2017). En este caso, el nivel de resistencia disminuye, pero era aún elevado en comparación con el control (Figura 13). Los clones pCR30.462, pCR30.472, pCR30.534 y pCCAB.112 muestran una leve resistencia al perclorato cuando se comparan con el control, pero algunos de sus genes clonados individualmente proporcionaron más resistencia que el fragmento ambiental completo, como pCR30.462 *orf1*, *orf2* y *orf3*, pCR30.472 *orf2*, y pCCAB.112 *orf1*. De estos, remarcar que los 3 genes del clon pCR30.462 y el pCR30.472 *orf2* producen también resistencia a nitroquinolina y presentan dominios de unión a ADN (Tabla 6).



**Figura 12. Test de resistencia a perclorato mediante goteo de los ocho clones completos y de los clones que expresan los genes individuales.** Se utilizó la cepa de *E. coli* DH10B pBIISK+ como control negativo. Se inocularon gotas de 10  $\mu$ l de las diluciones seriadas de cada clon en medio sólido LB-Ap con 125  $\mu$ M de perclorato, y se incubaron a 37°C durante 24h. Estos experimentos se repitieron tres veces empleando cultivos independientes y proporcionaron resultados similares. En el Anexo, se muestra en la Figura A como control el test de goteo de todos los clones completos y los genes individuales en ausencia de tratamiento.



**Figura 13. Test de resistencia a perclorato y radiación UVB mediante goteo del clon pCR30.92.** Se utilizó la cepa de *E.coli* DH10B pBIISK+ como control negativo. Se inocularon gotas de 10  $\mu$ l de las diluciones seriadas de cada clon en medio sólido LB-Ap con 125  $\mu$ M de 4-NQO, se expusieron a una dosis de 4  $\text{mJ}/\text{cm}^{-2}$  de UVB y se incubaron a 37°C durante 24h. Estos experimentos se repitieron tres veces empleando cultivos independientes y proporcionaron resultados similares.

**Tabla 6. Resumen de la resistencia de cada clon completo y los que contienen los genes individuales a las diferentes condiciones analizadas: radiación UVB, 4-NQO y perclorato sódico ( $\text{NaClO}_4$ ).** (+) Indica resistencia, (-) indica que no hay resistencia, y (+/-) indica leve resistencia en comparación con el control.

PLÁSMIDO	PROTEÍNA CODIFICADA	UVB	4-NQO	$\text{NaClO}_4$	PREDICCIÓN DE UNIÓN A ADN
<b>PCR30.92</b>		+	+	+	
<b>PCR30.92 ORF1</b>	Factor de elongación 1 alfa	-	-	-	-
<b>PCR30.92 ORF2</b>	Proteína S10 ribosomal	+	-	+	+
<b>PCR30.462</b>		+	-	+/-	
<b>PCR30.462 ORF1</b>	Oligoendopeptidasa F	-	+	+	+
<b>PCR30.462 ORF2</b>	Proteína hipotética	-	+	+	+
<b>PCR30.462 ORF3</b>	Proteína hipotética	-	+	+	+
<b>PCR30.472</b>		+	+	+/-	
<b>PCR30.472 ORF1</b>	Dihidrofolato reductasa	+	+	+/-	-
<b>PCR30.472 ORF2</b>	Subunidad alfa del proteosoma 20S	+/-	+	+	+
<b>PCR30.500</b>		+	-	+	
<b>PCR30.500 ORF1</b>	Proteína con el dominio SMC	-	+	+/-	+
<b>PCR30.500 ORF2</b>	Nucleasa NurA	-	+	+	+
<b>PCR30.500 ORF3</b>	Proteína hipotética	-	+	+	+
<b>PCR30.500 ORF4</b>	Proteína de unión a ATP	-	+	+	-

<b>PCR30.534</b>		+	+	+/-	
<b>PCR30.534 ORF1</b>	Proteína hipotética	+	-	+/-	+
<b>PCR30.534 ORF2</b>	Proteína hipotética	+	+	+/-	+
<b>PCCAB.65</b>		+	-	+	
<b>PCCAB.65 ORF1</b>	Endonucleasa	-	-	+	+
<b>PCCAB.65 ORF2</b>	Proteína hipotética	+	+	+	+
<b>PCCAB.112</b>		+	-	+/-	
<b>PCCAB.112 ORF1</b>	Proteína hipotética	+	-	+	-
<b>PCCAB.112 ORF2</b>	Regulador de respuesta	+	+	+/-	+
<b>PCCAB.112 ORF3</b>	Proteína que contiene el dominio repetido HEAT	-	+	+/-	+
<b>PCCAB.241</b>		+	+	+	
<b>PCCAB.241 ORF1</b>	Proteína de biosíntesis del polisacárido de la capsula	-	+	+	+
<b>PCCAB.241 ORF2</b>	Sensor PAS de la histidina quinasa	+	+	+	-

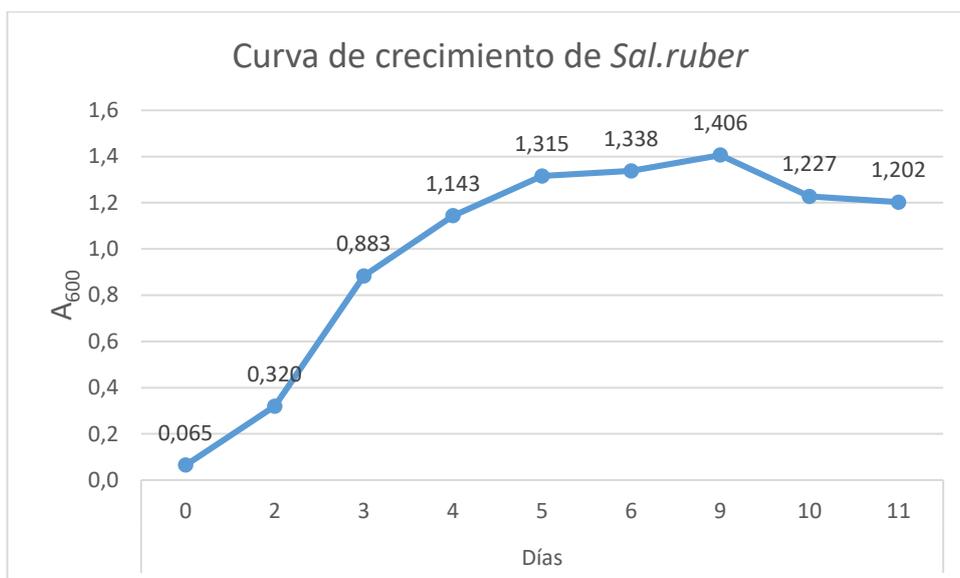
## 2. Análisis transcripcional del efecto de la radiación UVB en *Salinibacter ruber* y *Haloquadratum walsbyi*

### 2.1 Determinación de la dosis subletal de radiación UVB para realizar los experimentos de transcriptómica en *Sal. ruber* y *Hqr. walsbyi*

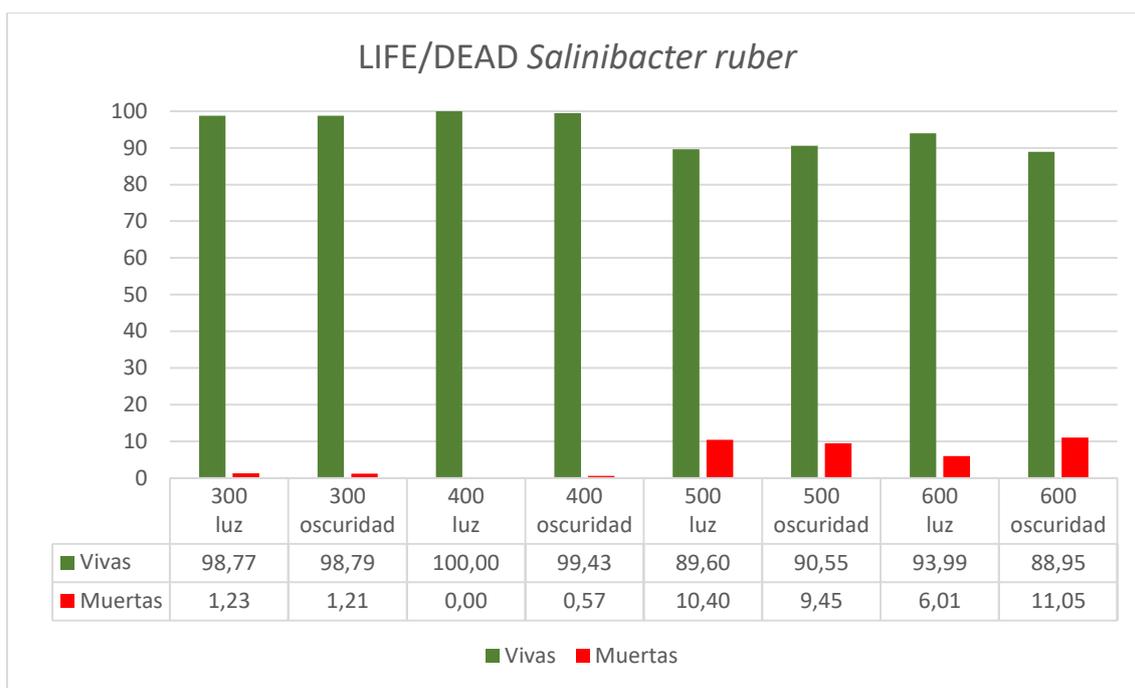
Con el fin de investigar los efectos de la radiación UVB en los dos microorganismos halófilos extremos más abundantes en las salinas estudiadas en este trabajo, se analizaron los cambios producidos en los perfiles transcripcionales de sus genes por la exposición a condiciones subletales de radiación UVB. En primer lugar, para determinar la dosis de radiación apropiada se analizó la viabilidad de las células de estos microorganismos en cultivos de laboratorio, después de ser expuestas a diferentes dosis, mediante microscopía de fluorescencia empleando la tinción fluorescente LIVE/DEAD® BacLight™ (Molecular Probes), que permite distinguir entre células vivas (fluorescencia verde) y muertas (fluorescencia roja).

*Sal. ruber* se cultivó en medio DSMZ líquido hasta que alcanzó una densidad celular próxima a la fase estacionaria ( $A_{600}=1$ ) (Figura 14). A continuación las células se expusieron a

diferentes dosis de radiación UVB entre  $300 \text{ mJ cm}^{-2}$  y  $600 \text{ mJ cm}^{-2}$ , se dejaron recuperar durante una hora en presencia de luz o en oscuridad y se cuantificaron las células vivas y muertas (Figura 15). Para realizar los experimentos de transcriptómica con *Sal. ruber* se decidió emplear una dosis de radiación de  $400 \text{ mJ cm}^{-2}$ , la dosis más elevada en la que el porcentaje de células muertas aún era muy bajo. A dosis de radiación mayores el porcentaje de células muertas se incrementó, llegando al 11.05%.

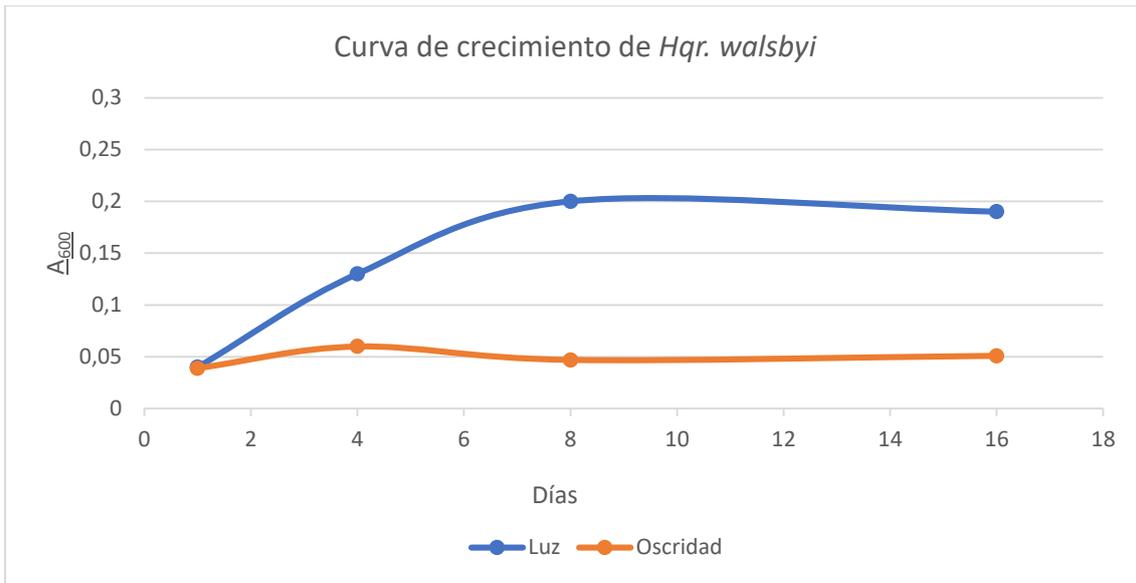


**Figura 14. Curva de crecimiento de *Sal. ruber*.** En el eje X se representa el tiempo en días en los que se recogen muestras del cultivo, en el eje Y, la medida de turbidez de los cultivos, absorbancia a 600 nm ( $A_{600}$ )

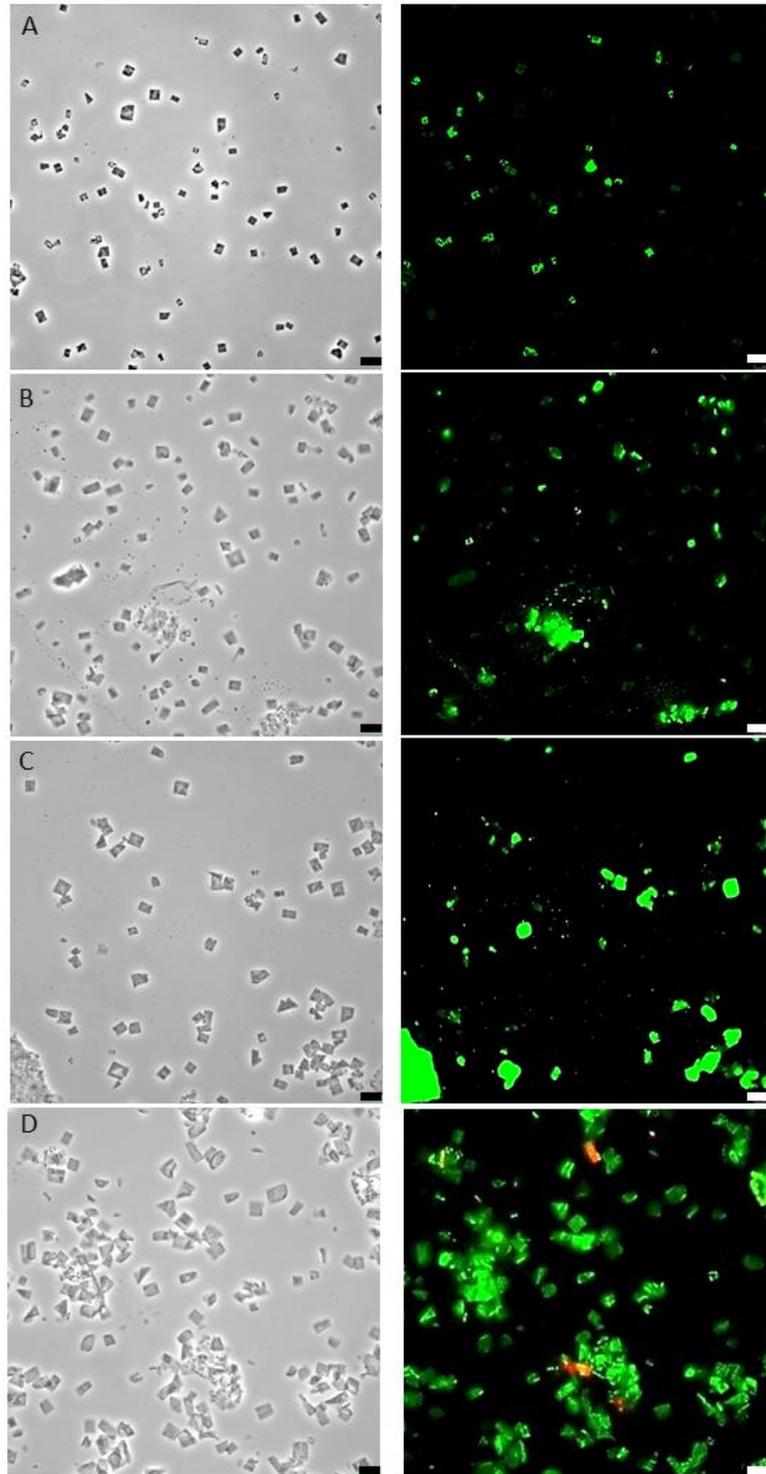


**Figura 15. Porcentaje de células vivas y muertas en cultivos de *Sal. ruber* expuestos a distintas dosis de radiación UVB.** En el eje vertical se representa el porcentaje células vivas (fluorescencia verde) o muertas (fluorescencia roja). En el eje horizontal se indica las diferentes dosis de radiación utilizada ( $\text{mJ cm}^{-2}$ ) y si la recuperación posterior se realizó en luz o en oscuridad. Se contaron aproximadamente 300 células por experimento.

Para realizar los experimentos con la arquea *Hqr. walsbyi*, en primer lugar, se intentó optimizar el método de cultivo, ya que su crecimiento era muy lento en las condiciones previamente descritas, medio DBCM2 a  $42^{\circ}\text{C}$  sin agitación (Dyall-Smith, 2015) [tras un mes desde la inoculación del cultivo la densidad celular seguía siendo muy baja ( $A_{600} = 0.05$ )]. Para ello, se incorporó la exposición a luz constante durante la incubación. En estas condiciones, los cultivos de *Hqr. walsbyi* crecían con mayor velocidad y alcanzaban una mayor densidad, en comparación con cultivos crecidos en oscuridad (a los ocho días, en presencia de luz llegaron a una  $A_{600} = 0.2$  y en oscuridad a una  $A_{600} = 0.05$ ) (Figura 16). Además, mediante microscopía se analizó la morfología y viabilidad (tinción LIVE/DEAD® BacLight™) de las células en diferentes puntos de crecimiento y se comprobó que la exposición a luz constante no producía ninguna alteración aparente en las células de *Hqr. walsbyi* ni afectaba a la viabilidad del cultivo (Figura 17).

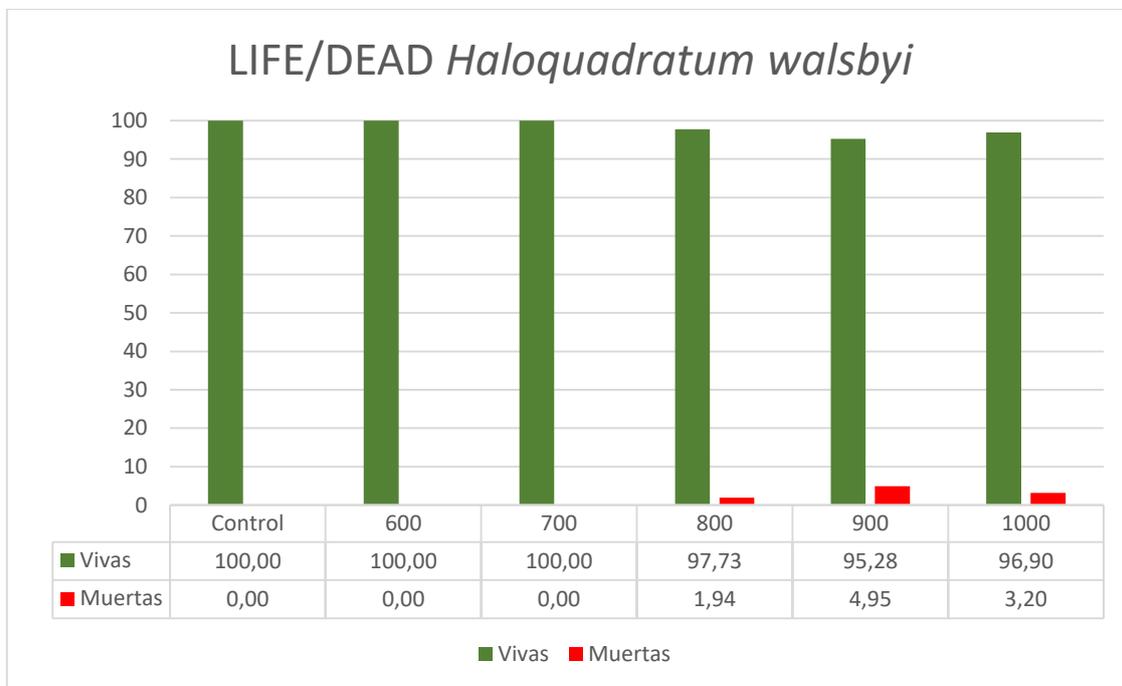


**Figura 16. Curva de crecimiento de *Hqr. walsbyi* en condiciones de luz u oscuridad constantes.** En el eje X se representan los días en los que se recogen muestras del cultivo, en el eje Y, la medida de turbidez de los cultivos, absorbancia a 600 nm ( $A_{600}$ ). Se observa que en presencia de luz constante *Hqr. walsbyi* es capaz de crecer más rápido.



**Figura 17. Imágenes de microscopía de fluorescencia de células de *Hqr. walsbyi* de un cultivo en diferentes tiempos de crecimiento en presencia de luz constante.** *Hqr. walsbyi* se creció en medio DBCM2 a 42°C sin agitación y en presencia de luz constante y se marcaron las células con la tinción fluorescente LIVE/DEAD® BacLight™ para evaluar la viabilidad durante el crecimiento en estas condiciones de cultivo. En la columna de la izquierda se muestran las imágenes de contraste de fases con diferentes  $A_{600}$  (A=0.13; B=0.17; C=0.26; D=0.3); en la de la derecha, se muestran imágenes de fluorescencia, composición de las imágenes de fluorescencia verde (células vivas) y roja (células muertas). Las barras representan 8  $\mu\text{m}$ .

Según la curva de crecimiento en estas condiciones de cultivo, *Hqr. walsbyi* entra en fase estacionaria a una  $A_{600}$  entre 0.17-0.19 y se seleccionó este punto para realizar las pruebas de viabilidad a diferentes dosis de radiación UVB e identificar la dosis subletal apropiada para esta arquea. Puesto que *Hqr. walsbyi* es una arquea muy resistente a diferentes tipos de estrés, se decidió probar un rango de dosis entre  $600 \text{ mJ cm}^{-2}$  y  $1000 \text{ mJ cm}^{-2}$  y después de la irradiación se dejaron recuperar las células durante una hora en las mismas condiciones de cultivo, es decir, solo en presencia de luz. De la misma forma que con *Sal. ruber*, se evaluó la viabilidad de estos microorganismos mediante microscopía de fluorescencia empleando la tinción LIVE/DEAD® BacLight™ (Molecular Probes) (Figura 18).



**Figura 18. Porcentaje de células vivas y muertas de cultivos de *Hqr. walsbyi* expuestos a distintas dosis de radiación UVB.** En el eje vertical se representa el porcentaje células vivas (fluorescencia verde) o muertas (fluorescencia roja). En el eje horizontal se indica las diferentes dosis de radiación utilizada ( $\text{mJ cm}^{-2}$ ). En todos los casos, a excepción de las células irradiadas con  $1000 \text{ mJ/cm}^{-2}$ , el porcentaje de células teñidas es menor de 50%, lo que nos indica la dificultad con la que se teñen las células de *Hqr. walsbyi*. Se contaron aproximadamente entre 200 y 300 células por experimento.

Considerando los resultados obtenidos de estos experimentos, se seleccionó la dosis de  $800 \text{ mJ cm}^{-2}$  para realizar los experimentos de transcriptómica con *Hqr. walsbyi*, que es la dosis más elevada en la que el porcentaje de células muertas aún era muy bajo (1.94%).

Una vez realizada la exposición de las células de tres cultivos independientes de *Sal. ruber* y de *Hqr. walsbyi* a las dosis subletales de radiación UV, se dejaron recuperar durante una hora en presencia de luz y oscuridad los de *Sal. ruber* y solo en presencia de luz los de *Hqr. walsbyi*, se centrifugaron las células, se aisló el ARN y se secuenció mediante Illumina HiSeq después de ser convertido en ADNc. Como control se emplearon tres cultivos independientes de los dos microorganismos que no fueron expuestos a radiación, pero que se trataron de la misma forma.

## **2.2 Estudio de los genes de *Sal. ruber* y *Hqr. walsbyi* con expresión diferencial después del tratamiento con radiación UVB.**

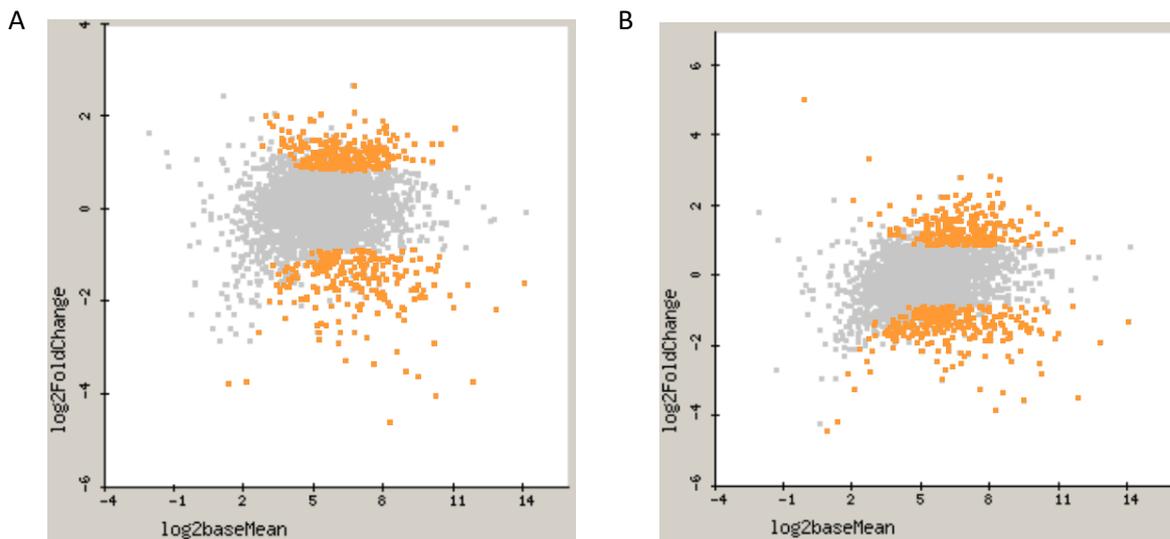
Con el fin de investigar los cambios producidos en los perfiles transcripcionales de ambos microorganismos debido a la exposición a condiciones subletales de radiación UVB, se comparó el número normalizado de lecturas de ARN en cada gen entre las células expuestas a radiación UVB y las no expuestas (control). Se aplicó un análisis estadístico a los datos obtenidos para identificar los genes que tenían una expresión diferencial significativa, y se seleccionaron aquellos con una proporción (Fold change)  $> 1.8$  o  $< -1.8$  y un *p-value* menor o igual a 0.05.

Para comparar los resultados de los diferentes experimentos y comprender los cambios globales en los procesos celulares que se estaban produciendo por efecto de la radiación, se anotaron funcionalmente los genes de estos microorganismos empleando la base COG (Clusters of Orthologous Genes). Esta anotación permitió la clasificación de los genes con expresión diferencial significativa en categorías funcionales COG más generales y la cuantificación (porcentaje) de los genes inducidos o reprimidos respecto al total de genes de cada categoría.

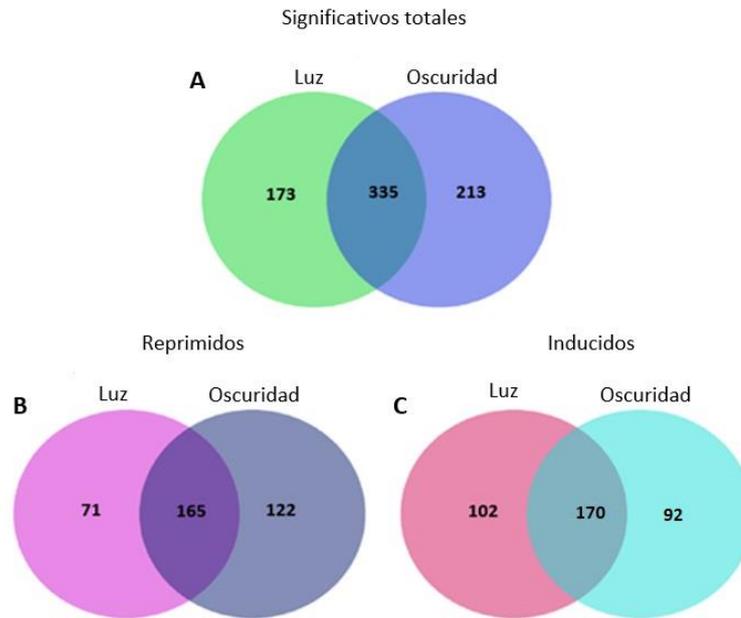
En *Sal. ruber* se quiso comprobar si existía una respuesta diferente a la exposición a UVB en función de si la recuperación se llevaba a cabo en luz o en ausencia de ella. Estudios previos (no publicados) de nuestro laboratorio han demostrado que esta bacteria presenta mayor actividad transcripcional y crecimiento en condiciones de oscuridad que en presencia de luz. En el caso de *Hqr. walsbyi* se decidió estudiar la respuesta a radiación UVB sólo en presencia de luz, la condición en la que se observó un mejor crecimiento, ya que en condiciones de oscuridad el crecimiento era muy lento.

### 2.3 Efecto de la radiación UVB en el perfil transcripcional de *Sal. ruber*

En los análisis de los transcriptomas tras el experimento de radiación UVB en *Sal. ruber*, de un total de 2977 genes anotados de esta bacteria, 508 de ellos (17%) presentaron una expresión diferencial significativa cuando las células se recuperaron en presencia de luz, mientras que 548 (18.4%) presentaron expresión diferencial cuando se recuperaron en oscuridad (representación de los resultados en MA-plots en la Figura 19). De esos genes, 335 eran comunes, con independencia de la presencia o ausencia de luz (Figura 20, A). El número de genes inducidos fue de 272 en presencia de luz y de 261 en oscuridad, y el de reprimidos fue de 236 en luz y de 287 en oscuridad. En ambos casos, el número de genes que coinciden entre recuperación en luz y en oscuridad es similar, 165 y 170 respectivamente (Figura 20, B y C). Tras estos resultados, no se puede confirmar que haya grandes diferencias en el número de genes inducidos comparando ambos experimentos. Sólo al analizar el total de genes reprimidos podemos ver diferencias que podría llegar a ser significativas ya que, tras la recuperación en luz se están reprimiendo un total de 236 genes mientras que, en oscuridad, el número es de 287.

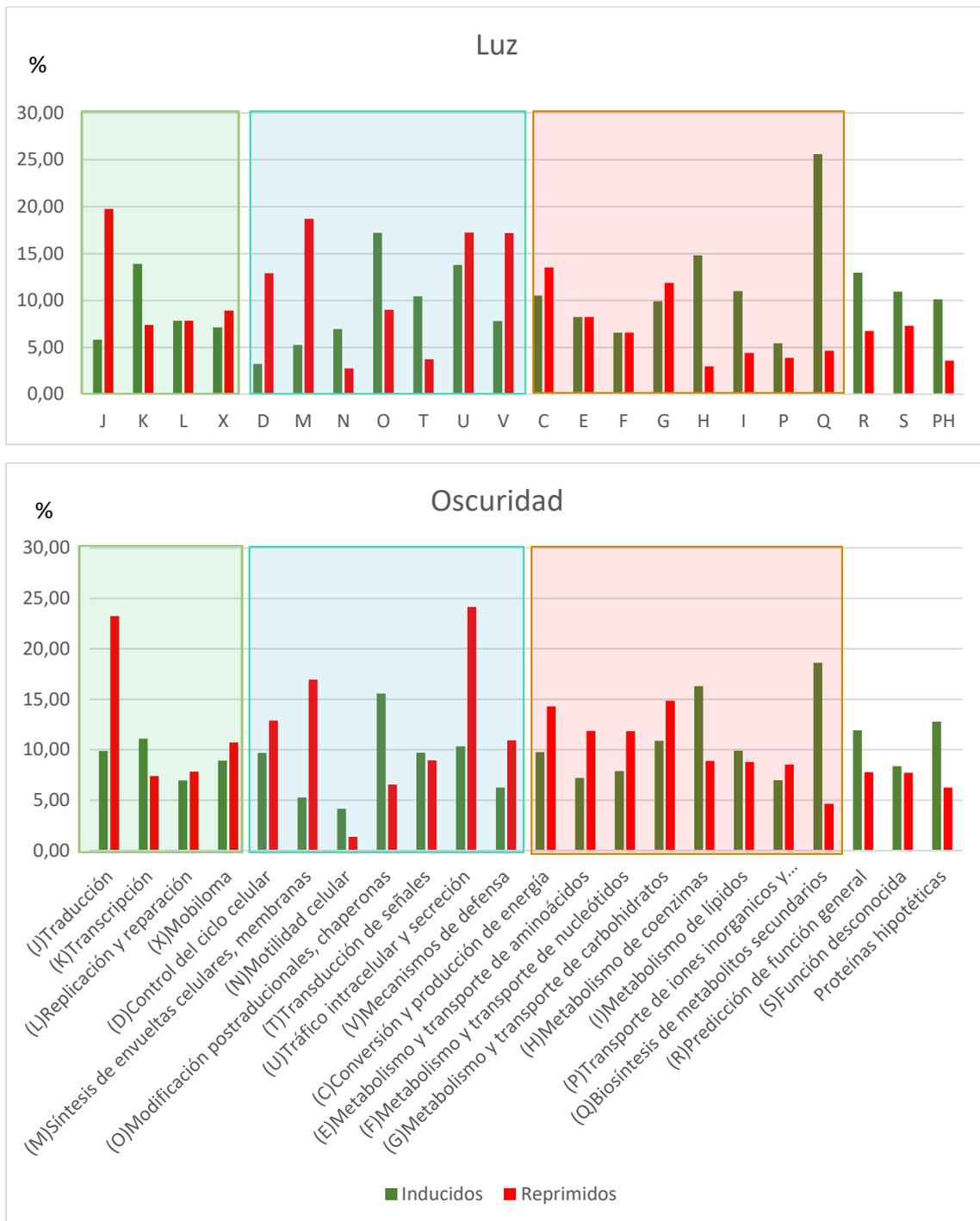


**Figura 19. Representación de los cambios de expresión génica de *Sal. ruber* tras la irradiación con UVB.** Gráfico MA (MA-plot) donde el eje X representa el logaritmo de la media del recuento normalizado lecturas de cada gen; en el eje Y se representa el logaritmo en base 2 del FoldChange. Aquellos que presentan un valor en el eje Y  $> 0.84$  o  $< -0.84$  (equivalente a valores de Fold Change  $> 1.8$  o  $< -1.8$  respectivamente) y un p-value menor o igual a 0.05 se inducen o reprimen de forma significativa y aparecen representados en color naranja. A: Recuperación en presencia de luz; B: Recuperación en oscuridad.



**Figura 20. Representación mediante diagramas de Venn del número de genes con expresión diferencial significativa en los experimentos de irradiación de *Sal. ruber* con UVB tras la recuperación en presencia de luz o en oscuridad.** A: Número de genes con expresión diferencial significativa; B: número de genes reprimidos; C: número de genes inducidos.

Al comparar los grupos de COGs (Figura 21), las diferencias más destacables entre la recuperación en luz y en oscuridad las encontramos en aquellos relacionados con el ciclo celular (D) y el tráfico intracelular (U). Además, de forma global, se observa en oscuridad un mayor porcentaje de genes reprimidos relacionados con varios metabolismos (como el de aminoácidos, nucleótidos, carbohidratos, coenzimas y lípidos), y también una leve mayor represión en el transporte de iones inorgánicos. Dentro del grupo de ciclo celular (D), en el experimento de recuperación en luz, se observó la represión de genes que codifican proteínas relacionadas con la división celular, como FtsQ, FtsW y FtsZ (Anexo, Tabla A). En el experimento de recuperación en oscuridad también aparecen reprimidos los genes que codifican FtsQ y FtsW, sin embargo, se inducen más genes que en luz, como por ejemplo un gen posiblemente relacionado con el mantenimiento de la forma celular y otro que codifica para una proteína perteneciente a la familia Mrp/NBP35, que participa en la biogénesis del clúster Fe-S, relacionado con la división celular (Pardoux et al., 2019). El grupo de tráfico intracelular y señalización (U) presenta un mayor número de genes reprimidos en ambos experimentos, pero en oscuridad el porcentaje es mayor, apareciendo de forma exclusiva la proteína con el dominio TamB y la peptidasa de señal I (Anexo, Tabla A), la cual tiene un papel fundamental en la traslocación de preproteínas del interior al exterior de la célula (Auclair et al., 2012).

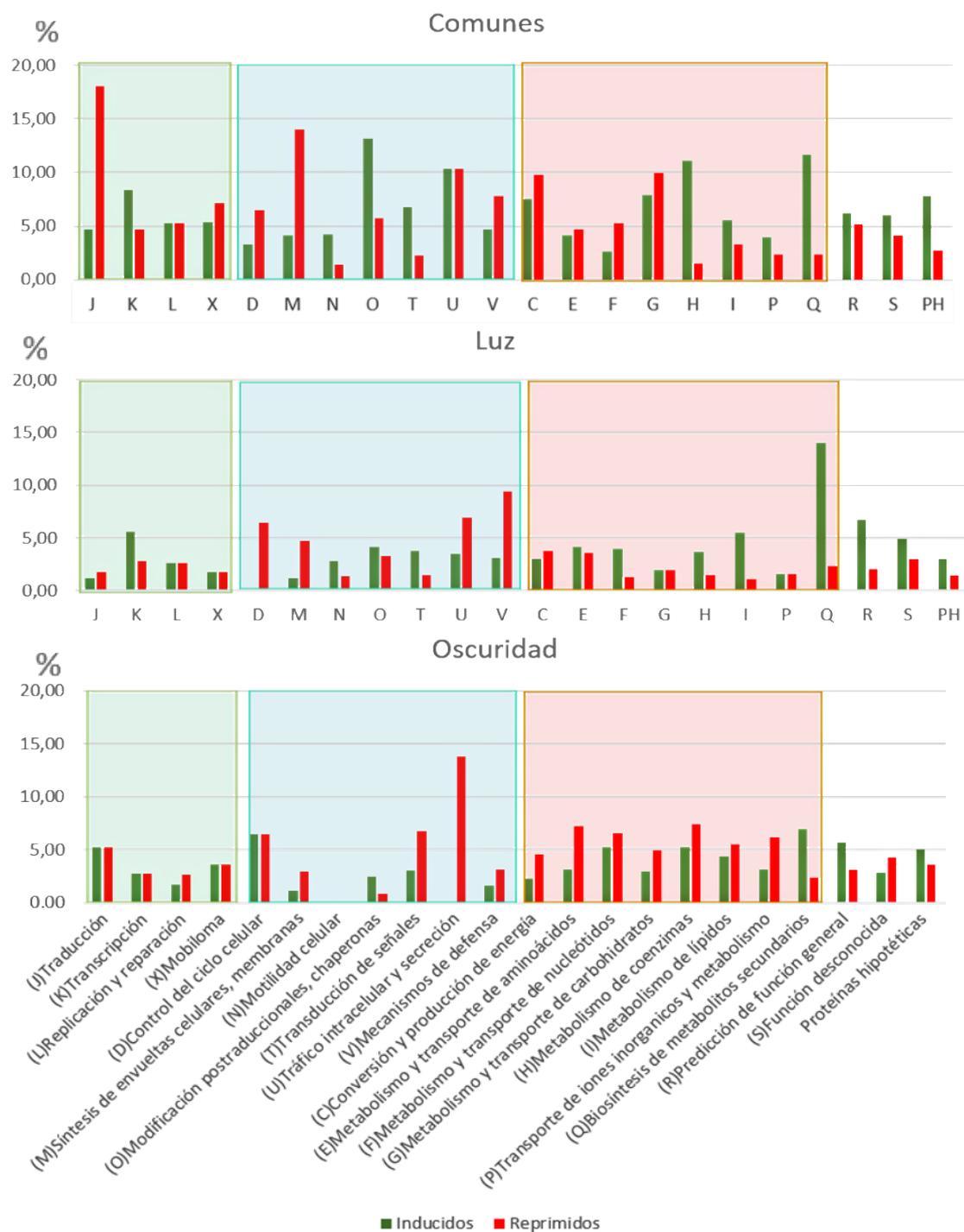


**Figura 21. Clasificación funcional en grupos COG del total de genes de *Sal. ruber* con expresión diferencial tras la irradiación con UVB.** La gráfica muestra el porcentaje de genes significativos inducidos (verde) o reprimidos (rojo) en cada una de las categorías de COGs. Para ello se normalizaron los datos teniendo en cuenta el número de genes con expresión diferencial dentro de cada categoría de COG en función del número total de genes de *Sal. ruber* asignado a cada COG. Aparecen agrupados en tres grandes categorías más generales: i) en verde claro, procesamiento y almacenaje de la información; ii) en azul, señalización y procesamiento celular; y iii) en rosa, metabolismo. En la gráfica superior aparecen representados todos aquellos genes con expresión significativa tras la recuperación en luz y en la inferior, tras la recuperación en oscuridad.

A continuación, se analizan en detalle los genes con expresión diferencial que coinciden en ambos tratamientos (recuperación en luz y en oscuridad) y, por otro lado, aquellos exclusivos de cada tratamiento.

### **2.3.1 Análisis de los genes con expresión diferencial significativa que son comunes en los experimentos de recuperación en presencia de luz y en oscuridad y los exclusivos de cada experimento**

En la Figura 22 se puede observar la clasificación en COGs de los genes con expresión diferencial: 335 genes coincidentes entre ambos tratamientos, 173 exclusivos de luz y 213 de oscuridad (Anexo, Tabla A). De los 335 genes comunes, 165 están siendo reprimidos frente a 170 inducidos. Entre todos los grupos de COGs comunes, el relacionado con la traducción (J) es el que presenta un mayor número de genes reprimidos, 31 (18.02%), frente a 8 (4.65%) inducidos. La mayoría de los genes reprimidos codifican para proteínas ribosomales lo que indicaba que la síntesis de proteínas se está viendo muy afectada. Entre los genes exclusivos, tras la recuperación en luz aparecen tres genes reprimidos (1.74%), dos de ellos codifican para proteínas ribosomales y dos inducidos (1.16%). En la recuperación en oscuridad aparecen un total de 18 genes, 9 inducidos y 9 reprimidos (5.23%). Muchos de ellos también codifican para proteínas ribosomales, pero entre los reprimidos también encontramos ribonucleasas y un factor de elongación, lo que nos señala una posible mayor represión de la traducción en oscuridad.



**Figura 22. Clasificación funcional en grupos COG de los genes de *Sal. ruber* con expresión diferencial tras la irradiación con UVB.** La gráfica muestra el porcentaje de genes significativos inducidos (verde) o reprimidos (rojo) en cada una de las categorías de COGs. Para ello se normalizaron los datos teniendo en cuenta el número de genes con expresión diferencial dentro de cada categoría de COG en función del número total de genes de *Sal. ruber* asignado a cada COG. Aparecen agrupados en tres grandes categorías más generales: i) en verde claro, procesamiento y almacenamiento de la información; ii) en azul, señalización y procesamiento celular; y iii) en rosa, metabolismo. En la gráfica superior se representa aquellos que son comunes en la recuperación en luz y en oscuridad, en la del medio los exclusivos de la recuperación en luz, y en la inferior los exclusivos de oscuridad.

Por otro lado, hay un mayor porcentaje de genes comunes inducidos relacionados con la transcripción (K), 9 (8.33%) frente a 5 (4.63%) reprimidos, sobre todo se inducen genes que dan lugar a sistemas reguladores de respuesta de un solo componente de diversas familias, como TetR, CerR, MarR y LacI. En concreto estos reguladores actúan como represores de la transcripción, por lo que su inducción estaría inhibiendo los genes que estén bajo su control (Ramos et al., 2005; Deng et al., 2013). Otros reguladores transcripcionales de la familia GntR o el factor terminador de la transcripción NusG se encuentra reprimidos. El primero se ha visto relacionado con el metabolismo de carbono y del crecimiento celular (Li et al., 2019); el segundo permite la progresión de la ARN polimerasa aunque también promueve la terminación de la transcripción dependiente del factor Rho (Burns et al., 1999; Herbert et al., 2010). También se induce el gen que codifica el principal factor sigma de la ARN polimerasa, sigma-70 implicado en la transcripción de genes constitutivos. Entre los genes exclusivos de luz (6 inducidos, 5.56%, y 3 reprimidos, 2.78%) destaca la inducción de los que codifican reguladores de la transcripción de las familias TetR, Rrf2, LysR y también de una subunidad omega de la ARN polimerasa, y por otra parte la represión del gen de la subunidad beta de la ARN polimerasa. Entre los de oscuridad (3 inducidos y 3 reprimidos, 2.78%), se inducen y se reprimen los genes de diferentes reguladores transcripcionales, y se induce el gen que codifica la proteína PspA, también clasificada en el COG T (transducción de señales). Se trata de un regulador transcripcional que pertenece al sistema Psp (proteína de choque fágico). La proteína PspA es capaz de detectar cambios en la membrana producido por diferentes tipos de estrés lo que desencadena la traducción de los genes *psp* con el fin de estabilizar las membranas (Thurotte et al., 2017).

En relación con los genes implicados en replicación y reparación (L), entre los comunes a luz y oscuridad (6 inducidos y 6 reprimidos, 5.22%), se indujeron los que codifican la ADN girasa, la exonucleasa VII y la RecJ. La ADN girasa, contribuye a relajar el ADN superenrollado producido durante la replicación y transcripción, y además a desanudar y desenredar moléculas de ADN (Drlica and Zhao, 1997; Champoux, 2001). Por su parte, la exonucleasa VII presenta actividad tanto 5'→3' como 3'→5' y participa en la recombinación homóloga (Repar et al., 2013) y RecJ es otra exonucleasa de hebra simple que repara sitios abásicos en el ADN generados durante BER (reparación por escisión de bases) (Dianov et al., 1994; Cheng et al., 2020). Entre los genes que se inhiben aparecen los que codifican la subunidad delta de la ADN polimerasa III, lo que podría indicar una represión de la replicación, y la proteína RecN, que forma parte del sistema SOS y está implicada en la reparación de daño de doble hebra en el ADN (Picksley et al., 1984), cuya principal función durante la reparación podría ser la de facilitar los contactos entre las cromátidas hermanas (Vickridge et al., 2017). Entre los genes exclusivos de luz (3 inducidos

y 3 reprimidos, 2,61%) se inducen los que codifican las proteínas RadC y RecF, que están relacionados directamente con la reparación del ADN (Attaiech et al., 2008; Chang et al., 2010), y una proteína con similitud a DnaA, implicada en activar el inicio de la replicación, aunque esto no tendría sentido considerando que aun están funcionando los sistemas de reparación y entre los genes comunes aparece inhibido el que codifica una subunidad de la ADN polimerasa III. Por tanto es posible que esta proteína similar a DnaA esté realizando otra función. Entre los exclusivos de oscuridad (2 inducidos, 1.74% y 3 reprimidos, 2.61%) destaca la represión del gen que codifica la ribonucleasa HI, que participa en la degradación de los cebadores de ARN de los fragmentos de Okazaki durante la replicación del ADN (Ogawa et al., 1984).

Por último, dentro de la categoría de procesamiento y almacenamiento de la información encontramos el COG del mobiloma (X), donde se incluyen las transposasas, las enzimas que catalizan el movimiento de transposones en el genoma. Entre los genes comunes, hay 3 inducidos (5.36%) y 4 reprimidos (7.14%). En los exclusivos, aparecen el mismo número de inducidos y reprimidos en luz y en oscuridad (1 en luz, 1.79% y 2 en oscuridad, 3.57%). Destaca el gen que codifica la transposasa de la familia ISSru3, que presenta una inducción muy elevada (33 veces) exclusivamente en oscuridad.

En cuanto la categoría de procesamiento y señalización celular comunes, en el COG relacionado con ciclo celular (D) sólo encontramos 3 genes entre los comunes, dos de ellos (6.45%), involucrados en la división celular, aparecen reprimidos, en concreto codifican proteínas de las familias FtsW/RodA/SpoVE y FtsQ/DivIB. Tras la recuperación en luz, los genes reprimidos (2, 6.45%) también están implicados en la división celular, codifican las proteínas FtsZ y una proteína de partición del cromosoma. En oscuridad, aparecen 2 genes inducidos (6.45%) y 2 reprimidos (6.45%). Los inducidos están relacionados con el mantenimiento de la morfología de la célula (proteína que determina la forma de bacilo) y otra proteína de la familia Mrp, que participa en la biogénesis del clúster Fe-S y que podría estar relacionada con la división celular (Pardoux et al., 2019). Uno de los genes reprimidos en oscuridad estaría relacionado con la iniciación de la formación del tabique para la división celular.

Es interesante la gran represión del grupo de COG relacionado con la pared celular (M), encontrando, entre los genes comunes, un total de 24 (14.04%) reprimidos frente a 7 inducidos (4.09%). Destaca la represión de varias glucosiltransferasas, de proteínas periplásmicas y de multitud de epimerasas y deshidrogenasas, muchos de ellos implicados en la síntesis de polisacáridos. Las glucosiltransferasas son un grupo de enzimas que se encargan de la transferencia de residuos de glucosa e interviene en la síntesis de polisacáridos. Otro gen que aparece reprimido hasta 14 veces codifica para una proteína con el dominio DUF563 el cual, a

pesar de presentar función desconocido, se le asocia a la biosíntesis de los polisacáridos de la cápsula. Además, tanto entre los genes comunes, como entre los exclusivos de la reparación en luz y oscuridad se observa la elevada represión (entre tres y seis veces) de diferentes genes que dan lugar a proteínas de la familia de TolC, las cuales forman canales en la membrana encargados del transporte de moléculas muy diversas, desde proteínas hasta pequeños compuestos tóxicos (Koronakis et al., 2004). Entre los exclusivos, también se observa una mayor represión tanto en luz (8 genes reprimidos, 4.68% y 2 inducidos, 1.17%) como en oscuridad (5 reprimidos, 2.92% y 2 inducidos, 1.17%).

En cuanto al COG de motilidad (N), entre los genes comunes, 2 están siendo inducidos y solo uno reprimido (2,77% y 1,38% respectivamente). Concretamente se inducen: i) *fliS* que codifica una chaperona que participa en el transporte al exterior de la flagelina (componente estructural del flagelo) e impide su polimerización dentro de la célula (Auvray et al., 2001), y ii) *cheW*, que codifica una proteína de quimiotaxis implicada en el llamado movimiento en enjambre (“swarming”) de las bacterias (Hanlon et al., 1992; Ward et al., 1995). Entre los exclusivos, sólo encontramos representación de este grupo tras la recuperación en presencia de luz y destaca la inducción de otro gen relacionado con el flagelo, *flgB*. Por tanto la radiación UV podría estar induciendo la motilidad.

Por otra parte, en el COG de modificación postraducional (O), entre los genes comunes (16 inducidos, 13.11%; 7 reprimidos, 5.54%) que se inducen destacan los relacionados con la reparación, protección y degradación de proteínas afectadas por el incremento de ROS en la célula: i) metionina sulfóxido reductasa (MsrA), implicada directamente en la reparación de proteínas con metioninas oxidadas (Visick and Clarke, 1995); ii) tiorredoxina, que reduce residuos de cisteína oxidados y puentes disulfuro formados en determinadas proteínas, como en MsrA y otras implicadas en reparación de ADN, y además contribuyen a la eliminación de ROS (Lu and Holmgren, 2014); iii) diferentes proteasas, como HslV, que podría estar implicada en degradación de proteínas dañadas (Kessel et al., 1996; Bochtler et al., 1997) y Clp, que en *E. coli* se ha descrito que degrada la proteína UvrA, cuya concentración aumenta al activarse el sistema NER de reparación del daño, permitiendo que las células recuperen su estado basal previo al daño (Pruteanu and Baker, 2009); y iv) proteína de choque térmico de la familia Hsp20, que actúa como una chaperona, previniendo la agregación de proteínas (Li et al., 2012a). Entre los comunes reprimidos, el gen que codifica la proteína SmpB de unión a SsrA es el más afectado, esencial para promover la liberación de los ribosomas detenidos cuando traducen un ARN truncado o degradado antes de llegar al codón de terminación y marcar los polipéptidos producidos para su posterior degradación (Thibonnier et al., 2008). Respecto a los genes

exclusivos de luz (5 inducidos, 4.10% y 4 reprimidos, 3.28%) y oscuridad (3 inducidos, 2.46% y 1 reprimido, 0.82%) hay que destacar la inducción en luz de otra proteína Hsp20 y de GroEL, y en oscuridad de GroES. GroEL/ES forman una chaperona que ayudan al plegamiento correcto de las proteínas que hayan podido sufrir cambios debido a la radiación (Liu and Lund, 2007).

Dentro del COG de transducción de señales (T), entre los genes comunes (9 genes inducidos, 6.72% y 3 reprimidos, 2.24%) destaca la inducción de genes que codifican una rodopsina sensorial, que podría estar implicada en orientar el movimiento de las células hacia ambientes más favorables tras detectar la radiación UV (Spudich and Bogomolni, 1984), una halorrodopsina, que importa iones cloruro (Schobert and Lanyi, 1982) y de un sensor histidina quinasa con un dominio PAS que detecta pequeñas moléculas o cambios ambientales en oxígeno, potencial redox, luz u otros estímulos, y hace que este sensor desencadene una respuesta activando un regulador de respuesta (Taylor and Zhulin, 1999). Entre los genes exclusivos, en luz (5 inducidos, 3.73%, 2 reprimidos, 1.49%) se inducen dos que codifican proteínas de estrés universal (Usp), que se producen en respuesta a numerosos tipos de estrés ambiental, y se ha propuesto que podrían proteger a la célula de agentes que dañan el ADN (Kvint et al., 2003; Matarredona et al., 2020); y en oscuridad (4 inducidos, 2,99% y 9 reprimidos, 6,72) destaca la inducción de una xantorrodopsina, una bomba de protones que ayuda a generar energía (ATP) (Balashov et al., 2005) y la represión de tres genes que codifican sensores con dominio PAS, dos reguladores de respuesta y también otra Usp.

En relación con el COG de tráfico intracelular y secreción (U), entre los genes comunes presenta el mismo número inducidos que de reprimidos (3, 10.34%) que codifican diversos tipos de traslocasas de proteínas. Entre los exclusivos, en luz (1 inducido, 2.50% y 2 reprimidos, 5%) destaca la represión de dos genes que codifican transportadores de la familia ExbD, y en oscuridad (4 reprimidos, 13.76%) se reprimen genes relacionados con otras traslocasas y otro de la familia ExbD, implicado junto a otras proteínas en transportar diversas moléculas a la célula, como sideróforos, vitamina B12, etc (Noinaj et al., 2010).

Respecto a los genes relacionados con los mecanismos de defensa (V) entre los coincidentes (3 inducidos, 4.69%; 5 reprimidos, 7.81%;) destaca la inducción los genes que codifican la proteína Dps, que protege el DNA en fase estacionaria frente a estrés oxidativo (Nair and Finkel, 2004) y la proteína RidA, capaz de detectar altos niveles de especies reactivas de carbonilo (RCS), que al igual que las especies reactivas del oxígeno (ROS), pueden dañar proteínas, ácidos nucleicos y lípidos. En *E. coli* se ha comprobado que esta proteína puede actuar como una chaperona, protegiendo a las proteínas del daño oxidativo de las RCS (Müller et al., 2014). Entre los exclusivos de luz (2 inducidos, 3.13% y 6 reprimidos, 9.38%) se reprimen dos

genes relacionados con sistemas de toxina-antitoxina de tipo II. En concreto uno de los genes reprimidos da lugar a la antitoxina PrIF, la cual es capaz de unirse a la toxina YhaV e impedir su función ribonucleasa y cuya sobreexpresión es capaz de detener el crecimiento (Schmidt et al., 2007). La represión de la antitoxina estaría permitiendo la actuación de YhaV, impidiendo el crecimiento celular, posiblemente para una mejor reparación del daño producido en el ADN. Además, se reprimen genes relacionados con un transportador de eflujo de la familia RND, que se han implicado diversas funciones como exportar determinantes de virulencia, o eliminar compuestos tóxicos (Li et al., 2015b). En los exclusivos de oscuridad (1 inducido, 1.56% y 2 reprimidos, 3.13%) destaca la inducción de una subunidad del transportador de la familia RND.

Dentro de la categoría de COGs relacionados con el metabolismo, si consideramos los resultados comunes a luz y oscuridad (Figura 22), las mayores diferencias entre el porcentaje de genes inducidos y reprimidos se encontraron en los grupos de metabolismo de coenzimas (H) y de biosíntesis de metabolitos secundarios (Q), en los que hay más genes inducidos. El primero (H) presenta 15 (11.11%) genes inducidos y 2 (1.48%) reprimidos, y entre los que aparecen inducidos más de tres veces vemos genes que codifican para proteínas implicadas en la biosíntesis de diferentes cofactores: familia CtaA y ferroquelatasa (biosíntesis del grupo hemo), 5-formiltetrahidrofolato ciclo-ligasa (biosíntesis del tetrahidrofolato), el gen *moaC* (biosíntesis de molibdenopterinina), la proteína ThiS (biosíntesis de tiamina) y una quelatasa de magnesio. Entre los exclusivos en luz (5 inducidos, 3.70% y 2 reprimidos, 1.48%) destaca la inducción del gen que codifica una posible arsenito metiltransferasa, encargada de inactivar mediante metilación el arsénico, un metaloide que produciría estrés oxidativo (Hughes, 2009), y del gen implicado en la biosíntesis de antranilato, compuesto relevante en la biosíntesis de triptófano, que se induce también como respuesta a radiación UV-B (resultados de COG E, metabolismo de aminoácidos). En los exclusivos de oscuridad (7 inducidos, 5.19% y 10 reprimidos, 7.41%) estaba inducido el gen de la glutatión sintetasa que cataliza la formación del glutatión, un antioxidante que puede reducir el estrés oxidativo en las células (Kerksick and Willoughby, 2005). Respecto al grupo de COG Q de biosíntesis de metabolitos secundarios se encuentran principalmente genes inducidos: 5 en los comunes (11.63%), 6 en luz (13.95%) y 3 en oscuridad (6.98%). Los metabolitos secundarios se forman tras las metilaciones, hidroxilaciones o glicosilaciones de los metabolitos primarios (carbohidratos, proteínas, aminoácidos y lípidos). En plantas se ha comprobado como tras la irradiación con UVB, se produce una acumulación de estos metabolitos secundarios los cuales tiene un efecto protector frente a la radiación (Yavaş et al., 2020). Entre los comunes se induce un gen relacionado con la formación de gránulos de polihidroxialcanoatos (proteína de la familia de las fasininas), cuya acumulación en el interior de

las bacterias produce un aumento en la resistencia a diferentes tipos de estrés (Obruca et al., 2018).

En el grupo de COG C, relacionado con producción de energía, entre los comunes (10 inducidos 7.52% y 13 reprimidos, 9.77%) se reprimen genes de enzimas importantes pertenecientes al ciclo de Krebs, como la piruvato deshidrogenasa, la succinato deshidrogenasa y la isocitrato deshidrogenasa, y también se reprimen genes relacionados con la cadena transportadora de electrones, como los que codifican la NADH:ubiquinona oxidoreductasa, citocromo oxidasa y la ATP sintasa. Por el contrario, enzimas implicadas en gluconeogenesis como la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y la alcohol deshidrogenasa dependiente de NAD(P) se están induciendo. Hay que destacar la inducción de un gen que codifica una nitrorreductasa, implicada en la respuesta a estrés oxidativo (Liochev et al., 1999; Paterson et al., 2002; Streker et al., 2005). En presencia de luz, hay un total de 4 inducidos y 5 reprimidos (3.01% y 3.76% respectivamente). Curiosamente, se encuentran inducidos dos genes que dan lugar a las enzimas citrato sintasa y la malato deshidrogenasa del ciclo de Krebs. Una posible explicación es que en presencia de luz se está llevando a cabo un acortamiento del ciclo de Krebs, promoviendo la transformación rápida de acetil CoA a metabolitos intermedios por medio del ciclo del glioxilato (Cronan, Jr. and Laporte, 2005). Concretamente se produce oxalacetato, que es sustrato de la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa que también se induce, favoreciendo la gluconeogénesis. Por otra parte, en oscuridad, hay 3 genes inducidos, 2.26%, y 6 reprimidos, 4.51%. Entre los reprimidos también encontramos genes que dan lugar a proteínas claves del ciclo de Krebs, como la piruvato deshidrogenasa y otras coenzimas intermedias.

En el metabolismo de aminoácidos (E), entre los genes comunes (8 inducidos, 4.12% y 9 reprimidos 4.64%) más inducidos está el de la triptófano sintetasa, implicado en la síntesis de triptófano, que podría tener un papel protector absorbiendo la radiación UV, y por otro lado, se puede transformar en diferentes metabolitos secundarios, que también podrían proteger a las células del daño producido por la radiación (Zhao et al., 1998; Abaskharon and Gai, 2016). Además, se inducen los genes de un transportador de aminoácidos neutros (familia NAAT) y dos de síntesis de histidina y de serina. Entre los reprimidos, están los genes *ilvC* e *ilvN* implicados en la biosíntesis de aminoácidos ramificados (Ile, Val, Leu). Respecto a los genes exclusivos de luz, (8 inducidos, 4.12% y 7 reprimidos, 3.61%), destaca la inducción del gen de la shikimato quinasa, implicado en la ruta del ácido shikímico de gran importancia en la biosíntesis de fenilalanina, tirosina y triptófano, y además de numerosos metabolitos secundarios, como compuestos fenólicos que podrían ser capaces de absorber la luz ultravioleta (Zhang et al., 2012). También se induce en presencia de luz otro gen de la biosíntesis de triptófano, y

curiosamente el gen de la triptofanasa, que puede escindir el indol del triptófano. En cuanto a los exclusivos de oscuridad, (6 inducidos, 3.09% y 14 reprimidos, 7.22%) destaca la represión de genes implicados en la biosíntesis de arginina (*argC* y *argG*).

Respecto al metabolismo de nucleótidos (F), entre los comunes (4 genes reprimidos, 5.26% y 2 inducidos, 2.63%) se induce el gen de la desoxicitidina trifosfato desaminasa, que cataliza la conversión de dCMP en UMP, proporcionando sustrato de nucleótidos para la acción de la timidilato sintetasa, la cual se está induciendo entre los exclusivos en oscuridad (4 inducidos, 5.26% y 4 reprimidos, 5.26%) (Bhaskar and Saikrishna, 2019). En los exclusivos en luz (3 inducidos, 3.94% y 1 reprimido 1.31%), destaca la expresión del gen que da lugar a la citidina deaminasa, esencial a la hora de reciclar pirimidinas libres, pudiendo ser reutilizadas para sintetizar nuevos nucleótidos, o bien puede degradarlas y ser una fuente de carbono y nitrógeno para las células (Frances and Cordelier, 2020). Entre los comunes, se observa la represión de la adenilosuccinato sintasa, UMP quinasa y a una ribonucleósido-difosfato reductasa -subunidad alfa, los cuales participan en las rutas biosintéticas de las purinas y las pirimidinas.

En el COG del metabolismo de carbohidratos (G), entre los comunes (10 reprimidos, 9.90% y 8 inducidos, 7.92%) destaca la inhibición de la piruvato quinasa, la última enzima de la glucólisis, por lo que disminuiría la formación de piruvato, lo cual concuerda con el acortamiento del ciclo de Krebs. Por otra parte, entre los inducidos destaca el gen de la glucógeno fosforilasa, implicado en la degradación de glucógeno aunque también se induce un gen que podría codificar una glucogeno/almidón sintasa implicada en la síntesis de glucógeno. También se induce el gen de la ribulosa fosfato epimerasa, que participa en la ruta de las pentosas fosfato en la que se genera ribosa necesaria para la biosíntesis de nucleótidos. Entre los genes exclusivos de la recuperación en luz (2 inducidos y 2 reprimidos, 1.98%) destaca la inducción del gen de la fosfoglucomutasa, que transformaría la glucosa-1-fosfato (liberada por la glucógeno fosforilasa del glucógeno) en glucosa-6-fosfato que podría entrar en la ruta de las pentosas fosfato. En la recuperación en oscuridad (3 inducidos, 2.97% y 5 reprimidos, 4.95%) destaca la represión de los genes de la fructosa-1,6-bisfosfatasa, relacionada con la gluconeogénesis y la 4-alfa-glucanotransferasa implicada en la degradación del glucógeno.

En el metabolismo de lípidos (I), entre los genes comunes (5 inducidos, 5.49% y 3 reprimidos, 3.30%) destaca la inducción del gen de la fosfatidilglicerol fosfato sintetasa (*psgA*) implicado en la biosíntesis del lípido de membrana fosfatidilglicerol. Además, se induce el gen de la acil-CoA deshidrogenasa, responsable de la primera reacción de la  $\beta$ -oxidación (Kunau et al., 1995), la ruta de oxidación de los ácidos grasos en la que se transforman en moléculas de acetil-CoA pudiendo ingresar posteriormente en el ciclo de Krebs. En cuanto a los exclusivos de

luz (5 inducidos 5.49%, y 1 reprimido, 1.10%) se observó la inducción del gen de la fosfatidato citidililtransferasa, que en plantas se sobreexpresa como respuesta a la sequía (Yang et al., 2020). Tras la recuperación en oscuridad (4 inducidos, 4.40% y 5 reprimidos 5.49%), entre los reprimidos encontramos a la enzima Acil-CoA hidrolasa y a la Acil-coenzyma A sintetasa, las cuales son una de las primeras enzimas necesarias para la catalización del piruvato. Estos resultados, junto con la inhibición de la piruvato quinasa nos estarían indicando que la reacción de  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos es la que aporta el acetil-CoA que posteriormente será transformado a oxalacetato debido al ciclo del glicoxilato, favorecido por el acortamiento del ciclo de Krebs.

En el grupo de COG relacionado con el transporte y metabolismo de iones inorgánicos (P), entre los genes comunes (5 inducidos, 3.88% y 3 reprimidos, 2.33%) destaca la inducción del gen de la superóxido dismutasa, que estaría implicada en evitar el daño producido por ROS (Case, 2017) y de un gen que codifica un transportador de cobre (ATPasa de tipo P), que podría proporcionar este metal necesario como cofactor de la superóxido dismutasa de algunas bacterias. Entre los reprimidos, tanto entre los genes comunes como entre los exclusivos de luz (2 inducidos y 2 reprimidos, 1.55%) y oscuridad (4 inducidos, 3.10% y 8 reprimidos, 6.20%) aparecen genes relacionados con los transportadores dependientes de TonB implicados junto a otras proteínas, como ExbD (cuyo gen también está reprimido -COG U-) en transportar diversas moléculas a la célula, como sideróforos, vitamina B12, etc (Noinaj et al., 2010). Entre los genes exclusivos de oscuridad destaca la elevada represión de un gen que codifica una proteína de la familia DsrE, implicada en reducción de sulfatos en bacterias sulfato reductoras (Pott and Dahl, 1998), pero de función desconocida en *Sal. ruber*.

Finalmente, observamos un elevado número de genes con expression diferencial que codifican para proteínas con predicción de función general (R), de función desconocida (S) o hipotéticas de las que no se tiene información. Entre los genes comunes, en estos tres grupos de COGs el número de genes inducidos es superior al de reprimidos. Dentro del COG R, 12 genes aparecen inducidos (6.22%) y 10 reprimidos (5.18%). Entre las inducidas, entre otros, hay dos genes relacionados con la endonucleasa de la familia Uma2, una aminohidrolasa y el gen *egtD*, que participa en la biosíntesis de la ergotioneína, que puede funcionar como antioxidante (Cheah and Halliwell, 2012) y se ha descubierto su presencia en *S. ruber* (Burn et al., 2017). Entre los genes reprimidos algunos de ellos codifican para una putativa ribonucleasa HI, la cual participa en la replicación del ADN; para el gen *bspA* o para una proteína con el dominio PIN. Entre los exclusivos, este grupo también está más inducido, presentando en luz 13 genes inducidos (6.74%) y 4 reprimidos (2.07%); en oscuridad, 11 inducidos (5.70%) y 6 (3.11%)

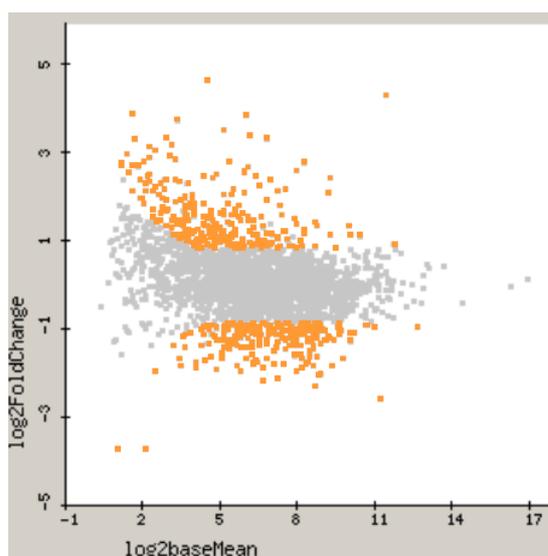
reprimidos. Entre los de función desconocida (S), los comunes también presentan más genes inducidos (28, 6.01% frente a 19, 4.08%). Los exclusivos de reparación en luz también se inducen (23 genes inducidos, 4.94% frente a 14 reprimidos, 3%). En oscuridad, la represión es mayor, 13 inducidos (2.79%) y 20 reprimidos (4.29%). En todos ellos son muy abundantes los genes que codifican para proteínas con el dominio DUF, que se trata de proteínas poco o mal caracterizadas (Bateman et al., 2010). También aparecen numerosas proteínas hipotéticas, las cuales han sido incluidas en este grupo por presentar un dominio cuya función, aunque sea desconocida, ha podido ser identificada, diferenciándolas así del último grupo en el que se incluyen aquellas proteínas hipotéticas de las que no tenemos información. Entre los comunes, en este último grupo hay 26 genes (7.74%) inducidos y 9 (2.68%) reprimidos. Entre los exclusivos, en luz aparecen 10 inducidos (2.98%) y 5 (3%) reprimidos; en oscuridad, 17 inducidos (5.06%) y 12 reprimidos (3.57%). Algunas de estas proteínas aparecen altamente inducidas o reprimidas, por lo que sería interesante su estudio para averiguar que relación tienen con la adaptación de *Sal. ruber* a la radiación UV.

En resumen, como respuesta a la radiación UVB, en *Sal. ruber*, independientemente de que la recuperación sea en luz u oscuridad, se inhibe la traducción, ya que numerosos genes que codifican para proteínas ribosomales se están reprimiendo, replicación, y la división celular (coherente con la inhibición de numerosos genes relacionados con la síntesis de la envuelta celular). De forma general, la transcripción también estaría parcialmente inhibida, ya que estarían afectadas algunas subunidades de la ARN polimerasa. Además, se inducen posibles represores de la transcripción, que podrían ser responsables de la inhibición de diversos procesos. En cuanto al metabolismo, se inducen y reprimen igualmente un porcentaje bajo de genes que codifican transposasas. También se observó la inhibición del metabolismo de energía, concretamente de la cadena de transporte de electrones y del ciclo de Krebs, que podría estar acortándose, promoviendo el ciclo del glioxilato (inducido especialmente en la recuperación en luz) y la gluconeogénesis. La glucólisis estaría igualmente inhibida, pero se induciría la ruta de las pentosas fosfato en la que se oxida la glucosa, pero se obtiene menos poder reductor (NADH) y por tanto menos energía (ATP). Por otra parte, se observó la inducción de la  $\beta$ -oxidación implicada en degradación de lípidos para la formación de acetil-CoA que podría ir al ciclo del glioxilato. Por otra parte, se inducen genes relacionados con la protección del ADN, como el que codifica Dps, y también otros que codifican proteínas implicadas en la reparación de las lesiones en el ADN, como la ExoVII y RecJ, y de forma exclusiva en la recuperación en luz otras dos proteínas adicionales, RadC y RecF. También se observó la inducción de genes relacionados con la protección de proteínas (chaperonas Hsp20, GroEL/ES y RidA), reparación de proteínas

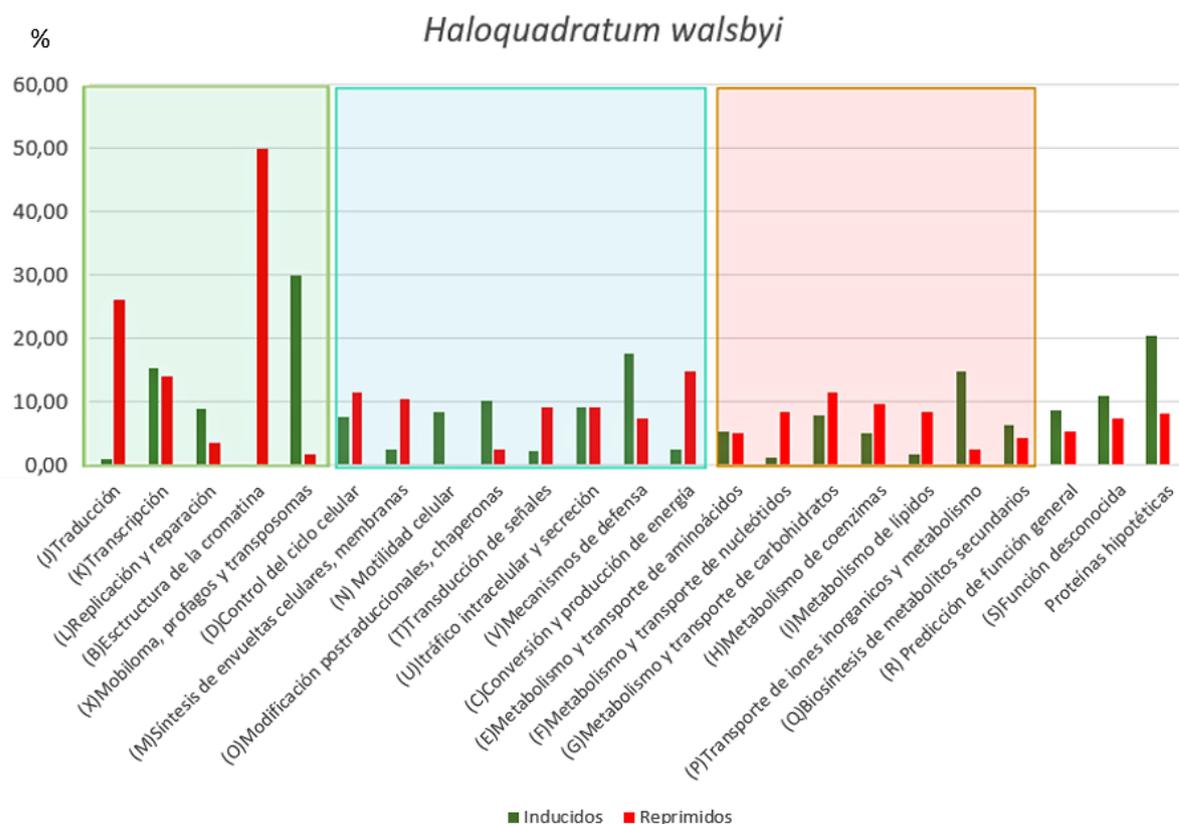
(metionina sulfóxido reductasa, tiorredoxinas y glutatión), y degradación de proteínas dañadas (proteasas HslV y Clp). En cuanto a la motilidad, se inducen genes relacionados con el flagelo y quimiotaxis. Finalmente, destacar el alto número de genes con función desconocida o no clasificable, y el de proteínas hipotéticas, ambos con un mayor número de genes inducidos.

## 2.4 Efecto de la radiación UVB en el perfil transcripcional de *H. walsbyi*

La exposición de *Hqr. walsbyi* a una dosis subletal de radiación UVB afectó de forma significativa a la expresión de 510 genes de los 2711 genes del genoma de esta arquea (18.81%). De ellos, 272 genes estaban inducidos (10.03%) y 238 reprimidos (8.78%). Del total de genes con expresión diferencial, 91 (17.84%) codifican para proteínas función desconocida o no muy bien definidas y 78 (15.02%), para proteínas hipotéticas. En la Tabla B del Anexo se muestran los genes significativamente inducidos y reprimidos junto con sus productos proteicos.



**Figura 23. Representación de los cambios de expresión génica de *Hqr. walsbyi* tras la irradiación con UVB.** Gráfico MA (MA plot) donde el eje X representa el logaritmo de la media del recuento normalizado de cada gen; en el eje Y se representa el logaritmo en base 2 del FoldChange. Aquellos que presentan un valor en el eje Y  $> 0.84$  o  $< -0.84$  (equivalente a valores de Fold Change  $> 1.8$  o  $< -1.8$  respectivamente) y un p-value menor o igual a 0.05 se inducen o reprimen de forma significativa y aparecen representados en color naranja.



**Figura 24. Clasificación funcional en grupos COG de los genes de *Hqr. walsbyi* con expresión diferencial tras la irradiación con UVB.** La gráfica muestra el porcentaje de genes significativos inducidos o reprimidos en cada una de las categorías de COGs. Para ello se normalizaron los datos teniendo en cuenta el número de genes con expresión diferencial dentro de cada categoría de COG en función del número total de genes de *Hqr. walsbyi* asignado a cada COG. Aparecen agrupados en tres grandes categorías más generales: i) en verde claro, procesamiento y almacenaje de la información; ii) en azul, señalización y procesamiento celular; y iii) en rosa, metabolismo.

En la Figura 24 se muestran la agrupación en COGs del total de genes con represión o inducción significativa. En la categoría de procesamiento y almacenaje de la información, el grupo de COG con un mayor número de genes afectados por la radiación UVB es el relacionado con la traducción (J), puesto que, de un total de 50 genes, todos, excepto dos, se encuentran reprimidos (26.09% reprimidos y 1.09% inducidos), y en concreto, 31 de ellos codifican para diversas proteínas ribosomales. Por otra parte, la transcripción (K) presenta un número similar de genes inducidos y reprimidos, (24, 15.38%, frente a 22, 14.10%). Entre los inducidos, encontramos reguladores de la transcripción pertenecientes varias de las familias más abundantes dentro de las arqueas, como son la familia de reguladores transcripcionales MarR, AbrB/MazE/SpoVT. MazE y MazF forman un sistema toxina-antitoxina, en el cual la proteína MazE es la antitoxina encargada de unirse a MazF, la toxina, neutralizando la actividad

endonucleasa de MazF y, en *Deinococcus radiodurans* se inducen como respuesta al daño en el ADN y produciendo muerte celular causada por un incremento en la acumulación de ROS (Dai et al., 2021). También se observó la inducción o represión de genes que codifican reguladores transcripcionales de la familia TrmB, debido posiblemente a que pueden actuar como represores o activadores implicados frecuentemente en metabolismo de azúcares (maltosa y glucosa) (Gindner et al., 2014). Otra familia de reguladores que aparecen tanto inducidos como reprimidos es la de CopG, cuya función se ha relacionado con el control del número de copias de plásmidos (Schreiter and Drennan, 2007). Entre los genes reprimidos, se encuentran algunos que codifican diferentes subunidades de la ARN polimerasa y también la proteína de unión a la caja TATA (TBP), que forma parte del complejo de pre-iniciación de la ARN polimerasa (Wang et al., 1996). También se encuentra reprimida la familia de reguladores transcripcionales Lpr/AsnC, muy abundante entre las arqueas, y que puede participar en diferentes procesos como en el mantenimiento y regulación de los cromosomas o en el enrollamiento del ADN (Thaw et al., 2006). Son reguladores muy abundante entre las arqueas, y que puede participar en diferentes procesos como la regulación del metabolismo de aminoácidos, en la producción de energía y también puede regular la traducción (Plaisier et al., 2014). En relación a los genes implicados en replicación y reparación (L) 13 de ellos están inducidos (8.97%) y 5 reprimidos (3.45%). Destaca la inducción del gen *radA*, que es el homólogo en arqueas del gen *recA*, cuya proteína estaría directamente implicada en la reparación del daño en el ADN, ya que desempeña una función crucial en la recombinación homóloga (Zhou et al., 2006). También destaca la endonucleasa YncB, inducida 9 veces, y que puede presentar actividad DNAsa (Sakamoto et al., 2001). Se indujo el gen que codifica la endonucleasa V, implicada en un proceso de reparación alternativo (AER), similar al BER, pero con la diferencia de que el proceso es iniciado por una endonucleasa en vez de por una DNA glicosilasa (Yasui, 2013). Entre los genes reprimidos, se identificaron los que dan lugar a la proteína PCNA (abrazadera deslizante de la ADN polimerasa), a la topoisomerasa IV y a la primasa PriS, esenciales para la replicación. Su represión permitiría a las células focalizarse en la reparación del ADN, pausando la replicación. Por otra parte, el COG B solo incluye 4 genes en *Hqr. walsbyi*, y tras la irradiación con UVB, se reprimieron *hda1* y *hstA* (50%) que están relacionados con la estructura y dinámica de la cromatina. Por último, en el grupo de COG relacionado con el mobiloma (X) destaca la inducción de 34 genes (31.58%) frente a sólo 2 reprimidos (1.75%). La mayoría de los inducidos codifican transposasas, muchas de la familia IS200/IS605, una de las más abundantes en los ambientes acuáticos (Vigil-Stenman et al., 2017). Las transposasas permiten la movilidad en el genoma de elementos genéticos como transposones o secuencias de inserción, con lo que se aumenta la variabilidad y pueden dar

como resultado nuevas adaptaciones a diferentes tipos de estrés. Además, se demostró que la radiación UV induce la expresión de las transposasas de la familia IS10 en *E. coli* (Eichenbaum and Livneh, 1998).

Dentro de la categoría de procesamiento y señalización celular, un total de 47 genes aparecen reprimidos y 36 inducidos. El grupo de control del ciclo celular (D), presenta dos genes inducidos (7.69%), uno de ellos codifica para una proteína de la familia CrcB, que es un transportador del ion fluoruro y afecta a la condensación del cromosoma; y otros tres reprimidos (11.54%), entre ellos dos genes relacionados con la partición del cromosoma, lo que implicaría una inhibición de la división celular. Los relacionados con la pared celular (M) y la transducción de señales (T) presentan en ambos casos 7 genes reprimidos frente a dos inducidos (10.53% reprimidos y 2.63% inducidos para el COG M; 9.09% reprimidos y 2.27% inducidos para el COG T). En el primer caso (M), entre los reprimidos se identificaron los que codifican una epimerasa dependiente de NAD, dos epimerasas de nucleosidos difosfato y una gluconato deshidratasa (*gnaD*). Entre los inducidos, destacan uno que codifica una proteína de la familia de las glicosiltransferasas y otro una dipéptido epimerasa. En el COG de transducción de señales (T), de los genes reprimidos, dos pertenecen a la familia de proteínas de estrés universal, otro es una proteína del dominio PAS y otro codifica para un regulador transcripcional perteneciente a la familia ArsC. También se reprime el gen *pspA*, capaz de detectar cambios en la membrana producido por diferentes estreses y desencadenando la transcripción de los genes *psp* lo que da lugar a la estabilización de las membranas (Thurotte et al., 2017) En el grupo relacionado con la motilidad (N), solo se está induciendo un gen (8.33%), el cual codifica PilA, la proteína principal del pili que está implicado en la motilidad de contracción (“twitching motility”).

En el grupo COG de modificación postraduccional (O), 12 genes (10.26%) fueron inducidos frente a 3 reprimidos (2.56%). Entre los inducidos, encontramos una elevada inducción (10 veces) del gen que codifica una proteasa tipo Lon dependiente de ATP, proteína implicada en degradar proteínas dañadas (Van Melderen and Aertsen, 2009). También vemos la inducción de tres genes relacionados con la síntesis de tiorredoxina, que podría actuar reduciendo los niveles de ROS y por lo tanto tendría un efecto antioxidante (Nordberg and Arnér, 2001). También fueron inducidos dos genes cuyos productos están relacionados con el glutatión: la glutarredoxina y la glutatión S-transferasa, enzimas encargadas de llevar a cabo la eliminación de una gran variedad de compuestos tóxicos. Juntas forman el sistema glutarredoxina, según el cual los electrones se transfieren de la NADPH a la glutatión reductasa, luego a la glutatión transferasa y por último a la glutarredoxinas (Fernandes and Holmgren, 2004). Las glutarredoxinas catalizan la reducción de puentes disulfuro a través de los residuos de cisteína de

su sitio activo y utilizando el sistema glutatión como dador de electrones (Song et al., 2002). También aparece inducido un gen que codifica una proteína de la familia NifU del sistema SUF, que podría estar actuando junto con el sistema NIF, y estarían implicados en la biogénesis de los cluster de hierro-azufre (Hwang et al., 1996). En concreto, se ha visto que el sistema SUF funciona bajo condiciones de estrés oxidativo y baja disponibilidad de hierro (Wayne Outten, 2015). Por último, también se inducen dos genes, *ureE* y *ureF*, cuyos productos dan lugar a proteínas accesorias de la ureasa, que convierte la urea en amonio y ácido carbónico. Dentro de este grupo se está reprimiendo más de 4 veces el gen que codifica GrpE, un factor de intercambio de nucleótidos. GrpE funciona como una co-chaperona que asiste a DnaK, la chaperona esencial para el correcto plegamiento de las proteínas durante choque término. Concretamente, GrpE participa en el control de la liberación de los péptidos correctamente plegados junto con DnaJ y DnaK (Harrison, 2003). El COG relacionado tráfico intracelular (COG U), aparecen 4 genes, 2 de ellos se encuentran inducidos (17.65%) y 5 reprimido (7.35%). Por último, dentro de los mecanismos de defensa (V), 12 genes fueron inducidos (11.32%) y cuatro reprimidos (3.77%). Muchos de los genes inducidos pertenecen también al grupo de COG K (transcripción), como es el caso de genes que dan lugar a proteínas de la familia AbrB/MazE/SpoVT, que podrían formar parte de sistemas de toxina-antitoxina, activados frecuentemente en situaciones de estrés. Relacionados con estos sistemas también se induce el gen que codifica la antitoxina VapB. Esta proteína impide la acción de la toxina VapC, que actúa degradando ARNs esenciales (Sharrock et al., 2018). Otro de los inducidos es el gen *dps* (DNA starvation/stationary phase protection protein) que codifica una proteína que se une al ADN en condiciones de estrés nutricional y le protege del daño producido por las especies reactivas del oxígeno (Nair and Finkel, 2004). Además, aparece inducido hasta 14 veces una proteína hipotética que presenta un dominio presente en antitoxinas (Makarova et al., 2009).

La categoría general de metabolismo presenta casi el mismo número de genes inducidos, 44, que reprimidos, 43. Sin embargo, cinco grupos dentro de esta categoría presentan un mayor porcentaje de genes reprimidos, mientras que en tres de ellos el número de inducidos es mayor. En cuanto a los genes relacionados con producción de energía (C), 18 de ellos aparecen reprimidos (14.88%) y 3 inducidos (2.48%). Entre los reprimidos se encuentran genes implicados en diferentes partes de las rutas metabólicas del ciclo del Krebs y de la cadena transportadora de electrones, como por ejemplo los que codifican la piruvato deshidrogenasa (ferredoxina: KorAB) responsable de producir acetil-CoA, la succinil-CoA sintetasa (SucC), la citrato sintasa (CitZ), el gen *bhl*, implicado en romper una molécula de betacaroteno para producir retinol, que es el cofactor de las bacteriorrodopsinas de arqueas (Peck et al., 2001), varias subunidades de

NADH-quinona oxidorreductasa y halocianinas. El metabolismo de nucleótidos (F) está muy reprimido, presentando 7 (8.43%) de 8 genes significativamente reprimidos, apareciendo, entre otros, dos genes que dan lugar a proteínas de la familia purina fosforiltransferasa y un gen que da lugar a una UMP quinasa, encargados de la biosíntesis de purinas y pirimidinas respectivamente (Craig and Eakin, 2000; Dong et al., 2019). En cuanto al metabolismo de carbohidratos (G) se observó la represión de 10 genes (11.36%) y la inducción de 7 (7.95%). Entre los reprimidos hay genes relacionados con de la ruta de la glucólisis, como los que codifican la piruvato quinasa, la fosfoglicerato quinasa y la gliceraldehído fosfato deshidrogenasa. Otras enzimas como la dihidroxiacetona quinasa aparecen sobreexpresadas, pudiendo funcionar como fuente principal para la obtención de energía, ya que la dihidroxiacetona es capaz de funcionar como fuente de carbono en ambientes con baja concentración de fosfatos (Gutknecht et al., 2001). En relación con el metabolismo de coenzimas (H) se observaron 15 genes reprimidos (9.74%) y 8 inducidos (5.19%). Entre los reprimidos, hay un gen, *ribE*, que da lugar a una enzima implicadas en la síntesis de la riboflavina, la cual se ha visto que provoca un aumento del daño oxidativo en el ADN en combinación con la radiación UV, por lo que su represión podría estar disminuyendo el daño en el ADN (Besaratnia et al., 2007). Otro de los genes significativamente reprimidos es el que da lugar a la enzima dihidrofolato reductasa, que participa en la biosíntesis del ácido tetrahidrofólico y este cofactor participa a su vez, entre otras reacciones, en la síntesis de los ácidos nucleicos, cuyo metabolismo tras la irradiación con UV se ha visto afectada negativamente. Respecto al metabolismo de lípidos (I) se identificaron 6 genes, 5 de ellos reprimidos (8.47%) y solo 1 inducido (1.69%), Los reprimidos codifican enzimas claves relacionadas con la  $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos como la Acyl-CoA deshidrogenasa y otras relacionados con la síntesis de polihidroxialcanoatos (PHAs) como la deshidratasa de la familia MaoC (Wang et al., 2013) y la hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa (Kim et al., 2014b).

El COG relativo al metabolismo y transporte de aminoácidos (E) presentan un número mayor de genes inducidos que de reprimidos, con 12 genes reprimidos (4.98%) y 13 inducidos (5.39%) Entre los inducidos, 7 de ellos codifican para transportadores tipo ABC (subunidades de unión a sustrato y las de unión a ATP). En concreto, se están expresando de forma íntegra el grupo de genes que dar lugar al transportador tipo ABC de la urea (*urtABCDE*), coherente con la inducción de dos genes del COG O que codifican componentes de la ureasa, enzima que descompone la urea en amonio. Entre los reprimidos los más significativos son los que dan lugar a la fosfadenosina fosfosulfatasa reductasa, que se encarga de reducir el sulfato activo a sulfito; y la ornitina carbamoiltransferasa, la cual participa en el ciclo de la urea y ayuda en la detoxificación del amonio. Sin embargo, para la detoxificación del amonio podría estar actuando

la ornitina ciclodeaminasa, ya que está sobreexpresada y su función es la de convertir la L-ornitina en L-prolina, eliminando el amonio (Goodman et al., 2004). Entre los COGs que tiene mayor número de genes inducidos, destaca el COG P, relacionado con el metabolismo y transporte de iones inorgánicos, en concreto 24 inducidos (14.91%) frente a 4 reprimidos (2.48%). En concreto dos de ellos pertenecen a la familia PhoU, que tiene una función reguladora en el transporte del fósforo (Muda et al., 1992). Otro de los más inducidos dentro de este grupo es el gen *chrA*, que da lugar a un transportador de cromo. La acumulación de cromo produce daños oxidativos en el ADN por lo que su transporte fuera de la célula constituye un mecanismo de resistencia para las células (Ramírez-Díaz et al., 2008). Dentro del grupo relacionado con la biosíntesis de metabolitos secundarios, transporte y catabolismo (Q), tres genes se encuentran inducidos y dos reprimidos (6.38% y 4.26%). Se observó la represión de un gen que codifica una proteína de la familia de la fumarilacetoacetato hidrolasa, y la inducción de dos genes que codifican para una proteína con un dominio PIN, que podría estar implicada en la resistencia a diferentes tipos de estrés (Arcus et al., 2011; Senissar et al., 2017) y el otro una proteína de la familia FkbM.

Finalmente, muchos genes se encuentran entre las tres últimas categorías, en donde se agrupan aquellos a los que se le ha asignado una función general (COG R), otros cuya función es desconocida o no se le ha podido asignar a ningún COG anterior (COG S) y un último grupo en el que se incluyen muchas proteínas hipotéticas de las que no se ha podido obtener ninguna información. En el caso del COG R, 12 genes aparecen reprimidos (5.45%) y 19 inducidos (8.64%). Dos de los más inducidos (uno de ellos 11.4 veces) codifican para una familia de proteínas nombrada como UPF0175. Esta familia tiene asignado el COG2886, el cual mediante predicciones bioinformáticas se ha atribuido a un nuevo tipo de sistema de toxina-antitoxina. Este gen codificaría para la antitoxina de este sistema (Makarova et al., 2009). Dentro del COG S, la mayoría de genes (54 un 10.95%) se están induciendo, y 37 están siendo reprimidos (7.51%). Otro de los inducidos da lugar a una proteína que podría participar en la síntesis de los carotenoides, los cuales participan en la fotoprotección de las células, protegiéndolas del daño producido por la radiación (Reis-Mansur et al., 2019). Entre los reprimidos, muchos de los genes que aparecen codifican para proteínas que dan lugar a las vesículas de gas, cuya función es la de permitir flotar a las células hacia capas superiores de agua para evitar la falta de oxígeno (Oren, 2012), sin embargo en este caso su represión podría impedir que las células reciban mayor dosis de UVB. Por último, del total de las 78 proteínas hipotéticas de las que no se ha obtenido ninguna información sobre su función, 56 se están induciendo (20.51%) y 22 se están reprimiendo

(8.06%). Entre ellas, algunas se encuentran muy inducidas, con valores de fold change de más de 8, y otras muy reprimidas, hasta -13.

En resumen, en respuesta a la radiación UV, *Hqr. walsbyi* presenta muchas similitudes con *Sal. ruber*. Por un lado, se estaría produciendo una gran inhibición de la traducción, puesto que se reprimen los genes de numerosas proteínas ribosomales. La replicación y transcripción también se estarían inhibiendo: se reprimen genes esenciales de replicación que codifican como la proteína PCNA (abrazadera deslizante de la ADN polimerasa), la topoisomerasa IV y a la primasa PriS, y también genes relacionados con la maquinaria transcripcional, como la ARN polimerasa y también la proteína de unión a la caja TATA (TBP), que forma parte del complejo de pre-iniciación de la ARN polimerasa. Por otra parte, se inducen genes implicados en la reparación del daño en el ADN, como los que codifican RadA, y la endonucleasa V, implicada en un proceso de reparación alternativo (AER), además de la proteína Dps, implicada en la protección del ADN. El mobiloma se encuentra muy inducido, ya que se expresan numerosas transposasas. En cuanto al procesamiento celular, se observa la inhibición de la división celular y la inducción de genes relacionados con la reparación de las proteínas, como los que codifican sistemas de tiorredoxinas y glutaredoxinas. Como mecanismo de defensa se manifiesta la importancia de los sistemas toxina/antitoxina, ya que se observa la expresión de muchos de ellos, que podrían pertenecer a la familia de proteínas AbrB/MazE/SpoVT, o la proteína VapB, entre otros. En relación con el metabolismo, el ciclo de Krebs y la cadena de transporte de electrones se reprimen, así como la síntesis de nucleótidos, la glucólisis, el metabolismo de lípidos y el de coenzimas. Sin embargo, el metabolismo de iones inorgánicos y el de aminoácidos se está induciendo, y en concreto se observa la expresión de forma íntegra el grupo de genes que dar lugar al transportador tipo ABC de la urea. Por último, al igual que ocurre en *Sal. ruber*, destacar el alto número de genes con función desconocida o no clasificable, y el de proteínas hipotéticas, en su mayoría también inducidos.





# DISCUSIÓN

## DISCUSIÓN

### 1. La metagenómica funcional como técnica eficaz para detectar nuevos genes de resistencia a radiación UVB

Con el propósito de descubrir nuevos genes y estrategias moleculares de resistencia a radiación UVB de los microorganismos que habitan en ambiente hipersalinos, concretamente en salinas solares costeras, una de las aproximaciones empleadas en este trabajo ha sido la metagenómica funcional. Esta técnica permite acceder al potencial genético de todos los microorganismos de un determinado ambiente, sean cultivables o no, y una de las principales ventajas es que se pueden aislar genes funcionales sin un conocimiento previo de sus secuencias (Simon and Daniel, 2009). El empleo de metagenómica funcional ha permitido identificar numerosos genes implicados en resistencia a diversas condiciones extremas como metales (Mirete et al., 2007; Morgante et al., 2014), pH ácido (Guazzaroni et al., 2013), elevada salinidad (Kapardar et al., 2010; Culligan et al., 2012; Mirete et al., 2015) y perclorato (Díaz-Rullo et al., 2021). Además, en un trabajo previo de nuestro grupo de investigación esta técnica permitió identificar nuevos genes de resistencia a radiación UV, que codifican proteínas hipotéticas, de microorganismos de dos tipos de ambientes hipersalinos: lagunas del altiplano andino (Argentina) y salinas costeras (Es Trenc, Mallorca) (Lamprecht-Grandío et al., 2020). En ese estudio, ninguno de los genes identificados se asignaron a las dos especies más representativas de las salinas costeras, *Sal. ruber* y *Hqr. walsbyi*, que tienen diferentes mecanismos para adaptarse a estos ecosistemas acuáticos saturados de NaCl (J et al., 2000; Bolhuis et al., 2006). Sin embargo, en el cribado funcional de las bibliotecas metagenómicas de microorganismos de los dos cristalizadores de las salinas de “Bras del Port” (Santa Pola, Alicante) que se presenta en este trabajo, de los 8 fragmentos de ADN ambiental aislados que confieren resistencia a radiación UV, 5 se asignaron a *Hqr. walsbyi*, otros 2 a arqueas de la familia de *Halobacteriaceae* y 1 a *Sal. ruber*. En estos 8 fragmentos, se identificaron un total de 20 genes de los cuales 9 conferirían resistencia a radiación UV cuando se clonaron por separado y 7 de ellos, de dos clones diferentes (3 en C30.462 y 4 en CR30.500) proporcionarían resistencia cuando actúan conjuntamente. Entre los genes que codifican para proteínas conocidas algunos podrían estar implicados en la reparación de daño en el ADN, pero otros no se habían relacionado previamente con resistencia a radiación UV. Un resultado interesante fue la identificación de 7 genes que

codifican proteínas hipotéticas conservadas de función desconocida, a las que hemos podido asignar un fenotipo de resistencia a radiación.

Entre los genes que no estaban previamente relacionados con resistencia está el pCR30.92 *orf2* que codifica para una proteína similar a la proteína S10 de la subunidad 30S del ribosoma de *Hqr. walsbyi*. La proteína S10 ha sido identificada como un elemento arquitectónico importante en la subunidad ribosomal 30S (Mizushima and Nomura, 1970) y además, fuera del ribosoma, en bacterias, las proteínas S10 y NusB forman un heterodímero que actúa como un antiterminador ya que interacciona con la ARN polimerasa e impide la terminación de la transcripción de los genes en un operon (Gusarov, I and Nudler, E, 2001; Burmann† and Rösch, 2011). Concretamente se demostró la relevancia de este mecanismo en la transcripción de los operones ribosomales *rrn* en *E. coli*, asegurando que los ARNs 5S, 16S y 23S, que están en el mismo operon, se transcriban por igual (Aksoy et al., 1984). Hay que destacar que el incremento en la resistencia a radiación es un efecto específico de la sobreexpresión de la S10 de *Hqr. walsbyi*, ya que no se observó este fenotipo con la proteína S10 de *E. coli*. Una posible explicación, aunque no tenemos evidencias experimentales, es que la proteína S10 de *Hqr. walsbyi* sea más resistente a radiación que la de *E. coli*. El *orf1* de este mismo fragmento codifica un posible factor de elongación 1-alpha de la traducción, que, aunque no confiere resistencia a radiación cuando se sobreexpresa por separado, debe contribuir a la resistencia ya que el *orf2* (que codifica S10) no confiere tanta resistencia como el clon completo. Por otra parte, el clon con los dos genes, confiere una elevada resistencia a 4-NQO, el compuesto que imita el daño que produce la radiación UV en el ADN, lo que podría indicar que estaría relacionado con la reparación del ADN.

Otros genes identificados en este estudio no relacionados previamente con resistencia a UV son el *orf1* y el *orf2* del clon pCR30.472. El gen pCR30.472 *orf1* codifica una proteína similar a una dihidrofolato reductasa, enzima encargada de reducir el ácido dihidrofólico a ácido tetrahidrofólico (THF). Este último actúa como cofactor en varias rutas metabólicas, entre ellas la del ADN, ya que es capaz de transferir átomos de carbono a las purinas, por lo que podría favorecer la síntesis de nuevos nucleótidos para reparar el daño producido en el ADN (Wink, 1997). Además, el THF presenta actividad antioxidante (Suji and Sivakami, 2007), por lo que otra posibilidad es que podría contribuir a disminuir el estrés oxidativo causado por la radiación. El gen pCR30.472 *orf2*, que confiere una resistencia leve a radiación, codifica una proteína similar a la subunidad que constituye el núcleo 20S proteolítico del proteosoma 26S de eucariotas y arqueas, esta proteína regula la actividad del complejo proteico y determina su localización intracelular. Russel et al, 1999, demostraron que el proteosoma 26S desempeña un papel

importante en el mecanismo de reparación mediante escisión de nucleótidos (NER), de forma que participaría en la degradación de proteínas que participan en el complejo NER tras su actuación (Russell et al., 1999). El proteosoma no existe en bacterias, siendo difícil justificar el fenotipo de resistencia por la expresión de una unidad de este complejo, no obstante, el incremento de resistencia a radiación que confiere es leve, siendo más elevado el producido por el *orf1*. Por otra parte, la baja resistencia a 4-NQO que confiere el clon completo podría indicar que no está relacionado con la reparación del ADN.

El fragmento de ADN ambiental del clon pCR30.462 tiene tres genes asignados a *Hqr. walsbyi*, dos de ellos, *orf2* y *orf3*, codifican para proteínas conservadas hipotéticas y el otro, *orf1*, para una posible oligoendopeptidasa F, no previamente implicada en resistencia a radiación. Las oligoendopeptidasas F hidrolizan péptidos con un tamaño entre 7 y 17 aminoácidos (Monnet et al., 1994). En algunas especies del género *Deinococcus* se ha encontrado que el gen de la oligoendopeptidasa F se cotranscribe con el de la proteína DR1245, y ambas pueden estar implicadas en la regulación del tiempo de vida de muchas otras proteínas mediante la degradación de las mismas (Norais et al. 2013). También se ha analizado la posibilidad de que la oligoendopeptidasa F esté relacionada con señales de quorum sensing o señales intracelulares (regulación génica), por lo que podría estar implicada en multitud de procesos celulares (Monnet et al., 1994). Los genes de este fragmento clonados por separado confieren resistencia a 4-NQO, algunos muy elevada (*orf3*), por lo que podrían estar relacionados, aunque indirectamente, con algún mecanismo de reparación de ADN.

El plásmido recombinante pCR30.500 codifica para cuatro proteínas todas asignadas a *Hqr. walsbyi*, dos de las cuales son similares a proteínas relacionadas con reparación de ADN. El *orf1* codifica una proteína similar a SMC (structural maintenance of chromosomes), que pertenece a una familia de proteínas presentes en todos los dominios de la vida y forma diferentes complejos con otras proteínas, todos ellos involucrados en la segregación y organización cromosómica, requeridos para la reparación del daño del ADN y para el mantenimiento de la estabilidad genómica (Wu and Yu, 2012; Uhlmann, 2016). El *orf2* codifica para una proteína similar a NurA, una nucleasa de reparación de ruptura de doble cadena de ADN y los otros dos ORFs codifican una proteína conservada hipotética (*orf3*) y una proteína de unión a ATP (*orf4*), no previamente relacionadas con reparación de ADN. Se ha demostrado que uno de los daños producidos por la radiación UV es la rotura de doble cadena del ADN (DSB) y uno de los mecanismos de reparación es la recombinación homóloga (HR) (Kreuzer, 2013). Aunque se sabe poco sobre este mecanismo en arqueas, la proteína SMC y NurA podrían estar actuando de manera similar a los mecanismos en eucariotas, de modo que, al producirse daños

en el ADN, diferentes proteínas del complejo proteico SMC podrían estar siendo reclutadas para el DSB y con la ayuda de las proteínas de unión a ATP, pueden reparar el daño por la vía HR (Vries and Metzloff, 2000; Wu and Yu, 2012). La proteína NurA posee actividad exonucleasa/endonucleasa 5'-3' tanto en la cadena simple como doble del ADN y se ha visto que puede tener un papel importante en la reparación de los fotoproductos producidos por la radiación UV (Fujii et al., 2018). En arqueas, además, se ha comprobado que posee un papel importante en la reparación del ADN y en la segregación cromosómica. Los investigadores Hopkins y Paull propusieron un modelo en arqueas para el mecanismo de la proteína NurA. Según ellos, esta proteína junto con Mre11, Rad50 y HerA llevarían a cabo el procesamiento de los extremos del ADN tras la reparación de la doble hélice, de forma que el complejo MR (Mre11 y Rad50) estarían implicados en el proceso inicial de reconocimiento del daño y activarían a HerA/NurA las cuales producirían cortes en el extremo 5' de la doble cadena de ADN y permitirían la actuación de proteínas como RadA, homóloga a RecA en arqueas (Hopkins and Paull, 2008). Hay que resaltar que estos genes implicados en reparación de daño en el ADN en la arquea *Hqr. walsbyi* pueden realizar su función en *E. coli* y no son incompatibles con su maquinaria de reparación, apoyado por el fenotipo de resistencia a 4-NQO cuando se expresan separadamente,

A partir de la biblioteca metagenómica de microorganismos del cristalizador CCAB se obtuvieron dos fragmentos ambientales que codifican para proteínas similares a otras relacionadas con la resistencia al estrés: el *orf2* de pCCAB.112, un regulador de respuesta asignado a la arquea *Halovenus* (familia *Halobacteriaceae*); y el *orf2* de pCCAB.241, una proteína similar a un sensor histidina kinasa con dominio PAS, asignado a *Hqr. walsbyi*. Los reguladores de respuesta pueden mediar en la respuesta de la célula a los cambios en su entorno y forman parte de un sistema de dos componentes: una proteína histidina quinasa (HPK) y un regulador de respuesta (RR) (Gao et al., 2007). Este regulador de respuesta del pCCAB.112 presenta una predicción de dominio de unión a ADN y podría funcionar como un regulador transcripcional (Galperin, 2006), detectando cambios en el medio ambiente causados por UVB por interacción con alguna HPK de *E. coli*, o directamente su sobreexpresión estaría activando la transcripción de otros genes implicados en protección celular frente a la radiación. Por otra parte, el clon pCCAB.241 codifica un sensor histidina kinasa con PAS, un tipo de dominio que detecta pequeñas moléculas o cambios ambientales en oxígeno, potencial redox, luz u otros estímulos, y hace que este sensor desencadene una respuesta activando el RR (Taylor and Zhulin, 1999). En el mismo fragmento de ADN ambiental no se encuentra el correspondiente RR, lo que dificulta comprender su función en *E. coli* ya que tendría que interactuar y activar otros RR de

la bacteria huésped relacionados con protección frente a radiación. El fenotipo de resistencia a 4-NQO que confieren los genes de pCCAB.112 y pCCAB.241 aunque son moderados, indicaría su posible función en reparación del daño producido en el ADN.

Un resultado importante ha sido el descubrimiento de 7 proteínas conservadas hipotéticas de función desconocida a las que con este trabajo se las ha relacionado con resistencia a radiación UV, y algunas de ellas además a nitroquinolina y a perclorato. Algunas de ellas confieren resistencia cuando son clonadas por separado: pCR30.534 *orf1* y *orf2* (asignados a la bacteria *Sal. ruber*), pCCAB.65 *orf2* (asignado a la arquea *Natromonas*) y pCCAB.112 *orf1* (asignado a la arquea *Halorubrum*). En el caso de las proteínas hipotéticas codificadas pCR30.534 *orf2* y pCCAB.65 *orf2* podrían estar relacionadas con la reparación del ADN ya que en ambos se predijo la presencia de dominios de unión al ADN, y además producen resistencia a nitroquinolina y a perclorato. Por otra parte, en la proteína codificada por pCCAB.112 *orf1* no se detectaron dominios de unión al ADN, ni confiere resistencia a 4-NQO por lo que el mecanismo de resistencia podría estar relacionado con defensa frente a estrés oxidativo u otro tipo de daño más específico. Las otras tres proteínas hipotéticas, pCR30.462 *orf2* y *orf3* y pCR30.500 *orf2* no confieren resistencia a radiación cuando se clonan por separado, aunque si a 4-NQO y perclorato. Además, tienen predicciones de unión a ADN, por lo que podrían estar relacionadas con reparación del ADN.

El empleo de la técnica de metagenómica funcional con los microorganismos de ambientes hipersalinos de salinas costeras ha permitido identificar nuevos genes de resistencia a la radiación UV, algunos de ellos no previamente relacionados con esta función. Será necesaria una detallada caracterización in vivo e in vitro de las proteínas codificadas por los genes identificados para poder determinar de forma más específica los mecanismos moleculares implicados en la resistencia a la radiación.

## 2. Mecanismos de adaptación al daño producido tras la irradiación UVB en *Salinibacter ruber*

### a. Adaptación de los procesos relacionados con la información contenida en el ADN y su procesamiento

La radiación UV es capaz de afectar al ADN de forma directa o indirecta, causando daños graves en los microorganismos (Svobodová et al., 2003). Por ello, la regulación de los procesos de replicación, transcripción y traducción de la información genética es esencial para la supervivencia. Mediante la replicación se copia el genoma entero de los microorganismos y las enzimas encargadas de catalizar ese proceso se denominan ADN polimerasas (Cooper, 2000). También son necesarias otras enzimas llamadas helicasas, esenciales para el inicio de la replicación ya que se encargan de desenrollar el ADN. Una vez desenrollado (Figura 25), se pueden unir diferentes proteínas para estabilizar la cadena. En la siguiente etapa de elongación se van añadiendo nuevos nucleótidos y, finalmente, la terminación ocurre cuando las horquillas de replicación de ambos cromosomas se encuentran en la región terminal del genoma (Cooper, 2000).

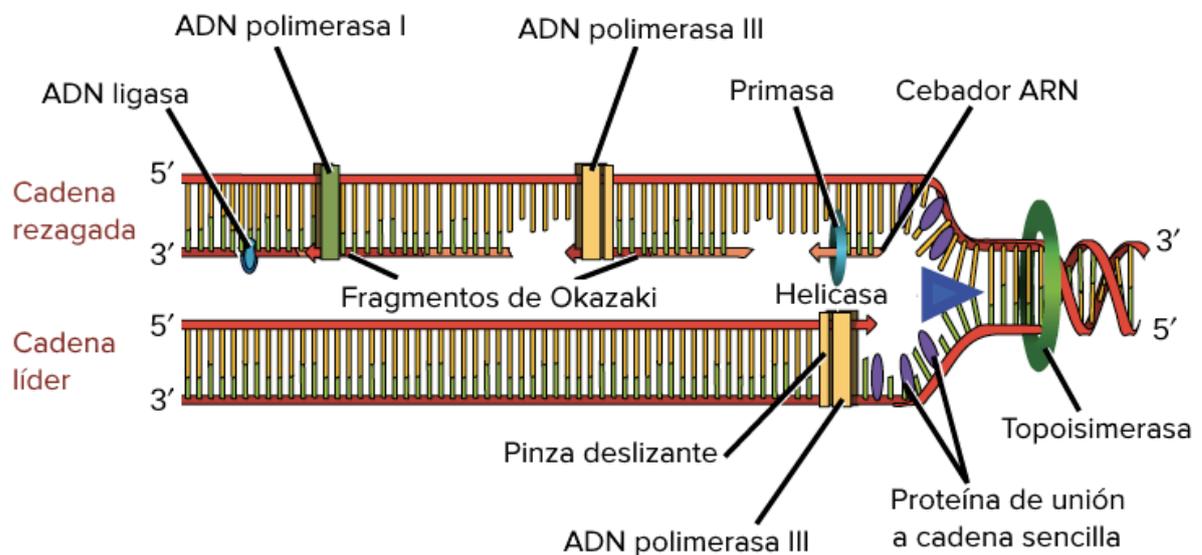


Figura 25. Esquema del proceso de la replicación del ADN y las diferentes enzimas que participan en el proceso

Tras la radiación UVB, en *E. coli* se ha descrito la represión temporal de la replicación del ADN lo que podría dar tiempo para la reparación de las lesiones y evitar que las ADN y ARN

polimerasas queden atrapadas en las mismas y ocasionen daños peores (Setlow et al., 1963; Doudney, 1990; Courcelle et al., 2003). Después de la irradiación de *Sal. ruber* se dejaron recuperar las células durante una hora, lo que podría haber facilitado la reparación de los daños y que la replicación continuase. A nivel transcripcional se ha observado que tanto en la recuperación en luz como en oscuridad se reprime el gen *holA* que codifica la subunidad  $\delta$  de la ADN polimerasa III, lo que podría indicar que la replicación estuviese aún inhibida aunque parcialmente. Por otra parte, se induce *gyrA* que codifica la ADN girasa (topoisomerasa de Tipo II) necesaria para la correcta replicación. Se trata de una enzima que introduce superenrollamientos negativos en el ADN, relajando las tensiones producidas en el ADN al abrirse las dos hebras (Drlica and Zhao, 1997), función que además se observó que es necesaria para la eficiencia del sistema NER en *E. coli* (Park and Ahn, 2000). Otro de los genes inducidos es *xseA*, que da lugar a la exonucleasa VII (ExoVII), una nucleasa capaz de degradar el ADN monocatenario. La ExoVII participaría en el proceso de recombinación homologa que se pondría en marcha para reparar las roturas de hebra del ADN causadas por la radiación UV. Estas roturas de hebra (simples, SSBs, o dobles, DSBs) se producen tras bloquearse la replicación en aquellas zonas donde las horquillas de replicación colapsan por daños en el ADN (Batista et al., 2009). En estas regiones, la ADN girasa puede verse atrapada, pero gracias a la actividad de la ExoVII, el ADN de cadena simple puede degradarse y liberar a la ADN girasa, la cual ayudaría a la reparación y replicación del ADN, ya que facilita el acceso a las proteínas encargadas de la reparación (Huang et al., 2021). Un gen que sorprendentemente aparece reprimido es el que da lugar a la proteína RecN. Este gen normalmente se induce rápidamente tras el comienzo de la respuesta SOS, y RecN reconoce y se mantiene unida el ADN en la zona donde se ha producido el daño de cadena doble (DSBs) (Meddows et al., 2005). Sin embargo, su represión podría estar teniendo un papel protector de la ADN girasa, ya que en experimentos llevados a cabo por Devigne et al., (2019) vieron que aquellos mutantes bacterianos carente del gen *recN* eran menos sensibles a dos inhibidores de la ADN girasa, la novobiocina y el ácido nalixídico. Según estos investigadores, la proteína RecN participa en el mantenimiento de la interacción entre cromátidas hermanas mientras que la ADN girasa disminuye esta interacción, permitiendo la segregación de los cromosomas cuando termina la replicación del ADN. Por lo que, en ausencia de la proteína RecN, la ADN girasa podría actuar de forma más eficiente (Devigne et al., 2019). Otra explicación es que después de una hora de recuperación tras la radiación, ya se hayan reparado los DSBs y no sea necesaria la expresión de más RecN, por lo que se inhibiría la transcripción de *recN*. Otro de los genes que aparecen inducidos tras la irradiación relacionados con la reparación es *recJ* que codifica una proteína con actividad exonucleasa esencial a la hora

de degradar los sitios abásicos (AP sites) formados durante los procesos de reparación de escisión de bases (BER) (Dianov et al., 1994). Estas zonas abásicas pueden acabar produciendo daños en ADN monocatenario bloqueando los extremos 3' o 5', lo que impediría que fuese usada como molde para la ADN polimerasa o la ADN ligasa (Boiteux and Guillet, 2004). La actividad 5' exonucleasa de la proteína RecJ permitiría la liberación de estos extremos y por lo tanto una correcta reparación del daño (Han et al., 2006).

Entre los genes exclusivos tras la recuperación en presencia de luz, se están induciendo dos genes relacionados directamente con la reparación del daño en el ADN. Por un lado, la proteína RadC, capaz de reparar el daño en la doble hélice del ADN mediante recombinación homóloga (DSB), promoviendo la hibridación del ADN monocatenario; también puede eliminar los 6-4 fotoproductos (Okaichi et al. 1995). Estos investigadores también demostraron que se produce un aumento de esta proteína tras la irradiación con UVB. El otro gen inducido, directamente relacionado con la resistencia a UVB, es el que da lugar a la proteína RecF, la cual forma parte del complejo RecFOR de reparación del ADN. Desempeña un papel importante en la resistencia a UVB mediante la reparación homóloga al estabilizar la proteína RecA en el lugar del daño en el ADN (Chang et al., 2010). En recuperación en oscuridad, dentro de este grupo solo vemos inducidos dos genes relacionados con proteínas de unión a ADN que podrían a estabilizar la cadena, aunque se desconoce la función precisa.

En cuanto a la transcripción, los resultados indican que después de la recuperación aún habría inhibición de algunos genes que codifican los componentes de la ARN polimerasa implicada en este proceso, como las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  (esta última solo en recuperación en luz). En el caso de la recuperación en luz, se inhibe el gen que codifica la proteína Mfd, que puede coordinar la liberación de la ARN polimerasa atrapada en una lesión y dirigir una enzima para que repare el daño (Selby, 2017). Es posible que al final del periodo de recuperación en luz se hayan reparado la mayoría de los daños, lo que explicaría la inhibición de este gen. Por otra parte, se observó la inducción del factor sigma-70 de la ARN polimerasa, responsable de la transcripción de genes constitutivos esenciales para el funcionamiento de la célula. Además, se inducen o reprimen diversos reguladores de la transcripción, que controlan de forma específica la expresión de diferentes grupos de genes, lo que explicaría los importantes cambios transcripcionales observados tras la exposición a radiación UVB. Concretamente, la mayoría de genes inducidos codifican para represores de la transcripción. Los factores transcripcionales generalmente están compuestos por dos dominios, un dominio sensor, que detecta cambios internos o externos, y otro dominio que interactúa con el ADN. Los represores actúan uniéndose a un operador determinado en ausencia de un inductor (Latchman, 1993; Ishihama, 2010).

Generalmente, se unen a una secuencia determinada en la zona del promotor, o entre el promotor y el gen, impidiendo la unión de la ARN polimerasa o interrumpiendo la elongación de la cadena polipeptídica. Este último caso es el mecanismo llevado a cabo por el regulador transcripcional de la familia TetR (Ramos et al., 2005), al igual que la familia LacI y MarR, que actúan también como represores. La radiación UVB puede producir especies reactivas del oxígeno (ROS), las cuales elevan los niveles de estrés en las células. Estos factores represores de la transcripción podrían estar ayudando a la paralización de la transcripción de genes implicados en procesos celulares que incrementen el estrés oxidativo bajo estas condiciones, facilitando la expresión de genes que puedan ayudar a la reparación del daño. Por otra parte, la elongación del ARNm también se encuentra muy controlada. Uno de los factores que participa en este proceso es el factor NusG, el cual vemos altamente reprimido tras la irradiación. Esta es una proteína esencial que aumenta el proceso de terminación dependiente de Rho, las tasas de elongación y de antiterminación (Zellars and Squires, 1999). Se trata por lo tanto de una familia de proteínas que ayudan con la progresión de la ARN polimerasa y que une la transcripción con otros procesos celulares (Bossi et al., 2019). Su represión puede deberse a un mecanismo de defensa celular, para evitar que progrese la transcripción de ciertos genes que pueden haber sufrido mutaciones perjudiciales.

Entre los genes exclusivos tras la recuperación en luz y en oscuridad, los factores transcripcionales también tienen funciones importantes y están muy representados. En luz concretamente aparecen inducidos cuatro, pertenecientes a las familias Lrp/AsnC, TetR, Rrf2 y LysR, y que en otras bacterias se encargan de regular la expresión de multitud de genes que participan en procesos muy diversos, como la producción de bombas de eflujo de sustancias tóxicas, biosíntesis de antibióticos, respuesta a estrés osmótico, control de procesos catabólicos y procesos de diferenciación (Ramos et al., 2005; Park et al., 2020). Además, la familia Lrp/AsnC también regula el metabolismo en respuesta a condiciones de estrés (Matarredona et al., 2021). También encontramos en luz la inducción del gen que codifica el factor de elongación GreA, el cual ha visto que puede actuar como una chaperona, ayudando en el plegamiento de las proteínas y promoviendo la activación de proteínas desnaturalizadas. Además, también participa en la resistencia a diferentes tipos de estrés protegiendo a la ARN polimerasa (RNAP) (Li et al., 2012b). En oscuridad destaca la inducción de un gen relacionado con la familia de proteínas PspA. Esta proteína pertenece al sistema Psp que se induce bajo ciertas condiciones de estrés capaces de desestabilizar las membranas. Al detectar bloqueo en la síntesis de fosfolípidos o modificaciones en la composición de ácidos grasos en las membranas, se induce la proteína PspA. Según un modelo, esta proteína se uniría bajo estas condiciones

específicamente a unos fosfolípidos de la membrana interna (a la fosfatidilserina (PS) y al fosfoglicerol (PG), pudiendo modificar la rigidez de las membranas y facilitando el mantenimiento de la fuerza protón-motriz, ayudando a mantener el estado energético normal de las células (Kobayashi et al., 2007; Thurotte et al., 2017).

En el proceso de traducción de proteínas intervienen los ribosomas, constituidos por moléculas de ARN y proteínas ribosomales, ARNs de transferencia, así como factores de iniciación y elongación. Como respuesta a la radiación tanto en recuperación en luz como en oscuridad, en *Sal. ruber* se observa la inhibición de un gran porcentaje de genes que codifican proteínas ribosomales, así como de algunos factores de iniciación y elongación, aunque también se observa en menor porcentaje la inducción de genes relacionados con otras proteínas ribosomales. En un estudio realizado con tres microorganismos (*E. coli* y las levaduras *Saccharomyces pombe* y *S. cerevisiae*) se propuso que hay una respuesta específica de la síntesis de proteínas para adaptar la respuesta celular al daño producido por la radiación UV, promoviendo la expresión de determinadas proteínas para reparar las lesiones y mantener la homeostasis celular (Rooney et al., 2011). Además, la síntesis de proteínas depende de la estabilidad del ARN, el cual puede sufrir, al igual que el ADN, daños oxidativos debido a la radiación, incluso en muchos casos el daño en el ARN es superior al sufrido en el ADN (Wamer and Wei, 1997). Una de las razones del aumento del daño oxidativo en el ARN es que, a diferencia del ADN, los mecanismos de reparación no son tan eficientes. Por ejemplo, los CPD que se producen en el ADN son activamente reparados por las fotoliasas en muchos microorganismos, sin embargo, la relevancia de las fotoliasas en el ARN es mínima, lo que dificulta la eliminación de los CPD en el ARN. La consecuencia final es un aumento en los defectos de la traducción, lo que acaba provocando daños en los ribosomas. Entre los daños se ha visto un aumento de los niveles de 8-oxoguanina en los ARN ribosómicos, que se produce por la oxidación de la guanina por las especies reactivas del oxígeno (Wurtmann and Wolin, 2009).

Sin embargo, las proteínas ribosomales pueden tener diferentes funciones más allá de la participación en la síntesis de proteínas. En función de su nivel de expresión, pueden participar en la expresión génica, la replicación y reparación del ADN e incluso regulando la propia transcripción (Bhavsar et al., 2010). Entre las que aparecen inducidas encontramos la proteína S12, que participa en el proceso de plegado del fago T4 (Clodi et al., 1999); la S21, que promueve la maduración del extremo 3' de la subunidad 18S del ARNm en *S. cerevisiae* (Tabb-Massey et al., 2003); y la L13, que es un antiterminador de la transcripción. Dentro de los reprimidos, aparecen la S3 y S4, las cuales están relacionados con el plegamiento de las cromátidas, aunque el S4 también puede participar como antiterminador de la transcripción, así como la S10 y L3

(Bhavsar et al., 2010). Su represión favorece a su vez el avance de la transcripción. Otro de los resultados destacables es la represión del factor de iniciación de la traducción 2 (IF2). Análisis llevados a cabo por Powley et al (2009), demostraron que en eucariotas, la radiación UV puede dar lugar a una represión de la traducción mediante la fosforilación del factor de iniciación de la traducción  $\alpha$  (eIF2 $\alpha$ ), lo que produce una reprogramación de la traducción con el fin de aumentar la síntesis de proteínas necesarias para reparar el daño, en concreto proteínas del sistema NER (Powley et al., 2009). Entre los genes exclusivos tras la recuperación en oscuridad, muchas de las proteínas ribosomales se encuentran curiosamente inducidas, mientras que en luz las dos únicas que aparecen, L5 y S5, se están reprimiendo y son cruciales para el ensamblaje de los ribosomas en bacterias (Korepanov et al., 2012).

Respecto al mobiloma, aparecen tanto inducidos como reprimidos genes que codifican distintas familias de trasposasas. Se trata de enzimas que catalizan el movimiento de un transposón, que es una secuencia de ADN que puede replicarse e insertar una copia de si misma en una nueva región del genoma (Polard and Chandler, 1995). La interacción entre los procesos de reparación y la inducción de los sistemas de transposición desempeña un papel importante en la manifestación de una adecuada repuesta de los organismos a diferentes niveles de estrés. La radiación UVB pueden generar inestabilidad genética, y las trasposasas pueden ayudar a la reparación del daño eliminando las zonas del ADN dañadas, las cuales posteriormente serán reparadas por diferentes mecanismos (Yushkova and Zainullin, 2016). Además, al insertarse en otras partes del genoma, producen variabilidad genética, debido a las mutaciones, duplicación de genes o alteraciones en la regulación génica, lo que puede resultar de gran utilidad a la hora de enfrentarse a diferentes tipos de estrés, ya que pueden ayudar a que se generen nuevas estrategias de adaptación (Capy et al., 2000; Kazazian, 2004).

#### **b. Adaptación de la señalización y procesamiento celular**

Debido al daño producido por la radiación UVB tanto en el ADN como en otros componentes celulares, se ponen en marcha diferentes mecanismos relacionados con la señalización y el procesamiento celular, que ayuden a sobrevivir a los microorganismos. Entre estos mecanismos encontramos una represión de la división celular, ya que se inhiben los genes que codifican proteínas implicadas en la formación del septo entre las dos células hijas, como la familia de proteínas FtsW/RodA/SpoVE, FtsQ/DivIB y FtsZ (esta última sólo en recuperación de luz) aparecen reprimidas. El arresto de la división celular es un mecanismo común en las células

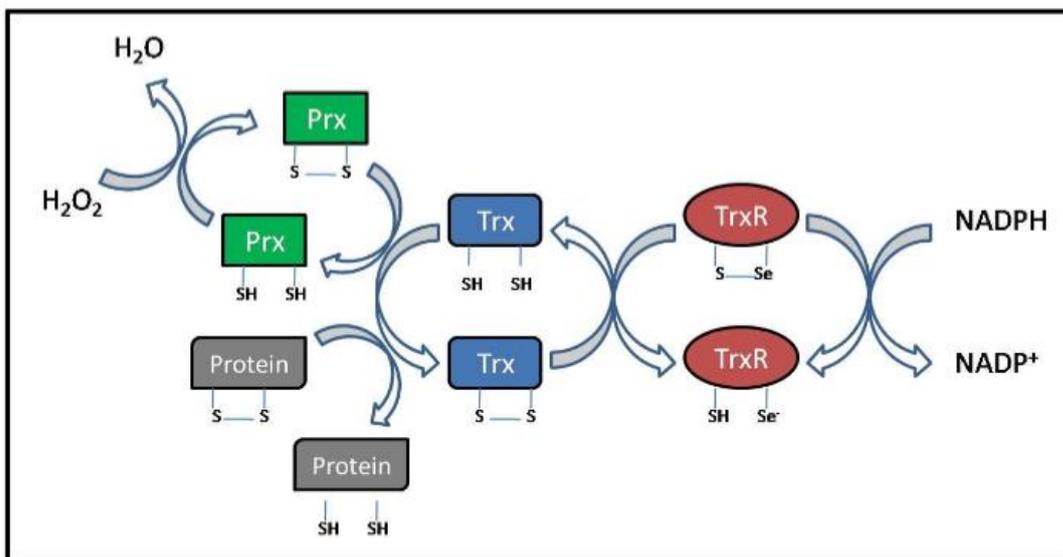
como respuestas a diferentes tipos de daño, asegurándose así tiempo suficiente para la reparación (Gentile et al., 2003).

En los resultados podemos observar como la envuelta celular está siendo significativamente muy afectada, ya que aparecen numerosos genes reprimidos (24 frente a 7 inducidos) muchos de ellos implicados en la síntesis de polisacáridos, como glucosiltransferasas, aunque se desconoce su función precisa. Este resultado era esperable considerando que se inhibe la división celular y por tanto se detiene el crecimiento de la envuelta celular. Por otra parte, relacionado con la envoltura celular, se reprimen proteínas de la familia TolC, encargadas del transporte de una gran diversidad de moléculas a través de la membrana (Koronakis et al., 2004). Se ha propuesto un modelo según el cual la inactivación de estas proteínas puede afectar al transporte de protones y la síntesis de ATP, por lo que las células reponderían aumentando la expresión de genes relacionados con el metabolismo central; disminuyendo genes relacionados con el metabolismo de nitrógeno y la división celular. Pero también pueden aumentar la expresión de genes relacionados con la detoxificación y la protección frente a estrés oxidativo (Santos et al., 2012).

Dentro de categoría COG de modificaciones postraduccionales, chaperonas y recambio proteico (O) se ha observado la inducción de genes esenciales en la respuesta al daño producido por la radiación UV en las proteínas. Como consecuencia de la presencia de ROS en las células, uno de los efectos más dañinos para las proteínas es la oxidación del átomo de sulfuro presente en las metioninas, lo que da lugar al sulfóxido de metionina (MetO), y que puede resultar en dos formas de estereoisómeros diferentes (R-MetO y S-MetO) (Vogt, 1995; Achilli et al., 2015). La enzima encargada de reducir a la MetO es la sulfóxido de metionina reductasa (MSR) (Singh et al., 2018). Existen dos tipos de enzimas MSR, la MSRA y MSRB, encargadas cada una de reducir una forma estereoisómera diferente (Stadtman et al., 2002). La MsrA, reduce la S-MetO y aparece inducida más de 4 veces entre los genes comunes tras la irradiación con UVB, mientras que la MsrB se encuentra reprimida entre los genes exclusivos de luz, quizás porque en esta condición no se favorezca la formación del otro estereoisómero, R-MetO. En resumen, la enzima MsrA constituye un importante mecanismo antioxidante necesario para resistir las condiciones de estrés producidas por la radiación.

Otro de los genes inducidos en esta categoría codifica para la tiorredoxosina (Trx), una enzima oxidorreductasa que reduce residuos de cisteína oxidados y puentes disulfuro formados en determinadas proteínas como resultado de la presencia de ROS en las células. Además, la Trx reduce los niveles de ROS actuando como antioxidante (concretamente puede reducir  $H_2O_2$  y

otros peróxidos). Las Trx se mantienen en estado reducido por la enzima tiorredoxina reductasa (TR), con la que forma el sistema Trx/TR. Este sistema, además de ser relevante en la protección frente al estrés oxidativo, tiene una función importante en la modulación de ciertos factores de transcripción, en la síntesis de dNTPs y en el crecimiento celular. En condiciones de estrés oxidativo, los niveles de Trx aumentan, lo que puede activar a su vez a aquellos factores de transcripción responsables de elevar más aun la cantidad de Trx y otros antioxidantes. Por tanto, el sistema Trx/TR protegería a las células de los efectos del estrés oxidativo causado por la radiación UV (Figura 27) (Harel and Storz, 2000; Didier et al., 2001; Schallreuter and Wood, 2001; Karimpour et al., 2002; Karlenius and Tonissen, 2010).



**Figura 27. Mecanismo de acción del sistema tiorredoxina/tiorredoxina reductasa (Trx/TR).** La Trx reducida cataliza la reducción de los enlaces disulfuros de proteínas celulares oxidadas. En ese proceso la Trx se oxida, pero finalmente vuelve a su forma reducida gracias a la acción de la TR (Karlenius and Tonissen, 2010)

Entre los genes implicados en las modificaciones postraduccionales se observó la represión del que codifica la proteína SmpB de unión a SsrA. Esta proteína es esencial para promover la liberación de los ribosomas detenidos cuando traducen un ARN truncado o degradado antes de llegar al codón de terminación y marcar los polipéptidos producidos para su posterior degradación por el complejo ATPasa-proteasa ClpXP (Gottesman et al., 1998; Thibonnier et al., 2008). La represión de este gen tendría sentido considerando que el proceso de traducción se ha visto posiblemente reducido después de la irradiación con UV, como resultado de la represión de numerosas proteínas ribosomales.

Las chaperonas son otro grupo de proteínas esenciales para el correcto plegamiento de las proteínas afectadas por la exposición a radiación UV y las ROS generadas. En *Sal. ruber*, se

inducen varios genes que codifican chaperonas como las Hsp20, que podría prevenir la agregación de proteínas, formando complejos estables con las mismas (Li et al., 2012a). Además, varios miembros de la familia de proteínas HSP (heat shock protein) presentan un papel protector contra el daño producido por la radiación y, en concreto, estudios recientes han demostrado que la Hsp20 es capaz de inhibir los niveles intracelulares de ROS en su forma fosforilada (Trautinger et al., 1996; Bao et al., 2020). Además, se está sobreexpresando el complejo proteico GroEL/GroES: GroEL es una chaperonina y GroES la co-chaperonina, y son esenciales para la viabilidad de bacterias como *E. coli*, aumentando su expresión bajo condiciones estresantes como la radiación UV y el estrés oxidativo (Susin et al., 2006).

Los sistemas de degradación de proteínas intracelulares son esenciales para eliminar proteínas que no se han sintetizado o plegado correctamente, han sido dañadas o se agregan, y además permiten el recambio proteico proporcionando componentes para la síntesis de otras proteínas. Diversos tipos de estrés, incluyendo la radiación UV, tienen como resultado un incremento en el número de proteínas y polipéptidos dañados, cuya acumulación tendría un efecto tóxico y causaría la muerte celular. En *Sal. ruber* la exposición a radiación UVB induce varios genes que codifican subunidades proteolíticas de diferentes complejos de AAA+ (ATPasas asociadas con diversas actividades celulares) ATPasa-proteasas, como HslV y ClpP (Mahmoud and Chien, 2018). Este tipo de proteasas emplean la hidrólisis de ATP para reconocer, desplegar, trasladar y degradar polipéptidos o proteínas dañados, por lo que su sobreexpresión ayudaría a la supervivencia de las células expuestas a radiación UV.

Respecto a la categoría de transducción de señales, la exposición de *Sal. ruber* a radiación UVB ha afectado a la expresión de genes que codifican proteínas con dominio PAS: un gen inducido y otro reprimido entre los comunes a recuperación en luz y oscuridad, y tres reprimidos en oscuridad. Estas proteínas están ampliamente distribuidos entre todos los dominios de la vida: bacteria, arquea y eucaria, detectan pequeñas moléculas o variaciones ambientales en oxígeno, potencial redox, luz u otros parámetros, desencadenando una respuesta que afecta a multitud de procesos celulares (Taylor and Zhulin, 1999). Además, dentro de este grupo aparecen inducidos dos genes que codifican para una rodopsina sensorial, una halorrodopsina y, en la recuperación en oscuridad para una xantorrodopsina. La halorrodopsina utiliza la energía de la luz para transportar iones cloruro a través de la membrana hacia el interior de la célula, equilibrando la concentración de cloruro intracelular con la del ambiente (Schobert and Lanyi, 1982). La xantorrodopsina es una bomba de protones activada por luz, transportando los protones contra gradiente al medio extracelular y por tanto está implicada en el mantenimiento de un gradiente de protones. El gradiente generado se convierte

en energía química, ATP, mediante la ATP sintasa (Balashov et al., 2005). Es interesante la inducción de la transcripción de su gen en condiciones de oscuridad, que podría deberse a la percepción de la célula de la radiación UVB. Por otra parte, la rodopsina sensorial funciona como un receptor de luz, y al absorberla genera una señal que se transmite al motor flagelar lo que desencadena la motilidad de la célula. (Spudich and Bogomolni, 1984; Lutz et al., 2001). Este resultado concuerda además con la inducción que se está produciendo tras la irradiación del gen que da lugar a la proteína flagelar FliS, fundamental para el ensamblado flagelar ya que previene la polimerización prematura de flagelinas; de hecho, mutantes para FliS quedan paralizados y sin flagelo (Lam et al., 2010). Además, se induce CheW, que en *Salmonella enterica* participa junto a RecA en la respuesta SOS frente al daño en el ADN, interfiriendo en el movimiento en enjambre (“swarming”) de las bacterias (Irazoki et al., 2016). Este movimiento produce una translocación rápida y organizada de las células esencial para que las bacterias colonicen nuevas superficies. Las dos proteínas (CheW y RecA) se encuentran en equilibrio dentro de las células, pero si este equilibrio se desestabiliza debido a un aumento en la concentración de RecA como respuesta al daño en el ADN, la proteína CheW detiene su función, adaptando así la movilidad de las células en función del daño (Irazoki et al., 2016). En *Sal. ruber* no se ha observado la inducción del gen *recA* en las condiciones empleadas, es decir, después de una hora de recuperación en luz u oscuridad, lo que podría favorecer la motilidad celular si existe una interacción similar entre CheW y RecA. Además, la acción conjunta de la rodopsina sensorial, FliS y CheW puede estar ayudando a las células irradiadas a desplazarse hacia ambientes más favorables, donde reciban menos dosis de radiación UV.

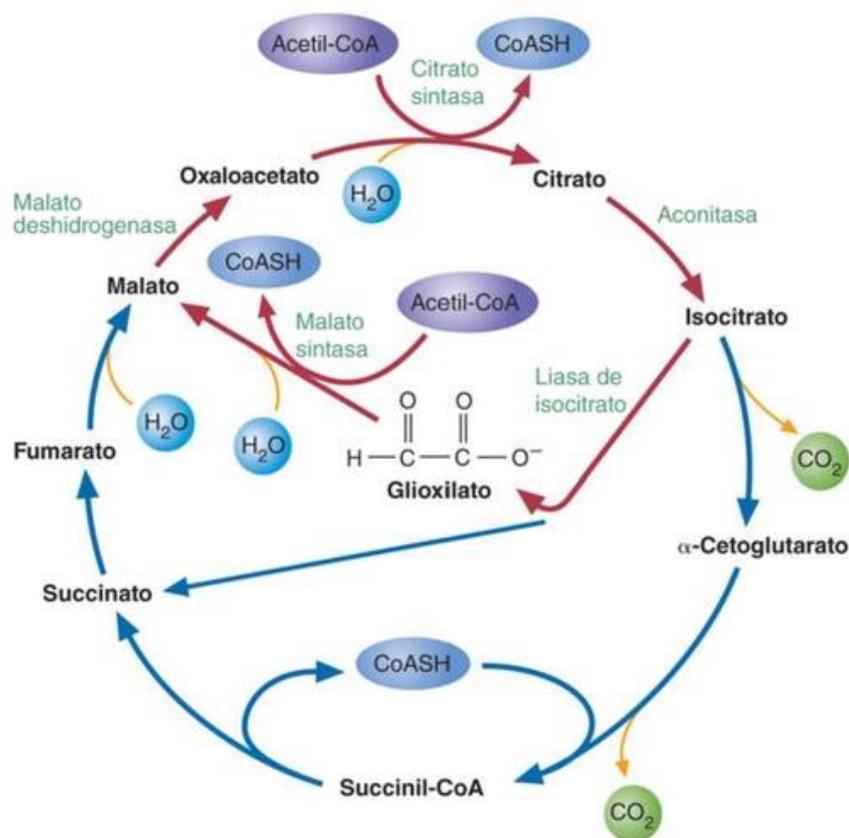
En cuanto a los genes relacionados con secreción de proteínas, encontramos inducido (3.8 veces) el que codifica una subunidad de la familia TatA/TatE del sistema TAT (Twin Arginine Translocation) que está compuesto por proteínas integrales de membrana y exporta al exterior de la célula proteínas plegadas con un péptido señal en el N-terminal con dos argininas (Berks et al., 2000) (Berks et al., 2000). En *E. coli* se observó que mutantes en el sistema TAT presentaban problemas en la integridad de la envuelta celular, al no poder exportar proteínas implicadas en el metabolismo de la pared celular (Ize et al., 2004). En *Sal. ruber* expuesto a radiación UV, pese a que se ha observado la represión de numerosos genes que codifican enzimas relacionadas con la síntesis de pared celular, también se inducen otras enzimas que la remodelan y degradan, así que tendría sentido la inducción del sistema TAT para exportar algunas de estas enzimas. Por otra parte, se demostró que el sistema TAT de translocación es más eficiente al sobreexpresarse la proteína PspA, cuyo gen se induce en *Sal. ruber* tras la irradiación con UVB (DeLisa et al., 2004).

En relación con los genes de la categoría de defensa, destaca la inducción del que codifica la proteína Dps de protección del ADN en fase estacionaria. La proteína Dps posee varios mecanismos de acción, entre ellos actúa como un escudo protector, condensándose en los cromosomas e impidiendo el daño en el ADN producido por peróxidos u otros componentes, evitando roturas de cadena simple o de cadena doble. (Nair and Finkel, 2004).

### **c. Adaptación del metabolismo celular**

Como se ha descrito previamente, varios procesos celulares se encuentran inhibidos, como la replicación del ADN, la división celular, la traducción de proteínas, etc. Por ello es previsible que las células requieran menos energía para su funcionamiento. En efecto, hemos observado que también se inhiben numerosos genes implicados en la producción de energía, en el metabolismo de lípidos y en el de carbohidratos.

Primero, se observa una inhibición de la cadena de transporte de electrones, ya que los genes que dan lugar a la NADH:ubiquinona oxidoreductasa, citocromo oxidasa y la ATP sintasa se están reprimiendo. Por un lado, puede ser debido a que la necesidad energética de la célula sea menor, ya que vemos inhibidos la replicación, división celular y traducción. Pero también, al inhibir la cadena de transporte, se disminuyen la cantidad de ROS generados como consecuencia de las últimas reacciones de la cadena de transporte (Larosa and Remacle, 2018). También se reprimen enzimas implicadas en el ciclo de Krebs, como la piruvato deshidrogenasa, la succinato deshidrogenasa y la isocitrato deshidrogenasa. Estos resultados nos están indicando que en *Sal. ruber*, tras ser sometido a radiación UV, se promueve un acortamiento del ciclo de Krebs, dando lugar al ciclo del glioxilato, por lo que se transforma rápidamente el acetil-CoA, de forma que el isocitrato generado pasa directamente a malato (Figura 28). Esto se acentúa aún más en presencia de luz, ya que se inducen las enzimas citrato sintasa, encargada de iniciar el ciclo con el aporte de acetil-CoA; y la malato deshidrogenasa, que transforma el malato en oxalacetato. El oxalacetato generado se emplearía posteriormente para la gluconeogénesis, sin generarse poder reductor, lo que también ayuda a explicar la inhibición de la cadena de transporte de electrones (Cronan, Jr. and Laporte, 2005). El uso del oxalacetato en la gluconeogénesis también está respaldado por la inducción de fosfoenolpiruvato carboxiquinasa, enzima limitante que inicia la ruta (McKee and McKee, 2016). En la recuperación en oscuridad, sin embargo, podría no aumentar mucho la gluconeogénesis, puesto que no están inducidas la citrato sintasa y malato deshidrogenasa.



**Figura 28. Ciclo del glioxilato.** Utilizando enzimas del ciclo de Krebs, este ciclo convierte dos moléculas de Acetil-CoA en oxaloacetato, evitando descarboxilaciones, y pasando rápidamente a la gluconeogénesis (McKee and McKee, 2016).

Además, en los resultados relacionados con el metabolismo de carbohidratos y el de lípidos se observa, por un lado, la represión de las enzimas piruvato quinasa y la piruvato deshidrogenasa, esenciales para la glucólisis (Li et al., 2015a); por otro lado, en el metabolismo de lípidos la acil-CoA deshidrogenasa, responsable de la primera reacción de la β-oxidación, se está induciendo (Kunau et al., 1995). Por ello, podemos afirmar que el aporte inicial de acetil-CoA proviene de las reacciones de β-oxidación en vez de la degradación de carbohidratos. Todos estos resultados en su conjunto nos indican que el estrés producido por la radiación UV está redirigiendo muchas rutas metabólicas, permitiendo que fuentes de carbono queden disponibles para ser utilizadas en las rutas anabólicas para formar biomoléculas osmoprotectoras o en otras rutas enfocadas a la protección y reparación del daño producido tras la irradiación (Pérez et al., 2017). Estas reestructuraciones dentro del metabolismo conllevan un menor aporte de ATP para las células, aunque podría ser parcialmente suplido por la acción de las xantorrodopsinas que mantienen un gradiente de protones con el medio extracelular.

La represión de la glucólisis y la inducción de la ribulosa fosfato epimerasa indican que otra de las rutas que se están redirigiendo es la de las pentosas fosfato (PPP). Se reduce así la cantidad de ATP necesaria a expensas de aumentar la cantidad de NADPH disponibles, necesarias a su vez para los sistemas de tiorredoxinas y glutarredoxinas (Cronan, Jr. & Laporte, 2005; Ralser et al., 2007; Reichmann, Voth, & Jakob, 2018). Además, se pueden proporcionar nucleótidos gracias a este ciclo, lo que ayudaría a reparar el daño en el ADN (Gonçalves et al., 2016).

En coherencia con la inhibición de la replicación del ADN observada después de la irradiación con UV, se detectó, tanto en recuperación en luz como en oscuridad, la represión de tres genes que dan lugar a enzimas de las rutas biosintéticas de purinas y pirimidinas (adenilosuccinato sintasa, UMP quinasa) y a una ribonucleósido-difosfato reductasa -subunidad alfa-, implicada en la síntesis de desoxyribonucleótidos (Herrmann and Weaver, 1999) (dNDPs) a partir de sus correspondientes ribonucleótidos (NDPs) precursores del ARN. Por tanto, la síntesis de dNTPs se vería afectada en estos momentos en los que la replicación está inhibida. Además, tras la recuperación en luz, se induce el gen que da lugar a la citidina deaminasa que se encarga de reciclar pirimidinas libres, las cuales pueden volver a ser utilizadas para sintetizar nucleótidos que posteriormente se incorporaran en el ADN o ARN, pero también pueden funcionar como una fuente de carbono constante para las células (Frances and Cordelier, 2020). Ambas funciones son vitales para las células bajo las condiciones de radiación. No obstante, el adecuado equilibrio entre nucleótidos es esencial para la célula y existen mecanismos muy robustos que se encargan de ello, lo que puede explicar la ausencia de más genes con inducción o represión significativa dentro de este grupo (Ljungdahl and Daignan-Fornier, 2012).

La radiación UV también tiene efecto sobre diversas rutas de biosíntesis de aminoácidos, y concretamente se inducen algunas rutas implicadas en la síntesis de aminoácidos aromáticos. En recuperación en luz u oscuridad se induce la síntesis de triptófano y de forma específica en recuperación en luz, mediante la vía del shikimato se está estimulando la síntesis de los aminoácidos aromáticos triptófano tirosina y fenilalanina. En plantas esta vía además permite la producción de numerosos metabolitos secundarios, como pigmentos, compuestos fenólicos, etc que podrían ser capaces de absorber la radiación UVB y proporcionar resistencia (Herrmann and Weaver, 1999; Zhang et al., 2012). Sin embargo, en bacterias la vía del shikimato sirve casi exclusivamente para la biosíntesis de estos aminoácidos, aunque en algunas especies como en *Xhantomonas oryzae* se descubrió que también afectaba a la producción de un pigmento, la xantomonadina (Park et al., 2009), y en la cianobacteria *Chlorogloeopsis fritschii* PCC 6912 está implicada en la síntesis de los “aminoácidos tipo micosporina”, que se consideran “protectores

solares microbianos” (Llewellyn et al., 2020). Por ello, no podemos excluir que en *Sal. ruber* la vía del shikimato pudiera estar además implicada en la formación de compuestos que protejan de la radiación UV.

Cabe destacar la inducción del gen que da lugar a la superóxido dismutasa (SOD), del metabolismo de iones inorgánicos. Se trata de una enzima protectora antioxidante, de las más estudiadas, que aparece en todas las formas de vida (Okada et al., 1994; Fridovich, 1997; Perry et al., 2010; Kobayashi et al., 2019). Se demostró como la irradiación con UV produce un aumento de la cantidad de esta enzima en eucariotas (Okada et al., 1994) y en diversas especies bacterianas, protegiendo a las células del daño producido por las especies reactivas del oxígeno y que afectan a la respiración aeróbica. En concreto, reacciona con el ión superóxido ( $O_2^-$ ) para dar lugar a oxígeno molecular y peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) (Fridovich, 1997). Sin embargo, el peróxido de hidrógeno también es perjudicial para las células, por lo que la actividad de esta enzima dependerá, en última instancia, del estado oxidativo de la misma (Santos et al., 2012). El peróxido puede reaccionar con hierro ferroso mediante la reacción de Fenton para dar lugar a otros radicales de hidroxilo altamente tóxicos:  $Fe_2^+ + H_2O_2 \rightarrow Fe_3^+ + OH^- + OH$ . Sin embargo, la acción de la proteína Dps, inducida también en *Sal. ruber* tras la irradiación con UV, puede mineralizar el hierro ferroso ( $Fe_2^+$ ) o secuestrar el  $Fe_3^+$  en su núcleo, por lo que evitaría que se consuma el  $H_2O_2$  y se formen los radicales hidroxilo (Nair and Finkel, 2004; Calhoun and Kwon, 2011).

Respecto a la síntesis de coenzimas, destaca la inducción de dos genes que dan lugar a la ferroquelatasa y a la magnesio quelatasa respectivamente. La primera se encarga de formar el conocido como grupo hemo B o protohemo IX a partir de  $Fe^{2+}$  y la protoporfirina IX (PPn). La segunda, coordina la formación de Mg-PPn. Ambos, a su vez, son capaces de proteger a las células frente al estrés oxidativo. En concreto, el grupo hemo B se ha visto que protege a las células regulando la eliminación de las especies reactivas del oxígeno (ROS). La Mg-PPn tiene además función protectora frente a la radiación UV y al daño con  $H_2O_2$  (Kim et al., 2014a; c). Otro de los genes inducidos con función protectora codifica la proteína ThiS, implicada en la síntesis de la tiamina, o vitamina B1. Uno de los posibles mecanismos de resistencia sería debido a que la vitamina B1 absorbería la radiación UVB gracias a los anillos aromáticos de su estructura, evitando a su vez la formación de dímeros de pirimidina (Sánchez-Navarrete et al., 2017). Por último, también aparecen inducidos dos genes relacionados con la síntesis de la vitamina B6: la piridoxina 5'-fosfato sintasa y la piridoxamina 5'-fosfato oxidasa (Laber et al., 1999). Esta vitamina se ha visto que es importante para la tolerancia a diferentes tipos de estrés, y en concreto se ha comprobado la eficiencia de esta vitamina a la hora de neutralizar diferentes

especies reactivas del oxígeno originadas tras la irradiación UV (Czégény et al., 2019). Entre los genes exclusivos en luz, se induce el gen que da lugar a la enzima glutatión sintetasa, la cual da lugar al glutatión. El glutatión es uno de los principales antioxidantes celulares, protege a las células directamente de ROS. Además, puede reducir proteínas directamente o a través de la reducción del sistema de glutarredoxina. También se ha visto que participa de forma directa en la protección frente a radiación y participa en la resistencia a estrés osmótico y en la eliminación de toxinas (Harrop et al., 1991; Masip et al., 2006).

Finalmente encontramos tres grupos donde la función no está bien definida, ya sea porque se trata de genes que codifican proteínas hipotéticas, porque realmente no se conozca la función o porque la función asignada es muy general. Dentro de este último grupo, entre los comunes, se inducen los genes de dos putativas endonucleasas de la familia Uma2. Las endonucleasas participan en diferentes rutas de reparación del daño en el ADN, ya sea eliminando el ADN dañado o solo una de sus bases, tanto en los mecanismos de reparación de BER, NER y DSBs (Doherty and Madhusudan, 2015), por lo que su inducción puede ayudar a la reparación directa del daño producido tras la radiación UV. También se observan multitud de proteínas hipotéticas pertenecientes al grupo de COG S, y otras que se han agrupado independientemente del resto de COGs. Muchas de ellas presentan valores de inducción y de represión muy altos, sin embargo, no se tiene ninguna información sobre sus posibles funciones. Los resultados de este trabajo indican su conexión con la respuesta a radiación UVB, lo que permite orientar la investigación para explorar si están o no directamente implicadas en la resistencia y protección frente a radiación.

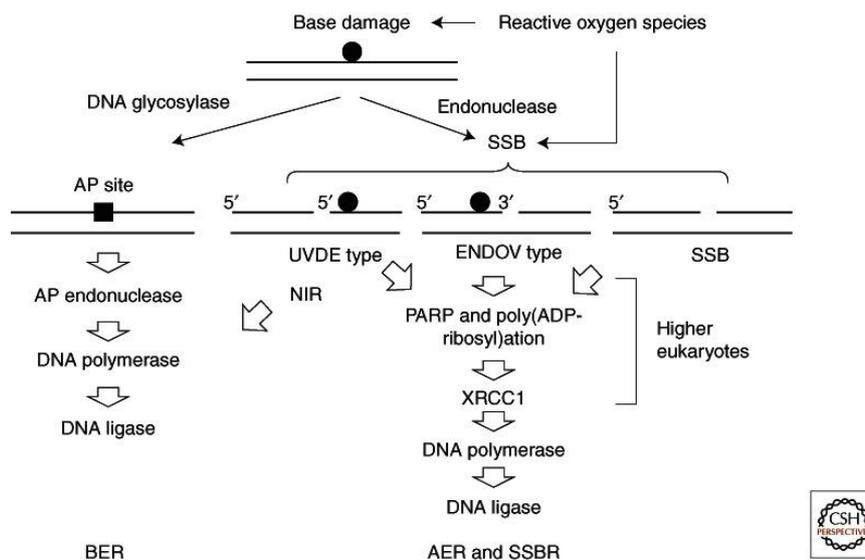
### **3. Mecanismos de adaptación al daño producido tras la irradiación con UVB en *Haloquadratum walsbyi***

#### **a. Adaptación de los procesos relacionados con la información contenida en el ADN y su procesamiento**

De la misma forma que ocurre con otros microorganismos, y como hemos observado en *Sal. ruber*, la radiación UV también podría estar afectando a la replicación del ADN en *Hqr. walsbyi* ya que se reprimen los genes que codifican la proteína PCNA y subunidades de la primasa PriS y la topoisomerasa IV, esenciales para este proceso. La paralización de estos procesos puede ser beneficiosa para las células que han sufrido daño por irradiación, ya que

esto permite la actuación de diferentes mecanismos de reparación como BER o NER y a su vez se impide que las células con algún tipo de mutación se dividan.

Entre los genes que se inducen relacionados con la reparación destaca la inducción de hasta 9 veces de la endonucleasa YncB. Se ha comprobado que la proteína YokF de *Bacillus subtilis*, homóloga a Yncb, tiene actividad ADNasa (Sakamoto et al., 2001), por lo que podría ayudar a los sistemas BER y NER. Dentro de este grupo también encontramos la endonucleasa V, que está presente en todos los dominios de la vida pero especialmente en arqueas (Kiyonari et al., 2014). Esta enzima participa en un proceso conocido como reparación de escisión alternativa (AER), el cual es similar al mecanismo de BER o NER, pero el comienzo del proceso es llevado a cabo por una endonucleasa. De esta forma la endonucleasa V sería capaz de eliminar el enlace fosfodiéster localizado en el nucleótido 1 del extremo 3' de la zona dañada, y lidera posteriormente el proceso de reparación iniciado por esa mella, que es igual al llevado a cabo por la reparación BER (Figura 28) (Yasui, 2013).



**Figura 28. Esquema del proceso de reparación de BER, AER y de rotura de cadena simple (SSBs)** (Yasui, 2013).

El proceso de recombinación homóloga es esencial a la hora de reparar las roturas de doble hélice producidas por la radiación UV. En bacterias, la proteína RecA es la encargada de llevar a cabo esta función, uniéndose al ADN de cadena simple y promoviendo en intercambio de moléculas de ADN homólogas usando ATP (Rastogi et al., 2010). En arqueas la proteína RadA es capaz de llevar a cabo esta función y el gen que la codifica se induce en *Hqr. walsbyi* tras la irradiación, aunque esta proteína es más parecida a su homóloga Red51 en eucariotas que a la RecA de bacterias. Además, se ha visto que en arqueas como *Haloferax volcanii*, la ausencia de

RadA produce una disminución en el crecimiento y un aumento de la sensibilidad a UV debido a un aumento en el daño producido por roturas de hebra en el ADN, lo que sugiere la gran importancia de esta proteína a la hora de llevar a cabo la recombinación homóloga (Zhou et al., 2006; Pérez-Arnaiz et al., 2020). La transcripción del ADN también podría estar reducida como resultado de la exposición a radiación UV, ya que se reprimen varios genes que codifican diferentes subunidades de la ARN polimerasa, y también la proteína de unión a la caja TATA necesaria para el inicio de la transcripción. Los CPD producidos por la radiación estarían impidiendo la unión de las polimerasas a la caja TATA (Tommasi et al., 1996; Tornaletti and Hanawalt, 1999). También producen la inhibición de la progresión de las polimerasas, lo que puede llegar a producir daños en la doble hélice (DSBs) debido al estancamiento de las polimerasas. Al estancarse, la molécula de ADN adquiere una nueva estructura que es reconocida por una endonucleasa específica, la cual hace cortes sucesivos en la hebra complementaria pudiendo producir daños en la zona donde se ha estancado (Ohnishi et al., 2009).

En *Hqr. walsbyi* también se han observado, como en *Sal. ruber*, cambios importantes en la transcripción de genes que codifican factores de transcripción, relacionados con la adaptación de toda la maquinaria celular para resistir a la radiación UV y reparar los daños ocasionados. Los reguladores más abundantes entre las arqueas son los que pertenecen a las familias Lrp/AsnC, MarR, ArsR, y TrmB (Perez-Rueda et al., 2018). En *Hqr. walsbyi* se inducen tres genes que codifican reguladores de la familia MarR, mientras que los que codifican reguladores de la familia TrmB aparecen 2 inducidos y 2 reprimidos. En *Corynebacterium glutamicum*, bacteria gram positiva resistente a ácido, se ha comprobado que una de las funciones principales de la familia reguladora MarR es la de coordinar genes que tienen un impacto en las envolturas celulares (Hünnefeld et al., 2019). En cuanto al factor TrmB, se ha visto que en la arquea *Halobacterium salinarum* es capaz de reconocer diferentes promotores de genes que codifican para enzimas de diferentes rutas metabólicas como la glucólisis, el ciclo de Krebs o de aminoácidos (Kim et al., 2016). Sin embargo, la función de esta familia como regulador transcripcional ha sido estudiada en pocos organismos, por lo que su inducción tras la irradiación podría estar indicando una nueva función relacionada con la resistencia a radiación UVB. Pero los genes que se encuentra más inducidos, hasta 7 veces, son los relacionados con la familia de proteínas AbrB/MazE/SpoVT. La familia AbrB se trata de una familia numerosa que reconoce secuencias inespecíficas de ADN y que, debido a su alta expresión tras la exposición a UV, nos puede estar indicando que desempeña una función importante en la respuesta al daño producido por estrés, por lo que sería interesante estudiar en mayor profundidad su función. Las proteínas

de la familia MazE forman sistemas toxina-antitoxina de tipo II junto con MazF. Los sistemas tipo II están compuestos por dos proteínas, una de ellas la toxina y la otra la antitoxina, de forma que bajo ciertos cambios, la antitoxina se une directamente a la proteína toxina impidiendo su función. En este caso, la proteína MazE es la antitoxina que se une a MazF inhibiendo sus funciones, entre ellas, la actividad endoribonucleasa. En la bacteria extremófila *D. radiodurans* se ha comprobado que el sistema MazE/MazF puede provocar la muerte celular debido a la actividad endoribonucleasa de MazF en respuesta al daño en el ADN, aunque también es capaz de activar la muerte celular mediada por ROS (Dai et al., 2021). Además de este sistema, otros sistemas toxina-antitoxina se están expresando tras la irradiación, aunque perteneciente a otros COGs. En concreto, dentro del COG de metabolismo secundario (Q), se induce un gen que da lugar a una proteína con un dominio de la familia PIN. Suelen presentar 130 aminoácidos y están presente en los tres reinos de la vida. En eucariotas actúan como ribonucleasa, participando en la degradación de los ARNm; en procariontes, forma parte del complejo toxina-antitoxina (TA), el cual actualmente recibe el nombre de VapBC TA (Arcus et al., 2011). Concretamente, la proteína VapB también se induce, y forma un sistema toxina-antitoxina con VapC. Este es uno de los más comunes inducidos como respuesta a estrés, según el cual VapC, la toxina, sería capaz de escindir ARNs esenciales para la síntesis de proteínas, pero mediante la unión de VapB, la antitoxina, se inhibiría esta capacidad (Sharrock et al., 2018). En arqueas también se han encontrado estos dominios, con función similar al descrito para el sistema VapBC. (Senissar et al., 2017). También, dentro del COG R, un grupo con funciones generales, vemos que dos de los genes más inducidos codifican para proteínas de una familia nombrada como UPF0175, asignadas mediante predicciones bioinformáticas a un nuevo tipo de sistema de toxina-antitoxina (Makarova et al., 2009). Todo ello pone de manifiesto la importancia de estos sistemas a la hora de regular la respuesta de *Hqr. walsbyi* a la radiación UV. Por otra parte, los genes relacionados con la familia de reguladores Lrp/AsnC aparecen reprimidos, y sus funciones en otros microorganismos se relacionan con el enrollamiento del ADN o en la organización y estructura de los cromosoma (Thaw et al., 2006). Su represión podría facilitar el acceso de los mecanismos de reparación del ADN.

La traducción en *Hqr. walsbyi* también se ha visto afectada negativamente por la radiación UV, aparentemente más que en *Sal. ruber* empleando el mismo tiempo de recuperación, ya que se han inhibido 48 genes relacionados con proteínas ribosomales y factores de iniciación. La maquinaria celular está centrada en la reparación de daños y se ha detenido la replicación y división celular, por lo que se debe reducir la traducción de proteínas implicadas

en esos procesos, y en las rutas metabólicas que proporcionan energía y las moléculas que se necesitan (nucleótidos, azúcares, lípidos, etc), que también se han visto inhibidas.

Por último, señalar la inducción de numerosos genes (31) relacionados con el mobiloma, como las que codifican transposasas, muchas con valores elevados de inducción (3-20 veces). En *Sal. ruber* también se observó la inducción genes que codifican transposasas, pero en un número muy inferior (6) y con valores de inducción inferior a 3 veces, salvo una de ellas que alcanzó 30 veces en condiciones de oscuridad. Como ya se ha explicado anteriormente, las transposasas están implicadas en la movimiento de los transposones a otras posiciones del genoma, lo que podría contribuir tanto a la reparación del daño en el ADN como a la generación de diversidad genética (Capy et al., 2000; Yushkova and Zainullin, 2016).

#### **b. Adaptación de la señalización y procesamiento celular**

Dentro de los genes relacionados con el control del ciclo celular, se observa la represión de dos genes: *sepF*, implicado en la formación del septo que separa a las dos células hijas, y de otro gen implicado en la partición del cromosoma. Estos resultados, junto a la represión de la replicación, indican que se encuentra bloqueada la división celular hasta que los daños en el ADN hayan sido reparados. Por otra parte, el gen que codifica para una proteína de la familia CrcB presenta una inducción mayor de dos veces. Comúnmente se ha relacionado este gen con la resistencia a alcanfor y a ión fluoruro, evitando la descondensación de los cromosomas junto con los genes *crcA* y *cspE* (Hu et al., 1996). Estudios posteriores demostraron que la sobreexpresión de estos tres genes produce resistencia a UV en cepas mutantes para genes responsables de la recombinación homóloga (Sand, 2003). Según estos autores, la acción del gen *crcB* produciría un aumento de la actividad y de la eficacia del gen *cspE*. Al aumentar la actividad de *cspE*, se estarían estabilizando las moléculas del ADN superenrollado, por lo que las enzimas encargadas de mantener el superenrollamiento, como la girasa, podrían estar menos activas (Sand, 2003).

Los genes relacionados con las síntesis de la envuelta celular con expresión diferencial significativa se encuentran en su mayoría reprimidos. La inhibición de la división celular ocasionada por la exposición a radiación UVB conlleva que disminuya la expresión de las enzimas implicadas en la construcción de las moléculas que forman la envuelta celular. En el caso de *Hqr. walsbyi* consiste de una capa S de estructura cristalina, formada por glicoproteínas, y de hecho algunos de los genes reprimidos, como los que codifican epimerasas, podrían estar implicados en reacciones de glicosilación de las proteínas de la capa S (Rodrigues-Oliveira et al., 2017)

Tras analizar los resultados de *Hqr. walsbyi*, al igual que en *Sal. ruber*, se pone de manifiesto la importancia de la proteína tiorredoxina como antioxidante, cuyo mecanismo es similar al explicado en *Sal. ruber*, así como de la glutarredoxina, ya que aparecen inducidos los genes que las codifican. Estas proteínas se encargan de reducir los niveles de ROS, con la diferencia de que las tiorredoxinas se reducen por la acción de una tiorredoxina reductasa, mientras que las glutarredoxinas se reducen por la oxidación del glutatión, el cual es posteriormente regenerado por la acción de la glutatión reductasa (Fernandes and Holmgren, 2004). Además, a la glutarredoxina se le han asignado otras funciones como la de ceder electrones para la síntesis de dNTPs o la de reparar proteínas dañadas por oxidación (Herrero and de la Torre-Ruiz, 2007). En conjunto ambas proteínas tienen un papel fundamental a la hora de eliminar ROS y reducir proteínas oxidadas en la célula.

Dentro del grupo de las chaperonas, hay que destacar la inducción de 10 veces del gen que codifica una proteasa tipo Lon dependiente de ATP. Estas proteínas están implicadas en la degradación de proteínas específicas dañadas o aberrantes (en *E. coli* degrada aproximadamente un 50% de estas proteínas) y además participa en el reciclaje de proteínas de vida corta. Lon funciona como una endoproteasa que reconoce unas secuencias específicas que no son accesibles si la proteína diana está correctamente plegada (Van Melderen and Aertsen, 2009). Esta proteína sería por tanto relevante para degradar proteínas específicas que hubiesen sido dañadas por la radiación UV en *Hqr. walsbyi*. Por otra parte, vemos reprimido hasta 4 veces al gen *grpE*, que codifica para un factor de intercambio de nucleótidos, que funciona con DnaK (Hsp70) y la co-chaperona DnaJ, constituyendo una chaperona celular esencial para el correcto plegamiento de las proteínas sintetizadas *de novo* en condiciones de choque térmico (Delaney, 1990). La represión de la síntesis de proteínas que se ha observado justificaría que se reduzca la expresión de GrpE.

En relación con la transducción de señales, se reprime un gen relacionado con proteínas con dominios PAS, que como ya se explicó en *Sal. ruber*, detectan variaciones ambientales en diferentes condiciones fisicoquímicas para desencadenar una respuesta celular determinada (Taylor and Zhulin, 1999). También encontramos tanto inducidas como reprimidas varias proteínas de estrés universal (USP). Se trata de una superfamilia que aparece en todos los dominios de la vida, cuya función principal es la de protección frente al estrés ambiental, como choque térmico, daños en la membrana, por falta de nutrientes, radiación UV, mediante la regulación de la expresión de otras proteínas, actuando de forma directa o indirecta en el transporte de compuestos, en el ensamblaje de proteínas o en la señalización (Matarredona et al., 2020). Curiosamente se ha demostrado que ciertos genes de la familia USP están a su vez

regulados por la proteína RecA durante la respuesta SOS, por lo que tendrían un papel importante en la protección y reparación del daño del ADN, aunque el mecanismo bioquímico aun necesita ser aclarado (Diez et al., 2000). Al contrario de lo que ocurre en *Sal. ruber*, dentro de este se está reprimiendo la proteína PspA, cuya función es la de unirse a los fosfolípidos de la membrana ayudando así a mantener la rigidez de las mismas y el estado energético normal de las células (Kobayashi et al., 2007; Thurotte et al., 2017). Su represión puede ser debida a la reorganización que se está produciendo en las membranas debido a ROS.

### c. Adaptación del metabolismo

Al igual que ocurre en *Sal. ruber*, en *Hqr. walsbyi* el metabolismo celular está siendo reprimido de forma global después de la irradiación. Tanto los genes relacionados con la producción de energía, como el metabolismo de carbohidratos, lípidos, nucleótidos y coenzimas aparecen en su mayoría reprimidos. Este resultado es coherente con la inhibición de la replicación y división celular después de la exposición a radiación UV, necesaria para que se reparen las lesiones en el ADN. Por tanto, se inhibirían parcialmente algunas rutas metabólicas para poder aprovechar la energía en otras rutas enfocadas a la reparación o a la protección frente a la radiación (Pérez et al., 2017). Esta represión global del metabolismo durante la reparación del daño en el ADN también ha sido estudiada en otros microorganismos como *E. coli*, *D. radiodurans*, y *Saccharomyces cerevisiae*, por lo que podría tratarse de un mecanismo de respuesta al estrés generalizado (Baliga et al., 2004). Genes clave para el ciclo de Krebs, como la citrato sintasa, u otras relacionadas con la cadena transportadoras de electrones, como varias halocianinas o NADH-quinona oxidorreductasa aparecen muy reprimidas. En concreto, la halocianina se trata de una proteína de unión al cobre que se encarga de transportar los electrones móviles a través de la membrana y que también aparece afectada en otras arqueas hiperhalófilas. Al inhibirse esta ruta, podría evitarse que se transfieran electrones a otros complejos capaces de formar ROS (Gomez et al., 2018), y esto impediría incrementar aun más el estrés oxidativo en la célula causado por la radiación. También se está reprimiendo la glucólisis, pues enzimas clave para la misma se encuentran muy reprimidas, como la gliceraldehído-3-fosfato dehidrogenasa tipo I, la piruvato quinasa y la fosfoglicerato quinasa. Sin embargo, como fuente de carbono podrían estar usando la dihidroxiacetona, obtenido directamente de la oxidación del glicerol o adquirido a través del medio, ya que se induce la dihidroxiacetona quinasa. Esta utilizaría grupos fosfatos del sistema de fosfoenol piruvato: azúcar fosfotransferasa (PTS) para fosforilar a la dihidroxiacetona e incorporarla al metabolismo

celular (Elevi Bardavid and Oren, 2008). Además, se reprime la degradación de los ácidos grasos mediante la  $\beta$ -oxidación, lo que concuerda con el menor requerimiento de obtención de energía durante el periodo de reparación.

Otro de los procesos que también se ve afectado por la radiación es la producción y fijación del nitrógeno (Lesser, 2008), por lo que uno de los mecanismos para paliar este efecto puede ser fomentar el ciclo de la urea, ya que es central para el metabolismo del nitrógeno, y por lo tanto para la formación de aminoácidos. En *Hqr. walsbyi* vemos como, tras la irradiación con UVB, todo el grupo de genes que dan a una permeasa específica de urea tipo ABC se están induciendo (*urtABCDE*). El gen *urtA* daría lugar a la proteína de unión periplásmica, *urtB* y *urtC*, a la proteína transmembrana y *urtD* y *urtE* darían lugar a la subunidad que se une al ATP. Esta permeasa presenta una alta afinidad por la urea, la cual puede usarse como fuente de nitrógeno en condiciones limitantes del mismo, por lo que ayudaría a los microorganismos a captar urea cuando su concentración es baja permitiéndole sobrevivir bajo estas condiciones limitantes (Valladares et al., 2002; Beckers et al., 2004). Relacionado también con el metabolismo de aminoácidos, uno de los genes que aparece con una mayor expresión es el que codifica para la ornitina ciclodeaminasa (OCD), la cual se encarga de sintetizar prolina en un solo paso, mediante la deaminación de la ornitina. De hecho, se demostró como la radiación UVB produce la inducción de este gen en eucariotas (Rosen et al., 1990). Al poder sintetizarse prolina de forma directa, los organismos pueden así evitar la vía principal de síntesis de prolina en la cual el glutamato se convierte en prolina a través de un paso intermedio que da lugar a la formación de ROS (Sharma et al., 2013).

Por otra parte, dentro del metabolismo, el grupo con mayor número de genes inducidos es el de metabolismo y transporte de iones inorgánicos. El ambiente hiperhalófilo en el que se desarrolla *Hqr. walsbyi* presenta grandes cantidades de metales que pueden llegar a ser tóxicos para las células, por eso no es de extrañar que exprese numerosos genes relacionados con el transporte de los mismos y con el mantenimiento de la homeostasis, como son los transportadores tipo ABC, transportadores específicos de amonio, sulfatos o de cobalto. También encontramos transportadores de cromo, como el *chrA*, por lo que las células podrían expulsarlo, evitando así el daño oxidativo producido por el cromo (Ramírez-Díaz et al., 2008).

Por último, mencionar la gran cantidad de genes que entran dentro del COG R, con una función general, o del COG S, con una función poco o nada especificadas y de proteínas hipotéticas que presentan expresión o represión significativa. Dentro del COG S aparecen proteínas altamente inducidas con un dominio poco definido, pero que los estudios

bioinformáticos nos están pemiendo asignarles funciones. Entre los grupos de COG S y R encontramos la represión de casi todo el grupo de genes que forman las vesículas de gas. Los genes *gvp C, N, O, H, M, L y F* se encuentran todos reprimidos. Se ha hipotetizado sobre la idea de que estas vesículas pudiesen formar una especie de escudo protector de las células frente a la radiación UV. Sin embargo, experimentos llevados a cabo por Simon, 1980, desmintieron esta hipótesis (Simon, 1980). Por otra parte, lo que si se ha demostrado es que estas vesículas permiten la flotabilidad de las células a capas superiores de la columna de agua, evitando la limitación de oxígeno de las capas inferiores (Oren, 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo, indican que la represión de estos genes podría evitar que las células floten a las capas superiores para evitar la exposición a la dañina radiación UVB, sugiriendo otra posible regulación del funcionamiento de estas vesículas.





# CONCLUSIONES

## CONCLUSIONES

Los datos presentados en este trabajo permiten extraer las siguientes conclusiones:

1. Mediante el cribado funcional de bibliotecas metagenómicas de comunidades de halófilos extremos de salinas costeras, se han aislado ocho clones con fragmentos de ADN que confieren resistencia a radiación UVB a *E. coli*. En estos fragmentos se han identificado 15 genes responsables del fenotipo de resistencia. Las proteínas codificadas por estos genes son similares a otras de la bacteria *Sal. ruber* y de las arqueas *Hqr. walsbyi*, *Natrosomonas*, *Halorubrum* y *Halovenus*.
2. Las proteínas codificadas por los genes implicados en resistencia a radiación UVB se pueden agrupar en tres categorías: i) con función conocida, pero que no habían sido relacionadas anteriormente con resistencia a radiación UV, como la proteína ribosómica S10, la oligoendopeptidasa F, la dihidrofolato reductasa, un sensor PAS (histidina quinasa) y un regulador de respuesta; ii) función conocida y relacionadas previamente con protección frente a la radiación UV, como la nucleasa NurA y SMC; y iii) proteínas de función desconocida: una proteína de unión a ATP y siete proteínas hipotéticas que podrían estar implicadas en nuevas estrategias moleculares de resistencia a radiación UV.
3. Cuatro clones con el fragmento de ADN completo y otros con los genes expresados independientemente también presentaron resistencia a 4-NQO, un compuesto que produce en el ADN el mismo tipo de daño que la radiación UVB, por lo que el mecanismo de resistencia podría estar relacionado con la reparación del daño en el ADN o su protección. Además, 6 clones completos y otros con genes individuales presentaron resistencia al compuesto tóxico perclorato.
4. Empleando cultivos puros de *Sal. ruber* y *Hqr. walsbyi*, dos de los microorganismos más abundantes de las salinas costeras, se ha estudiado por primera vez el efecto de la radiación UVB sobre sus perfiles de expresión génica después de una hora de recuperación en luz u oscuridad para *Sal. ruber* y sólo de luz para *Hqr. walsbyi*. En ambos microorganismos se observó la expresión diferencial de un porcentaje inferior al 20% de los genes.
5. Tanto en *Sal. ruber* como en *Hqr. walsbyi* se observó la represión de genes implicados en la replicación del ADN y la división celular, lo que permitiría la reparación de las lesiones en el ADN ocasionadas por la radiación UV y evitaría la división de células con mutaciones.

6. De forma coherente, la transcripción, la traducción de proteínas y las rutas metabólicas que proporcionan energía y las moléculas necesarias para el crecimiento y la división celular también se reprimen en los dos microorganismos y se modulan para favorecer la reparación de los daños.
7. En *Sal. ruber* hay una reorganización de las rutas metabólicas: se produce un acortamiento del ciclo de Krebs, que da lugar al ciclo de glioxilato, principalmente en recuperación en luz, y se favorece la gluconeogénesis, posiblemente para la producción de moléculas implicadas en la protección y reparación del daño producido por la irradiación. Aunque se inhibe la glucólisis, se induce el ciclo de las pentosas fosfato, aunque se obtiene menos energía. También se induce la  $\beta$ -oxidación de ácidos grasos para obtener de acetyl-CoA que podría ir al ciclo de del glioxilato.
8. En los dos microorganismos se inducen genes de proteínas implicadas en la protección de ADN, como la proteína Dps, y también en la reparación del ADN, como ExoVII, RecJ, RadC y RecF (los dos últimos sólo en recuperación en luz) relacionados con la reparación BER y NER en *Sal. ruber*, y por otra parte RadA (homóloga a RecA) y la endonucleasa V que participa en un proceso de reparación alternativo similar a BER en *Hqr. walsbyi*.
9. Las proteínas también sufren daños por la radiación UV y las ROS generadas. Por ello se inducen genes implicados en: i) protección, como las chaperonas Hsp20 y GroEL/ES en *Sal. ruber*; II) reparación de residuos oxidados, como la tiorredoxina en ambos microorganismos, MsrA en *Sal. ruber*, y glutarredoxina en *Hqr. walsbyi*; y iii) degradación de proteínas dañadas, como las proteasas HslV y ClpP en *Sal. ruber* y Lon en *Hqr. walsbyi*.
10. Además, se induce la producción de antioxidantes para neutralizar las ROS, como por ejemplo el glutatión y el grupo hemo B en *Sal. ruber* y la enzima superóxido dismutasa en *Hqr. walsbyi*.
11. La radiación UV induce genes de motilidad en *Sal. ruber* y reprime los implicados en la formación de vesículas de gas en *Hqr. walsbyi*, posiblemente para favorecer el desplazamiento de las células a zonas con menor dosis de radiación.
12. Los resultados obtenidos permiten afirmar que la resistencia a radiación UVB involucra una respuesta global de las células, enfocada no solo a reparar el daño, sino también a adaptar numerosos procesos celulares a las alteraciones producidas por la radiación.





# REFERENCIAS

## REFERENCIAS

- Abaskharon, R. M., and F. Gai. 2016. Direct Measurement of the Tryptophan-Mediated Photocleavage Kinetics of a Protein Disulfide Bond. *Physical chemistry chemical physics : PCCP* 18: 9602–9607.
- Abrevaya, X. C., I. G. Paulino-Lima, D. Galante, F. Rodrigues, P. J. D. Mauas, E. Cortón, and C. de A. S. Lage. 2011. Comparative survival analysis of *Deinococcus radiodurans* and the haloarchaea *Natrialba magadii* and *Haloferax volcanii* exposed to vacuum ultraviolet irradiation. *Astrobiology* 11: 1034–1040.
- Achilli, C., A. Ciana, and G. Minetti. 2015. The discovery of methionine sulfoxide reductase enzymes: An historical account and future perspectives. *BioFactors (Oxford, England)* 41: 135–152.
- Aksenov, S. V. 1999. Induction of the SOS Response in Ultraviolet-Irradiated *Escherichia coli* Analyzed by Dynamics of LexA, RecA and Sula Proteins. *Journal of Biological Physics* 25: 263–277.
- Aksoy, S., C. L. Squires, and C. Squires. 1984. Evidence for antitermination in *Escherichia coli* RRNA transcription. *Journal of Bacteriology*.
- Albarracin, V., W. Gaertner, and M. Farías. 2015. Forged Under the Sun: Life and Art of Extremophiles from Andean Lakes. *Photochemistry and photobiology* 92.
- Albarracin, V., W. Gaertner, and M. Farías. 2013. UV Resistance and Photoreactivation of Extremophiles from High-Altitude Andean Lakes. *PHOTOBIOLOGICAL SCIENCES ONLINE*.
- Albarracín, V. H., G. P. Pathak, T. Douki, J. Cadet, C. D. Borsarelli, W. Gärtner, and M. E. Farias. 2012. Extremophilic *Acinetobacter* strains from high-altitude lakes in Argentinean Puna: remarkable UV-B resistance and efficient DNA damage repair. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere: The Journal of the International Society for the Study of the Origin of Life* 42: 201–221.
- Anders, S., P. T. Pyl, and W. Huber. 2015. HTSeq—a Python framework to work with high-throughput sequencing data. *Bioinformatics* 31: 166–169.
- Anderson, A. W. 1956. Studies on a radioresistant micrococcus. 1. Isolation, morphology, cultural characteristics, and resistance to  $\gamma$  radiation. *Food Technol.* 10: 575–578.
- Antón, J., E. Llobet-Brossa, F. Rodríguez-Valera, and R. Amann. 1999. Fluorescence in situ hybridization analysis of the prokaryotic community inhabiting crystallizer ponds. *Environmental Microbiology* 1: 517–523.
- Antón, J., A. Oren, S. Benlloch, F. Rodríguez-Valera, R. Amann, and R. Rosselló-Mora. 2002. *Salinibacter ruber* gen. nov., sp. nov., a novel, extremely halophilic member of the Bacteria from saltern crystallizer ponds. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 485–491.
- Antón, J., A. Peña, F. Santos, M. Martínez García, P. Schmitt-Kopplin, and R. Rossello-Mora. 2008. Distribution, abundance and diversity of the extremely halophilic bacterium *Salinibacter ruber*. *Saline systems* 4: 15.

- Antón, J., R. Rosselló-Mora, F. Rodríguez-Valera, and R. Amann. 2000. Extremely Halophilic Bacteria in Crystallizer Ponds from Solar Salterns. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3052–3057.
- Arcus, V. L., J. L. McKenzie, J. Robson, and G. M. Cook. 2011. The PIN-domain ribonucleases and the prokaryotic VapBC toxin–antitoxin array. *Protein Engineering, Design and Selection* 24: 33–40.
- Arima, Y., C. Nishigori, T. Takeuchi, S. Oka, K. Morimoto, A. Utani, and Y. Miyachi. 2006. 4-Nitroquinoline 1-Oxide Forms 8-Hydroxydeoxyguanosine in Human Fibroblasts through Reactive Oxygen Species. *Toxicological Sciences* 91: 382–392.
- Astrobiology Strategy for the Exploration of Mars Committee, National Research Council, Board on Life Sciences Staff, Division on Earth and Life Studies Staff, Division on Engineering and Physical Sciences Staff, Space Studies Board Staff, and National Academy of Sciences. 2007. An Astrobiology Strategy for the Exploration of Mars. National Academies Press, Washington, D.C., UNITED STATES.
- Attaiech, L., C. Granadel, J.-P. Claverys, and B. Martin. 2008. RadC, a Misleading Name? *Journal of Bacteriology* 190: 5729–5732.
- Auclair, S. M., M. K. Bhanu, and D. A. Kendall. 2012. Signal peptidase I: Cleaving the way to mature proteins. *Protein Science : A Publication of the Protein Society* 21: 13–25.
- Auvray, F., J. Thomas, G. M. Fraser, and C. Hughes. 2001. Flagellin Polymerisation Control by a Cytosolic Export Chaperone. *Journal of molecular biology* 308: 221–229.
- Balashov, S. P., E. S. Imasheva, V. A. Boichenko, J. Antón, J. M. Wang, and J. K. Lanyi. 2005. Xanthorhodopsin: the Retinal Protein Proton Pump of *Salinibacter ruber* with a Light-harvesting Carotenoid Antenna. *Science (New York, N.Y.)* 309: 2061–2064.
- Baliga, N. S., S. J. Bjork, R. Bonneau, M. Pan, C. Iloanusi, M. C. H. Kottmann, L. Hood, and J. DiRuggiero. 2004. Systems Level Insights Into the Stress Response to UV Radiation in the Halophilic Archaeon *Halobacterium* NRC-1. *Genome Research* 14: 1025–1035.
- Bao, A., A. Ma, H. Zhang, L. Qiao, S. Ben, X. Zhou, and M. Zhang. 2020. Inducible expression of heat shock protein 20 protects airway epithelial cells against oxidative injury involving the Nrf2-NQO-1 pathway. *Cell & Bioscience* 10: 120.
- Bateman, A., P. Coghill, and R. D. Finn. 2010. DUFs: families in search of function. *Acta Crystallographica Section F: Structural Biology and Crystallization Communications* 66: 1148–1152.
- Batista, L. F. Z., B. Kaina, R. Meneghini, and C. F. M. Menck. 2009. How DNA lesions are turned into powerful killing structures: Insights from UV-induced apoptosis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 681: 197–208.
- Battista, J. R. 1997. Against all odds: the survival strategies of *Deinococcus radiodurans*. *Annual Review of Microbiology* 51: 203–224.
- Beckers, G., A. K. Bendt, R. Krämer, and A. Burkovski. 2004. Molecular Identification of the Urea Uptake System and Transcriptional Analysis of Urea Transporter- and Urease-Encoding Genes in *Corynebacterium glutamicum*. *Journal of Bacteriology* 186: 7645–7652.
- Berks, B. C., F. Sargent, and T. Palmer. 2000. The Tat protein export pathway. *Molecular Microbiology* 35: 260–274.

- Besaratinia, A., S. Kim, S. E. Bates, and G. P. Pfeifer. 2007. Riboflavin activated by ultraviolet A1 irradiation induces oxidative DNA damage-mediated mutations inhibited by vitamin C. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104: 5953–5958.
- Bhaskar, L. V. K. S., and L. Saikrishna. 2019. Chapter 11 - Molecular Markers for Treatment Response and Toxicity of Gemcitabine. In G. P. Nagaraju [ed.], *Breaking Tolerance to Pancreatic Cancer Unresponsiveness to Chemotherapy, Cancer Sensitizing Agents for Chemotherapy*, 175–195. Academic Press.
- Bhavsar, R. B., L. N. Makley, and P. A. Tsonis. 2010. The other lives of ribosomal proteins. *Human Genomics* 4: 327–344.
- Blumthaler, M., W. Ambach, and R. Ellinger. 1997. Increase in solar UV radiation with altitude. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 39: 130–134.
- Bochtler, M., L. Ditzel, M. Groll, and R. Huber. 1997. Crystal structure of heat shock locus V (HslV) from *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94: 6070–6074.
- Boiteux, S., and M. Guillet. 2004. Abasic sites in DNA: repair and biological consequences in *Saccharomyces cerevisiae*. *DNA Repair* 3: 1–12.
- Bolhuis, H., P. Palm, A. Wende, M. Falb, M. Rampp, F. Rodriguez-Valera, F. Pfeiffer, and D. Oesterheld. 2006. The genome of the square archaeon *Haloquadratum walsbyi*: life at the limits of water activity. *BMC Genomics* 7: 169.
- Bolhuis, H., E. M. te Poele, and F. Rodriguez-Valera. 2004. Isolation and cultivation of Walsby's square archaeon. *Environmental Microbiology* 6: 1287–1291.
- Bossi, L., M. Ratel, C. Laurent, P. Kerboriou, A. Camilli, E. Eveno, M. Boudvillain, and N. Figueroa-Bossi. 2019. NusG prevents transcriptional invasion of H-NS-silenced genes. *PLOS Genetics* 15: e1008425.
- Brem, R., M. Guven, and P. Karran. 2017. Oxidatively-generated damage to DNA and proteins mediated by photosensitized UVA. *Free Radical Biology & Medicine* 107: 101–109.
- Bresan, S., A. Sznajder, W. Hauf, K. Forchhammer, D. Pfeiffer, and D. Jendrossek. 2016. Polyhydroxyalkanoate (PHA) Granules Have no Phospholipids. *Scientific Reports* 6: 1–13.
- Bressuire-Isoard, C., V. Broussolle, and F. Carlin. 2018. Sporulation environment influences spore properties in *Bacillus*: evidence and insights on underlying molecular and physiological mechanisms. *FEMS Microbiology Reviews* 42: 614–626.
- Buchfink, B., C. Xie, and D. H. Huson. 2015. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nature Methods* 12: 59–60.
- Burmann†, B. M., and P. Rösch. 2011. The role of *E. coli* Nus-factors in transcription regulation and transcription:translation coupling: From structure to mechanism. *Transcription* 2: 130.
- Burn, R., L. Misson, M. Meury, and F. P. Seebeck. 2017. Anaerobic Origin of Ergothioneine. *Angewandte Chemie International Edition* 56: 12508–12511.

- Burns, C. M., W. L. Nowatzke, and J. P. Richardson. 1999. Activation of Rho-dependent transcription termination by NusG. Dependence on terminator location and acceleration of RNA release. *The Journal of Biological Chemistry* 274: 5245–5251.
- Burns, D. G., H. M. Camakaris, P. H. Janssen, and M. L. Dyall-Smith. 2004. Cultivation of Walsby's square haloarchaeon. *FEMS microbiology letters* 238: 469–473.
- Burns, D. G., P. H. Janssen, T. Itoh, M. Kamekura, Z. Li, G. Jensen, F. Rodríguez-Valera, et al. 2007. Haloquadratum walsbyi gen. nov., sp. nov., the square haloarchaeon of Walsby, isolated from saltern crystallizers in Australia and Spain. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 57: 387–392.
- Calhoun, L. n., and Y. m. Kwon. 2011. Structure, function and regulation of the DNA-binding protein Dps and its role in acid and oxidative stress resistance in Escherichia coli: a review. *Journal of Applied Microbiology* 110: 375–386.
- Capy, P., G. Gasperi, C. Biéumont, and C. Bazin. 2000. Stress and transposable elements: co-evolution or useful parasites? *Heredity* 85: 101–106.
- Case, A. J. 2017. On the Origin of Superoxide Dismutase: An Evolutionary Perspective of Superoxide-Mediated Redox Signaling. *Antioxidants* 6: 82.
- Champoux, J. J. 2001. DNA topoisomerases: structure, function, and mechanism. *Annual Review of Biochemistry* 70: 369–413.
- Chang, X., L. Yang, Q. Zhao, W. Fu, H. Chen, Z. Qiu, J. Chen, et al. 2010. Involvement of recF in 254 nm Ultraviolet Radiation Resistance in Deinococcus radiodurans and Escherichia coli. *Current Microbiology* 61: 458–464.
- Cheah, I. K., and B. Halliwell. 2012. Ergothioneine; antioxidant potential, physiological function and role in disease. *Biochimica Et Biophysica Acta* 1822: 784–793.
- Cheng, K., Y. Xu, X. Chen, H. Lu, Y. He, L. Wang, and Y. Hua. 2020. Participation of RecJ in the base excision repair pathway of Deinococcus radiodurans. *Nucleic Acids Research* 48: 9859–9871.
- Clodi, E., K. Semrad, and R. Schroeder. 1999. Assaying RNA chaperone activity in vivo using a novel RNA folding trap. *The EMBO journal* 18: 3776–3782.
- Cooper, G. M. 2000. DNA Replication. *The Cell: A Molecular Approach. 2nd edition.*
- Courcelle, J., J. R. Donaldson, K.-H. Chow, and C. T. Courcelle. 2003. DNA damage-induced replication fork regression and processing in Escherichia coli. *Science (New York, N.Y.)* 299: 1064–1067.
- Craig, S. P., and A. E. Eakin. 2000. Purine phosphoribosyltransferases. *The Journal of Biological Chemistry* 275: 20231–20234.
- Cronan, Jr., J. E., and D. Laporte. 2005. Tricarboxylic Acid Cycle and Glyoxylate Bypass. *EcoSal Plus* 1.
- Culligan, E. P., R. D. Sleator, J. R. Marchesi, and C. Hill. 2012. Functional metagenomics reveals novel salt tolerance loci from the human gut microbiome. *The ISME journal* 6: 1916–1925.
- Czégény, G., L. Kőrösi, Å. Strid, and É. Hideg. 2019. Multiple roles for Vitamin B 6 in plant acclimation to UV-B. *Scientific Reports* 9: 1259.

- Dai, J., Z. Chen, J. Hou, Y. Wang, M. Guo, J. Cao, L. Wang, et al. 2021. MazEF Toxin-Antitoxin System-Mediated DNA Damage Stress Response in *Deinococcus radiodurans*. *Frontiers in Genetics* 12.
- Daly, M. J. 2009. A new perspective on radiation resistance based on *Deinococcus radiodurans*. *Nature Reviews Microbiology* 7: 237–245.
- Davies, M. J., and R. J. W. Truscott. 2001. Photo-oxidation of proteins and its role in cataractogenesis. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 63: 114–125.
- Delaney, J. M. 1990. A *grpE* mutant of *Escherichia coli* is more resistant to heat than the wild-type. *Journal of General Microbiology* 136: 797–801.
- DeLisa, M. P., P. Lee, T. Palmer, and G. Georgiou. 2004. Phage shock protein PspA of *Escherichia coli* relieves saturation of protein export via the Tat pathway. *Journal of Bacteriology* 186: 366–373.
- Deng, W., C. Li, and J. Xie. 2013. The underlying mechanism of bacterial TetR/AcrR family transcriptional repressors. *Cellular Signalling* 25: 1608–1613.
- Devigne, A., L. Meyer, C. B. de la Tour, N. Eugénie, S. Sommer, and P. Servant. 2019. The absence of the RecN protein suppresses the cellular defects of *Deinococcus radiodurans* irradiated cells devoid of the PprA protein by limiting recombinational repair of DNA lesions. *DNA Repair* 73: 144–154.
- Dianov, G., B. Sedgwick, G. Daly, M. Olsson, S. Lovett, and T. Lindahl. 1994. Release of 5'-terminal deoxyribose-phosphate residues from incised abasic sites in DNA by the *Escherichia coli* RecJ protein. *Nucleic Acids Research* 22: 993–998.
- Díaz-Rullo, J., G. Rodríguez-Valdecantos, F. Torres-Rojas, L. Cid, I. T. Vargas, B. González, and J. E. González-Pastor. 2021. Mining for Perchlorate Resistance Genes in Microorganisms From Sediments of a Hypersaline Pond in Atacama Desert, Chile. *Frontiers in Microbiology* 12: 723874.
- Dickman, M. J., S. M. Ingleston, S. E. Sedelnikova, J. B. Rafferty, R. G. Lloyd, J. A. Grasby, and D. P. Hornby. 2002. The RuvABC resolvase. *European Journal of Biochemistry* 269: 5492–5501.
- Didier, C., J.-P. Pouget, J. Cadet, A. Favier, J.-C. Béani, and M.-J. Richard. 2001. Modulation of exogenous and endogenous levels of thioredoxin in human skin fibroblasts prevents DNA damaging effect of ultraviolet A radiation. *Free Radical Biology and Medicine* 30: 537–546.
- Diez, A., N. Gustavsson, and T. Nyström. 2000. The universal stress protein A of *Escherichia coli* is required for resistance to DNA damaging agents and is regulated by a RecA/FtsK-dependent regulatory pathway. *Molecular Microbiology* 36: 1494–1503.
- Doherty, R., and S. Madhusudan. 2015. DNA Repair Endonucleases: Physiological Roles and Potential as Drug Targets. *Journal of Biomolecular Screening* 20: 829–841.
- Dong, Q., Y.-X. Zhang, Q. Zhou, Q.-E. Liu, D.-B. Chen, H. Wang, S.-H. Cheng, et al. 2019. UMP Kinase Regulates Chloroplast Development and Cold Response in Rice. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 2107.
- Doudney, C. O. 1990. DNA-replication recovery inhibition and subsequent reinitiation in UV-radiation-damaged *E. coli*: a strategy for survival. *Mutation Research* 243: 179–186.

- Downes, D. J., M. Chonofsky, K. Tan, B. T. Pfannenstiel, S. L. Reck-Peterson, and R. B. Todd. 2014. Characterization of the Mutagenic Spectrum of 4-Nitroquinoline 1-Oxide (4-NQO) in *Aspergillus nidulans* by Whole Genome Sequencing. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 4: 2483–2492.
- Drlica, K., and X. Zhao. 1997. DNA gyrase, topoisomerase IV, and the 4-quinolones. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* 61: 377–392.
- Dyall-Smith, M. 2015. The Halohandbook v7.3.
- Dyall-Smith, M. L., F. Pfeiffer, K. Klee, P. Palm, K. Gross, S. C. Schuster, M. Rampp, and D. Oesterhelt. 2011. *Haloquadratum walsbyi*: Limited Diversity in a Global Pond. *PLoS ONE* 6: e20968.
- Eddy, S. R. 2011. Accelerated Profile HMM Searches. *PLoS Computational Biology* 7: e1002195.
- Eichenbaum, Z., and Z. Livneh. 1998. UV Light Induces IS10 Transposition in *Escherichia coli*. *Genetics* 149: 1173–1181.
- Elevi Bardavid, R., and A. Oren. 2008. Dihydroxyacetone metabolism in *Salinibacter ruber* and in *Haloquadratum walsbyi*. *Extremophiles* 12: 125–131.
- Fairén, A. G., A. F. Davila, D. Lim, N. Bramall, R. Bonaccorsi, J. Zavaleta, E. R. Uceda, et al. 2010. Astrobiology through the ages of Mars: the study of terrestrial analogues to understand the habitability of Mars. *Astrobiology* 10: 821–843.
- Fairén, A. G., J. M. Dohm, E. R. Uceda, A. P. Rodríguez, V. R. Baker, D. Fernández-Remolar, D. Schulze-Makuch, and R. Amils. 2005. Prime candidate sites for astrobiological exploration through the hydrogeological history of Mars. *Planetary and Space Science* 53: 1355–1375.
- Fernandes, A. P., and A. Holmgren. 2004. Glutaredoxins: Glutathione-Dependent Redox Enzymes with Functions Far Beyond a Simple Thio redoxin Backup System. *Antioxidants & Redox Signaling* 6: 63–74.
- Fernandez, A. B., M. C. Rasuk, P. T. Visscher, M. Contreras, F. Novoa, D. G. Poire, M. M. Patterson, et al. 2016. Microbial Diversity in Sediment Ecosystems (Evaporites Domes, Microbial Mats, and Crusts) of Hypersaline Laguna Tebenquiche, Salar de Atacama, Chile. *Frontiers in Microbiology* 7: 1284.
- Frances, A., and P. Cordelier. 2020. The Emerging Role of Cytidine Deaminase in Human Diseases: A New Opportunity for Therapy? *Molecular Therapy* 28: 357–366.
- Fridovich, I. 1997. Superoxide Anion Radical ( $O_2^-$ ), Superoxide Dismutases, and Related Matters \*. *Journal of Biological Chemistry* 272: 18515–18517.
- Fujii, Y., M. Inoue, K. Fukui, S. Kuramitsu, and R. Masui. 2018. Resistance to UV Irradiation Caused by Inactivation of *nurA* and *herA* Genes in *Thermus thermophilus*. *Journal of Bacteriology* 200.
- Galiègue-Zouitina, S., B. Bailleul, and M. H. Loucheux-Lefebvre. 1985. Adducts from in vivo action of the carcinogen 4-hydroxyaminoquinoline 1-oxide in rats and from in vitro reaction of 4-acetoxyaminoquinoline 1-oxide with DNA and polynucleotides. *Cancer Research* 45: 520–525.
- Gallagher, P. E., and N. J. Duker. 1986. Detection of UV purine photoproducts in a defined sequence of human DNA. *Molecular and Cellular Biology* 6: 707–709.

- Galperin, M. Y. 2006. Structural classification of bacterial response regulators: diversity of output domains and domain combinations. *Journal of Bacteriology* 188: 4169–4182.
- Gao, R., T. R. Mack, and A. M. Stock. 2007. Bacterial Response Regulators: Versatile Regulatory Strategies from Common Domains. *Trends in biochemical sciences* 32: 225–234.
- Garcia-Pichel, F., N. D. Sherry, and R. W. Castenholz. 1992. Evidence for an ultraviolet sunscreen role of the extracellular pigment scytonemin in the terrestrial cyanobacterium *Chlorogloeopsis* sp. *Photochemistry and Photobiology* 56: 17–23.
- Gentile, M., L. Latonen, and M. Laiho. 2003. Cell cycle arrest and apoptosis provoked by UV radiation-induced DNA damage are transcriptionally highly divergent responses. *Nucleic Acids Research* 31: 4779–4790.
- Georgiou, C. D., D. Zisimopoulos, E. Kalaitzopoulou, and R. C. Quinn. 2017. Radiation-Driven Formation of Reactive Oxygen Species in Oxychlorine-Containing Mars Surface Analogues. *Astrobiology* 17: 319–336.
- Gindner, A., W. Hausner, and M. Thomm. 2014. The TrmB family: a versatile group of transcriptional regulators in Archaea. *Extremophiles* 18: 925–936.
- Giovannoni, S. J., T. B. Britschgi, C. L. Moyer, and K. G. Field. 1990. Genetic diversity in Sargasso Sea bacterioplankton. *Nature* 345: 60–63.
- Glavin, D. P., C. Freissinet, K. E. Miller, J. L. Eigenbrode, A. E. Brunner, A. Buch, B. Sutter, et al. 2013. Evidence for perchlorates and the origin of chlorinated hydrocarbons detected by SAM at the Rocknest aeolian deposit in Gale Crater. *Journal of Geophysical Research: Planets* 118: 1955–1973.
- Gomez, M., W. Leung, S. Dantuluri, A. Pillai, Z. Gani, S. Hwang, L. J. McMillan, et al. 2018. Molecular Factors of Hypochlorite Tolerance in the Hypersaline Archaeon *Haloferax volcanii*. *Genes* 9.
- González-Pastor, J. E., and S. Mirete. 2010. Novel Metal Resistance Genes from Microorganisms: A Functional Metagenomic Approach. *Metagenomics, Methods in Molecular Biology*, 273–285. Humana Press, Totowa, NJ.
- Goodman, J. L., S. Wang, S. Alam, F. J. Ruzicka, P. A. Frey, and J. E. Wedekind. 2004. Ornithine cyclodeaminase: structure, mechanism of action, and implications for the mu-crystallin family. *Biochemistry* 43: 13883–13891.
- Goosen, N., and G. F. Moolenaar. 2008. Repair of UV damage in bacteria. *DNA Repair* 7: 353–379.
- Gottesman, S., E. Roche, Y. Zhou, and R. T. Sauer. 1998. The ClpXP and ClpAP proteases degrade proteins with carboxy-terminal peptide tails added by the SsrA-tagging system. *Genes & Development* 12: 1338–1347.
- Greinert, R., B. Volkmer, S. Henning, E. W. Breitbart, K. O. Greulich, M. C. Cardoso, and A. Rapp. 2012. UVA-induced DNA double-strand breaks result from the repair of clustered oxidative DNA damages. *Nucleic Acids Research* 40: 10263–10273.
- Guazzaroni, M.-E., V. Morgante, S. Mirete, and J. E. González-Pastor. 2013. Novel acid resistance genes from the metagenome of the Tinto River, an extremely acidic environment. *Environmental Microbiology* 15: 1088–1102.

- Gusarov, I, and Nudler, E. 2001. Control of intrinsic transcription termination by N and NusA: the basic mechanisms. - PubMed - NCBI. Website <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11719185/> [accessed 22 October 2019].
- Gutknecht, R., R. Beutler, L. F. Garcia-Alles, U. Baumann, and B. Erni. 2001. The dihydroxyacetone kinase of *Escherichia coli* utilizes a phosphoprotein instead of ATP as phosphoryl donor. *The EMBO Journal* 20: 2480–2486.
- Han, E. S., D. L. Cooper, N. S. Persky, V. A. Suter Jr, R. D. Whitaker, M. L. Montello, and S. T. Lovett. 2006. RecJ exonuclease: substrates, products and interaction with SSB. *Nucleic Acids Research* 34: 1084–1091.
- Hanlon, D. W., L. M. Márquez-Magaña, P. B. Carpenter, M. J. Chamberlin, and G. W. Ordal. 1992. Sequence and characterization of *Bacillus subtilis* CheW. *The Journal of Biological Chemistry* 267: 12055–12060.
- Harel, O., and G. Storz. 2000. Roles of the Glutathione- and Thioredoxin-Dependent Reduction Systems in the *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae* Responses to Oxidative Stress. *Annual review of microbiology* 54: 439–61.
- Harrison, C. 2003. GrpE, a nucleotide exchange factor for DnaK. *Cell Stress & Chaperones* 8: 218–224.
- Harrop, H. A., K. D. Held, and B. D. Michael. 1991. The Oxygen Effect: Variation of the K-value and Lifetimes of O<sub>2</sub>-dependent Damage in Some Glutathione-deficient Mutants of *Escherichia coli*. *International Journal of Radiation Biology* 59: 1237–1251.
- Hecht, M. H., S. P. Kounaves, R. C. Quinn, S. J. West, S. M. M. Young, D. W. Ming, D. C. Catling, et al. 2009. Detection of perchlorate and the soluble chemistry of martian soil at the Phoenix lander site. *Science (New York, N.Y.)* 325: 64–67.
- Herbert, K. M., J. Zhou, R. A. Mooney, A. L. Porta, R. Landick, and S. M. Block. 2010. *E. coli* NusG inhibits backtracking and accelerates pause-free transcription by promoting forward translocation of RNA polymerase. *Journal of Molecular Biology* 399: 17–30.
- Herrero, E., and M. A. de la Torre-Ruiz. 2007. Monothiol glutaredoxins: a common domain for multiple functions. *Cellular and molecular life sciences: CMLS* 64: 1518–1530.
- Herrmann, K. M., and L. M. Weaver. 1999. THE SHIKIMATE PATHWAY. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 473–503.
- Hömme, M., H. Jacobi, U. Juhl-Strauss, and I. Witte. 2000. Synergistic DNA damaging effects of 4-nitroquinoline-1-oxide and non-effective concentrations of methyl methanesulfonate in human fibroblasts. *Mutation Research/DNA Repair* 461: 211–219.
- Hopkins, B. B., and T. T. Paull. 2008. The *P. furiosus* Mre11/Rad50 complex promotes 5' strand resection at a DNA double-strand break. *Cell* 135: 250–260.
- Horneck, G., P. Rettberg, G. Reitz, J. Wehner, U. Eschweiler, K. Strauch, C. Panitz, et al. 2001. Protection of bacterial spores in space, a contribution to the discussion on Panspermia. *Origins of Life and Evolution of the Biosphere: The Journal of the International Society for the Study of the Origin of Life* 31: 527–547.

- Hu, K. H., E. Liu, K. Dean, M. Gingras, W. DeGraff, and N. J. Trun. 1996. Overproduction of Three Genes Leads to Camphor Resistance and Chromosome Condensation in *Escherichia coli*. *Genetics* 143: 1521–1532.
- Huang, S. N., S. A. Michaels, B. B. Mitchell, N. Majdalani, A. V. Broeck, A. Canela, Y.-C. Tse-Dinh, et al. 2021. Exonuclease VII repairs quinolone-induced damage by resolving DNA gyrase cleavage complexes. *Science Advances* 7: eabe0384.
- Hughes, M. F. 2009. Arsenic Methylation, Oxidative Stress and Cancer—Is There a Link? *JNCI: Journal of the National Cancer Institute* 101: 1660–1661.
- Hünnefeld, M., M. Persicke, J. Kalinowski, and J. Frunzke. 2019. The MarR-Type Regulator MalR Is Involved in Stress-Responsive Cell Envelope Remodeling in *Corynebacterium glutamicum*. *Frontiers in Microbiology* 10.
- Hwang, D. M., A. Dempsey, K.-T. Tan, and C.-C. Liew. 1996. A modular domain of NifU, a nitrogen fixation cluster protein, is highly conserved in evolution. *Journal of Molecular Evolution* 43: 536–540.
- Ikenaga, M., H. Ichikawa-Ryo, and S. Kondo. 1975. The major cause of inactivation and mutation by 4-Nitroquinoline 1-Oxide in *Escherichia coli*: Excisable 4NQO-purine adducts. *Journal of Molecular Biology* 92: 341–356.
- Irazoki, O., J. Aranda, T. Zimmermann, S. Campoy, and J. Barbé. 2016. Molecular Interaction and Cellular Location of RecA and CheW Proteins in *Salmonella enterica* during SOS Response and Their Implication in Swarming. *Frontiers in Microbiology* 7: 1560.
- Ishihama, A. 2010. Prokaryotic genome regulation: multifactor promoters, multitarget regulators and hierarchic networks. *FEMS Microbiology Reviews* 34: 628–645.
- J, A., R.-M. R, R.-V. F, and A. R. 2000. Extremely halophilic bacteria in crystallizer ponds from solar salterns. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 3052–3057.
- Janion, C. 2008. Inducible SOS Response System of DNA Repair and Mutagenesis in *Escherichia coli*. *International Journal of Biological Sciences* 4: 338–344.
- Javor, B. 2002. Industrial microbiology of solar salt production. *Journal of industrial microbiology & biotechnology* 28: 42–7.
- Jeggo, P. A., and M. Löbrich. 2007. DNA double-strand breaks: their cellular and clinical impact? *Oncogene* 26: 7717–7719. Website <https://www.nature.com/articles/1210868> [accessed 25 March 2020].
- Jensen, L. J., P. Julien, M. Kuhn, C. von Mering, J. Muller, T. Doerks, and P. Bork. 2008. eggNOG: automated construction and annotation of orthologous groups of genes. *Nucleic Acids Research* 36: D250–D254.
- Jones, D. L., and B. K. Baxter. 2017. DNA Repair and Photoprotection: Mechanisms of Overcoming Environmental Ultraviolet Radiation Exposure in Halophilic Archaea. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Jung, Y. J., K. W. Baek, B. S. Oh, and J.-W. Kang. 2010. An investigation of the formation of chlorate and perchlorate during electrolysis using Pt/Ti electrodes: The effects of pH and reactive oxygen species and the results of kinetic studies. *Water Research* 44: 5345–5355.

- Kanehisa, M., M. Furumichi, M. Tanabe, Y. Sato, and K. Morishima. 2017. KEGG: new perspectives on genomes, pathways, diseases and drugs. *Nucleic Acids Research* 45: D353–D361.
- Kapardar, R. K., R. Ranjan, M. Puri, and R. Sharma. 2010. Sequence analysis of a salt tolerant metagenomic clone. *Indian Journal of Microbiology* 50: 212–215.
- Karimpour, S., J. Lou, L. L. Lin, L. M. Rene, L. Lagunas, X. Ma, S. Karra, et al. 2002. Thioredoxin reductase regulates AP-1 activity as well as thioredoxin nuclear localization via active cysteines in response to ionizing radiation. *Oncogene* 21: 6317–6327.
- Karlenius, T., and K. Tonissen. 2010. Thioredoxin and Cancer: A Role for Thioredoxin in all States of Tumor Oxygenation. *Cancers* 2: 209–232.
- Kazazian, H. H. 2004. Mobile Elements: Drivers of Genome Evolution. *Science* 303: 1626–1632.
- Kerksick, C., and D. Willoughby. 2005. The Antioxidant Role of Glutathione and N-Acetyl-Cysteine Supplements and Exercise-Induced Oxidative Stress. *Journal of the International Society of Sports Nutrition* 2: 38–44.
- Kessel, M., W. Wu, S. Gottesman, E. Kocsis, A. C. Steven, and M. R. Maurizi. 1996. Six-fold rotational symmetry of ClpQ, the E. coli homolog of the 20S proteasome, and its ATP-dependent activator, ClpY. *FEBS letters* 398: 274–278.
- Kido, E. A., J. R. Ferreira Neto, R. L. Silva, L. C. Belarmino, J. P. Bezerra Neto, N. M. Soares-Cavalcanti, V. Pandolfi, et al. 2013. Expression dynamics and genome distribution of osmoprotectants in soybean: identifying important components to face abiotic stress. *BMC Bioinformatics* 14: S7.
- Kim, E.-J., E.-K. Oh, and J. K. Lee. 2014a. Peroxidase and photoprotective activities of magnesium protoporphyrin IX. *Journal of Microbiology and Biotechnology* 24: 36–43.
- Kim, J., J. H. Chang, E.-J. Kim, and K.-J. Kim. 2014b. Crystal structure of (R)-3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase PhaB from *Ralstonia eutropha*. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 443: 783–788.
- Kim, J.-G., K. Back, H. Y. Lee, H.-J. Lee, T.-H. Phung, B. Grimm, and S. Jung. 2014c. Increased expression of Fe-chelatase leads to increased metabolic flux into heme and confers protection against photodynamically induced oxidative stress. *Plant Molecular Biology* 86: 271–287.
- Kim, M., S. Park, and S.-J. Lee. 2016. Global transcriptional regulator TrmB family members in prokaryotes. *Journal of Microbiology* 54: 639–645.
- Kiyonari, S., Y. Egashira, S. Ishino, and Y. Ishino. 2014. Biochemical characterization of endonuclease V from the hyperthermophilic archaeon, *Pyrococcus furiosus*. *The Journal of Biochemistry* 155: 325–333.
- Kobayashi, R., T. Suzuki, and M. Yoshida. 2007. *Escherichia coli* phage-shock protein A (PspA) binds to membrane phospholipids and repairs proton leakage of the damaged membranes. *Molecular Microbiology* 66: 100–109.
- Kobayashi, Y., Y. Nojima, T. Sakamoto, K. Iwabuchi, T. Nakazato, H. Bono, A. Toyoda, et al. 2019. Comparative analysis of seven types of superoxide dismutases for their ability to respond to oxidative stress in *Bombyx mori*. *Scientific Reports* 9: 2170.

- Korepanov, A. P., A. V. Korobeinikova, S. A. Shestakov, M. B. Garber, and G. M. Gongadze. 2012. Protein L5 is crucial for in vivo assembly of the bacterial 50S ribosomal subunit central protuberance. *Nucleic Acids Research* 40: 9153–9159.
- Koronakis, V., J. Eswaran, and C. Hughes. 2004. Structure and function of TolC: the bacterial exit duct for proteins and drugs. *Annual Review of Biochemistry* 73: 467–489.
- Kreuzer, K. N. 2013. DNA Damage Responses in Prokaryotes: Regulating Gene Expression, Modulating Growth Patterns, and Manipulating Replication Forks. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5.
- Krisko, A., and M. Radman. 2013. Biology of Extreme Radiation Resistance: The Way of *Deinococcus radiodurans*. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5: a012765–a012765.
- Kumar, S., N. D. Sharma, R. J. Davies, D. W. Phillipson, and J. A. McCloskey. 1987. The isolation and characterisation of a new type of dimeric adenine photoproduct in UV-irradiated deoxyadenylates. *Nucleic Acids Research* 15: 1199–1216.
- Kunau, W.-H., V. Dommes, and H. Schulz. 1995.  $\beta$ -Oxidation of fatty acids in mitochondria, peroxisomes, and bacteria: A century of continued progress. *Progress in Lipid Research* 34: 267–342.
- Kushner, D. J. 1988. Physiology of halophilic eubacteria. *Halophilic bacteria*: 109–138.
- Kvint, K., L. Nachin, A. Diez, and T. Nyström. 2003. The bacterial universal stress protein: function and regulation. *Current Opinion in Microbiology* 6: 140–145.
- Laber, B., W. Maurer, S. Scharf, K. Stepusin, and F. S. Schmidt. 1999. Vitamin B6 biosynthesis: formation of pyridoxine 5'-phosphate from 4-(phosphohydroxy)-l-threonine and 1-deoxy-d-xylulose-5-phosphate by PdxA and PdxJ protein. *FEBS Letters* 449: 45–48.
- Lam, W. W. L., E. J. Woo, M. Kotaka, W. K. Tam, Y. C. Leung, T. K. W. Ling, and S. W. N. Au. 2010. Molecular interaction of flagellar export chaperone FljS and cochaperone HP1076 in *Helicobacter pylori*. *The FASEB Journal* 24: 4020–4032.
- Lamprecht-Grandío, M., M. Cortesão, S. Mirete, M. Benguigui de la Cámara, C. G. De Figueras, D. Pérez-Pantoja, J. White, et al. 2020. Novel genes involved in resistance to both ultraviolet radiation and perchlorate from the metagenomes of hypersaline environments. *Frontiers in Microbiology* 11.
- Larosa, V., and C. Remacle. 2018. Insights into the respiratory chain and oxidative stress. *Bioscience Reports* 38: BSR20171492.
- Latchman, D. S. 1993. Transcription factors: an overview. *International Journal of Experimental Pathology* 74: 417–422.
- Laye, V. J., and S. DasSarma. 2018. An Antarctic Extreme Halophile and Its Polyextremophilic Enzyme: Effects of Perchlorate Salts. *Astrobiology* 18: 412–418.
- Lesser, M. P. 2008. Effects of ultraviolet radiation on productivity and nitrogen fixation in the Cyanobacterium, *Anabaena* sp. (Newton's strain). *Hydrobiologia* 598: 1–9.

- Li, D.-C., F. Yang, B. Lu, D.-F. Chen, and W.-J. Yang. 2012a. Thermotolerance and molecular chaperone function of the small heat shock protein HSP20 from hyperthermophilic archaeon, *Sulfolobus solfataricus* P2. *Cell Stress & Chaperones* 17: 103–108.
- Li, H. 2013. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *arXiv:1303.3997 [q-bio]*.
- Li, K., T. Jiang, B. Yu, L. Wang, C. Gao, C. Ma, P. Xu, and Y. Ma. 2012b. Transcription Elongation Factor GreA Has Functional Chaperone Activity. *PLoS ONE* 7.
- Li, X., J. Gu, and Q. Zhou. 2015a. Review of aerobic glycolysis and its key enzymes – new targets for lung cancer therapy. *Thoracic Cancer* 6: 17–24.
- Li, X.-Z., P. Plésiat, and H. Nikaido. 2015b. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clinical Microbiology Reviews* 28: 337–418.
- Li, Y.-T., Y. Tian, H. Tian, T. Tu, G.-Y. Gou, Q. Wang, Y.-C. Qiao, et al. 2018. A Review on Bacteriorhodopsin-Based Bioelectronic Devices. *Sensors (Basel, Switzerland)* 18: 1368.
- Li, Z., Z. Xiang, J. Zeng, Y. Li, and J. Li. 2019. A GntR Family Transcription Factor in *Streptococcus mutans* Regulates Biofilm Formation and Expression of Multiple Sugar Transporter Genes. *Frontiers in Microbiology* 0.
- Liochev, S. I., A. Hausladen, and I. Fridovich. 1999. Nitroreductase A is regulated as a member of the soxRS regulon of *Escherichia coli*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 96: 3537–3539.
- Liu, H., and P. A. Lund. 2007. The Roles of GroES as a Co-Chaperone for GroEL. In G. L. Blatch [ed.], *Networking of Chaperones by Co-Chaperones*, 75–87. Springer New York, New York, NY.
- Ljungdahl, P. O., and B. Daignan-Fornier. 2012. Regulation of Amino Acid, Nucleotide, and Phosphate Metabolism in *Saccharomyces cerevisiae*. *Genetics* 190: 885–929.
- Llewellyn, C. A., C. Greig, A. Silkina, B. Kultschar, M. D. Hitchings, and G. Farnham. 2020. Mycosporine-like amino acid and aromatic amino acid transcriptome response to UV and far-red light in the cyanobacterium *Chlorogloeopsis fritschii* PCC 6912. *Scientific Reports* 10: 20638.
- Love, M. I., W. Huber, and S. Anders. 2014. Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology* 15: 550.
- Lu, J., and A. Holmgren. 2014. The thioredoxin antioxidant system. *Free Radical Biology & Medicine* 66: 75–87.
- Lutz, I., A. Sieg, A. A. Wegener, M. Engelhard, I. Boche, M. Otsuka, D. Oesterhelt, et al. 2001. Primary reactions of sensory rhodopsins. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 98: 962–967.
- Mahmoud, S. A., and P. Chien. 2018. Regulated Proteolysis in Bacteria. *Annual Review of Biochemistry* 87: 677–696.
- Makarova, K., Y. Wolf, and E. Koonin. 2009. Comprehensive comparative-genomic analysis of Type 2 toxin-antitoxin systems and related mobile stress response systems in prokaryotes. *Biology Direct*, 4, 19. *Biology direct* 4: 19.

- Maldonado, J., V. Albarracin, J. Lara, M. Ferrero, and M. Farías. 2018. Culture-dependent and independent methods revealed dominance of halophilic Euryarchaeota at High-Altitude Andean Lakes. *Aquatic Microbial Ecology* 81.
- Masip, L., K. Veeravalli, and G. Georgiou. 2006. The many faces of glutathione in bacteria. *Antioxidants & Redox Signaling* 8: 753–762.
- Matarredona, L., M. Camacho, M.-J. García-Bonete, B. Esquerra, B. Zafrilla, J. Esclapez, and M.-J. Bonete. 2021. Analysis of Haloferax mediterranei Lrp Transcriptional Regulator. *Genes* 12: 802.
- Matarredona, L., M. Camacho, B. Zafrilla, M.-J. Bonete, and J. Esclapez. 2020. The Role of Stress Proteins in Haloarchaea and Their Adaptive Response to Environmental Shifts. *Biomolecules* 10.
- McCready, S., and L. Marcello. 2003. Repair of UV damage in Halobacterium salinarum. *Biochemical Society Transactions* 31: 694–698.
- McCready, S., J. A. Müller, I. Boubriak, B. R. Berquist, W. L. Ng, and S. DasSarma. 2005. UV irradiation induces homologous recombination genes in the model archaeon, Halobacterium sp. NRC-1. *Saline Systems* 1: 3.
- Mcgenity, T., and A. Oren. 2012. Hypersaline environments. *Life at Extremes: Environments, Organisms and Strategies for Survival*: 402–437.
- McKee, T., and J. R. McKee. 2016. Bioquímica. Las bases moleculares de la vida, 5e. Website <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1960&sectionid=147707411> [accessed 19 May 2022].
- Meddows, T. R., A. P. Savory, J. I. Grove, T. Moore, and R. G. Lloyd. 2005. RecN protein and transcription factor DksA combine to promote faithful recombinational repair of DNA double-strand breaks. *Molecular Microbiology* 57: 97–110.
- Miao, Z.-H., V. A. Rao, K. Agama, S. Antony, K. W. Kohn, and Y. Pommier. 2006. 4-Nitroquinoline-1-Oxide Induces the Formation of Cellular Topoisomerase I-DNA Cleavage Complexes. *Cancer Research* 66: 6540–6545.
- Mirete, S., C. G. de Figueras, and J. E. Gonzalez-Pastor. 2007. Novel Nickel Resistance Genes from the Rhizosphere Metagenome of Plants Adapted to Acid Mine Drainage. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 6001–6011.
- Mirete, S., M. R. Mora-Ruiz, M. Lamprecht-Grandío, C. G. de Figueras, R. Rosselló-Móra, and J. E. González-Pastor. 2015. Salt resistance genes revealed by functional metagenomics from brines and moderate-salinity rhizosphere within a hypersaline environment. *Frontiers in Microbiology* 6.
- Mizushima, S., and M. Nomura. 1970. Assembly mapping of 30S ribosomal proteins from E. coli. - PubMed - NCBI. Website <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4912319> [accessed 31 October 2019].
- Mongodin, E. F., K. E. Nelson, S. Daugherty, R. T. DeBoy, J. Wister, H. Khouri, J. Weidman, et al. 2005. The genome of Salinibacter ruber: Convergence and gene exchange among hyperhalophilic bacteria and archaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 102: 18147–18152.

- Monnet, V., M. Nardi, A. Chopin, M. C. Chopin, and J. C. Gripon. 1994. Biochemical and genetic characterization of PepF, an oligopeptidase from *Lactococcus lactis*. *The Journal of Biological Chemistry* 269: 32070–32076.
- Morgante, V., S. Mirete, C. G. de Figueras, M. Postigo Cacho, and J. E. González-Pastor. 2014. Exploring the diversity of arsenic resistance genes from acid mine drainage microorganisms. *Environmental Microbiology* 17: 1910–1925.
- Morrison, R. D., E. A. Vavricka, and P. B. Duncan. 1964. 9 - Perchlorate. In R. D. Morrison, and B. L. Murphy [eds.], *Environmental Forensics*, 167–185. Academic Press, Burlington.
- Muda, M., N. N. Rao, and A. Torriani. 1992. Role of PhoU in phosphate transport and alkaline phosphatase regulation. *Journal of Bacteriology* 174: 8057–8064.
- Müller, A., S. Langklotz, N. Lupilova, K. Kuhlmann, J. E. Bandow, and L. I. O. Leichert. 2014. Activation of RidA chaperone function by N -chlorination. *Nature Communications* 5: 5804.
- Nair, S., and S. E. Finkel. 2004. Dps Protects Cells against Multiple Stresses during Stationary Phase. *Journal of Bacteriology* 186: 4192–4198.
- Nicholson, W. L., N. Munakata, G. Horneck, H. J. Melosh, and P. Setlow. 2000. Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* 64: 548–572.
- Nicholson, W. L., A. C. Schuerger, and P. Setlow. 2005. The solar UV environment and bacterial spore UV resistance: considerations for Earth-to-Mars transport by natural processes and human spaceflight. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 571: 249–264.
- Noinaj, N., M. Guillier, T. J. Barnard, and S. K. Buchanan. 2010. TonB-dependent transporters: regulation, structure, and function. *Annual Review of Microbiology* 64: 43–60.
- Nordberg, J., and E. S. J. Arnér. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system<sup>1</sup> <sup>1</sup>This review is based on the licentiate thesis “Thioredoxin reductase—interactions with the redox active compounds 1-chloro-2,4-dinitrobenzene and lipoic acid” by Jonas Nordberg, 2001, Karolinska Institute, Stockholm, ISBN 91-631-1064-4. *Free Radical Biology and Medicine* 31: 1287–1312.
- Obruca, S., P. Sedlacek, M. Koller, D. Kucera, and I. Pernicova. 2018. Involvement of polyhydroxyalkanoates in stress resistance of microbial cells: Biotechnological consequences and applications. *Biotechnology Advances* 36: 856–870.
- Ogawa, T., G. G. Pickett, T. Kogoma, and A. Kornberg. 1984. RNase H confers specificity in the dnaA-dependent initiation of replication at the unique origin of the *Escherichia coli* chromosome in vivo and in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 81: 1040–1044.
- Ohnishi, T., E. Mori, and A. Takahashi. 2009. DNA double-strand breaks: Their production, recognition, and repair in eukaryotes. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* 669: 8–12.

- Okada, K., Y. Takahashi, K. Ohnishi, O. Ishikawa, and Y. Miyachi. 1994. Time-dependent effect of chronic UV irradiation on superoxide dismutase and catalase activity in hairless mice skin. *Journal of Dermatological Science* 8: 183–186.
- Okaichi, K., T. Mori, M. Ihara, and T. Ohnishi. 1995. Unique DNA repair property of an ultraviolet-sensitive (radC) mutant of *Dictyostelium discoideum*. *Photochemistry and Photobiology* 61: 281–284.
- Ordoñez, O. F., M. R. Flores, J. R. Dib, A. Paz, and M. E. Fariás. 2009. Extremophile Culture Collection from Andean Lakes: Extreme Pristine Environments that Host a Wide Diversity of Microorganisms with Tolerance to UV Radiation. *Microbial Ecology* 58: 461–473.
- Oren, A. 2019. Chapter 3 - Solar salterns as model systems for the study of halophilic microorganisms in their natural environments. In J. Seckbach, and P. Rampelotto [eds.], *Model Ecosystems in Extreme Environments, Astrobiology Exploring Life on Earth and Beyond*, 41–56. Academic Press.
- Oren, A. 2013. *Salinibacter*: an extremely halophilic bacterium with archaeal properties. *FEMS microbiology letters* 342: 1–9.
- Oren, A. 2012. The Function of Gas Vesicles in Halophilic Archaea and Bacteria: Theories and Experimental Evidence. *Life* 3: 1–20.
- Oren, A., R. Elevi Bardavid, and L. Mana. 2014. Perchlorate and halophilic prokaryotes: implications for possible halophilic life on Mars. *Extremophiles: Life Under Extreme Conditions* 18: 75–80.
- Oren, A., M. Heldal, S. Norland, and E. Galinski. 2002. Intracellular ion and organic solute concentrations of the extremely halophilic bacterium *Salinibacter ruber*. *Extremophiles* 6: 491–498.
- Pardoux, R., A. Fiévet, C. Carreira, C. Brochier-Armanet, O. Valette, Z. Dermoun, B. Py, et al. 2019. The bacterial MrpORP is a novel Mrp/NBP35 protein involved in iron-sulfur biogenesis. *Scientific Reports* 9: 712.
- Park, H., E. Do, M. Kim, H.-J. Park, J. Lee, and S.-W. Han. 2020. A LysR-Type Transcriptional Regulator LcrX Is Involved in Virulence, Biofilm Formation, Swimming Motility, Siderophore Secretion, and Growth in Sugar Sources in *Xanthomonas axonopodis* Pv. *glycines*. *Frontiers in Plant Science* 0.
- Park, J. Y., and B. Ahn. 2000. Effect of DNA topology on plasmid DNA repair in vivo. *FEBS letters* 476: 174–178.
- Park, Y.-J., E.-S. Song, T.-H. Noh, H. Kim, K.-S. Yang, J.-H. Hahn, H.-W. Kang, and B.-M. Lee. 2009. Virulence analysis and gene expression profiling of the pigment-deficient mutant of *Xanthomonas oryzae pathovar oryzae*. *FEMS microbiology letters* 301: 149–155.
- Pašić, L., B. Rodriguez-Mueller, A.-B. Martin-Cuadrado, A. Mira, F. Rohwer, and F. Rodriguez-Valera. 2009. Metagenomic islands of hyperhalophiles: the case of *Salinibacter ruber*. *BMC Genomics* 10: 570.
- Paterson, E. S., S. E. Boucher, and I. B. Lambert. 2002. Regulation of the *nfsA* Gene in *Escherichia coli* by SoxS. *Journal of Bacteriology* 184: 51–58.
- Pattanaik, B., R. Schumann, and U. Karsten. 2007. Effects of Ultraviolet Radiation on Cyanobacteria and their Protective Mechanisms. 29–45.

- Pattison, D., and M. Davies. 2006. Actions of ultraviolet light on cellular structures. *EXS* 96: 131–57.
- Peat, T. S., E. G. Frank, J. P. McDonald, A. S. Levine, R. Woodgate, and W. A. Hendrickson. 1996. The UmuD' protein filament and its potential role in damage induced mutagenesis. *Structure* 4: 1401–1412.
- Peck, R. F., C. Echavarri-Erasun, E. A. Johnson, W. V. Ng, S. P. Kennedy, L. Hood, S. DasSarma, and M. P. Krebs. 2001. brp and blh Are Required for Synthesis of the Retinal Cofactor of Bacteriorhodopsin in *Halobacterium salinarum* \*. *Journal of Biological Chemistry* 276: 5739–5744.
- Perdiz, D., P. Grof, M. Mezzina, O. Nikaido, E. Moustacchi, and E. Sage. 2000. Distribution and repair of bipyrimidine photoproducts in solar UV-irradiated mammalian cells. Possible role of Dewar photoproducts in solar mutagenesis. *The Journal of Biological Chemistry* 275: 26732–26742.
- Pérez, V., M. Hengst, L. Kurte, C. Dorador, W. H. Jeffrey, R. Wattiez, V. Molina, and S. Matallana-Surget. 2017. Bacterial Survival under Extreme UV Radiation: A Comparative Proteomics Study of *Rhodobacter* sp., Isolated from High Altitude Wetlands in Chile. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Pérez-Arnaiz, P., A. Dattani, V. Smith, and T. Allers. 2020. *Haloferax volcanii*-a model archaeon for studying DNA replication and repair. *Open Biology* 10: 200293.
- Perez-Rueda, E., R. Hernandez-Guerrero, M. A. Martinez-Nuñez, D. Armenta-Medina, I. Sanchez, and J. A. Ibarra. 2018. Abundance, diversity and domain architecture variability in prokaryotic DNA-binding transcription factors. *PLOS ONE* 13: e0195332.
- Perry, J. J. P., D. S. Shin, E. D. Getzoff, and J. A. Tainer. 2010. The structural biochemistry of the superoxide dismutases. *Biochimica et biophysica acta* 1804: 245–262.
- Picksley, S. M., P. V. Attfield, and R. G. Lloyd. 1984. Repair of DNA double-strand breaks in *Escherichia coli* K12 requires a functional recN product. *Molecular & general genetics: MGG* 195: 267–274.
- Plaisier, C. L., F.-Y. Lo, J. Ashworth, A. N. Brooks, K. D. Beer, A. Kaur, M. Pan, et al. 2014. Evolution of context dependent regulation by expansion of feast/famine regulatory proteins. *BMC Systems Biology* 8: 122.
- Polard, P., and M. Chandler. 1995. Bacterial transposases and retroviral integrases. *Molecular Microbiology* 15: 13–23.
- Pott, A. S., and C. Dahl. 1998. Sirohaem sulfite reductase and other proteins encoded by genes at the dsr locus of *Chromatium vinosum* are involved in the oxidation of intracellular sulfur. *Microbiology (Reading, England)* 144 ( Pt 7): 1881–1894.
- Powley, I. R., A. Kondrashov, L. A. Young, H. C. Dobbyn, K. Hill, I. G. Cannell, M. Stoneley, et al. 2009. Translational reprogramming following UVB irradiation is mediated by DNA-PKcs and allows selective recruitment to the polysomes of mRNAs encoding DNA repair enzymes. *Genes & Development* 23: 1207–1220.
- Pruteanu, M., and T. A. Baker. 2009. Controlled degradation by ClpXP protease tunes the levels of the excision repair protein UvrA to the extent of DNA damage. *Molecular microbiology* 71: 912–924.

- Quesada, A., and W. F. Vincent. 1997. Strategies of adaptation by Antarctic cyanobacteria to ultraviolet radiation. *European Journal of Phycology* 32: 335–342.
- Radman, M. 1975. SOS repair hypothesis: phenomenology of an inducible DNA repair which is accompanied by mutagenesis. *Basic Life Sciences* 5A: 355–367.
- Ramírez-Díaz, M. I., C. Díaz-Pérez, E. Vargas, H. Riveros-Rosas, J. Campos-García, and C. Cervantes. 2008. Mechanisms of bacterial resistance to chromium compounds. *BioMetals* 21: 321–332.
- Ramos, J. L., M. Martínez-Bueno, A. J. Molina-Henares, W. Terán, K. Watanabe, X. Zhang, M. T. Gallegos, et al. 2005. The TetR Family of Transcriptional Repressors. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69: 326–356.
- Rastogi, R. P., Richa, A. Kumar, M. B. Tyagi, and R. P. Sinha. 2010. Molecular Mechanisms of Ultraviolet Radiation-Induced DNA Damage and Repair. *Journal of Nucleic Acids* 2010: e592980.
- Rastogi, R. P., R. P. Sinha, and A. Incharoensakdi. 2013. Partial characterization, UV-induction and photoprotective function of sunscreen pigment, scytonemin from Rivularia sp. HKAR-4. *Chemosphere* 93: 1874–1878.
- Rastogi, R. P., R. R. Sonani, and D. Madamwar. 2015. Cyanobacterial Sunscreen Scytonemin: Role in Photoprotection and Biomedical Research. *Applied Biochemistry and Biotechnology* 176: 1551–1563.
- Rasuk, M., G. Ferrer, D. Kurth, L. Portero, M. Farías, and V. Albarracin. 2017. UV-Resistant Actinobacteria from High-Altitude Andean Lakes: Isolation, Characterization and Antagonistic Activities †. *Photochemistry and Photobiology* 93: 865–880.
- Reis-Mansur, M. C. P. P., J. S. Cardoso-Rurr, J. V. M. A. Silva, G. R. de Souza, V. da S. Cardoso, F. R. P. Mansoldo, Y. Pinheiro, et al. 2019. Carotenoids from UV-resistant Antarctic Microbacterium sp. LEMMJ01. *Scientific Reports* 9: 1–14.
- Repar, J., N. Briški, M. Buljubašić, K. Zahradka, and D. Zahradka. 2013. Exonuclease VII is involved in “reckless” DNA degradation in UV-irradiated Escherichia coli. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis* 750: 96–104.
- Richardson, S. D., M. J. Plewa, E. D. Wagner, R. Schoeny, and D. M. DeMarini. 2007. Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research* 636: 178–242.
- Rodrigues-Oliveira, T., A. Belmok, D. Vasconcellos, B. Schuster, and C. M. Kyaw. 2017. Archaeal S-Layers: Overview and Current State of the Art. *Frontiers in Microbiology* 8.
- Rodriguez-Valera, F., A. Ventosa, G. Juez, and J. F. Imhoff. 1985. Variation of environmental features and microbial populations with salt concentrations in a multi-pond saltern. *Microbial Ecology* 11: 107–115.
- Rooney, J. P., A. Patil, F. Joseph, L. Endres, U. Begley, M. R. Zappala, R. P. Cunningham, and T. J. Begley. 2011. Cross-species Functionome analysis identifies proteins associated with DNA repair, translation and aerobic respiration as conserved modulators of UV-toxicity. *Genomics* 97: 133–147.

- Rosen, C. F., D. Gajic, and D. J. Drucker. 1990. Ultraviolet radiation induction of ornithine decarboxylase in rat keratinocytes. *Cancer Research* 50: 2631–2635.
- Russell, S. J., S. H. Reed, W. Huang, E. C. Friedberg, and S. A. Johnston. 1999. The 19S Regulatory Complex of the Proteasome Functions Independently of Proteolysis in Nucleotide Excision Repair. *Molecular Cell* 3: 687–695.
- Sakamoto, J. J., M. Sasaki, and T. Tsuchido. 2001. Purification and Characterization of a *Bacillus subtilis* 168 Nuclease, YokF, Involved in Chromosomal DNA Degradation and Cell Death Caused by Thermal Shock Treatments \*. *Journal of Biological Chemistry* 276: 47046–47051.
- Sánchez-Navarrete, J., M. Arriaga-Alba, N. J. Ruiz-Pérez, and J. D. Toscano-Garibay. 2017. Antimutagenic activity of vitamin B1 against damages induced by chemical and physical mutagens in *Salmonella typhimurium* and *Escherichia coli*. *Toxicology in Vitro* 45: 202–206.
- Sand, O. 2003. Phenotypic characterization of overexpression or deletion of the *Escherichia coli* *crcA*, *cspE* and *crcB* genes. *Microbiology* 149: 2107–2117.
- Santos, A. L., N. C. M. Gomes, I. Henriques, A. Almeida, A. Correia, and Â. Cunha. 2012. Contribution of reactive oxygen species to UV-B-induced damage in bacteria. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 117: 40–46.
- Santos, F., P. Yarza, V. Parro, C. Briones, and J. Antón. 2010. The metavirome of a hypersaline environment. *Environmental Microbiology* 12: 2965–2976.
- Schallreuter, K. U., and J. M. Wood. 2001. Thioredoxin reductase - its role in epidermal redox status. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology* 64: 179–184.
- Schmidt, O., V. J. Schuenemann, N. J. Hand, T. J. Silhavy, J. Martin, A. N. Lupas, and S. Djuranovic. 2007. *prfF* and *yhaV* Encode a New Toxin–Antitoxin System in *Escherichia coli*. *Journal of Molecular Biology* 372: 894–905.
- Schobert, B., and J. K. Lanyi. 1982. Halorhodopsin is a light-driven chloride pump. *The Journal of Biological Chemistry* 257: 10306–10313.
- Schreiter, E. R., and C. L. Drennan. 2007. Ribbon-helix-helix transcription factors: variations on a theme. *Nature Reviews. Microbiology* 5: 710–720.
- Seeberg, E., L. Eide, and M. Bjørås. 1995. The base excision repair pathway. *Trends in Biochemical Sciences* 20: 391–397.
- Seebode, C., J. Lehmann, and S. Emmert. 2016. Photocarcinogenesis and Skin Cancer Prevention Strategies. *Anticancer Research* 36: 1371–1378.
- Selby, C. P. 2017. Mfd Protein and Transcription–Repair Coupling in *Escherichia coli*. *Photochemistry and Photobiology* 93: 280–295.
- Senissar, M., M. C. Manav, and D. E. Brodersen. 2017. Structural conservation of the PIN domain active site across all domains of life. *Protein Science : A Publication of the Protein Society* 26: 1474–1492.
- Setlow, R. B., P. A. Swenson, and W. L. Carrier. 1963. THYMINE DIMERS AND INHIBITION OF DNA SYNTHESIS BY ULTRAVIOLET IRRADIATION OF CELLS. *Science (New York, N.Y.)* 142: 1464–1466.

- Shakya, M., C.-C. Lo, and P. S. G. Chain. 2019. Advances and Challenges in Metatranscriptomic Analysis. *Frontiers in Genetics* 10.
- Sharma, S., S. Shinde, and P. E. Verslues. 2013. Functional characterization of an ornithine cyclodeaminase-like protein of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology* 13: 182.
- Sharrock, A., A. Ruthe, E. S. V. Andrews, V. A. Arcus, and J. L. Hicks. 2018. VapC proteins from *Mycobacterium tuberculosis* share ribonuclease sequence specificity but differ in regulation and toxicity. *PLOS ONE* 13: e0203412.
- Simon, C., and R. Daniel. 2009. Achievements and new knowledge unraveled by metagenomic approaches. *Applied Microbiology and Biotechnology* 85: 265–276.
- Simon, R. D. 1980. Interactions Between Light and Gas Vacuoles in *Halobacterium salinarium* Strain 5: Effect of Ultraviolet Light. *Applied and Environmental Microbiology* 40: 984–987.
- Singh, O. V., and P. Gabani. 2011. Extremophiles: radiation resistance microbial reserves and therapeutic implications. *Journal of Applied Microbiology* 110: 851–861.
- Singh, V. K., K. Singh, and K. Baum. 2018. The Role of Methionine Sulfoxide Reductases in Oxidative Stress Tolerance and Virulence of *Staphylococcus aureus* and Other Bacteria. *Antioxidants* 7: 128.
- Sinha, R. P., and D. P. Häder. 2002. UV-induced DNA damage and repair: a review. *Photochemical & Photobiological Sciences: Official Journal of the European Photochemistry Association and the European Society for Photobiology* 1: 225–236.
- Slade, D., and M. Radman. 2011. Oxidative Stress Resistance in *Deinococcus radiodurans*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR* 75: 133–191.
- Sliney, D. H. 2007. Radiometric quantities and units used in photobiology and photochemistry: recommendations of the Commission Internationale de L'Eclairage (International Commission on Illumination). *Photochemistry and Photobiology* 83: 425–432.
- Song, J. J., J. G. Rhee, M. Suntharalingam, S. A. Walsh, D. R. Spitz, and Y. J. Lee. 2002. Role of Glutaredoxin in Metabolic Oxidative Stress: GLUTAREDOXIN AS A SENSOR OF OXIDATIVE STRESS MEDIATED BY H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>\*. *Journal of Biological Chemistry* 277: 46566–46575.
- Spudich, J. L., and R. A. Bogomolni. 1984. Mechanism of colour discrimination by a bacterial sensory rhodopsin. *Nature* 312: 509–513.
- Stadtman, E. R., J. Moskovitz, B. S. Berlett, and R. L. Levine. 2002. Cyclic oxidation and reduction of protein methionine residues is an important antioxidant mechanism. *Molecular and Cellular Biochemistry* 234–235: 3–9.
- Streker, K., C. Freiberg, H. Labischinski, J. Hacker, and K. Ohlsen. 2005. *Staphylococcus aureus* NfrA (SA0367) is a flavin mononucleotide-dependent NADPH oxidase involved in oxidative stress response. *Journal of Bacteriology* 187: 2249–2256.
- Suji, G., and S. Sivakami. 2007. DNA damage during glycation of lysine by methylglyoxal: assessment of vitamins in preventing damage. *Amino Acids* 33: 615–621.

- Susin, M. F., R. L. Baldini, F. Gueiros-Filho, and S. L. Gomes. 2006. GroES/GroEL and DnaK/DnaJ Have Distinct Roles in Stress Responses and during Cell Cycle Progression in *Caulobacter crescentus*. *Journal of Bacteriology* 188: 8044–8053.
- Svobodová, A., J. Psotová, and D. Walterová. 2003. Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review. *Biomedical Papers* 147: 137–145.
- Tabb-Massey, A., J. M. Caffrey, P. Logsdon, S. Taylor, J. O. Trent, and S. R. Ellis. 2003. Ribosomal proteins Rps0 and Rps21 of *Saccharomyces cerevisiae* have overlapping functions in the maturation of the 3' end of 18S rRNA. *Nucleic Acids Research* 31: 6798–6805.
- Tamames, J., and F. Puente-Sánchez. 2019. SqueezeMeta, A Highly Portable, Fully Automatic Metagenomic Analysis Pipeline. *Frontiers in Microbiology* 9.
- Taylor, B. L., and I. B. Zhulin. 1999. PAS Domains: Internal Sensors of Oxygen, Redox Potential, and Light. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 63: 479.
- Thaw, P., S. E. Sedelnikova, T. Muranova, S. Wiese, S. Ayora, J. C. Alonso, A. B. Brinkman, et al. 2006. Structural insight into gene transcriptional regulation and effector binding by the Lrp/AsnC family. *Nucleic Acids Research* 34: 1439–1449.
- Thibonnier, M., J.-M. Thiberge, and H. De Reuse. 2008. Trans-translation in *Helicobacter pylori*: essentiality of ribosome rescue and requirement of protein tagging for stress resistance and competence. *PLoS One* 3: e3810.
- Thurotte, A., T. Brüser, T. Mascher, and D. Schneider. 2017. Membrane chaperoning by members of the PspA/IM30 protein family. *Communicative & Integrative Biology* 10: e1264546.
- Tomasko et al. 1999. Properties of dust in the Martian atmosphere from the Imager on Mars Pathfinder. *Journal of Geophysical Research: Planets* 104: 8987–9007.
- Tommasi, S., P. M. Swiderski, Y. Tu, B. E. Kaplan, and G. P. Pfeifer. 1996. Inhibition of transcription factor binding by ultraviolet-induced pyrimidine dimers. *Biochemistry* 35: 15693–15703.
- Tornaletti, S., and P. C. Hanawalt. 1999. Effect of DNA lesions on transcription elongation. *Biochimie* 81: 139–146.
- Trautinger, F., I. Kindås-Mügge, R. M. Knobler, and H. Hönigsmann. 1996. Stress proteins in the cellular response to ultraviolet radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 35: 141–148.
- Trigui, H., S. Masmoudi, C. Brochier-Armanet, S. Maalej, and S. Dukan. 2011. Survival of extremely and moderately halophilic isolates of Tunisian solar salterns after UV-B or oxidative stress. *Canadian Journal of Microbiology* 57: 923–933.
- Uhlmann, F. 2016. SMC complexes: from DNA to chromosomes. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 17: 399–412.
- Valladares, A., M. L. Montesinos, A. Herrero, and E. Flores. 2002. An ABC-type, high-affinity urea permease identified in cyanobacteria. *Molecular Microbiology* 43: 703–715.
- Van Melderen, L., and A. Aertsen. 2009. Regulation and quality control by Lon-dependent proteolysis. *Research in Microbiology* 160: 645–651.

- Vega, M., R. Nerenberg, and I. T. Vargas. 2018. Perchlorate contamination in Chile: Legacy, challenges, and potential solutions. *Environmental Research* 164: 316–326.
- Ventosa, A. 2006. Unusual micro-organisms from unusual habitats: Hypersaline environments. *Prokaryotic Diversity: Mechanisms and Significance: Published for the Society for General Microbiology*: 223–254.
- Ventosa, A., A. B. Fernández, M. J. León, C. Sánchez-Porro, and F. Rodríguez-Valera. 2014. The Santa Pola saltern as a model for studying the microbiota of hypersaline environments. *Extremophiles* 18: 811–824.
- Ventosa, A., R. R. de la Haba, C. Sánchez-Porro, and R. T. Papke. 2015. Microbial diversity of hypersaline environments: a metagenomic approach. *Current Opinion in Microbiology* 25: 80–87.
- Verdaguer, D., M. Jansen, L. Llorens, L. Morales, and S. Neugart. 2016. UV-A radiation effects on higher plants: Exploring the known unknown. *Plant Science* 255.
- Vickridge, E., C. Planchenault, C. Cockram, I. G. Junceda, and O. Espéli. 2017. Management of E. coli sister chromatid cohesion in response to genotoxic stress. *Nature Communications* 8: 14618.
- Vigil-Stenman, T., K. Ininbergs, B. Bergman, and M. Ekman. 2017. High abundance and expression of transposases in bacteria from the Baltic Sea. *The ISME Journal* 11: 2611–2623.
- Visick, J. E., and S. Clarke. 1995. Repair, refold, recycle: how bacteria can deal with spontaneous and environmental damage to proteins. *Molecular Microbiology* 16: 835–845.
- Vogt, W. 1995. Oxidation of methionyl residues in proteins: tools, targets, and reversal. *Free Radical Biology & Medicine* 18: 93–105.
- Vries, G. E. de, and K. Metzlauff. 2000. Phytosfere'99 - Highlights in European Plant Biotechnology Research and Technology Transfer. Elsevier.
- Wadsworth, J., and C. S. Cockell. 2017. Perchlorates on Mars enhance the bacteriocidal effects of UV light. *Scientific Reports* 7: 1–8.
- Walsby, A. E. 1980. A square bacterium. *Nature* 283: 69–71.
- Walsby, A. E. 1994. Gas vesicles. *Microbiological reviews* 58: 94–144.
- Wamer, W. G., and R. R. Wei. 1997. In vitro photooxidation of nucleic acids by ultraviolet A radiation. *Photochemistry and Photobiology* 65: 560–563.
- Wang, H., K. Zhang, J. Zhu, W. Song, L. Zhao, and X. Zhang. 2013. Structure Reveals Regulatory Mechanisms of a MaoC-Like Hydratase from *Phytophthora capsici* Involved in Biosynthesis of Polyhydroxyalkanoates (PHAs). *PLoS ONE* 8: e80024.
- Wang, Y., R. C. Jensen, and W. E. Stumph. 1996. Role of TATA box sequence and orientation in determining RNA polymerase II/III transcription specificity. *Nucleic Acids Research* 24: 3100–3106.
- Ward, D. M., R. Weller, and M. M. Bateson. 1990. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community. *Nature* 345: 63–65.

- Ward, M. J., A. W. Bell, P. A. Hamblin, H. L. Packer, and J. P. Armitage. 1995. Identification of a chemotaxis operon with two cheY genes in *Rhodobacter sphaeroides*. *Molecular Microbiology* 17: 357–366.
- Wayne Outten, F. 2015. Recent advances in the Suf Fe–S cluster biogenesis pathway: Beyond the Proteobacteria. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research* 1853: 1464–1469.
- Williams, A. B., K. M. Hetrick, and P. L. Foster. 2010. Interplay of DNA repair, homologous recombination, and DNA polymerases in resistance to the DNA damaging agent 4-nitroquinoline-1-oxide in *Escherichia coli*. *DNA repair* 9: 1090–1097.
- Wink, M. 1997. 12 - Special Nitrogen Metabolism. In P. M. Dey, and J. B. Harborne [eds.], *Plant Biochemistry*, 439–486. Academic Press, London.
- Wu, N., and H. Yu. 2012. The Smc complexes in DNA damage response. *Cell & Bioscience* 2: 5.
- Wurtmann, E. J., and S. L. Wolin. 2009. RNA under attack: Cellular handling of RNA damage. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology* 44: 34–49.
- Yang, Q., D. Solairaj, M. T. Apaliya, M. Abdelhai, M. Zhu, Y. Yan, and H. Zhang. 2020. Protein Expression Profile and Transcriptome Characterization of *Penicillium expansum* Induced by *Meyerozyma guilliermondii*. *Journal of Food Quality* 2020: e8056767.
- Yasui, A. 2013. Alternative Excision Repair Pathways. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 5.
- Yavaş, İ., aydın Ünay, S. Ali, and Z. Abbas. 2020. UV-B Radiations and Secondary Metabolites. *Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology* 8: 147–157.
- Yu, J., H.-W. Dong, L.-T. Shi, X.-Y. Tang, J.-R. Liu, and J.-H. Shi. 2019. Reproductive toxicity of perchlorate in rats. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association* 128: 212–222.
- Yushkova, E., and V. Zainullin. 2016. Interaction between gene repair and mobile elements-induced activity systems after low-dose irradiation. *International Journal of Radiation Biology* 92: 485–492.
- Zellars, M., and C. L. Squires. 1999. Antiterminator-dependent modulation of transcription elongation rates by NusB and NusG. *Molecular Microbiology* 32: 1296–1304.
- Zenoff, V. F., F. Siñeriz, and M. E. Farías. 2006. Diverse Responses to UV-B Radiation and Repair Mechanisms of Bacteria Isolated from High-Altitude Aquatic Environments. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 7857–7863.
- Zhang, Z.-Z., X.-X. Li, Y.-N. Chu, M.-X. Zhang, Y.-Q. Wen, C.-Q. Duan, and Q.-H. Pan. 2012. Three types of ultraviolet irradiation differentially promote expression of shikimate pathway genes and production of anthocyanins in grape berries. *Plant Physiology and Biochemistry* 57: 74–83.
- Zhao, J., C. C. Williams, and R. L. Last. 1998. Induction of *Arabidopsis* tryptophan pathway enzymes and camalexin by amino acid starvation, oxidative stress, and an abiotic elicitor. *The Plant Cell* 10: 359–370.

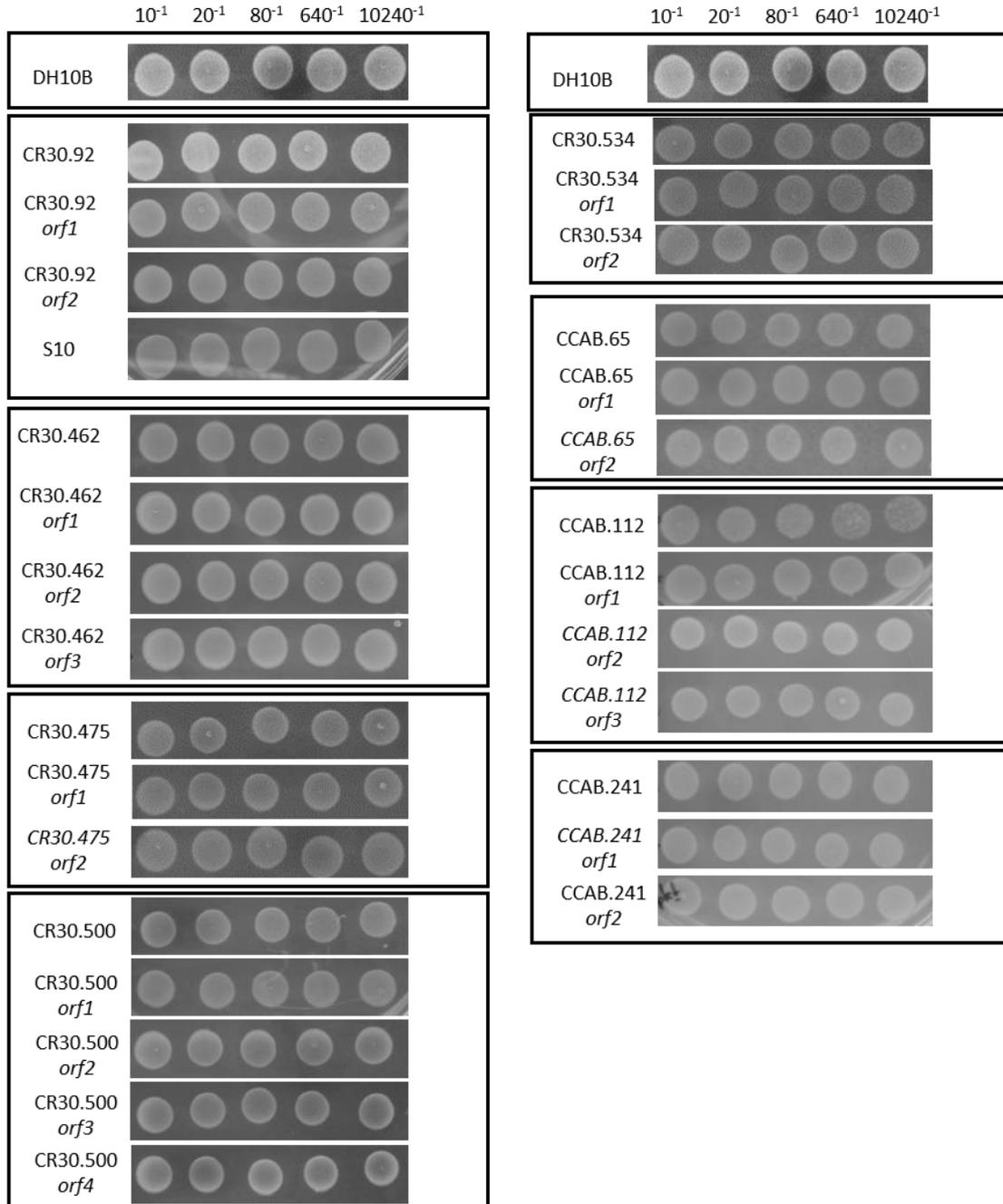
Zhou, Q., X. Zhang, H. Xu, B. Xu, and Y. Hua. 2006. RadA: A protein involved in DNA damage repair processes of *Deinococcus radiodurans* R1. *Chinese Science Bulletin* 51: 2993–2999.

Zorzano, M.-P., E. Mateo-Martí, O. Prieto-Ballesteros, S. Osuna, and N. Renno. 2009. Stability of liquid saline water on present day Mars. *Geophysical Research Letters* 36.



# ANEXOS

## ANEXOS



**Figura A. Test mediante goteo en ausencia de radiación UVB u otros tratamientos, empleado como control de los ocho clones completos y los clones que expresan los genes individuales.** Se inocularon gotas de 10  $\mu$ l de las diluciones seriadas de cada clon en medio s31ido LB-Ap y se incubaron a 37°C durante 24h. Estos experimentos se repitieron tres veces empleando cultivos independientes y proporcionaron resultados similares.

**Tabla A. Genes significativamente inducidos o reprimidos tras la irradiaci31n con ultravioleta en *Salinibacter ruber*.** Se muestran aquellos genes con un Fold Change mayor que 1.8 o menos que -1.8. Se

establece como fiabilidad de la muestra un pvalue  $\leq 0.05$ . Aparece además representado el producto proteico de cada gen y el número de COG asignado. En morado se representa los genes coincidentes entre ambos tratamientos; en verde, los exclusivos de luz; en amarillo, los exclusivos de oscuridad.

<i>GENE</i>	<i>FC</i>	<i>pvalue</i>	<i>PRODUCT</i>	<i>Nombre del gel</i>	<i>COG</i>	<i>Grupo de COG</i>
<i>TRADUCCIÓN (J)</i> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
<i>SRU_RS00105</i>	2.830	5.460E-05	Proteína ribosomal 50SL28	rpmB	COG0227	J
<i>SRU_RS00195</i>	2.610	1.022E-03	Proteína ribosomal 50SL32	rpmF	COG0333	J
<i>SRU_RS00185</i>	2.601	1.198E-03	Proteína ribosomal 50SL13	rplM	COG0102	J
<i>SRU_RS05435</i>	2.294	4.449E-02	Proteína ribosomal 30SS12	0	COG0048	J
<i>SRU_RS09320</i>	2.194	2.832E-03	Factor de elongación Tu	tuf	COG0050	J
<i>SRU_RS09470</i>	1.945	4.011E-04	glutamato—ARNt ligasa	0	COG0008	J
<i>SRU_RS06255</i>	1.922	3.671E-02	Proteína ribosomal 30SS21	rpsU	COG0828	J
<i>SRU_RS14680</i>	1.910	7.147E-04	Factor de inicio de la transcripción IF-3	0	COG0290	J
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS00280</i>	2.613	3.312E-02	Componente de la proteína ribonucleasa P		COG0594	J
<i>SRU_RS10950</i>	2.119	1.227E-02	RNA metiltransferasa de la familia RsmD		COG0742	J
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS00275</i>	3.034	5.614E-03	Proteína ribosomal 50S L34	rpmH	COG0230	J
<i>SRU_RS06825</i>	2.433	7.093E-04	Amidotransferasa subunidad GatC	gatC	COG0721	J
<i>SRU_RS07245</i>	2.168	3.205E-03	Proteína ribosomal 30S S6	rpsF	COG0360	J
<i>SRU_RS09360</i>	2.132	1.036E-02	Proteína ribosomal 30S S15	rpsO	COG0184	J
<i>SRU_RS07520</i>	2.083	2.253E-03	Proteína ribosomal 50S L21	rplU	COG0261	J
<i>SRU_RS06195</i>	2.007	1.944E-02	Proteína ribosomal 50S L31	rpmE	COG0254	J
<i>SRU_RS12705</i>	1.944	1.993E-02	ARNt (adenosina (37) -N6) -treonilcarbamoiltransferasa	tsaE	COG0802	J
<i>SRU_RS12250</i>	1.891	1.634E-02	Glutatión sintasa		COG0189	HJ
<i>SRU_RS00110</i>	1.891	1.634E-02	Proteína ribosomal 50S L33	rpmG	COG0267	J
<i>REPRIMIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
<i>SRU_RS05575</i>	-2.026	1.109E-02	Proteína ribosomal 30SS11	rpsK	COG0100	J

SRU_RS05565	-2.073	1.887E-02	Factor de inicio de la transcripción IF-1	infA	COG0361	J
SRU_RS09285	-2.188	5.949E-03	Proteína ribosomal 50SL7/L12	rplL	COG0222	J
SRU_RS05540	-2.414	2.606E-03	Proteína ribosomal 50SL18	rplR	COG0256	J
SRU_RS05535	-2.450	4.676E-04	Proteína ribosomal 50SL6	rplF	COG0097	J
SRU_RS08580	-2.629	2.983E-04	tyrosina--ARnt ligasa		COG0162	J
SRU_RS05495	-2.792	3.075E-03	Proteína ribosomal 50SL16	rplP	COG0197	J
SRU_RS03160	-2.802	7.680E-06	Formil transferasa		COG0223	J
SRU_RS05550	-2.859	3.992E-04	Proteína ribosomal 50SL15	rplO	COG0200	J
SRU_RS09375	-2.887	8.250E-10	Factor de inicio de la transcripción IF-2	infB	COG0532	J
SRU_RS05500	-2.889	1.087E-03	Proteína ribosomal 50SL29	rpmC	COG0255	J
SRU_RS05525	-2.941	1.017E-03	Proteína ribosomal 30SS14	rpsN	COG0199	J
SRU_RS05475	-2.956	1.182E-03	Proteína ribosomal 50SL2	rplB	COG0090	J
SRU_RS03180	-3.169	1.530E-05	Proteína que contiene el dominio CBS		COG1208	JM
SRU_RS09370	-3.308	1.650E-06	Factor de unión a ribosoma 30S RbfA	rbfA	COG0858	J
SRU_RS05580	-3.350	3.900E-06	Proteína ribosomal 30SS4	rpsD	COG0522	J
SRU_RS05470	-3.371	7.370E-05	Proteína ribosomal 50SL23	rplW	COG0089	J
SRU_RS05460	-3.553	4.800E-05	Proteína ribosomal 50SL3	rplC	COG0087	J
SRU_RS09300	-3.583	6.490E-06	Proteína ribosomal 50SL11	rplK	COG0080	J
SRU_RS09295	-3.655	2.460E-07	Proteína ribosomal 50SL1	rplA	COG0081	J
SRU_RS05455	-3.664	7.670E-06	Proteína ribosomal 30SS10	rpsJ	COG0051	J
SRU_RS05505	-3.665	1.270E-05	Proteína ribosomal 30SS17	rpsQ	COG0186	J
SRU_RS05590	-3.798	2.020E-06	Proteína ribosomal 50SL17	rplQ	COG0203	J
SRU_RS05485	-3.864	5.082E-04	Proteína ribosomal 50SL22	rplV	COG0091	J
SRU_RS00170	-4.374	3.080E-08	Factor de elongación Ts		COG0264	J
SRU_RS05530	-4.661	8.160E-09	Proteína ribosomal 30SS8	rpsH	COG0096	J
SRU_RS05490	-4.984	9.730E-07	Proteína ribosomal 30SS3	rpsC	COG0092	J
SRU_RS05480	-5.649	4.460E-09	Proteína ribosomal 30SS19	rpsS	COG0185	J
SRU_RS05515	-6.060	1.990E-10	Proteína ribosomal 50SL24	rplX	COG0198	J
SRU_RS05510	-6.379	7.020E-09	Proteína ribosomal 50SL14	rplN	COG0093	J
SRU_RS05450	-7.783	2.120E-08	Factor de elongaciónTu	tuf	COG0050	J
<b>LUZ</b>						
SRU_RS05520	-1.898	2.119E-02	Proteína ribosómica 50S L5	rplE	COG0094	J
SRU_RS05545	-2.089	3.688E-02	Proteína ribosómica 30S S5	rpsE	COG0098	J

SRU_RS02910	-2.387	2.763E-02	Metiltransferasa RsmH	rsmH	COG0275	J
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS04785	1.861	2.916E-02	Lisina - tRNA ligasa	lysS	COG1190	J
SRU_RS05445	-1.979	7.254E-04	Factor de elongación G	fusA	COG0480	J
SRU_RS08595	-2.015	3.245E-02	Proteína ribosomal 50S L19	rplS	COG0335	J
SRU_RS11005	-2.330	7.933E-03	Metiltransferasa I de la subunidad pequeña del ARN ribosomal metiltransferasa I	rsmI	COG0313	J
SRU_RS14700	-2.417	3.203E-02	Fenilalanina - ARNt ligasa		COG0072	J
SRU_RS05465	-2.440	1.664E-02	Proteína ribosomal 50S L4	rplD	COG0088	J
SRU_RS05570	-2.635	7.962E-03	Proteína ribosomal 30S S13	rpsM	COG0099	J
SRU_RS11405	-2.997	1.298E-03	Ribonucleasa Z	rnz	COG1234	J
SRU_RS02880	-3.234	3.559E-02	Proteína que contiene el dominio macro		COG2110	J
<i>TRANSCRIPCIÓN (K) INDUCIDOS COMUNES</i>						
SRU_RS12030	7.229	1.299E-03	Regulador transcripcional de la familia TetR / AcrR		COG1309	K
SRU_RS12915	4.094	6.519E-04	Regulador transcripcional con dominio hélice-giro-hélice		COG0640	K
SRU_RS02530	2.961	7.549E-03	Proteína que contiene el dominio C-terminal de la familia CerR		COG1309	K
SRU_RS06830	2.888	7.702E-04	Regulador transcripcional de la familia MarR		COG1846	K
SRU_RS11510	2.784	3.107E-02	ADN metilado - [proteína] - cisteína S-metiltransferasa		COG3695	K
SRU_RS02640	2.535	9.720E-06	Proteína hipotética		COG5662	K
SRU_RS12360	2.135	7.258E-03	Represor de transcripción inducible por calor HrcA	hrcA	COG1420	K
SRU_RS00940	2.133	2.089E-02	Factor sigma-70 de la ARN polimerasa		COG1595	K
SRU_RS01925	1.818	1.287E-02	Regulador transcripcional de unión al ADN de la familia LacI		COG1609	K
<i>LUZ</i>						
SRU_RS12960	2.838	1.270E-02	Regulador transcripcional de la familia Lrp / AsnC		COG1522	K
SRU_RS14530	2.735	1.154E-02	Regulador transcripcional de la familia TetR		COG1309	K
SRU_RS03960	2.633	5.444E-03	Regulador transcripcional de la familia rrf2		COG1959	K
SRU_RS13430	2.403	1.882E-02	Regulador transcripcional de la familia LysR		COG0583	K

<i>SRU_RS07540</i>	2.344	3.024E-02	Factor de elongación de la transcripción GreA	greA	COG0782	K
<i>SRU_RS00140</i>	1.939	2.472E-03	Subunidad omega de la ARN polimerasa		COG1758	K
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS10770</i>	2.015	1.931E-02	Regulador transcripcional dependiente de metales		COG1321	K
<i>SRU_RS06270</i>	1.995	5.887E-03	Factor de transcripción regulador de respuesta		COG0745	TK
<i>SRU_RS06205</i>	1.866	2.405E-03	Proteína de la familia PspA/IM30		COG1842	KT
<i>REPRIMIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS05585</i>	-1.868	2.382E-03	Subunidad alfa de la ARN polimerasa dirigida por ADN		COG0202	K
<i>SRU_RS08030</i>	-2.124	4.684E-02	Regulador transcripcional de la familia GntR		COG1725	K
<i>SRU_RS07320</i>	-2.502	2.564E-02	Regulador transcripcional de la familia Fis dependiente de sigma-54		COG3604	KT
<i>SRU_RS00410</i>	-2.861	1.100E-06	Proteína de la familia de la infección abortiva		COG4189	K
<i>SRU_RS09305</i>	-4.940	2.860E-08	Factor de terminación de la transcripción / antiterminación NusG	nusG	COG0250	K
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS00330</i>	-1.828	4.542E-02	Factor de acoplamiento de transcripción-reparación	mfd	COG1197	LK
<i>SRU_RS01250</i>	-2.000	3.616E-02	Antitoxina de la familia PrIF del sistema toxina-antitoxina de tipo II		COG2002	KV
<i>SRU_RS09275</i>	-2.325	1.456E-04	Subunidad beta de la ARN polimerasa dirigida por ADN	rpoC	COG0086	K
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS07205</i>	-1.861	2.267E-02	Regulador de respuesta		COG0745	TK
<i>SRU_RS04960</i>	-1.906	4.366E-02	Proteasa		COG0750	OK
<i>SRU_RS02225</i>	-6.571	3.261E-03	Factor de transcripción regulador de respuesta		COG3279	KT
<i>REPLICACIÓN Y REPARACIÓN (L) INDUCIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS06280</i>	3.133	2.280E-04	Proteína que contiene el dominio hélice-horquilla-hélice		COG1555	L
<i>SRU_RS03910</i>	2.954	3.699E-03	Subunidad grande de exodesoxirribonucleasa VII	xseA	COG1570	L

<i>SRU_RS15050</i>	2.838	8.116E-03	Recombinasa / integrasa de tipo tirosina		COG4974	L
<i>SRU_RS03710</i>	2.153	9.401E-03	Proteína hipotética		ENOG4111IW 4	L
<i>SRU_RS11765</i>	1.971	8.780E-05	Exonucleasa RecJ específica de ADN monocatenario	recJ	COG0608	L
<i>SRU_RS11590</i>	1.857	4.547E-03	Subunidad A de ADN girasa	gyrA	COG0188	L
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS04530</i>	1.911	2.817E-02	ADN polimerasa III subunidad delta		COG2812	L
<i>SRU_RS12290</i>	1.893	2.362E-02	Proteína de reparación de ADN RadC	radC	COG2003	L
<i>SRU_RS00365</i>	1.872	4.930E-02	Proteína de replicación / reparación de ADN RecF		COG1195	L
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS02755</i>	2.034	1.029E-02	Proteína de unión a ADN monocatenario		COG0629	L
<i>SRU_RS07300</i>	2.022	2.365E-02	Proteína de unión al ADN de la familia HU		COG0776	L
<i>REPRIMIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS04225</i>	-2.107	2.237E-02	Proteína de reparación de ADN RecN	recN	COG0497	L
<i>SRU_RS03305</i>	-2.250	1.360E-03	Integrasa específica del sitio		COG4974	L
<i>SRU_RS02635</i>	-2.314	2.403E-03	ADN polimerasa III subunidad delta	hoIA	COG1466	L
<i>SRU_RS15125</i>	-2.429	3.359E-02	Termonucleasa		COG1525	L
<i>SRU_RS10105</i>	-2.469	7.520E-06	Endonucleasa		COG2356	L
<i>SRU_RS03215</i>	-2.596	3.193E-02	Proteína que contiene el dominio DUF4277		ENOG410XSS U	L
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS00330</i>	-1.828	4.542E-02	Factor de acoplamiento de transcripción-reparación	mfd	COG1197	LK
<i>SRU_RS07840</i>	-2.105	2.005E-05	Topoisomerasa subunidad B tipo IIA		COG0187	L
<i>SRU_RS12090</i>	-3.332	4.477E-03	Proteína que contiene el dominio de clasificación de T9SS tipo A		COG2356	LO
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS04860</i>	-1.896	9.722E-03	ATPasa de la familia AAA		COG0507	L
<i>SRU_RS05925</i>	-2.103	2.283E-02	Ribonucleasa HI		COG0328	L
<i>SRU_RS05600</i>	-3.164	7.059E-03	Proteína de unión al ADN de la familia HU		COG0776	L
<i>MOBILOMA (X) INDUCIDOS COMUNES</i>						

<i>SRU_RS01050</i>	2.793	3.840E-04	Transposasa		COG0675	X
<i>SRU_RS01015</i>	2.662	3.016E-04	Transposasa de la familia IS200 / IS605	tnpA	COG1943	X
<i>SRU_RS01070</i>	2.452	1.227E-02	Transposasa		COG0675	X
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS03310</i>	1.843	1.448E-03	Transposasa de la familia IS4		COG3385	X
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS10660</i>	33.014	2.881E-02	Transposasa de la familia ISSru3		COG1662	X
<i>SRU_RS11520</i>	2.120	2.332E-03	Transposasa		COG3385	X
<i>REPRIMIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS03200</i>	-1.831	9.188E-03	Transposasa		COG3328	X
<i>SRU_RS03220</i>	-2.684	1.080E-06	Transposasa de la familia IS1634		COG5421	X
<i>SRU_RS03255</i>	-3.194	6.050E-08	Transposasa		COG3328	X
<i>SRU_RS03225</i>	-4.381	7.436E-04	Transposasa de la familia IS1634		COG5421	X
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS01220</i>	-2.008	1.139E-02	Transposasa de la familia IS5		COG3293	X
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS01225</i>	-2.631	3.381E-02	Transposasa de la familia IS5		COG3293	X
<i>SRU_RS15040</i>	-3.115	1.721E-02	Transposasa de la familia IS5		COG3293	X
<i>CONTROL DEL CICLO CELULAR (D) INDUCIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS12310</i>	2.128	5.975E-03	Hidrolasa de la pared celular		COG3773	DM
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS08665</i>	1.926	3.180E-03	Proteína que determina la forma de bacilo		COG1077	D
<i>SRU_RS04335</i>	1.894	2.316E-02	Proteína de unión a ATP de la familia Mrp / NBP35		COG0489	D
<i>REPRIMIDOS COMUNES</i>						

SRU_RS02955	-2.577	4.965E-02	Proteína de división celular FtsQ / DivIB		COG1589	D
SRU_RS02940	-4.410	2.000E-05	Proteína del ciclo celular de la familia FtsW / RodA / SpoVE		COG0772	D
<i>LUZ</i>						
SRU_RS02715	-1.897	2.805E-02	Proteína de partición de la familia ParB / RepB / Spo0J		COG1475	D
SRU_RS02965	-2.256	8.985E-03	Proteína de división celular FtsZ	ftsZ	COG0206	D
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS09555	-2.056	1.659E-02	Proteína hipotética		COG1196	D
SRU_RS04155	-2.735	2.205E-02	Proteína de la familia iniciadora de la formación del tabique		COG2919	D
<i>SINTESIS DE ENVUELAS CELULARES(M) INDUCIDOS COMUNES</i>						
SRU_RS05365	2.936	8.194E-04	Proteínas de membrana YidD	yidD	COG0759	M
SRU_RS01445	2.691	2.089E-04	Undecaprenil / decaprenilfosfato alfa-N- acetilglucosaminil 1-fosfato transferasa		COG0472	M
SRU_RS12310	2.128	5.975E-03	Hidrolasa de la pared celular		COG3773	DM
SRU_RS10565	2.126	2.871E-02	Oxidoreductasa de la familia SDR		COG0451	M
SRU_RS13110	1.977	5.292E-03	Permeasa transportadora ABC		COG0767	M
SRU_RS07275	1.944	1.881E-02	Transductor de energía TonB		COG0810	M
SRU_RS10825	1.832	4.700E-02	Transportador de hierro		COG3470	MI
<i>LUZ</i>						
SRU_RS04375	2.511	7.935E-03	Oxidoreductasa de la familia SDR		COG0451	M
SRU_RS06905	2.030	6.609E-03	Proteína que contiene el dominio SpoIID/LytB		COG2385	M
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS14775	2.330	1.570E-03	Proteína de la familia de la porina		COG3637	M
SRU_RS04800	1.862	1.987E-03	Metalopeptidasa de la familia M23		COG0739	M
<i>REPRIMIDOS COMUNES</i>						
SRU_RS03110	-1.818	6.100E-03	Proteína que contiene el dominio SLBB		COG1596	M

SRU_RS09730	-1.943	9.220E-06	Factor de ensamblaje de proteínas de la membrana externa BamA	bamA	COG4775	M
SRU_RS14180	-2.011	9.223E-03	Oxidorreductasa de la familia SDR		COG0451	M
SRU_RS02930	-2.076	3.402E-02	Fosfo-N-acetilmuramoil-pentapéptido-transferasa		COG0472	M
SRU_RS03115	-2.150	1.135E-03	Proteína determinante de la longitud de la cadena		COG3206	M
SRU_RS09720	-2.374	8.126E-04	Proteína de membrana externa de la familia OmpH		COG2825	MO
SRU_RS03150	-2.569	3.920E-05	Aminotransferasa de la familia LegC		COG0399	M
SRU_RS09350	-2.605	3.115E-03	UDP-glucosa 4-epimerasa GalE	galE	COG1087	M
SRU_RS03125	-2.638	1.530E-06	UDP-glucosa / GDP-manosa deshidrogenasa		COG1004	M
SRU_RS02925	-2.692	5.648E-03	UDP-N-acetilmuramoil-L-alanil-D-glutamato - 2% 2C6-diaminopimelato ligasa		COG0769	M
SRU_RS12620	-2.692	2.689E-02	Glicosiltransferasa		COG0438	M
SRU_RS03155	-2.712	1.040E-06	UDP-N-acetilglucosamina 2-epimerasa (hidrolizante)	neuC	COG0381	M
SRU_RS09725	-2.775	1.071E-04	Proteína de membrana externa de la familia OmpH		COG2825	MO
SRU_RS03145	-2.892	3.250E-06	Epimerasa / deshidratasa dependiente de NAD		COG0451	M
SRU_RS03140	-3.071	4.140E-08	Nucleótido azúcar deshidrogenasa		COG0677	M
SRU_RS03270	-3.100	1.330E-08	Glicosiltransferasa		COG0438	M
SRU_RS07460	-3.108	2.732E-03	TolC Proteína de la familia		COG1538	M
SRU_RS03180	-3.169	1.530E-05	Proteína que contiene el dominio CBS		COG1208	JM
SRU_RS03130	-3.295	2.240E-06	Oxidorreductasa de la familia SDR		COG0451	M
SRU_RS03265	-3.489	2.890E-08	GDP-manosa 4% 2C6-deshidratasa		COG0451	M
SRU_RS03170	-3.541	2.130E-10	N-acetilneuraminato sintasa	neuB	COG2089	M
SRU_RS03250	-5.361	5.130E-08	Epimerasa / deshidratasa dependiente de NAD		COG0451	M
SRU_RS03245	-6.925	2.070E-10	Glicosiltransferasa		COG0438	M
SRU_RS03235	-14.188	6.630E-15	Proteína que contiene el dominio DUF563		COG4421	M
<i>LUZ</i>						
SRU_RS03185	-1.801	1.364E-02	Proteína de la familia de acilneuraminato citidililtransferasa		COG1083	M
SRU_RS07235	-2.034	3.749E-05	glutamina - fructosa-6-fosfato transaminasa	glmS	COG0449	M
SRU_RS02950	-2.152	2.252E-02	UDP-N-acetilmuramato - L-alanina ligasa		COG0773	M
SRU_RS03275	-2.297	2.935E-05	Proteína hipotética		COG0472	M
SRU_RS14910	-3.412	8.657E-03	Subunidad adaptadora periplásmica del transportador de eflujo RND		COG0845	MV

SRU_RS04895	-3.971	4.246E-02	Subunidad adaptadora periplásmica del transportador de eflujo RND		COG0845	MV
SRU_RS02935	-5.646	1.446E-05	UDP-N-acetilmuramoil-L-alanina - D-glutamato ligasa		COG0771	M
SRU_RS14785	-6.312	3.685E-02	Proteína de la familia TolC		COG1538	M
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS00350	-1.841	2.564E-02	ácido N-acetilmurámico fosfato eterasa	murQ	COG2103	M
SRU_RS13495	-2.448	7.530E-03	Proteína de la familia CapA		COG2843	M
SRU_RS06400	-2.519	3.471E-02	Proteína de la familia de canales de iones mecanosensibles		COG0668	M
SRU_RS04145	-2.527	5.450E-04	LPS-assembly protein LptD		COG1452	M
SRU_RS00465	-4.117	3.202E-02	Proteína de la familia TolC		COG1538	M
<i>MOTILIDAD CELULAR (N) INDUCIDOS COMUNES</i>						
SRU_RS13755	3.548	6.830E-04	Proteína flagelar FlhS		COG1516	NU
SRU_RS13650	2.841	8.436E-03	Proteína de quimitaxis CheW		COG0835	NT
<i>LUZ</i>						
SRU_RS13725	2.061	1.483E-02	Proteína de biosíntesis flagelar FlgB		COG1815	N
SRU_RS11785	1.817	4.898E-02	Proteína de la familia OmpA		COG1360	N
<i>REPRIMIDOS COMUNES</i>						
SRU_RS08745	-3.028	3.883E-03	Proteína hipotética		COG1766	NU
<i>LUZ</i>						
SRU_RS01730	-13.151	3.702E-02	Proteína que contiene el dominio DUF3365		COG0840	NT
<i>MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONALES, CHAPERONAS Y RECAMBIO PROTEICO (O) INDUCIDOS COMUNES</i>						
SRU_RS05655	4.856	8.950E-07	Péptido-metionina (S) -S-óxido reductasa MsrA	msrA	COG0225	O
SRU_RS07615	3.849	1.750E-09	Subunidad proteolítica de proteasa Clp dependiente de ATP		COG0740	O
SRU_RS08675	3.532	1.192E-04	Subunidad de proteasa dependiente de ATP HslV	hslV	COG5405	O
SRU_RS14015	3.280	3.920E-06	Subunidad proteolítica de proteasa Clp dependiente de ATP		COG0740	O

SRU_RS12390	2.908	2.301E-04	Proteína de la familia Hsp20 / alpha crystallin		COG0071	O
SRU_RS00585	2.900	1.296E-03	Metaloproteasa de zinc HtpX	htpX	COG0501	O
SRU_RS11750	2.839	4.620E-05	Proteína de la familia NfeD		COG1585	O
SRU_RS11540	2.771	1.218E-02	Proteína de biogénesis del citocromo c CcsA	ccsA	COG0755	O
SRU_RS03545	2.689	4.109E-04	Bacilitiol disulfuro reductasa putativa de la familia YpdA	ypdA	COG0492	O
SRU_RS07010	2.511	2.781E-04	Proteína accesoria de ensamblaje de grupo de hierro-azufre		COG0316	O
SRU_RS00835	2.295	3.780E-03	Proteína de la familia disulfuro reductasa TlpA		COG0526	O
SRU_RS04330	2.265	6.534E-03	Proteína de la familia NifU		COG0694	O
SRU_RS03630	2.097	3.422E-03	Serina proteasa intramembrana de la familia romboide		COG0705	O
SRU_RS13930	2.081	5.081E-03	Tiorredoxina	trxA	COG0526	O
SRU_RS11370	2.005	2.219E-02	Proteína repetida tetratricopeptide		COG3118	O
SRU_RS11550	1.983	7.266E-03	Proteína de maduración del citocromo C CcmE		COG2332	CO
<b>LUZ</b>						
SRU_RS11530	2.691	2.119E-03	ADP-ribosilglicohidrolasa		COG1397	O
SRU_RS12260	2.532	1.211E-02	Proteína de la familia Hsp20		COG0071	O
SRU_RS06970	2.350	1.697E-02	Disulfuro reductasa de la proteína de la familia TlpA		COG0526	O
SRU_RS01265	2.082	2.392E-02	chaperonina GroEL	groL	COG0459	O
SRU_RS03635	1.857	1.506E-02	Proteasa de la familia intramembrana serina		COG0705	O
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS04555	2.296	1.766E-03	co-chaperone GroES		COG0234	O
SRU_RS02535	2.060	5.138E-03	Peptidilprolil isomerasa		COG0652	O
SRU_RS07350	1.960	2.169E-02	Proteína de ensamblaje del cluster Fe-S SufB	sufB	COG0719	O
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS07330	-1.847	1.536E-03	Proteína de la familia SufE		COG2166	O
SRU_RS07340	-1.886	8.736E-03	Proteína de ensamblaje de racimo Fe-S SufD	sufD	COG0719	O
SRU_RS13185	-2.301	2.022E-03	Proteína hipotética		COG0330	O
SRU_RS09720	-2.374	8.126E-04	Proteína de membrana externa de la familia OmpH		COG2825	MO
SRU_RS11775	-2.650	2.146E-04	Proteína que contiene el dominio PD40		COG0793	O
SRU_RS09725	-2.775	1.071E-04	Proteína de membrana externa de la familia OmpH		COG2825	MO

<i>SRU_RS08585</i>	-3.363	7.358E-03	Proteína de unión a SsrA SmpB	smpB	COG0691	O
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS09585</i>	-1.900	2.242E-02	Péptido-metionina (R) -S-óxido reductasa MsrB	msrB	COG0229	O
<i>SRU_RS07325</i>	-1.926	3.397E-02	Proteína de ensamblaje del cluster Fe-S del sistema SUF		COG2151	O
<i>SRU_RS05430</i>	-2.497	4.764E-02	Metaloproteasa FtsH	ftsH	COG0465	O
<i>SRU_RS12090</i>	-3.332	4.477E-03	Proteína que contiene el dominio de clasificación de T9SS tipo A		COG2356;COG4412	LO
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS04960</i>	-1.906	4.366E-02	Proteasa		COG0750	OK
<i>TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES (T) INDUCIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS10505</i>	4.399	4.500E-05	Proteína de caja S de dominio PAS		COG2202	T
<i>SRU_RS13165</i>	2.905	1.825E-02	Rodopsina sensorial		COG5524	CT
<i>SRU_RS13650</i>	2.841	8.436E-03	Proteína de quimitaxis CheW		COG0835	NT
<i>SRU_RS13505</i>	2.457	4.666E-02	Proteína que contiene el dominio HDOD		COG1639	T
<i>SRU_RS14835</i>	2.410	5.557E-03	Proteína de la familia de las fasinas		COG3937	QT
<i>SRU_RS14060</i>	2.114	9.107E-03	Proteína reguladora de la síntesis de polihidroxialcanoato con un dominio de unión a ADN		COG5394	QT
<i>SRU_RS02890</i>	1.894	9.545E-04	Proteína que contiene el dominio CBS		COG0517	T
<i>SRU_RS03915</i>	1.892	2.801E-02	Proteína fosfotirosina fosfatasa de bajo peso molecular		COG0394	T
<i>SRU_RS14565</i>	1.800	2.613E-02	Halorrodopsina		COG5524	CT
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS03610</i>	4.061	1.527E-03	Proteína de estrés universal		COG0589	T
<i>SRU_RS13815</i>	2.575	4.102E-02	Proteína que contiene el dominio HDOD		COG1639	T
<i>SRU_RS09170</i>	2.308	3.313E-03	Proteína de estrés universal		COG0589	T
<i>SRU_RS03700</i>	1.934	4.166E-02	Proteína que contiene el dominio GAF		COG1956	VT
<i>SRU_RS08110</i>	1.807	1.611E-02	Regulador de respuesta		COG0784	T
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS13150</i>	3.892	1.819E-02	Proteína que contiene el dominio CBS		COG0517	T

SRU_RS07925	2.351	3.870E-02	Xantorrodopsina		COG5524	CT
SRU_RS06270	1.995	5.887E-03	Factor de transcripción regulador de respuesta		COG0745	TK
SRU_RS06205	1.866	2.405E-03	Proteína de la familia PspA/IM30		COG1842	KT
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS07320	-2.502	2.564E-02	Regulador transcripcional de la familia Fis dependiente de sigma-54		COG3604	KT
SRU_RS00775	-2.604	6.693E-03	Proteína de caja S de dominio PAS		COG0642	T
SRU_RS10380	-2.739	1.168E-02	Metalofosfoesterasa		COG1409	T
<b>LUZ</b>						
SRU_RS09625	-1.981	2.476E-02	Proteína que contiene el dominio GHKL		COG0642	T
SRU_RS01730	-13.151	3.702E-02	Proteína que contiene el dominio DUF3365		COG0840	NT
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS07205	-1.861	2.267E-02	Regulador de respuesta		COG0745	TK
SRU_RS08050	-1.886	2.394E-02	Proteína de la familia OsmC		COG1073	T
SRU_RS03595	-1.916	3.052E-02	Proteína de estrés universal		COG0589	T
SRU_RS02505	-1.922	2.231E-02	Proteína que contiene el dominio PAS		COG0642	T
SRU_RS11975	-1.961	2.659E-02	Proteína de caja S de dominio PAS		COG0642	T
SRU_RS15250	-2.152	4.328E-02	Proteína de caja S de dominio PAS		COG0642	T
SRU_RS06420	-2.342	2.120E-05	Regulador transcripcional de la familia Fis dependiente de sigma-54		COG2204	T
SRU_RS10270	-3.206	4.648E-03	Proteína de la familia TIGR00159		COG1624	T
SRU_RS02225	-6.571	3.261E-03	Factor de transcripción regulador de respuesta		COG3279	KT
<b>TRÁFICO INTRACELULAR Y SECRECIÓN (U) INDUCIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS03570	3.870	1.800E-07	Subunidad de la familia TatA / TatE de translocasas		COG1826	U
SRU_RS13755	3.548	6.830E-04	Proteína flagelar FliS		COG1516	NU
SRU_RS00060	2.737	7.690E-05	Preproteína translocasa subunidad YajC	yajC	COG1862	U
<b>LUZ</b>						
SRU_RS11145	2.458	4.114E-03	Preproteínas translocasa subunidad SecG	secG	COG1314	U

<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS05555	-2.690	1.730E-04	Preproteína translocasa subunidad SecY	secY	COG0201	U
SRU_RS08745	-3.028	3.883E-03	Proteína hipotética		COG1766	NU
SRU_RS09635	-3.194	2.728E-04	Preproteína translocasa subunidad SecF	secF	COG0341	U
<b>LUZ</b>						
SRU_RS08860	-1.900	1.245E-02	Transportador de biopolímero ExbD		ENOG4111GV S	
SRU_RS08380	-2.618	3.734E-02	Transportador de biopolímero ExbD		ENOG410ZMS P	
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS08865	-1.963	1.073E-02	Transportador de biopolímero ExbD		COG0848	U
SRU_RS06715	-1.984	4.470E-02	Módulo de translocación / ensamblaje proteína que contiene el dominio TamB		COG2911	U
SRU_RS02180	-2.365	5.429E-04	Peptidasa señal I	lepB	COG0681	U
SRU_RS09310	-2.672	4.485E-03	Preproteína translocasas subunidad SecE	secE	COG0690	U
<b>MECANISMOS DE DEFENSA(V) INDUCIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS05965	3.417	3.650E-09	Proteína de protección de fase estacionaria/inanición de ADN		COG0783	PV
SRU_RS13075	2.727	1.999E-03	Proteína de la familia RidA		COG0251	V
SRU_RS06940	1.937	3.985E-03	Proteína de la familia OsmC		COG1764	V
<b>LUZ</b>						
SRU_RS03700	1.934	4.166E-02	Proteína que contiene el dominio GAF		COG1956	VT
SRU_RS11150	1.837	2.318E-02	Hidrolasa NUDIX		COG0494	V
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS06325	2.208	3.738E-02	Subunidad adaptadora periplásmica del transportador de eflujo RND		COG1566	V
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS15130	-1.960	5.680E-03	N-6 ADN metilasa		COG1002	V
SRU_RS14925	-2.337	4.898E-03	Permeasa transportadora ABC		COG0577	V

SRU_RS05855	-2.392	6.691E-03	Subunidad R de endonucleasa de restricción tipo I		COG0610	V
SRU_RS02510	-2.961	1.291E-03	Subunidad de permeasa del transportador de eflujo RND		COG0841	V
SRU_RS03135	-4.426	1.360E-10	ATP-binding cassette domain-containing protein		COG1132	V
<i>LUZ</i>						
SRU_RS01250	-2.000	3.616E-02	Antitoxina de la familia PrIF del sistema toxina-antitoxina de tipo II		COG2002	KV
SRU_RS01080	-2.313	2.144E-02	Sistema toxina-antitoxina tipo II		COG4118	V
SRU_RS04890	-2.514	1.913E-02	Subunidad de permeasa del transportador de eflujo RND		COG0841	V
SRU_RS14920	-2.576	2.708E-02	Permeasa transportadora ABC		COG0577	V
SRU_RS14910	-3.412	8.657E-03	Subunidad adaptadora periplásmica del transportador de eflujo RND		COG0845	MV
SRU_RS04895	-3.971	4.246E-02	Subunidad adaptadora periplásmica del transportador de eflujo RND		COG0845	MV
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS07055	-1.862	4.269E-02	Proteína que contiene el dominio terminal de la enzima de restricción tipo HsdR		ENOG4111IAT	V
SRU_RS05840	-5.382	2.398E-02	Subunidad S de endonucleasa de restricción		COG0732	V
<i>CONVERSIÓN Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA (C)</i> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS12025	6.621	2.270E-09	Proteína de la familia nitrorreductasa		COG0778	C
SRU_RS02405	3.380	2.700E-05	Flavina reductasa		COG1853	C
SRU_RS08900	3.254	1.684E-03	Alcohol deshidrogenasa dependiente de NAD (P)		COG0604	CR
SRU_RS02115	2.948	4.070E-06	NADH-quinona oxidoreductasa subunidad NuoB	nuoB	COG0377	C
SRU_RS13165	2.905	1.825E-02	Bacteriorrodopsina		COG5524	CT
SRU_RS08445	2.707	2.308E-04	Ferredoxina		COG1141	C
SRU_RS12460	2.501	1.387E-03	Fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (ATP)	pckA	COG1866	C
SRU_RS11100	2.290	1.670E-03	Proteína de la familia cytochrome c3		ENOG410XW00	C
SRU_RS11550	1.983	7.266E-03	Proteína de maduración del citocromo C CcmE		COG2332	CO
SRU_RS14565	1.801	2.613E-02	Bacteriorrodopsina		COG5524	CT
<i>LUZ</i>						

SRU_RS02585	2.158	2.095E-04	Citrato sintasa		COG0372	C
SRU_RS09495	2.001	3.206E-03	Ferredoxina - NADP reductasa		COG1018	C
SRU_RS07280	1.930	1.476E-02	Oxidoreductasa		COG0604	CR
SRU_RS08285	1.909	4.755E-03	Malato deshidrogenasa	mdh	COG0039	C
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS03720	2.461	7.630E-05	Fenol hidroxilasa		COG1018	C
SRU_RS07925	2.351	3.870E-02	Bacteriorrodopsina		COG5524	CT
SRU_RS08395	2.175	1.412E-02	Auracianina A		COG3241	C
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS04840	-1.832	2.007E-02	FOF1 ATP sintasa subunidad alfa		COG0056	C
SRU_RS06860	-2.053	2.315E-03	Proteína de la familia Na <sup>+</sup> /H <sup>+</sup> antiportador NhaC		COG1757	C
SRU_RS11050	-2.287	6.352E-03	Citocromo C oxidasa subunidad IV		COG5605	C
SRU_RS09420	-2.324	3.798E-02	Proteína que contiene el dominio ACT		COG0281	C
SRU_RS08855	-2.364	5.384E-04	Isocitrato deshidrogenasa		COG0473	CE
SRU_RS02125	-2.604	2.370E-05	Subunidad D de NADH-quinona oxidorreductasa		COG0649	C
SRU_RS02135	-2.612	3.566E-04	Subunidad de NADH-quinona oxidorreductasa NuoF	nuoF	COG1894	C
SRU_RS02265	-2.623	8.850E-05	2-oxoglutarato ferredoxin oxidorreductasa subunidad beta		COG1013	C
SRU_RS04845	-3.009	7.440E-07	ATP sintasa F1 subunidad gamma	atpG	COG0224	C
SRU_RS14515	-3.202	1.975E-02	Proteína de la familia flavodoxina		COG0655	C
SRU_RS02565	-3.312	3.370E-06	Succinato deshidrogenasa subunidad hierro-azufre		COG0479	C
SRU_RS10385	-4.058	2.200E-09	Piruvato deshidrogenasa complejo dihidrolipoamida acetiltransferasa		COG0508	C
SRU_RS02130	-4.941	1.050E-09	Subunidad E de oxidorreductasa dependiente de NAD(P)H		COG1905	C
<b>LUZ</b>						
SRU_RS11060	-1.843	1.633E-03	Subunidad I del citocromo c oxidasa	ctaD	COG0843	C
SRU_RS06555	-1.970	2.714E-02	Proteína de la familia de las aldehídos deshidrogenasas		COG1012	C
SRU_RS11080	-2.290	2.840E-02	Citocromo c		COG3258	C
SRU_RS00435	-2.295	3.332E-02	Mercúrico reductasa		COG1249	C
SRU_RS11055	-2.341	4.016E-04	Citocromo c oxidasa subunidad 3		COG1845	C

<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS04820</i>	-1.800	1.441E-02	FOF1 ATP sintasa subunidad A	atpB	COG0356	C
<i>SRU_RS08935</i>	-1.915	4.665E-02	Subunidad antiportadora D de Na + / H +		COG0651	CP
<i>SRU_RS07650</i>	-1.944	2.794E-02	Subunidad M de NADH-quinona oxidoreductasa		COG1008	C
<i>SRU_RS12760</i>	-2.136	1.749E-02	ATP sintasa F1 subunidad épsilon	atpC	COG0355	C
<i>SRU_RS14005</i>	-2.230	1.642E-02	Permeasa transportadora ABC		COG1668	CP
<i>SRU_RS10390</i>	-2.731	1.220E-06	Complejo de piruvato deshidrogenasa componente E1 subunidad beta		COG0022	C
<i>METABOLISMO Y TRANSPORTE DE AMINOÁCIDOS (E) INDUCIDOS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS13425</i>	4.153	2.700E-06	Transportador familiar NAAT		COG2095	E
<i>SRU_RS08815</i>	3.894	6.200E-06	Triptófano sintasa subunidad beta	trpB	COG0133	E
<i>SRU_RS05370</i>	2.816	1.238E-03	Fosforribosil-AMP ciclohidrolasa	hisI	COG0139	E
<i>SRU_RS11635</i>	2.659	1.200E-05	3-fosfoserina / fosfohidroxitreonina transaminasa	serC	COG1932	HE
<i>SRU_RS07945</i>	2.518	1.320E-05	Ciclasa		COG1878	E
<i>SRU_RS13050</i>	2.244	1.327E-02	Metalopeptidasa de la familia M42		COG1363	EG
<i>SRU_RS08065</i>	2.048	1.535E-02	3-deshidroquinato sintasa	aroB	COG0337	E
<i>SRU_RS12190</i>	1.919	1.645E-03	Transaminasa de aminoácidos de cadena ramificada		COG0115	EH
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS03525</i>	3.250	1.174E-02	Shikimato quinasa		COG0703	E
<i>SRU_RS00955</i>	2.495	3.980E-02	Proteína hipotética		COG0145	EQ
<i>SRU_RS08780</i>	2.374	3.015E-03	Antranilato sintasa componente I	trpE	COG0147	EH
<i>SRU_RS07510</i>	2.195	2.081E-02	Enzima dependiente de PLP de clase V de aminotransferasa		COG0520	E
<i>SRU_RS06130</i>	2.148	3.446E-02	Enzima dependiente de PLP de clase V de aminotransferasa		COG0520	E
<i>SRU_RS09020</i>	2.039	9.352E-03	Triptofanasa		COG3033	E
<i>SRU_RS03540</i>	1.949	5.088E-03	Arginina deiminasa		COG2235	E
<i>SRU_RS07040</i>	1.823	2.515E-02	Piridoxal aminotransferasa dependiente de fosfato		COG0436	E
<i>OSCURIDAD</i>						

SRU_RS02670	2.103	2.827E-03	Glu / Leu / Phe / Val deshidrogenasa		COG0334	E
SRU_RS06350	2.027	2.004E-03	Enzima aminotransferase de clase V dependiente de PLP		COG0520	E
SRU_RS08250	2.007	6.346E-03	1- (5-fosforribosil) -5 - [(5- fosforribosilamino) metilidenamino] imidazol-4- carboxamida isomerasa	hisA	COG0106	E
SRU_RS09690	1.914	4.695E-03	Aspartato-semialdehído deshidrogenasa	asd	COG0136	E
SRU_RS11035	1.906	3.791E-04	Metilentetrahidrofolato reductasa	metF	COG0685	E
SRU_RS08550	1.901	1.416E-02	Sistema de escisión de glicina aminometiltransferasa GcvT	gcvT	COG0404	E
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS11320	-2.175	1.792E-02	Reductoisomerasa ketolácida	ilvC	COG0059	EH
SRU_RS06235	-2.241	1.239E-03	Subunidad grande de glutamato sintasa	gltB	COG0067	E
SRU_RS11700	-2.270	3.562E-02	Metalohidrolasa de la familia M20 / M25 / M40		COG0624	E
SRU_RS13885	-2.292	1.747E-02	Proteína hipotética		ENOG410XQD N	E
SRU_RS07260	-2.307	1.334E-02	Transferasa dependiente de PLP		COG0626	E
SRU_RS08855	-2.364	5.384E-04	Isocitrato deshidrogenasa		COG0473	CE
SRU_RS07910	-2.393	8.580E-05	Metalopeptidasa de la familia M24		COG0006	E
SRU_RS13890	-2.566	1.155E-02	Prolil oligopeptidasa		COG1506	E
SRU_RS11315	-3.060	1.329E-04	Subunidad pequeña de acetolactato sintasa	ilvN	COG0440	E
<b>LUZ</b>						
SRU_RS11350	-2.006	7.212E-03	Dihidroxiácido deshidratasa	ilvD	COG0129	EG
SRU_RS07335	-2.061	1.669E-03	Cisteína desulfurasa		COG0520	E
SRU_RS11345	-2.366	5.928E-03	Subunidad pequeña de 3- isopropilmalato deshidratasa	leuD	COG0066	E
SRU_RS11335	-2.449	1.921E-02	Subunidad grande de 3- isopropilmalato deshidratasa	leuC	COG0065	E
SRU_RS11355	-2.496	6.413E-03	Citramalato sintasa		COG0119	E
SRU_RS11705	-3.124	3.564E-02	Argininosuccinato liasa	argH	COG0165	E
SRU_RS06240	-3.371	3.514E-03	Subunidad beta de glutamato sintasa		COG0493	ER
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS12410	-1.813	1.226E-02	Cistationina gamma-sintasa		COG0626	E
SRU_RS04955	-1.853	2.620E-02	Piridoxal aminotransferasa dependiente de fosfato		COG0436	E
SRU_RS11670	-1.878	4.016E-02	Argininosuccinato sintasa	argG	COG0137	E

SRU_RS09515	-1.931	3.202E-02	Proteína que contiene el dominio N-terminal aminopeptidasa P		COG0006	E
SRU_RS06635	-1.968	2.589E-02	Hidroximetilglutaril-CoA liasa		COG0119	E
SRU_RS02435	-2.066	3.310E-03	Ribosa-fosfato pirofosfocinasa		COG0462	FE
SRU_RS03670	-2.186	2.560E-02	aspartato quinasa bifuncional/ homoserina deshidrogenasa I	thrA	COG0460	E
SRU_RS06980	-2.276	3.377E-03	Oligoendopeptidasa de la familia M3		COG1164	E
SRU_RS07770	-2.345	5.056E-03	Transportador ABC de union a ATPABC		COG3842	E
SRU_RS10300	-2.368	3.888E-03	Proteína de la familia de hidrolasas SGNH/GDSL		COG2755	E
SRU_RS08800	-2.764	2.421E-03	Antranilato fosforribosiltransferasa	trpD	COG0547	E
SRU_RS11685	-3.211	5.056E-04	Proteína de la familia de las aspartato aminotransferasa		COG4992	E
SRU_RS08795	-3.264	1.350E-03	componente II de aminodesoxicorismato/antranilato sintasa		COG0512	EH
SRU_RS11680	-3.775	2.801E-03	N-acetil-gamma-glutamil-fosfato reductasa	argC	COG0002	E
<b>METABOLISMO Y TRANSPORTE DE NUCLEÓTIDOS (F)</b> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS05615	2.975	2.864E-03	Proteína que contiene el dominio HIT		COG0537	FGR
SRU_RS02445	2.155	1.029E-02	Desoxicitidina trifosfato desaminasa		COG0717	F
<b>LUZ</b>						
SRU_RS07435	2.809	2.715E-03	Citidina desaminasa		COG0295	F
SRU_RS13925	1.836	3.303E-02	Fosforribosilformilglicinamida sintasa PurL	purL	COG0046	F
SRU_RS11040	1.834	3.738E-02	5'-metiltioadenosina nucleosidasa		COG0775	F
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS14625	2.232	1.162E-03	Proteína de unión a nucleótidos de la tríada de histidina		COG0537	FGR
SRU_RS05645	2.216	4.273E-02	Proteína hipotética		COG3199	F
SRU_RS02240	2.105	2.529E-03	Timidilato sintasa		COG0207	F
SRU_RS05155	1.813	2.202E-03	Glutamina amidotransferasa tipo 1		COG0518	F
<b>REPRIMIDOS</b> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS00715	-2.072	2.819E-04	Subunidad alfa de ribonucleósido-difosfato reductasa		COG0209	F

SRU_RS09965	-2.468	8.793E-03	Proteína hipotética		COG3613	F
SRU_RS09630	-2.666	2.317E-04	Adenilosuccinato sintasa		COG0104	F
SRU_RS00165	-4.512	8.650E-10	UMP quinasa		COG0528	F
<i>LUZ</i>						
SRU_RS07815	-2.184	7.213E-03	Fosforribosilformilglicinamidi na ciclo-ligasa		COG0150	F
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS02435	-2.066	3.310E-03	Pirofosfocinasa de ribosa- fosfato		COG0462	FE
SRU_RS06850	-2.321	5.680E-05	Uracilfosforribosiltransferasa	upp	COG0035	F
SRU_RS07090	-2.523	1.081E-02	Subunidad catalítica de aspartato carbamoiltransferasa		COG0540	F
SRU_RS06925	-2.833	2.879E-02	Orotato fosforribosiltransferasa		COG0461	F
SRU_RS11385	-3.057	4.248E-02	5'-metiltioadenosina fosforilasa		COG0005	F
<i>METABOLISMO Y TRANSPORTE DE CARBOHIDRATOS (G)</i> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS08540	3.788	1.120E-07	Proteína que contiene el dominio del conjunto temprano de isoamilasa		COG0296	G
SRU_RS14400	3.413	5.360E-08	HAD familia hidrolasa		COG0637	GR
SRU_RS05615	2.975	2.864E-03	Proteína que contiene el dominio HIT		COG0537	FGR
SRU_RS00420	2.839	1.270E-08	Glycogen phosphorylase	glgP	COG0058	G
SRU_RS13050	2.244	1.327E-02	Metalopeptidasa de la familia M42		COG1363	EG
SRU_RS00035	2.177	2.202E-03	Ribulosa 3 fosfato epimerasa	rpe	COG0036	G
SRU_RS04180	2.028	5.690E-03	glucógeno / almidón sintasa		COG0297	G
SRU_RS12430	1.907	3.265E-02	Fosfoglucosamina mutasa	glmM	COG1109	G
<i>LUZ</i>						
SRU_RS11605	2.066	1.800E-03	Fosfoglucomutasa / fosfomannomutasa		COG1109	G
SRU_RS02795	1.868	1.483E-02	Inositol monofosfatasa		COG0483	G
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS14625	2.232	1.162E-03	Proteína de unión a nucleótidos de la tríada de histidina		COG0537	FGR
SRU_RS10055	1.957	5.855E-03	Fructosa-bisfosfato aldolasa de clase I		COG1830	G
SRU_RS06410	1.801	1.607E-02	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de tipo I	gap	COG0057	G

<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS06865	-2.068	1.705E-02	Fosfomanosa isomerasa tipo II dominio de cupina C-terminal		COG0662	G
SRU_RS05420	-2.216	1.223E-02	Piruvato quinasa	pyk	COG0469	G
SRU_RS05185	-2.491	3.580E-02	Carbohidrato quinasa		COG1070	G
SRU_RS04480	-2.501	2.175E-04	Alfa-1% 2C4-glucano - maltosa-1-fosfato maltosiltransferasa		COG0366	G
SRU_RS04470	-2.653	1.493E-02	Alfa-1% 2C4-glucano - maltosa-1-fosfato maltosiltransferasa	glgB	COG0296	G
SRU_RS01945	-2.753	1.393E-03	Proteína que contiene el dominio de clasificación de T9SS tipo A		COG0296	G
SRU_RS04935	-2.831	1.007E-04	Biosíntesis de bacilitiol desacetilasa BshB1	bshB1	COG2120	G
SRU_RS07765	-3.143	1.715E-04	Transportador ABC de proteína transportadora de ATP		COG3839	G
SRU_RS13880	-3.471	5.098E-04	Proteína hipotética		COG2182	G
SRU_RS03165	-3.557	2.040E-07	Desacetilasa de la familia PIG-L		COG2120	G
<b>LUZ</b>						
SRU_RS11350	-2.006	7.212E-03	Dihidroxiácido deshidratasa	ilvD	COG0129	EG
SRU_RS00445	-2.781	2.245E-02	6-fosfogluconato deshidrogenasa descarboxilada	gnd	COG1023	G
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS04475	-1.949	8.418E-03	Maltosa alfa-D-glucosiltransferasa	treS	COG0366	G
SRU_RS03510	-2.217	2.158E-02	4-alfa-glucanotransferasa	malQ	COG1640	G
SRU_RS01985	-3.564	4.309E-02	Proteína que contiene el dominio de unión a carbohidratos		COG3525	G
SRU_RS07790	-3.750	6.370E-07	Clase 1 fructosa-bisfosfatasa	fbp	COG0158	G
SRU_RS08385	-4.354	1.304E-02	Proteína de la familia de la lactonasa plegada de hélice beta		COG2706	G
<b>METABOLISMO DE COENZIMAS (H) INDUCIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS12435	4.076	2.610E-06	Proteína de la familia COX15/CtaA		COG1612	H
SRU_RS14120	3.856	8.330E-09	Ferroquelatasa	hemH	COG0276	H
SRU_RS12205	3.421	8.970E-06	Quelatasa de magnesio		COG1239	H

SRU_RS08620	3.160	1.420E-05	5-formiltetrahydrofolato ciclo-ligasa		COG0212	H
SRU_RS06225	3.097	4.033E-04	Piranopterina cíclica monofosfato sintasa MoaC	moaC	COG0315	H
SRU_RS14630	3.091	8.788E-04	6-carboxitetrahydropterina sintasa		COG0720	H
SRU_RS06580	3.040	4.053E-03	Proteína portadora de azufre ThiS	thiS	COG2104	H
SRU_RS07990	3.000	1.530E-06	Hidroximetilpirimidina quinasa bifuncional		COG0351	H
SRU_RS03870	2.767	2.280E-05	Transportador de biotina BioY		COG1268	H
SRU_RS11635	2.659	1.200E-05	3-fosfoserina/ fosfohidroxitreonina transaminasa	serC	COG1932	HE
SRU_RS10965	2.351	2.505E-02	Piridoxina 5'-fosfato sintasa		COG0854	H
SRU_RS12300	2.246	1.652E-02	alpha/beta fold hydrolase		COG0596	HR
SRU_RS03905	2.227	5.215E-04	Proteína hipotética		COG0432	H
SRU_RS02865	2.172	6.586E-03	Piridoxamina 5'-fosfato oxidasa	pdxH	COG0259	H
SRU_RS12190	1.919	1.645E-03	Transaminasa de aminoácidos de cadena ramificada		COG0115	EH
<i>LUZ</i>						
SRU_RS12910	2.427	9.511E-03	Arsenito metiltransferasa		COG2226	H
SRU_RS08780	2.374	3.015E-03	Antranilato sintasa componente I	trpE	COG0147	EH
SRU_RS06885	2.278	1.406E-02	Diamida adenosiltransferasa		COG2096	H
SRU_RS06490	2.073	1.613E-02	Protoporfirinógeno oxidasa	hemG	COG1232	H
SRU_RS07185	2.022	4.471E-02	1% 2C4-dihidroxi-2-naftoato polipreniltransferasa		COG1575	H
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS06080	2.127	1.651E-02	Adenosilhomocisteinasa		COG0499	H
SRU_RS02725	2.090	2.144E-02	Proteína de la familia de las aminotransferasas piridoxal fosfato		COG0156	H
SRU_RS09695	2.002	2.258E-02	Metilentetrahydrofolato deshidrogenasa bifuncional / meteniltetrahydrofolato ciclohidrolasa FoID	foID	COG0190	H
SRU_RS04370	1.995	3.109E-02	Subunidad de la proteína transportadora de acetyl-CoA		COG0511	HI
SRU_RS04005	1.935	7.767E-04	Biotina sintetasa BioB	bioB	COG0502	H
SRU_RS12250	1.891	1.634E-02	Glutation sintetasa		COG0189	HJ
SRU_RS10275	1.802	3.624E-02	Dihidropteroato sintasa	folP	COG0294	H
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						

SRU_RS11320	-2.175	1.792E-02	Reductoisomerasa ketolácida	ilvC	COG0059	EH
SRU_RS03230	-9.545	1.360E-13	Proteína que contiene el dominio de metiltransferasa		COG2227	H
<i>LUZ</i>						
SRU_RS04445	-1.915	4.465E-02	Oxidorreductasa dependiente de FAD		COG1232	H
SRU_RS09365	-2.614	1.011E-04	Riboflavina quinasa bifuncional/FAD sintetasa		COG0196	H
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS02735	-1.896	4.386E-02	Hidrolasa de la familia HAD-IA		COG1011	H
SRU_RS05345	-1.996	2.609E-02	Porfobilinógeno sintasa	hemB	COG0113	H
SRU_RS07970	-2.072	4.325E-03	Metiltransferasa dependiente de SAM de clase I		COG2226	H
SRU_RS04595	-2.108	1.947E-02	Receptor dependiente de TonB		COG4206	H
SRU_RS10750	-2.142	2.252E-02	Proteína de la familia Moad / ThiS		COG1977	H
SRU_RS08555	-2.148	1.486E-02	2-fosfosulfolactato fosfatasa		COG2045	HR
SRU_RS10090	-2.912	3.568E-02	Difosforilasa de nicotinato-nucleótido carboxilante	nadC	COG0157	H
SRU_RS04440	-3.262	1.059E-02	Proteína de la familia YjbQ		COG0432	H
SRU_RS08795	-3.264	1.350E-03	componente II de aminodesoxicorismato/antranilato sintasa		COG0512	EH
SRU_RS02785	-5.360	1.843E-02	biotina - [acetil-CoA-carboxilasa] ligasa		COG0340	H
<i>METABOLISMO DE LÍPIDOS (I)</i> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS14430	2.792	8.722E-04	Proteína portadora de acilo		COG0236	IQ
SRU_RS02750	2.542	4.752E-04	Acil-CoA / acil-ACP deshidrogenasa		COG1960	I
SRU_RS06920	2.497	1.800E-02	CDP-diacilglicerol - glicerol-3-fosfato 3-fosfatidiltransferasa	pgsA	COG0558	I
SRU_RS06150	2.051	1.633E-02	3-oxoacil-ACP reductasa		COG1028	IQR
SRU_RS10825	1.832	4.700E-02	Transportador de hierro		COG3470	MI
<i>LUZ</i>						
SRU_RS10045	2.397	1.423E-03	#N/D		COG3963	I
SRU_RS10020	2.179	3.327E-02	Islopentenil-difosfato delta-isomerasa	idi	COG1443	I
SRU_RS09050	2.007	9.209E-03	Fosfatidato citidililtransferasa		COG0575	I
SRU_RS12150	1.916	2.328E-02	Deshidrogenasa de cadena corta		COG1028	IQR

SRU_RS00375	1.839	1.899E-02	Deshidratasa de la familia MaoC		COG2030	I
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS10730	2.795	1.506E-02	Oxidorreductasa de la familia SDR		COG1028	IQR
SRU_RS04370	1.995	3.109E-02	Subunidad de la proteína transportadora de acetil-CoA		COG0511	HI
SRU_RS12005	1.835	2.682E-02	Oxidorreductasa dependiente de NAD (P) de la familia SDR		COG1028	IQR
SRU_RS01845	1.822	1.977E-02	Fosfatidilcolina sintasa		COG1183	I
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS13325	-2.154	1.156E-04	Proteína de transporte de proteínas de la membrana externa		COG2067	I
SRU_RS07715	-2.253	4.826E-02	Enoil-CoA hidratasa / isomerasa		COG1024	I
SRU_RS04950	-2.767	2.408E-04	Subunidad de acetil-CoA carboxilasa biotina carboxilasa	accC	COG0439	I
<b>LUZ</b>						
SRU_RS06465	-2.338	3.331E-02	<b>Proteína de la familia de las tiolasas</b>		COG0183	
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS06460	-1.800	4.128E-02	Proteína de la familia de la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa		COG1250	I
SRU_RS04170	-1.811	3.625E-02	Proteína hipotética		COG2067	I
SRU_RS00205	-1.802	3.090E-02	ketoacil-ACP sintasa III		COG0332	I
SRU_RS00720	-2.706	4.238E-02	Acil-CoA tioesterasa		COG1607	I
SRU_RS09595	-3.199	4.852E-02	Proteína de unión a AMP		COG0365	I
<b>TRANSPORTE DE IONES INORGÁNICOS Y METABOLISMO (P) INDUCIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS08415	6.941	1.944E-02	ATPasa de tipo P con traslocación de cobre		COG2217	P
SRU_RS14155	4.087	2.760E-09	Represor transcripcional		COG0735	P
SRU_RS05965	3.417	3.650E-09	Proteína de protección de fase estacionaria/inanición de ADN		COG0783	PV
SRU_RS09100	2.432	7.140E-03	Superóxido dismutasa		COG0605	P
SRU_RS04870	1.838	3.993E-02	Proteína transportadora de unión a sustrato ABC		COG0614	P
<b>LUZ</b>						

<i>SRU_RS10000</i>	4.033	6.983E-03	Transportador de metal de la familia ZIP		COG0428	P
<i>SRU_RS02355</i>	2.236	2.893E-03	Proteína compleja de señalización de fosfato PhoU	phoU	COG0704	P
<b>OSCURIDAD</b>						
<i>SRU_RS12525</i>	4.753	2.206E-02	Transportador de amonio		COG0004	P
<i>SRU_RS08955</i>	3.313	5.259E-03	subunidad G de catión monovalente / antiportadora H(+)		COG1320	P
<i>SRU_RS12635</i>	2.143	6.300E-07	catalasa/peroxidasa HPI	katG	COG0376	P
<i>SRU_RS04250</i>	1.810	2.120E-02	transportador de magnesio/cobalto CorA	corA	COG0598	P
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
<i>SRU_RS10120</i>	-1.882	1.059E-02	Receptor dependiente de TonB		COG1629	P
<i>SRU_RS03050</i>	-2.246	3.220E-05	Sulfato adenililtransferasa subunidad CysN	cysN	COG0529	P
<i>SRU_RS11505</i>	-2.457	6.590E-04	Proteína de membrana externa ligada a TonB de la familia SusC / RagA		COG1629	P
<b>LUZ</b>						
<i>SRU_RS12685</i>	-1.836	1.365E-02	Receptor dependiente de TonB		COG4771	P
<i>SRU_RS14965</i>	-2.159	2.140E-02	Proteína de membrana externa ligada a TonB de la familia SusC / RagA		COG1629	P
<b>OSCURIDAD</b>						
<i>SRU_RS01930</i>	-1.800	3.930E-02	Proteína de membrana externa ligada a TonB de la familia SusC / RagA		COG1629	P
<i>SRU_RS08935</i>	-1.915	4.665E-02	Subunidad antiportadora D de Na +/H +		COG0651	CP
<i>SRU_RS12070</i>	-1.946	7.726E-03	Subunidad PstC de la permease transportadora tipo ABC	pstC	COG0573	P
<i>SRU_RS14005</i>	-2.230	1.642E-02	Permeasa transportadora ABC		COG1668	CP
<i>SRU_RS11855</i>	-2.371	1.443E-03	Proteína que contiene dominio regulador carboxipeptidasa		COG1629	P
<i>SRU_RS11560</i>	-2.654	2.336E-02	Transportador de magnesio	mgtE	COG2239	P
<i>SRU_RS08960</i>	-2.666	4.693E-02	Antiportador cation/protón		COG2212	P
<i>SRU_RS01790</i>	-17.991	3.146E-02	Proteína de la familia DsrE		COG1416	P

<b>BIOSÍNTESIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS (Q)</b> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS14430	2.792	8.722E-04	Proteína portadora de acilo		COG0236	IQ
SRU_RS14835	2.410	5.557E-03	phasin Proteína de la familia		COG3937	QT
SRU_RS11610	2.370	1.665E-03	Transportador ABC de proteína transportadora de ATP		COG4181	Q
SRU_RS14060	2.114	9.107E-03	Proteína		COG5394	QT
SRU_RS06150	2.051	1.633E-02	3-oxoacil-ACP reductasa		COG1028	IQR
<b>LUZ</b>						
SRU_RS09190	2.951	7.032E-03	Metiltransferasa dependiente de SAM de clase I		COG0500	QR
SRU_RS00955	2.495	3.980E-02	Proteína hipotética		COG0145	EQ
SRU_RS14360	2.405	4.088E-02	ring-cleaving dioxygenase		COG0346	Q
SRU_RS08995	1.990	1.682E-02	Proteína de la familia de la dienolactona hidrolasa		COG0412	Q
SRU_RS12150	1.916	2.328E-02	Deshidrogenasa de cadena corta		COG1028	IQR
SRU_RS10820	1.903	3.499E-02	Proteína de la familia de VOC		COG2514	Q
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS10730	2.795	1.506E-02	Oxidorreductasa de la familia SDR		COG1028	IQR
SRU_RS10855	2.480	3.265E-03	Fitoeno desaturasa		COG1233	Q
SRU_RS12005	1.835	2.682E-02	Oxidorreductasa dependiente de NAD (P) de la familia SDR		COG1028	IQR
<b>PREDICCIÓN DE FUNCIÓN GENERAL(R)</b> <i>INDUCIDOS</i> <i>COMUNES</i>						
SRU_RS14400	3.413	5.360E-08	HAD familia hidrolasa		COG0637	GR
SRU_RS08900	3.254	1.684E-03	Alcohol deshidrogenasa dependiente de NAD (P)		COG0604	CR
SRU_RS05615	2.975	2.864E-03	Proteína que contiene el dominio HIT		COG0537	FGR
SRU_RS15120	2.877	6.690E-06	Endonucleasa de la familia Uma2		COG4636	R
SRU_RS05215	2.803	1.728E-03	Proteína que contiene dominio cupín		COG1917	R
SRU_RS07415	2.762	1.600E-05	Amidohidrolasa		COG1473	R
SRU_RS11235	2.616	7.999E-04	nucleasa bifuncional		COG1259	R
SRU_RS10560	2.448	9.639E-04	L-histidina N (alfa) - metiltransferasa	egtD	COG4301	R

<i>SRU_RS12300</i>	2.246	1.652E-02	alpha/beta fold hydrolase		COG0596	HR
<i>SRU_RS05395</i>	2.159	8.036E-03	Oxidorreductasa de la familia SDR		COG0702	R
<i>SRU_RS06150</i>	2.051	1.633E-02	3-oxoacil-ACP reductasa		COG1028	IQR
<i>SRU_RS03430</i>	2.030	1.500E-02	Endonucleasa de la familia Uma2		COG4636	R
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS09190</i>	2.951	7.032E-03	Metiltransferasa dependiente de SAM de clase I		COG0500	QR
<i>SRU_RS03615</i>	2.448	4.033E-02	Proteína de unión al ADN		COG4254	R
<i>SRU_RS03070</i>	2.117	2.551E-02	Proteína hipotética		COG1669	R
<i>SRU_RS10995</i>	2.038	4.162E-02	MBL pliegue metalohidrolasa		COG0491	R
<i>SRU_RS04885</i>	1.954	3.869E-02	Proteína que contiene el dominio DUF21		COG1253	R
<i>SRU_RS04855</i>	1.951	2.996E-03	Proteína de unión a		COG0702	R
<i>SRU_RS07280</i>	1.930	1.476E-02	Oxidoreductasa		COG0604	CR
<i>SRU_RS06930</i>	1.923	4.729E-02	Proteína A inducible por daño o competencia		COG1058	R
<i>SRU_RS08355</i>	1.923	8.118E-03	proteína repetida tetratricopeptide		COG1729	R
<i>SRU_RS12150</i>	1.916	2.328E-02	Deshidrogenasa de cadena corta		COG1028	IQR
<i>SRU_RS14980</i>	1.913	3.308E-02	Proteína de unión a NAD(P)		COG3380	R
<i>SRU_RS06505</i>	1.860	2.763E-02	Proteína de la familia OsmC		COG1765	R
<i>SRU_RS05425</i>	1.845	4.120E-02	Proteína repetida tetratricopeptide repeat protein		COG0457	R
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS12800</i>	4.975	1.779E-04	Proteína hipotética		COG2335	R
<i>SRU_RS11645</i>	3.134	3.675E-03	Proteína que contiene dominio fasciclina		COG2335	R
<i>SRU_RS10730</i>	2.795	1.506E-02	Oxidorreductasa de la familia SDR		COG1028	IQR
<i>SRU_RS11135</i>	2.272	1.798E-03	Proteína hipotética		COG1579	R
<i>SRU_RS14625</i>	2.232	1.162E-03	Proteína de unión a nucleótidos de la tríada de histidina		COG0537	FGR
<i>SRU_RS10010</i>	2.106	3.821E-03	Regulador transcripcional de la familia fmdB		COG2331	R
<i>SRU_RS03395</i>	2.071	2.634E-02	Nucleotidiltransferasa		COG1669	R
<i>SRU_RS06415</i>	2.058	3.675E-03	Proteína repetida tetratricopeptide		COG1729	R
<i>SRU_RS01840</i>	2.042	1.906E-02	Biogénesis del ribosoma GTPasa Der	der	COG1160	R

SRU_RS12005	1.835	2.682E-02	Oxidorreductasa dependiente de NAD (P) de la familia SDR		COG1028	IQR
SRU_RS03355	1.810	3.317E-02	Proteína hipotética		COG2405	R
<b>REPRIMIDOS</b>						
<b>COMUNES</b>						
SRU_RS11470	-1.809	3.785E-02	Proteína que contiene dominio fasciclina		COG2335	R
SRU_RS05910	-2.067	2.639E-02	Ribonucleasa HI	rnhA		R
SRU_RS06630	-2.203	2.593E-03	Proteína de la familia de insulinas		COG0612	R
SRU_RS01880	-2.323	1.029E-02	Oxidorreductasa de la familia Gfo / Idh / MocA		COG0673	R
SRU_RS10110	-2.626	7.790E-06	Proteína hipotética		COG2374	R
SRU_RS04590	-2.692	8.120E-06	Proteína hipotética		COG3391	R
SRU_RS12680	-2.880	1.542E-03	Proteína que contiene dominio fasciclina		COG2335	R
SRU_RS15030	-2.958	9.074E-04	Proteína de la familia BspA		COG3401	R
SRU_RS08590	-3.070	7.560E-06	Proteína hipotética		COG1427	R
SRU_RS03390	-3.668	3.019E-03	Proteína que contiene dominio PIN		COG1848	R
<b>LUZ</b>						
SRU_RS11840	-1.954	2.239E-02	Proteína que contiene dominio fasciclina		COG2335	R
SRU_RS06170	-2.110	9.389E-04	Proteína de la familia YncE		COG3391	R
SRU_RS13440	-3.105	3.630E-02	Proteína repetida tetratricopeptide		COG0457	R
SRU_RS06240	-3.371	3.514E-03	Subunidad beta de glutamato sintasa		COG0493	ER
<b>OSCURIDAD</b>						
SRU_RS14715	-1.984	2.435E-02	Proteína de la familia ABC-F que contiene el dominio de unión a ATP		COG0488	R
SRU_RS08635	-2.074	2.855E-02	Proteína de la familia de la insulinasa		COG0612	R
SRU_RS08555	-2.148	1.486E-02	2-fosfosulfolactato fosfatasa		COG2045	HR
SRU_RS08630	-2.179	6.787E-03	Proteína de la familia de la insulinasa		COG0612	R
SRU_RS14875	-2.355	1.437E-02	Proteína de la membrana externa de absorción de nutrientes de la familia RagB / SusD		COG0702	R
SRU_RS01175	-3.523	2.810E-02	Acetiltransferasa		COG0110	R
<b>FUNCIÓN DESCONOCIDA (S)</b> <b>INDUCIDOS</b> <b>COMUNES</b>						

SRU_RS11715	4.601	1.470E-06	Proteína hipotética		ENOG410Z8I1	S
SRU_RS03705	4.004	1.230E-05	Proteína que contiene el dominio DUF427		COG2343	S
SRU_RS00190	3.224	3.972E-04	Proteína que contiene el dominio DUF177		COG1399	S
SRU_RS08965	3.116	8.400E-06	Proteína que contiene el dominio amphi-Trp		ENOG410Y293	S
SRU_RS14040	3.071	5.600E-06	Proteína de la familia DUF2480		ENOG4111KA0	S
SRU_RS15055	3.068	3.770E-03	Proteína hipotética		ENOG502ZMM0	S
SRU_RS11720	3.020	2.928E-03	Proteína que contiene el dominio PAS		ENOG4112BKR	S
SRU_RS13340	2.860	1.850E-06	Proteína hipotética		ENOG410Y1HT	S
SRU_RS01240	2.691	3.120E-06	Endonucleasa de la familia Uma2		ENOG4111UDQ	S
SRU_RS12955	2.504	1.573E-04	Proteína que contiene el dominio STAS / SEC14		ENOG41101UN	S
SRU_RS08325	2.383	9.952E-04	Proteína hipotética		ENOG410XX5C	S
SRU_RS04325	2.371	2.410E-03	Proteína de barril beta de la membrana externa			S
SRU_RS05670	2.336	1.539E-02	Proteína hipotética		ENOG410ZP9B	S
SRU_RS03365	2.281	3.051E-02	Proteína que contiene el dominio DUF433		COG2442	S
SRU_RS01635	2.236	4.828E-03	Proteína de la familia TIGR00266		COG2013	S
SRU_RS07890	2.232	9.575E-04	Baciliredoxina de la familia BrxA / BrxB		ENOG4111J34	S
SRU_RS04095	2.216	1.706E-03	Proteína que contiene el dominio DUF4159		ENOG410XSZ2	S
SRU_RS14985	2.211	1.449E-03	Proteína hipotética		COG5488	S
SRU_RS02195	2.177	2.292E-02	Proteína hipotética		ENOG4111H4J	S
SRU_RS14475	2.146	1.326E-02	Proteína que contiene el dominio DUF971		COG3536	S
SRU_RS09885	2.126	3.299E-02	phage holin Proteína de la familia		ENOG410Z44F	S
SRU_RS13990	2.089	7.467E-03	Proteína hipotética		ENOG410YV6Z	S
SRU_RS09435	2.008	4.875E-03	Proteína de la familia LEA tipo 2		ENOG4111KN0	S
SRU_RS12695	2.002	3.244E-02	Proteína hipotética		COG3921	S
SRU_RS10775	1.952	1.487E-02	Proteína de salida de arsénico		ENOG410YVY	S
SRU_RS07100	1.947	5.611E-03	Proteína que contiene el dominio DUF58		COG1721	S
SRU_RS15100	1.922	6.544E-03	Lipoproteína		ENOG50335Y1	S
SRU_RS11870	1.807	3.614E-02	Proteína hipotética		ENOG4111ZB5	S
LUZ						

<i>SRU_RS04705</i>	3.963	2.483E-03	proteína de barril beta de la membrana externa			S
<i>SRU_RS12780</i>	2.874	1.483E-02	Proteína de la familia ParM / StbA		ENOG410XSUQ	S
<i>SRU_RS13600</i>	2.834	2.566E-02	Proteína hipotética		ENOG4111PVD	S
<i>SRU_RS12595</i>	2.785	2.074E-03	Proteína que contiene el dominio DUF1648			S
<i>SRU_RS03780</i>	2.733	4.059E-02	Proteína que contiene el dominio STAS / SEC14		ENOG410Z909	S
<i>SRU_RS03520</i>	2.633	2.234E-02	Proteína que contiene el dominio PH		COG3402	S
<i>SRU_RS12385</i>	2.598	2.691E-02	Proteína hipotética		ENOG410ZE93	S
<i>SRU_RS14990</i>	2.533	4.014E-02	Proteína hipotética		ENOG410XVJY	S
<i>SRU_RS00255</i>	2.486	3.313E-02	Proteína de barril beta de la membrana externa			S
<i>SRU_RS09890</i>	2.369	2.411E-02	Proteína que contiene el dominio N-terminal de NifU		ENOG410XVWP	S
<i>SRU_RS00980</i>	2.280	2.175E-02	Proteína que contiene el dominio DUF2384		COG5642	S
<i>SRU_RS07580</i>	2.218	1.038E-02	Proteína de la familia WbqC		ENOG410ZW99	S
<i>SRU_RS12220</i>	2.129	3.462E-02	Proteína hipotética		ENOG410ZN30	S
<i>SRU_RS11810</i>	2.128	4.696E-02	Proteína del sistema del ácido polihidroxialcanoico		ENOG410XX2G	S
<i>SRU_RS09210</i>	2.012	2.018E-03	Oxidoreductasa		COG3804	S
<i>SRU_RS08785</i>	1.958	1.770E-02	Proteína hipotética		ENOG410YQZC	S
<i>SRU_RS09540</i>	1.951	1.100E-02	Proteína de la familia DUF2851		ENOG410XPBG	S
<i>SRU_RS02975</i>	1.951	2.798E-02	Proteína hipotética		ENOG4112ASY	S
<i>SRU_RS02320</i>	1.902	4.094E-02	Proteína de la familia TIGR00341		COG1808	S
<i>SRU_RS14215</i>	1.861	3.467E-02	Proteína de la familia Wzi		ENOG4111RZ5	S
<i>SRU_RS11120</i>	1.854	3.918E-02	Proteína que contiene el dominio DUF2237		COG3651	S
<i>SRU_RS03030</i>	1.827	1.088E-02	Proteína hipotética		COG4244	S
<i>SRU_RS11600</i>	1.800	2.726E-02	Proteína de barril beta de la membrana externa			S
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS06835</i>	5.098	1.960E-05	Proteína de la familia de factores de transportadores nucleares		ENOG4112C8E	S
<i>SRU_RS06430</i>	2.734	1.517E-03	Proteína que contiene el dominio de unión al sustrato de peptidasa LON		COG2802	S
<i>SRU_RS10980</i>	2.564	2.793E-02	Hidrolasa de la pared celular		ENOG410YQXH	S
<i>SRU_RS14650</i>	2.550	3.160E-05	Proteína que contiene el dominio C-terminal YiiD		ENOG41126DB	S

SRU_RS05715	2.360	3.449E-02	Proteína hipotética		ENOG4111P7D	S
SRU_RS01085	2.287	4.300E-02	Proteína hipotética		ENOG50346GR	S
SRU_RS15225	2.117	4.623E-02	Proteína de paquete de cuatro hélices			S
SRU_RS15260	2.043	1.427E-02	Proteína hipotética		ENOG502ZMM0	S
SRU_RS07575	1.980	3.159E-02	Proteína de biosíntesis de carotenoides		COG2324	S
SRU_RS00015	1.913	6.397E-04	Proteína hipotética		ENOG410YTPN	S
SRU_RS06140	1.836	1.205E-02	Proteína que contiene el dominio DUF411		COG3019	S
SRU_RS10985	1.833	1.765E-02	Proteína de barril beta de la membrana externa		ENOG410ZMRF	S
SRU_RS00215	1.811	9.657E-03	Proteína hipotética		ENOG502ZZA5	S
<b>REPRIMIDOS COMUNES</b>						
SRU_RS06175	-1.850	3.848E-02	Proteína que contiene repeticiones de VCBS		ENOG410ZVNF	S
SRU_RS05895	-1.939	3.633E-03	Proteína que contiene el dominio DUF3883			S
SRU_RS12415	-2.038	1.931E-02	Proteína que contiene el dominio DUF427		COG2343	S
SRU_RS02150	-2.197	3.000E-02	Proteína que contiene el dominio DUF421		COG2323	S
SRU_RS14750	-2.397	4.250E-05	Proteína hipotética		ENOG4111WSY	S
SRU_RS11675	-2.440	1.467E-03	Proteína hipotética		ENOG4111G79	S
SRU_RS10115	-2.460	5.150E-04	Proteína que contiene el dominio J de anclaje		ENOG410ZJ9M	S
SRU_RS07310	-2.476	2.445E-03	Proteína hipotética		COG3762	S
SRU_RS01040	-2.484	3.736E-04	Proteína hipotética		ENOG4111ZJ8	S
SRU_RS00430	-2.637	4.446E-02	Proteína hipotética		ENOG4111ID5	S
SRU_RS00150	-2.687	1.119E-04	Proteína de la familia YicC		COG1561	S
SRU_RS04575	-3.042	2.127E-03	Proteína de unión a (2Fe-2S)		ENOG410ZDQT	S
SRU_RS11340	-3.256	1.414E-02	Proteína en paquete de hélice		ENOG410ZMBZ	S
SRU_RS03240	-3.388	1.949E-04	Proteína que contiene el dominio sulfotransferasa		ENOG4111TQI	S
SRU_RS11475	-3.429	6.020E-07	Lipoproteína de membrana externa de unión a nutrientes de la familia SusD / RagB		ENOG410XSVM	S
SRU_RS11500	-3.740	7.900E-07	Proteína de la membrana externa de absorción de nutrientes de la familia RagB / SusD		ENOG4110R7K	S
SRU_RS11490	-5.547	5.270E-11	Proteína que contiene el dominio GWxTD		ENOG410ZJTH	S
SRU_RS03210	-9.935	4.360E-11	Proteína que contiene el dominio sulfotransferasa		ENOG410YPGR	S

<i>SRU_RS03205</i>	-11.240	2.510E-12	Repetición de oligosacárido		ENOG410Y8V P	S
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS03415</i>	-1.857	3.296E-03	Proteína que contiene el dominio DUF4926		ENOG410XUD I	S
<i>SRU_RS11075</i>	-1.881	7.979E-03	Proteína hipotética		ENOG410XR0 4	S
<i>SRU_RS06215</i>	-1.921	4.959E-02	Proteína hipotética		COG4372	S
<i>SRU_RS10305</i>	-2.173	2.326E-02	Proteína repetida de cadena beta de la familia DUF4097		COG3595	S
<i>SRU_RS13250</i>	-2.293	4.142E-02	Proteína de la familia de la gluconato 2-deshidrogenasa subunidad 3		ENOG4111J8 Q	S
<i>SRU_RS05745</i>	-2.392	1.528E-02	Proteína hipotética		ENOG41127Q 5	S
<i>SRU_RS02995</i>	-2.565	1.908E-02	Proteína hipotética		ENOG4112D9 K	S
<i>SRU_RS09250</i>	-2.576	5.052E-03	Proteína hipotética		ENOG410XYA W	S
<i>SRU_RS09225</i>	-2.868	2.321E-02	Proteína de maduración de esporas		COG0700	S
<i>SRU_RS11860</i>	-2.931	4.333E-02	Proteína hipotética		ENOG410XXR V	S
<i>SRU_RS07590</i>	-3.278	2.795E-02	Proteína hipotética		ENOG410ZDZ V	S
<i>SRU_RS02155</i>	-3.420	4.347E-02	Proteína hipotética		ENOG410Y11 C	S
<i>SRU_RS09415</i>	-3.974	1.574E-02	Proteína que contiene el dominio DUF434		COG2454	S
<i>SRU_RS09855</i>	-5.709	2.081E-03	Proteína que contiene el dominio GatB / YqeY		COG1610	S
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS04500</i>	-1.929	1.253E-03	Peptidasa M14			S
<i>SRU_RS10800</i>	-1.969	2.012E-02	Proteína hipotética		ENOG4111XX F	S
<i>SRU_RS11015</i>	-1.974	1.950E-03	Proteína que contiene el dominio DUF2723		ENOG410XQT X	S
<i>SRU_RS11305</i>	-1.981	4.062E-02	SRPBCC family protein		COG3832	S
<i>SRU_RS01935</i>	-2.033	1.366E-02	Proteína de la membrana externa de absorción de nutrientes de la familia RagB / SusD		ENOG410XP5 3	S
<i>SRU_RS02630</i>	-2.034	1.190E-02	Proteína de la familia DinB		ENOG410Z6Z 6	S
<i>SRU_RS09755</i>	-2.311	4.977E-02	Proteína hipotética		ENOG410XP7 M	S
<i>SRU_RS11085</i>	-2.327	9.397E-03	Proteína que contiene el dominio DUF3341		ENOG410XNX N	S
<i>SRU_RS06855</i>	-2.648	2.381E-03	Proteína de paquete de cuatro hélices		ENOG4111SM K	S
<i>SRU_RS01850</i>	-2.674	3.184E-02	Subunidad transportadora asociada a la integridad de la membrana PqiC		COG3009	S
<i>SRU_RS06560</i>	-2.693	2.465E-04	Proteína que contiene el dominio SPOR		ENOG410Z5JX	S

SRU_RS09655	-2.726	1.027E-02	Proteína que contiene el dominio SIMPL		COG2968	S
SRU_RS05280	-2.732	1.401E-02	Sulfotransferasa		ENOG410YPG R	S
SRU_RS02685	-2.781	1.544E-02	Proteína hipotética		COG5652	S
SRU_RS11265	-2.834	2.211E-02	Proteína hipotética		ENOG410YK7 F	S
SRU_RS02915	-2.952	2.119E-02	Proteína hipotética		ENOG410ZGJ R	S
SRU_RS03935	-3.146	2.770E-02	betacaroteno 15% 2C15'- dioxigenasa% 2C Familia Brp / Blh		ENOG410YA9 2	S
SRU_RS00690	-3.194	5.656E-03	Proteína hipotética		ENOG410Z57 5	S
SRU_RS01680	-6.856	3.403E-02	Permeasa del transportador ABC			S
SRU_RS01725	-9.439	9.405E-03	permeasa del transportador ABC		COG2427	S
<b>PROTEÍNAS HIPOTÉTICAS INDUCIDAS COMUNES</b>						
SRU_RS06965	4.903	3.660E-09	Proteína hipotética			
SRU_RS04000	4.757	5.860E-05	Proteína hipotética			
SRU_RS07940	4.738	1.685E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS04465	3.767	1.238E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS01695	3.303	1.213E-03	Citocromo oxidasa			
SRU_RS08115	3.146	3.780E-05	Proteína hipotética			
SRU_RS13145	3.082	2.030E-05	Proteína hipotética			
SRU_RS02020	3.016	1.456E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS09240	2.965	2.590E-05	Proteína hipotética			
SRU_RS14345	2.948	4.140E-07	Proteína hipotética			
SRU_RS15175	2.723	1.615E-04	Proteína hipotética			
SRU_RS07360	2.669	1.556E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS02025	2.607	1.425E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS13435	2.509	1.002E-04	Proteína hipotética			
SRU_RS12040	2.472	6.990E-05	Proteína hipotética			
SRU_RS01735	2.467	3.338E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS15220	2.381	6.310E-05	Proteína hipotética			
SRU_RS09330	2.377	1.562E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS04600	2.321	9.144E-03	Proteína hipotética		COG5245	
SRU_RS14235	2.286	1.391E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS07885	2.232	3.258E-02	Proteína hipotética			

SRU_RS11285	2.191	1.489E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS07605	2.062	2.645E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS01535	1.859	2.115E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS08350	1.831	2.168E-02	Proteína hipotética			
<i>LUZ</i>						
SRU_RS00870	3.648	2.589E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS06960	3.463	9.347E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS09045	3.228	1.165E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS03435	2.558	2.925E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS11170	2.287	2.482E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS12425	2.252	3.168E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS02860	2.231	1.201E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS01335	1.933	2.861E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS13950	1.900	1.835E-02	Proteína hipotética			
<i>OSCURIDAD</i>						
SRU_RS07410	10.114	3.779E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS03765	4.506	1.923E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS09675	4.024	3.021E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS12020	3.609	1.629E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS11730	3.593	1.828E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS07450	3.580	9.499E-04	Proteína hipotética			
SRU_RS00915	3.427	1.028E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS06085	2.614	4.396E-04	Proteína hipotética			
SRU_RS11360	2.499	1.328E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS13740	2.444	1.511E-03	Proteína hipotética			
SRU_RS15115	2.345	1.358E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS03760	2.278	4.910E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS09070	2.259	4.691E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS06765	2.049	1.216E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS02660	1.966	1.908E-02	Proteína hipotética			
SRU_RS12485	1.809	2.962E-03	Proteína hipotética			

<i>REPRIMIDAS COMUNES</i>						
<i>SRU_RS09960</i>	-1.981	2.951E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS11465</i>	-2.227	1.903E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS09970</i>	-2.292	1.473E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS04680</i>	-2.656	2.290E-04	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS03280</i>	-2.686	4.435E-04	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS11495</i>	-3.176	1.630E-06	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS03190</i>	-11.748	9.230E-20	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS09960</i>	-1.981	2.951E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS11465</i>	-2.227	1.903E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS09970</i>	-2.292	1.473E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS04680</i>	-2.656	2.290E-04	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS03280</i>	-2.686	4.435E-04	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS11495</i>	-3.176	1.630E-06	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS03190</i>	-11.748	9.230E-20	Proteína hipotética			
<i>LUZ</i>						
<i>SRU_RS05875</i>	-1.893	2.489E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS09410</i>	-1.985	5.670E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS05755</i>	-2.781	2.664E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS08475</i>	-2.795	8.504E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS09820</i>	-13.376	2.925E-02	Proteína hipotética			
<i>OSCURIDAD</i>						
<i>SRU_RS04740</i>	-1.932	1.715E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS06210</i>	-2.112	7.319E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS01045</i>	-2.348	1.776E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS07455</i>	-2.465	4.793E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS05750</i>	-2.541	5.748E-03	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS00695</i>	-2.831	1.203E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS14940</i>	-2.928	1.458E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS05790</i>	-3.182	4.404E-02	Proteína hipotética			
<i>SRU_RS05890</i>	-3.427	2.999E-02	Proteína hipotética			

SRU_RS10795	-21.150	2.789E-02	Proteína hipotética			
-------------	---------	-----------	---------------------	--	--	--

**Tabla B. Genes significativamente expresados o reprimidos tras la irradiación con ultravioleta en *Haloquadratum walsbyi*.** Se muestran aquellos genes con un Fold Change mayor que 1.8 o menos que -1.8. Se establece como fiabilidad de la muestra un P. value  $\leq 0.05$ . Aparece además representado el producto proteico de cada gen, el número de COG asignado, la descripción del mismo y su grupo.

GEN	FC	pvalor	Proteína	Nombre del gen	COG	Grupo de COG
<b>TRADUCCIÓN (J)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS14740	2.228	2.091E-02	Factor de iniciación de la traducción subunidad beta IF-2		COG1601	J
HQ_RS13855	1.972	4.122E-03	Proteína de la familia de la ligasa de ARN 2'-5'	HQ_3722A	COG1514	J
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS09295	-1.814	2.431E-05	Proteína ribosomal 50S L15	rpl15	COG0200	J
HQ_RS09450	-1.821	4.255E-05	Factor de inicio de la transcripción IF-2 subunidad beta	tif2b2	COG1601	J
HQ_RS09700	-1.828	3.922E-07	Proteína ribosomal 50S P1	rpl12	COG2058	J
HQ_RS12065	-1.833	3.531E-06	Proteína de la familia TIGR00270	HQ_3361A	COG1813	J
HQ_RS09215	-1.866	1.875E-02	Proteína hipotética	HQ_2804A	COG1997	J
HQ_RS06975	-1.885	3.835E-07	Proteína ribosomal 30S S15	rps15	COG0184	J
HQ_RS02015	-1.893	1.252E-06	Proteína ribosomal 50S L16	rpl10e	COG0197	J
HQ_RS07620	-1.898	2.911E-02	Desoxihipusina sintasa	rnp4	COG2023	J
HQ_RS00385	-1.924	1.388E-07	ribonucleasa P	rps6e	COG2125	J
HQ_RS01340	-1.940	1.724E-03	Proteína ribosomal 30S S6e	nop10	COG2260	J
HQ_RS09810	-1.958	2.043E-08	Complejo protéico de ARN Nop10	rpl11	COG0080	J
HQ_RS09895	-1.977	7.583E-05	Proteína ribosomal 50S L11	rpl13	COG0102	J
HQ_RS09355	-1.996	7.171E-04	Proteína ribosomal 50S L13	rpl14	COG0093	J
HQ_RS09395	-2.010	3.959E-05	Proteína ribosomal 50S L14	rpl23	COG0089	J

HQ_RS09380	-2.015	6.041E-04	Proteína ribosomal 50S L23	rpl22	COG0091	J
HQ_RS13680	-2.024	5.161E-05	Proteína ribosomal 50S L22	rlmE	COG0293	J
HQ_RS01730	-2.028	3.364E-09	Proteína con el dominio TRAM	eif2g	COG5257	J
HQ_RS12000	-2.039	8.542E-08	Factor de inicio de la transcripción IF-2 subunidad gamma	eif5a	COG0231	J
HQ_RS03220	-2.056	6.416E-07	Factor de inicio de la transcripción IF-5A	trm5	COG2520	J
HQ_RS03130	-2.091	1.940E-09	Proteína de la familia de las metiltransferasas dependiente de SAM de clase I	drg	COG1163	J
HQ_RS01755	-2.095	3.200E-04	Proteína de unión a GTP	rps24e	COG2004	J
HQ_RS09340	-2.125	3.706E-05	Proteína ribosomal 30S S24e	rpl5	COG0094	J
HQ_RS10150	-2.161	4.528E-07	Proteína ribosomal 50S L5	graD3	COG1208	JM
HQ_RS01335	-2.179	2.385E-10	Proteína que contiene el dominio de la transferasa NTP	tif2a	COG1093	J
HQ_RS14765	-2.180	5.603E-07	Factor de inicio de la transcripción IF-2 subunidad alpha	rpl37e	COG2126	J
HQ_RS09620	-2.327	7.193E-08	Proteína ribosomal 50S L37e	rpl24e	COG2075	J
HQ_RS02175	-2.329	4.342E-10	Proteína hipotética	rpl15e	COG1632	J
HQ_RS08360	-2.343	2.803E-04	Proteína ribosomal 50S L15e	cna	COG0144	J
HQ_RS09630	-2.381	1.492E-08	RsmB / NOP familia clase I ARN metiltransferasa dependiente de SAM	rpl7ae	COG1358	J
HQ_RS09360	-2.407	7.689E-05	Proteína ribosomal 50S L7ae	rps17	COG0186	J
HQ_RS12210	-2.482	1.021E-13	Proteína ribosomal 30S S17	rps12	COG0048	J
HQ_RS03545	-2.502	2.506E-03	Proteína ribosomal 30S S12	gatC	COG0721	J
HQ_RS09335	-2.651	4.038E-07	Asp-tRNA(Asn)/Glu-tRNA(Gln) amidotransferasa subunidad GatC	rps14	COG0199	J
HQ_RS11820	-2.805	1.446E-12	Proteína ribosomal 30S S14	rps8e	COG2007	J
HQ_RS12365	-2.967	2.272E-08	Proteína ribosomal 30S S8e		COG2157	J
HQ_RS09385	-3.006	3.473E-15	Proteína ribosomal 50S L18a	rps19	COG0185	J
HQ_RS09350	-3.017	2.272E-09	Proteína ribosomal 30S S19	rpl24	COG0198	J
HQ_RS09315	-3.073	1.169E-09	Proteína ribosomal 50S L24	rpl19e	COG2147	J
HQ_RS09310	-3.126	3.267E-10	Proteína ribosomal 50S L19e	rpl18	COG0256	J
HQ_RS09900	-3.466	2.557E-12	Proteína ribosomal 50S L18	rpl18e	COG1727	J
HQ_RS09330	-3.478	5.096E-12	Proteína ribosomal 50S L18e	rps8	COG0096	J
HQ_RS12380	-3.535	1.834E-08	Proteína ribosomal 30S S8	rpl39e	COG2167	J

HQ_RS09325	-3.614	1.227E-14	Proteína ribosomal 50S L39e	rpl6	COG0097	J
HQ_RS01330	-3.824	1.718E-19	Proteína ribosomal 50S L6	rps27e	COG2051	J
HQ_RS09925	-4.028	5.253E-28	Proteína ribosomal 30S S27e	rps13	COG0099	J
HQ_RS01470	-4.421	1.164E-15	Proteína ribosomal 30S S13	rpl43e	COG1997	J
HQ_RS01325	-4.836	8.156E-29	Proteína hipotética	rpl42e	COG1631	J
<i>TRANSCRIPCIÓN (K)</i> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS12690	7.508	1.487E-03	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	HQ_3491A	COG2002	KV
HQ_RS14800	7.043	2.516E-17	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	HQ_3238A	COG2002	KV
HQ_RS06215	6.758	2.685E-02	Regulador transcripcional de la familia MarR			K
HQ_RS14440	5.499	3.670E-10	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT		COG2002	KV
HQ_RS03225	5.416	2.155E-21	Factor de inicio de la transcripción IIB	tfbA3	COG1405	K
HQ_RS06140	5.034	2.177E-05	Regulador transcripcional de la familia AbrB			K
HQ_RS08205	4.016	9.816E-05	Regulador transcripcional hélice-vuelta-hélice	arsR3	COG0640	K
HQ_RS14905	3.868	4.378E-04	Regulador transcripcional específico de azúcar TrmB			K
HQ_RS05775	3.839	3.057E-03	Regulador transcripcional de la familia MarR	HQ_2121A		K
HQ_RS11190	3.531	8.199E-11	Factor de transcripción S	tfs2	COG1594	K
HQ_RS13170	3.002	3.841E-04	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	vapB1	COG2002	KV
HQ_RS04640	2.991	3.979E-04	Regulador transcripcional de la familia TrmB	HQ_1900A	COG1378	K
HQ_RS13045	2.976	4.235E-08	Regulador transcripcional	HQ_3564A	COG4190	K
HQ_RS04440	2.921	4.342E-09	Proteína hipotética	HQ_1871A	COG3609	K
HQ_RS04625	2.812	4.816E-09	Regulador transcripcional de la familia MarR	HQ_1898A	COG3355	K
HQ_RS04660	2.768	4.699E-09	Proteína hipotética		COG3682	K
HQ_RS13105	2.681	4.424E-06	Proteína de unión a nucleótidos DprA/ Smf del pliegue de Rossmann		COG0758	K
HQ_RS03550	2.524	1.707E-04	Factor de inicio de la transcripción IIB		COG1405	K

HQ_RS13085	2.249	3.567E-08	Regulador transcripcional hélice-vuelta-hélice	arsR7	arCOG04518	K
HQ_RS08240	2.180	4.967E-04	cinta-hélice-hélice proteína 2C CopG familia	arsR1	COG0640	K
HQ_RS14505	2.147	4.187E-03	Proteína hipotética	HQ_1858B		K
HQ_RS06070	2.126	6.715E-03	GNAT familia N-acetiltransferasa	HQ_2174A	COG3177	K
HQ_RS06515	2.099	4.710E-02	Proteína hipotética	HQ_2268A	COG0454	KR
HQ_RS00425	2.092	1.979E-03	Sistema toxina-antitoxina tipo II	HQ_1077A	COG2161	KT
HQ_RS12730	2.079	3.796E-04	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	HQ_3499A	COG1378	K
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS10365	-1.801	2.846E-06	Proteína hipotética	pspA	COG1842	KT
HQ_RS06750	-1.883	8.365E-08	Subunidad H de la ARN polimerasa	HQ_2313A	COG2002	KV
HQ_RS02670	-1.895	5.554E-05	ARN polimerasa dirigida por ADN	HQ_1519A	COG3388	K
HQ_RS12240	-1.907	1.374E-03	Proteína hipotética	rpoH	COG2012	K
HQ_RS01740	-1.912	1.619E-07	Regulador transcripcional de la familia TrmB	rpoE1	COG1095	K
HQ_RS04295	-2.038	3.956E-04	Proteína que contiene el dominio de la cinta de zinc	HQ_1839A	COG0864	K
HQ_RS10145	-2.133	7.291E-05	Regulador transcripcional hélice-vuelta-hélice	HQ_2987A	COG1378	K
HQ_RS02120	-2.137	1.487E-09	Proteína hipotética	HQ_1413A	COG0864	K
HQ_RS02770	-2.168	5.930E-04	Factor de inicio de la transcripción IIB	HQ_1541A	COG0640	K
HQ_RS00815	-2.320	1.612E-13	Regulador transcripcional de la familia Rrf2		COG1405	K
HQ_RS08420	-2.372	6.130E-11	antitoxina de la familia ParD tipo II	HQ_2649A	COG2524	K
HQ_RS02125	-2.390	2.764E-17	Proteína de unión a caja TATA	HQ_1414A	COG3609	K
HQ_RS07780	-2.427	1.407E-09	Regulador transcripcional de la familia TrmB	tbpA	COG2101	K
HQ_RS08805	-2.536	1.695E-08	Regulador transcripcional de la familia Lrp/AsnC	trmB	COG1378	K
HQ_RS04150	-2.828	8.685E-11	Proteína similar a la ribonucleoproteína nuclear pequeña (snRNP)	HQ_1811A	COG1522	K
HQ_RS09660	-3.021	7.419E-04	Familia CopG	lsm	COG1958	K
HQ_RS08655	-3.312	7.134E-04	Subunidad P de la ARN polimerasa	HQ_2696A	COG0864	K
HQ_RS01475	-3.397	2.113E-10	Proteína hipotética	rpoP	COG1996	K

<b>REPLICACIÓN Y REPARACIÓN (L)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS14185	9.089	6.692E-06	Endonucleasa YncB		COG1525	L
HQ_RS15515	4.697	3.488E-03	Proteína hipotética		COG0433	L
HQ_RS05715	3.935	3.018E-02	Proteína de unión a ATP		COG0433	L
HQ_RS13205	3.590	7.195E-05	Proteína hipotética		COG0582	LX
HQ_RS11570	3.334	5.338E-03	Proteína de iniciación de la replicación de la familia <i>orc1 / cdc6</i>	<i>orc6</i>	COG1474	L
HQ_RS05700	2.932	3.998E-02	Proteína hipotética	HQ_2110A	COG1110	L
HQ_RS11705	2.748	4.231E-02	Proteína que contiene el dominio de reconocimiento de TraM	HQ_3291A	COG0433	L
HQ_RS13105	2.681	4.424E-06	Regulador transcripcional de la familia TrmB		COG0758	L
HQ_RS13635	2.274	1.982E-08	Fosfatasa		COG0496	L
HQ_RS13085	2.249	3.567E-08	Regulador transcripcional de la familia MarR	<i>arsR7</i>	arCOG04518	L
HQ_RS06475	2.055	1.190E-02	Proteína hipotética	HQ_2258A	arCOG09115	L
HQ_RS12405	1.810	5.758E-03	Proteína RadA	<i>radA</i>	COG0468	L
HQ_RS01220	1.804	7.731E-06	Endonucleasa V	<i>nfi</i>	COG1515	L
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS01375	-1.866	3.002E-06	Segregación/condensación de proteína A	<i>scpA</i>	COG1354	L
HQ_RS09320	-1.917	3.551E-04	Proteína ribosomal 50S L32e	<i>rpl32e</i>	COG0468	L
HQ_RS13685	-1.924	5.917E-07	Abrazadera deslizante para de la ADN polimerasa (PCNA)	<i>pcn</i>	COG0592	L
HQ_RS08770	-2.016	2.193E-09	ADN primasa subunidad pequeña PriS	<i>priS</i>	COG1467	L
HQ_RS08445	-2.058	6.214E-07	ADN topoisomerasa IV subunidad A	<i>top6A</i>	COG1697	L
<b>ESTRUCTURA DE LA CROMATINA (B)</b> <b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS02250	-1.832	6.779E-07	Histona deacetilasa	<i>hda1</i>	COG0123	BQ
HQ_RS02245	-2.047	1.105E-05	Factor transcripcional de la familia NFYB/HAP3	<i>hstA</i>	COG2036	B
<b>MOBILOMA (X)</b> <i>INDUCIDOS</i>						

<i>HQ_RS14485</i>	19.992	2.641E-99	Transposasa		COG0675	X
<i>HQ_RS14820</i>	9.890	4.087E-03	Transposasa de la familia IS200 / IS605		COG1943	X
<i>HQ_RS14675</i>	8.519	5.622E-04	Transposasa		0	X
<i>HQ_RS13025</i>	7.606	1.477E-05	Transposasa		0	X
<i>HQ_RS14995</i>	7.122	3.545E-03	Transposasa de la familia IS200 / IS605		COG1943	X
<i>HQ_RS06940</i>	6.569	8.210E-03	Transposasa		COG0675	X
<i>HQ_RS13000</i>	5.552	2.639E-08	Transposasa de la familia IS1595		0	X
<i>HQ_RS08245</i>	5.323	1.250E-02	Transposasa		0	X
<i>HQ_RS07380</i>	5.055	1.033E-03	Transposasa		COG0675	X
<i>HQ_RS12725</i>	4.477	5.898E-03	Transposasa		COG0675	X
<i>HQ_RS14565</i>	3.779	8.550E-04	Proteína hipotética		COG3039	X
<i>HQ_RS07680</i>	3.651	1.306E-04	Transposasa de la familia IS607		0	X
<i>HQ_RS13205</i>	3.590	7.195E-05	Proteína hipotética		COG0582	LX
<i>HQ_RS00435</i>	3.275	1.052E-03	Proteína de la familia Fic	HQ_1079A	COG3654	X
<i>HQ_RS13070</i>	3.115	2.313E-06	Transposasa		COG0675	X
<i>HQ_RS15230</i>	3.044	1.324E-03	Proteína accesoria de la transposasa del elemento de la familia IS200 / IS605 TnpB		COG0675	X
<i>HQ_RS05960</i>	3.006	3.871E-07	Proteína accesoria de la transposasa de la familia IS200 / IS605 TnpB	HQ_2154A	COG0675	X
<i>HQ_RS03825</i>	2.934	9.916E-05	Proteína accesoria de la transposasa del elemento de la familia IS200 / IS605 TnpB		COG0675	X
<i>HQ_RS01825</i>	2.880	5.467E-17	Proteína accesoria de la transposasa del elemento de la familia IS200 / IS605 TnpB		COG0675	X
<i>HQ_RS11360</i>	2.801	3.967E-02	Transposasa		0	X
<i>HQ_RS13010</i>	2.778	3.268E-02	Transposasa de la familia IS4	HQ_3555A	COG3385	X
<i>HQ_RS07665</i>	2.764	9.842E-05	Proteína accesoria de la transposasa del elemento de la familia IS200 / IS605 TnpB		COG0675	X
<i>HQ_RS14475</i>	2.332	7.882E-07	Transposasa		COG0675	X
<i>HQ_RS12420</i>	2.299	1.057E-04	Proteína accesoria de la transposasa del elemento de la familia IS200 / IS605 TnpB		COG0675	X
<i>HQ_RS05300</i>	2.293	2.904E-03	Transposasa de la familia ISHwa1 de elemento similar a IS5	HQ_2030A	COG3039	X

HQ_RS11420	2.231	4.238E-11	Proteína accesoria de la transposasa de la familia IS200 / IS605 TnpB	HQ_3237A	COG0675	X
HQ_RS10540	2.183	2.378E-11	Proteína accesoria de la transposasa de la familia IS200 / IS605 TnpB	HQ_3062A	COG0675	X
HQ_RS14500	2.126	7.672E-03	Transposasa de la familia ISHwa17 de elemento similar a IS200 / IS605		COG1943	X
HQ_RS01100	2.056	9.575E-03	Transposasa de la familia IS5		COG3039	X
HQ_RS10110	2.033	2.690E-03	Transposasa		COG3039	X
HQ_RS14795	2.027	1.162E-02	Transposasa		COG1943	X
HQ_RS14785	2.002	1.935E-02	Transposasa		0	X
HQ_RS14990	1.958	4.172E-05	Transposasa		COG0675	X
HQ_RS01425	1.917	1.229E-02	Transposasa de la familia IS200 / IS605		COG1943	X
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS15335	-1.957	2.400E-03	Proteína accesoria de la transposasa del elemento de la familia IS200 / IS605 TnpB		COG0675	X
HQ_RS03995	-2.293	3.478E-10	Proteína de vesícula de gas	gvpO	COG4733	X
<b>CONTROL DEL CICLO CELULAR (D) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS10490	2.331	1.391E-03	Proteína de la familia CrcB		COG0239	DP
HQ_RS10990	1.851	4.958E-02	Proteína de unión a GTP EngB	engB	COG0218	D
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS03860	-1.908	2.222E-07	Proteína de partición cromosómica	HQ_1752A	COG1196	D
HQ_RS03835	-1.918	1.286E-09	Proteína hipotética	HQ_1747A	COG0849	D
HQ_RS10585	-3.397	2.526E-19	Proteína de división celular SepF	sepF	COG2450	D
<b>SINTESIS DE ENVUELTAS CELULARES(M) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS12755	2.350	5.181E-04	Proteína de la familia 2 de la glicosiltransferasa	agl6	COG0463	M
HQ_RS05330	2.224	7.341E-07	Dipéptido epimerasa	HQ_2035A	COG4948	MR
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS02975	-1.811	4.210E-04	Proteína de la familia de la adenililtransferasa / citidililtransferasa	ribL	COG0615	M
HQ_RS07240	-1.854	2.441E-03	Proteína de la familia de la enzima lactonizante	gnaD	COG4948	MR

			mandelato racemasa / muconato			
HQ_RS12830	-1.928	6.702E-06	Proteína de la familia de la N-acetilneuraminato sintasa		COG2089	M
HQ_RS08425	-2.161	3.905E-06	Proteína de la familia de la epimerasa / deshidratasa dependiente de NAD	HQ_2650A	COG0451	M
HQ_RS10150	-2.161	4.528E-07	Proteína que contiene el dominio de la transferasa NTP	graD3	COG1208	JM
HQ_RS10140	-2.306	4.586E-07	Epimerasa de nucleotídos difosfatos	HQ_2986A	COG0451	M
HQ_RS10135	-2.434	5.360E-07	Epimerasa de nucleotídos difosfatos	HQ_2985A	COG0451	M
<b>MOTILIDAD CELULAR (N) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS03470	2.294	8.978E-03	Proteína que contiene el dominio N-terminal de pilina de tipo IV	pilA	COG3430	N
<b>MODIFICACIÓN POSTRADUCCIONALES, CHAPERONAS Y RECAMBIO PROTEICO (O) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS05955	10.161	9.693E-06	Proteasa tipo Lon dependiente de ATP		COG4930	O
HQ_RS03245	6.428	1.082E-18	Tiorredoxina	trxA3	COG0526	O
HQ_RS11345	3.605	6.208E-06	Glutarredoxina	grx3	COG0695	O
HQ_RS07675	2.716	5.334E-14	Tiorredoxina	trxA5	COG0526	O
HQ_RS10650	2.300	3.093E-11	Metaloproteasa intramembrana de la familia CPBP	HQ_3083A	COG1266	O
HQ_RS06460	2.231	4.313E-05	Proteína que contiene el dominio DUF3488	HQ_2255A	COG1305	O
HQ_RS13400	2.081	5.788E-07	Proteína accesoria ureasa UreF	ureF	COG0830	O
HQ_RS12400	1.975	9.345E-06	Proteína de ensamblaje de racimo Fe-S de la familia NifU del sistema SUF	iscU	COG0822	O
HQ_RS13395	1.919	1.985E-05	Proteína accesoria ureasa UreF	ureE	COG2371	O
HQ_RS06820	1.839	1.926E-04	Serina proteasa intramembrana de la familia romboide	HQ_2329A	COG0705	O
HQ_RS03045	1.835	1.333E-06	Oxidoreductasa dependiente de NAD(P)/FAD	trxB1	COG0492	O
HQ_RS10520	1.808	2.721E-03	Proteína que contiene el dominio N-terminal de glutatión S-transferasa	grx1	COG0695	O
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS09460	-1.896	1.684E-03	Desoxihipusina sintasa	dhs	COG1899	O(J)
HQ_RS03630	-3.116	3.840E-18	Transportador ABC, dominio ATPasa de	sufC	COG0396	O

			proteína transportadora de ATP			
HQ_RS08370	-4.275	1.523E-19	Factor de intercambio de nucleótidos GrpE	grpE	COG0576	O
<b>TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES (T)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS05360	6.017	3.042E-16	Proteína hipotética		COG4250	T
HQ_RS04725	1.951	3.218E-02	Proteína de estrés universal	HQ_1916A	COG0589	T
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS03915	-1.804	1.681E-02	Proteína de estrés universal		COG0589	T
HQ_RS10365	-1.805	2.846E-06	Proteína de la familia PspA/IM30	pspA	COG1842	KT
HQ_RS04800	-1.853	2.684E-03	Proteína que contiene el dominio del sensor PAS	HQ_1932A	COG2202	T
HQ_RS09175	-1.881	1.565E-03	Proteína de estrés universal	HQ_2796A	COG0589	T
HQ_RS09430	-1.892	4.127E-04	Proteína de dominio de unión a nucleótidos DisA	HQ_2846A	COG1624	T
HQ_RS11100	-1.925	2.384E-04	Regulador transcripcional de la familia ArsC	arsC1	COG0394	T
HQ_RS04950	-2.237	3.861E-02	Proteína hipotética	HQ_1962A	COG2197	TK
HQ_RS02205	-2.674	1.250E-06	Proteína que contiene el dominio CBS	HQ_1430A	COG0517	T
<b>TRÁFICO INTRACELULAR Y SECRECIÓN (U)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS01570	2.886	5.260E-08	Subunidad de translocasas de preproteínas Sec61beta	secG	COG4023	U
HQ_RS01005	1.886	1.024E-02	Subunidad de ATPasa del sistema de secreción de tipo II / IV	HQ_1190A	COG0630	U
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS10725	-1.821	5.619E-06	Subunidad de la proteína translocasa SecF	secF	COG0341	U
HQ_RS02590	-2.009	2.279E-03	Subunidad de partículas de reconocimiento de señal proteína de la familia SRP19 / SEC65	srp19	COG1400	U
<b>MECANISMOS DE DEFENSA(V)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS13035	14.914	2.919E-03	Proteína hipotética		COG1753	V
HQ_RS12690	7.508	1.487E-03	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	HQ_3491A	COG2002	KV
HQ_RS14800	7.043	2.516E-17	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	HQ_3238A	COG2002	KV

HQ_RS14440	5.499	3.670E-10	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT		COG2002	KV
HQ_RS12745	3.991	1.556E-04	Proteína de la familia de antitoxina VapB	HQ_3501A	COG1753	V
HQ_RS13170	3.002	3.841E-04	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	vapB1	COG2002	KV
HQ_RS06410	2.904	4.056E-05	Proteína hipotética	HQ_2243A	COG1403	V
HQ_RS03010	2.555	8.231E-13	Proteína de protección de fase estacionaria/privación de ADN	dpsA	COG0783	PV
HQ_RS00425	2.092	1.979E-03	Regulador transcripcional de la familia CopG	HQ_1077A	COG2161	V
HQ_RS12625	2.033	2.405E-03	Permeasa, transportador ABC	HQ_3477A	COG0577	V
HQ_RS12620	1.957	2.593E-03	Permeasa, transportador ABC	HQ_3476A	COG0577	V
HQ_RS06355	1.921	2.771E-02	Endonucleasa de restricción	HQ_2232A	COG1715	V
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS08790	-1.834	1.521E-05	Proteína que contiene el dominio 5'-nucleotidasa C-terminal	ushA	COG0737	FV
HQ_RS06750	-1.883	8.365E-08	Proteína que contiene el dominio de unión al ADN de la familia AbrB / MazE / SpoVT	HQ_2313A	COG2002	KV
HQ_RS02355	-1.947	4.265E-03	Proteína que contiene el dominio NUDIX	HQ_1457A	COG0494	V
HQ_RS15165	-1.951	1.214E-02	Proteína hipotética		COG3440	V
<b>CONVERSIÓN Y PRODUCCIÓN DE ENERGÍA (C) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS04835	2.606	1.307E-02	Proteína con un dominio catalítico de la alcohol deshidrogenasa		COG0604	CR
HQ_RS04835	2.606	1.307E-02	Proteína que contiene el dominio catalítico de alcohol deshidrogenasa		COG0604	CR
HQ_RS00105	2.336	1.708E-06	Betacaroteno 15% de la familia Brp / Blh 2C15'-dioxigenasa	blh	arCOG029 47	C
HQ_RS08285	1.869	8.898E-04	Oxidoreductasa	mrpD4	COG1009	CP
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS02675	-1.813	9.457E-08	Proteína de la familia de la geranilgeranil reductasa	HQ_1520A	COG0644	C
HQ_RS02850	-1.846	1.188E-05	Halocianina		COG3794	C
HQ_RS05880	-1.852	3.618E-02	Proteína de la familia DsrE	HQ_2140A	arCOG016 70	C
HQ_RS09490	-1.958	1.114E-05	Succinato formador de ADP - CoA ligasa subunidad beta	sucC	COG0045	C

HQ_RS08415	-1.969	7.614E-11	Oxidorreductasa dependiente de FAD	ndh2	COG1252	C
HQ_RS02745	-2.011	9.797E-09	2-oxoácido: aceptor oxidorreductasa subunidad alfa	korA	COG0674	C
HQ_RS01805	-2.042	4.448E-08	Citrato (Si) -sintasa	citZ	COG0372	C
HQ_RS01210	-2.058	4.070E-08	Difosfatasa inorgánica	ipp	COG0221	CP
HQ_RS02805	-2.061	1.328E-10	Halocianina	hcp1	COG3794	C
HQ_RS02685	-2.132	4.691E-02	Acilfosfatasa	acyP	COG1254	C
HQ_RS08550	-2.144	1.329E-11	Oxidorreductasa dependiente de FAD	glpA2	COG0578	C
HQ_RS02740	-2.226	1.536E-13	2-oxoácido: ferredoxin oxidorreductasa subunidad beta	korB	COG1013	C
HQ_RS02735	-2.356	3.275E-10	Proteína de la familia de la geranylgeranyl reductasa	HQ_1534A	COG0644	C
HQ_RS03285	-2.540	7.355E-10	Subunidad A de NADH-quinona oxidorreductasa	nuoA	COG0838	C
HQ_RS11475	-2.629	1.799E-04	ATP sintasa archaeal subunidad H	atpH	COG2811	C
HQ_RS11465	-2.697	1.675E-12	Proteína hipotética	atpK	COG0636	C
HQ_RS03315	-3.272	1.682E-04	Subunidad J de NADH-quinona oxidorreductasa	nuoJ1	COG0839	C
<b>METABOLISMO Y TRANSPORTE DE AMINOÁCIDOS (E)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS02500	6.043	1.337E-05	Transportador ABC de dipéptidos, permeasa	dppB3	COG0601	EP
HQ_RS02495	4.461	2.396E-12	Transportador ABC de dipéptidos, permeasa	dppC3	COG1173	EP
HQ_RS04110	4.285	5.683E-08	Ornitina ciclodesaminasa		COG2423	E
HQ_RS02505	4.276	6.626E-11	Proteína de unión a sustrato de transportador ABC	dppA3	COG0747	E
HQ_RS13330	3.304	7.667E-08	transportador ABC de urea	urtB	COG0559	E
HQ_RS10445	3.036	7.749E-03	Transportador de la familia DMT	HQ_3044A	COG0697	GER
HQ_RS06350	2.920	8.539E-05	Transportador MFS	HQ_2231A	COG0477	GEPR
HQ_RS13325	2.772	3.114E-07	transportador ABC de urea	urtC	COG4177	E
HQ_RS01830	2.763	6.480E-03	Enzima dependiente de piridoxal-fosfato		COG0498	E
HQ_RS13335	2.396	6.560E-06	Transportadora de urea ABC	urtA	COG0683	E
HQ_RS05370	2.255	1.556E-02	Proteína hipotética	HQ_2044A	COG0560	E
HQ_RS13315	1.911	4.843E-04	Transportador ABC de proteína transportadora de ATP	urtE	COG0410	E
HQ_RS06165	1.803	4.639E-03	Permeasa del transportador ABC de aminoácidos de cadena ramificada		COG4177	E
<b>REPRIMIDOS</b>						

HQ_RS08955	-1.825	1.183E-04	Proteína transportadora de unión a sustrato ABC	livJ2	COG0683	E
HQ_RS04005	-1.864	6.280E-08	Proteína de vesícula de gas GvpC	gvpC	COG1027	E
HQ_RS08130	-1.921	5.084E-06	Proteína hipotética	HQ_2592A	COG0040	E
HQ_RS02890	-1.956	5.095E-09	Treonina sintasa	thrC2	COG0498	E
HQ_RS13825	-2.011	3.773E-09	Acetilglutamato / acetilaminoadipato quinasa	argB	COG0548	E
HQ_RS04330	-2.017	2.193E-04	Proteína que contiene el dominio de unión a NAD(P)	proC	COG0345	E
HQ_RS00120	-2.068	3.313E-05	Fosforribosil-AMP ciclohrolasa	hisl	COG0139	E
HQ_RS08690	-2.194	3.972E-07	Subunidad pequeña de acetolactato sintasa		COG0440	E
HQ_RS08990	-2.548	3.631E-12	Shikimato ornitina	aroK	COG1685	E
HQ_RS13840	-2.552	3.757E-12	Ornitina carbamoiltransferasa	arcB	COG0078	E
HQ_RS08695	-3.074	7.408E-15	Reductoisomerasa cetolácida	ilvC	COG0059	EH
<b>METABOLISMO Y TRANSPORTE DE NUCLEÓTIDOS (F)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS14550	5.333	3.438E-04	Proteína de la familia de la amidohidrolasa		COG0402	FR
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS08790	-1.834	1.521E-05	Proteína que contiene el dominio 5'-nucleotidasa C-terminal	ushA	COG0737	FV
HQ_RS04820	-1.836	2.747E-04	Proteína de la familia de la amidohidrolasa	pyrC2	COG0044	F
HQ_RS11385	-1.876	1.418E-03	Orotato fosforribosiltransferasa	pyrE	COG0461	F
HQ_RS03465	-1.922	1.498E-03	Proteína de la familia de la purina fosforribosiltransferasa	HQ_1672A	COG0503	F
HQ_RS00530	-1.970	3.375E-04	Quinasa UMP	pyrH	COG0528	F
HQ_RS05395	-1.989	1.893E-02	Proteína de la familia de la purina fosforribosiltransferasa	HQ_2050A	COG0503	F
HQ_RS07970	-2.029	9.920E-06	Fosforribosilamina - glicina ligasa	purD	COG0151	F
<b>METABOLISMO Y TRANSPORTE DE CARBOHIDRATOS (G)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS05175	4.201	6.259E-03	Proteína de unión a NAD(P)H	noIA1		G
HQ_RS10445	3.036	7.749E-03	Transportador de la familia DMT	HQ_3044A	COG0697	GER
HQ_RS06350	2.920	8.539E-05	Transportador MFS	HQ_2231A	COG0477	GEPR
HQ_RS08540	1.902	4.976E-04	Subunidad L de dihidroxiacetona quinasa	dhaL	COG2376	G
HQ_RS00395	1.860	5.783E-05	Transportador MFS	HQ_1072A	COG2814	G

HQ_RS00205	1.822	1.185E-02	Proteína que contiene dominio cupín	HQ_1038A	COG0662	G
HQ_RS01855	1.802	8.883E-06	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de tipo II	gap1	COG0057	G
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS13650	-1.804	2.306E-03	Ribosa-5-fosfato isomerasa RpiA	rpiA	COG0120	G
HQ_RS03705	-1.854	2.556E-07	Malato sintasa	aceB	COG2301	G
HQ_RS05105	-1.917	4.389E-02	Proteína de unión a sustrato de transportador ABC	HQ_1992A	COG1653	G
HQ_RS02945	-2.005	2.830E-04	Piruvato quinasa	pykA	COG0469	G
HQ_RS12820	-2.161	8.109E-04	Proteína de la familia de la histidina fosfatasa	HQ_3517A	COG0406	G
HQ_RS02035	-2.262	2.484E-05	Fosfoglicerato quinasa	pgk	COG0126	G
HQ_RS02705	-2.413	1.597E-06	Metilglicoxal sintasa	mgsA	COG1803	G
HQ_RS05090	-2.540	4.312E-03	Transportador ABC de proteína transportadora de ATP	HQ_1989A	COG3839	G
HQ_RS05080	-3.823	3.096E-02	proteína que contiene dominio cupín		COG0662	G
HQ_RS02030	-4.055	7.247E-17	Gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa de tipo I	gap2	COG0057	G
<b>METABOLISMO DE COENZIMAS (H) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS04865	4.414	5.224E-03	Proteína de la familia de la nucleotidiltransferasa	mobA1	COG2068	H
HQ_RS11970	3.051	1.604E-07	4a-hidroxitetrahidrobiopterina deshidratasa	cad2	COG2154	H
HQ_RS05475	2.569	7.172E-04	2-hidroxiácido deshidrogenasa	serA2	COG0111	HR
HQ_RS04285	2.285	1.172E-03	transportador ECF de cobalto T componente CbiQ	cbiQ	COG0619	H
HQ_RS01565	2.246	8.726E-07	Piridoxal 5'-fosfato sintasa glutaminasa subunidad PdxT		COG0311	H
HQ_RS09510	2.041	1.866E-05	Preniltransferasa	lyeJ	COG0382	H
HQ_RS11325	1.926	3.806E-09	Oxidorreductasa dependiente de FAD	nadB	COG0029	H
HQ_RS04460	1.877	6.063E-04	2C4-dihidroxi-2-naftoato polipreniltransferasa	menA1	COG1575	H
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS06680	-1.817	6.410E-03	cob (I) ácido pirínico a% 2Cc-diamida adenosiltransferasa	pduO	COG2096	H
HQ_RS11235	-1.830	7.181E-04	Proteína de la familia MoaD	samp1	COG1977	H
HQ_RS07055	-1.848	4.127E-03	Cofactor de molibdeno guanililtransferasa	mobA	COG0746	H
HQ_RS04190	-1.856	2.193E-02	Proteína hipotética	HQ_1818A	COG4032	H

HQ_RS04310	-1.858	5.909E-03	Dihidrofolato reductasa	folA2	COG0262	H
HQ_RS02040	-1.906	9.495E-05	Riboflavina sintasa	ribE	COG0307	H
HQ_RS11955	-1.940	2.309E-06	Precorrin-2 deshidrogenasa bifuncional / sirohidroclorina ferroquelatasa	sirC	COG1648	H
HQ_RS04505	-2.033	5.774E-06	Geranilgeranilglicerol-fosfato geranilgeraniltransferasa	HQ_1884A	COG0382	H
HQ_RS10460	-2.151	4.772E-03	ATPasa de la familia AAA	HQ_3047A	COG0237	H
HQ_RS10395	-2.276	3.378E-04	Cobalto-precorrin-2 C (20) - metiltransferasa	cbiH1	COG1010	H
HQ_RS11415	-2.293	3.919E-08	Proteína que contiene el dominio DUF120	ribK	COG1339	H
HQ_RS03265	-2.531	2.783E-05	2C7-dimetil-8-ribitilumazina sintasa		COG0054	H
HQ_RS13910	-2.674	1.806E-06	Metiltransferasa dependiente de SAM de clase I	HQ_3733A	COG2226	H
HQ_RS08695	-3.074	7.408E-15	Reductoisomerasa cetolácida	ilvC	COG0059	EH
HQ_RS03440	-3.532	1.016E-02	Carbamoiltransferasa	HQ_1668A	COG0175	EH
<b>METABOLISMO DE LÍPIDOS (I)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS06485	3.247	5.538E-06	Proteína hipotética	HQ_2260A	arCOG045 24	I
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS07130	-2.034	1.363E-03	Acil-CoA deshidrogenasa	acd	COG1960	I
HQ_RS06755	-2.181	9.733E-10	Deshidratasa de la familia MaoC		COG2030	I
HQ_RS01305	-2.228	4.202E-04	Proteína de la familia GtrA	HQ_1249A	COG2246	I
HQ_RS06695	-2.272	8.470E-08	3-hidroxibutiril-CoA deshidrogenasa	hbd	COG1250	I
HQ_RS06690	-3.880	1.937E-08	Metilmalonil-CoA mutasa, dominio de unión a cobalamina B12	mmcB	COG2185	I
<b>TRANSPORTE DE IONES INORGÁNICOS Y METABOLISMO (P)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS02500	6.043	1.337E-05	Transportador ABC de dipéptidos, permeasa	dppB3	COG0601	EP
HQ_RS05495	4.988	1.256E-02	Proteína hipotética	HQ_2069A	COG0569	P
HQ_RS02495	4.461	2.396E-12	Transportador ABC de dipéptidos, permeasa	dppC3	COG1173	EP
HQ_RS01105	3.491	1.678E-04	Proteína hipotética	HQ_1210A	COG3540	P
HQ_RS05800	3.282	2.419E-04	Transportador de eflujo de cromato	chrA	COG2059	P
HQ_RS08625	3.166	2.242E-09	Proteína hipotética		COG3119	P
HQ_RS06350	2.920	8.539E-05	Transportador MFS	HQ_2231A	COG0477	GEPR

HQ_RS03010	2.555	8.231E-13	Proteína de protección de fase estacionaria/privación de ADN	dpsA	COG0783	PV
HQ_RS06255	2.396	6.255E-04	Ferredoxina - nitrito reductasa	nasD	COG0155	P
HQ_RS10490	2.331	1.391E-03	Proteína de la familia CrcB		COG0239	DP
HQ_RS08160	2.273	3.238E-04	Fosfato / fosfito / fosfonato ABC transportador proteína de unión al sustrato		COG3221	P
HQ_RS04550	2.204	5.120E-03	Transportador de iones	kch3	COG1226	P
HQ_RS08170	2.151	2.204E-02	Fosfonato C-P proteína del sistema de liasa PhnH	phnH	COG3625	P
HQ_RS12475	2.148	2.219E-03	Transportador de amonio	amtB	COG0004	P
HQ_RS08140	2.146	2.372E-03	Regulador transcripcional de la familia PhoU	HQ_2594A	COG0704	P
HQ_RS12880	2.069	1.541E-02	Hidrolasa/transferasa similar a la sulfatasa		COG3119	P
HQ_RS03785	2.007	1.104E-02	Proteína compleja de señalización de fosfato PhoU	phoU1	COG0704	P
HQ_RS01295	2.001	3.458E-05	Proteína que contiene el dominio Rieske 2Fe-2S		COG2146	PQ
HQ_RS08285	1.869	8.898E-04	Oxidoreductasa	mrpD4	COG1009	CP
HQ_RS03485	1.840	2.757E-03	Catión monovalente / subunidad antiportadora H (+) G	mrpG	COG1320	P
HQ_RS12945	1.835	1.858E-04	Hidrolasa/transferasa similar a la sulfatasa	HQ_3543A	COG3119	P
HQ_RS00730	1.831	2.943E-04	Proteína hipotética	HQ_1137A	COG3696	P
HQ_RS03480	1.829	1.352E-03	Catión: antiportador de protones	mrpF	COG2212	P
HQ_RS11220	1.823	3.745E-02	Proteína que contiene el dominio DUF2892	HQ_3196A	COG0607	P
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS07890	-1.927	1.316E-11	Proteína extracelular de unión a solutos	HQ_2545A	COG1840	P
HQ_RS11000	-2.053	5.725E-07	Proteína que contiene dominio de tipo rodaneso	HQ_3152A	COG0607	P
HQ_RS01210	-2.058	4.070E-08	Difosfatasa inorgánica	ipp	COG0221	CP
HQ_RS13015	-2.314	3.993E-08	Sulfatasa		COG3119	P
<b>BIOSÍNTESIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS (Q) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS12685	3.373	1.235E-02	Proteína que contiene dominio PIN		COG0500	QR
HQ_RS04665	2.759	1.713E-02	Metiltransferasa de la familia FkbM	HQ_1905A	COG0500	QR
HQ_RS01295	2.001	3.458E-05	Proteína que contiene el dominio Rieske 2Fe-2S		COG2146	PQ
<b>REPRIMIDOS</b>						

HQ_RS02250	-1.832	6.779E-07	#N/D	hda1	COG0123	BQ
HQ_RS03715	-1.857	5.886E-04	Proteína de la familia de la fumarilacetoacetato hidrolasa	hpcE2	COG0179	Q
<b>PREDICCIÓN DE FUNCIÓN GENERAL(R)</b> <i>INDUCIDOS</i>						
HQ_RS14835	11.413	3.987E-19	Proteína de la familia UPF0175	HQ_3435B	COG2886	R
HQ_RS14550	5.333	3.438E-04	Proteína de la familia de la amidohidrolasa		COG0402	FR
HQ_RS05830	4.616	1.478E-03	Proteína de la familia UPF0175	HQ_2131A	COG2886	R
HQ_RS05280	4.236	3.784E-05	Proteína que contiene dominio PHP		COG0613	R
HQ_RS05825	3.402	2.542E-04	Proteína que contiene el dominio DUF3368	HQ_2130A	COG2405	R
HQ_RS12685	3.373	1.235E-02	Proteína que contiene dominio PIN		COG0500	QR
HQ_RS10445	3.036	7.749E-03	Transportador de la familia DMT	HQ_3044A	COG0697	GER
HQ_RS06350	2.920	8.539E-05	Transportador MFS	HQ_2231A	COG0477	GEPR
HQ_RS13115	2.845	8.785E-05	Proteína que contiene el dominio DUF3368	HQ_3577A	COG2405	R
HQ_RS04665	2.759	1.713E-02	Metiltransferasa de la familia FkbM	HQ_1905A	COG0500	QR
HQ_RS14680	2.674	1.060E-02	Proteína de unión a ATP		COG1672	R
HQ_RS04655	2.630	1.705E-04	Proteína que contiene el dominio nucleotidiltransferasa		COG1708	R
HQ_RS04835	2.606	1.307E-02	Proteína que contiene el dominio catalítico de alcohol deshidrogenasa		COG0604	CR
HQ_RS05475	2.569	7.172E-04	2-hidroxiácido deshidrogenasa	serA2	COG0111	HR
HQ_RS06655	2.445	4.640E-10	Proteína que contiene dominio cupín	HQ_2294A	COG1917	R
HQ_RS05330	2.224	7.341E-07	Dipéptido epimerasa	HQ_2035A	COG4948	MR
HQ_RS06515	2.099	4.710E-02	GNAT familia N-acetiltransferasa	HQ_2268A	COG0454	KR
HQ_RS13165	1.976	2.416E-02	Proteína que contiene dominio PIN	vapC	COG1848	R
HQ_RS13320	1.925	7.504E-04	Transportador ABC de proteína transportadora de ATP	urtD	COG4674	R
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS07240	-1.854	2.441E-03	Proteína de la familia de la enzima lactonizante mandelato racemasa / muconato	gnaD	COG4948	MR
HQ_RS08075	-1.947	3.047E-04	Proteína que contiene dominio de barril PRC	HQ_2582A	COG1873	R
HQ_RS10455	-1.947	1.400E-02	Proteína hipotética	HQ_3046A	COG1931	R

HQ_RS04390	-1.968	4.161E-04	Proteína de unión al ADN	HQ_1861A	COG3413	R
HQ_RS10615	-1.994	1.145E-05	Proteína que contiene dominio de barril PRC	HQ_3075A	COG1873	R
HQ_RS04000	-2.086	9.602E-08	Proteína de vesícula de gas GvpN	gvpN	COG0714	R
HQ_RS04500	-2.397	3.827E-06	Proteína de unión a CoA	HQ_1883A	COG1832	R
HQ_RS02810	-2.560	4.314E-15	Proteína hipotética	HQ_1549A	COG0385	R
HQ_RS07975	-2.673	4.382E-04	Aciltransferasa	yvoF	COG0110	R
HQ_RS13935	-2.755	2.510E-14	Proteína de unión a GTP	oapA	COG1100	R
HQ_RS12555	-3.187	1.202E-05	Proteína de unión al ADN	HQ_3460A	COG1661	R
HQ_RS13490	-3.330	1.441E-19	Proteína que contiene el dominio SWIM de dedo de zinc	HQ_3647A	COG5431	R
<b>FUNCIÓN DESCONOCIDA (S) INDUCIDOS</b>						
HQ_RS14530	25.045	1.755E-15	Proteína que contiene el dominio DUF2892	HQ_1972B		S
HQ_RS05690	13.557	1.480E-07	Proteína hipotética	HQ_2108A	arCOG07773	S
HQ_RS05735	8.956	6.585E-04	Proteína hipotética	HQ_2116A	arCOG11545	S
HQ_RS14375	6.710	2.962E-02	Transportador MFS			S
HQ_RS05890	6.674	1.265E-02	Proteína hipotética	HQ_2142A	arCOG06377	S
HQ_RS13080	5.605	3.889E-21	Proteína hipotética	HQ_3571A	arCOG04493	S
HQ_RS04595	5.532	4.300E-03	Proteína hipotética	HQ_1893A	arCOG03030	S
HQ_RS13150	5.252	5.822E-05	Proteína hipotética	HQ_3583A	arCOG04516	S
HQ_RS09995	5.140	3.627E-05	Proteína que contiene el dominio DUF555	HQ_2958A	COG1885	S
HQ_RS04050	4.806	8.264E-18	Proteína hipotética	HQ_1791A	arCOG06284	S
HQ_RS05615	4.431	1.442E-02	Proteína hipotética	HQ_2095A	arCOG12142	S
HQ_RS11690	3.964	2.420E-02	Proteína hipotética	HQ_3288A	arCOG10296	S
HQ_RS09960	3.634	2.903E-02	Proteína PiT de la motilidad de los espasmos			S
HQ_RS04115	3.504	1.685E-03	Proteína hipotética	HQ_1804A	arCOG06206	S
HQ_RS00990	3.212	1.112E-02	Proteína hipotética	HQ_1187A	arCOG05166	S
HQ_RS13020	3.074	1.938E-06	Transposasa de la familia IS701			S
HQ_RS09270	2.961	2.426E-05	Proteína hipotética	HQ_2815A	arCOG12174	S
HQ_RS00985	2.680	5.376E-03	Proteína hipotética	HQ_1186A	arCOG06291	S
HQ_RS12735	2.655	3.363E-04	Proteína hipotética	HQ_3500A	arCOG04517	S
HQ_RS14455	2.651	8.039E-06	Transposasa de la familia IS5 / IS182			S

HQ_RS05180	2.593	1.818E-02	Proteína hipotética	HQ_2005A	arCOG047 39	S
HQ_RS06495	2.588	7.531E-04	Proteína que contiene el dominio PH	HQ_2262A	COG3428	S
HQ_RS05460	2.551	2.900E-02	LD-carboxipeptidasa			S
HQ_RS00500	2.519	4.992E-04	Proteína hipotética	HQ_1092A	arCOG121 10	S
HQ_RS06305	2.490	5.105E-05	Proteína que contiene un dominio similar a la flipasa	HQ_2222A	COG0392	S
HQ_RS06600	2.458	6.379E-08	Proteína hipotética	HQ_2282A	arCOG039 20	S
HQ_RS06490	2.447	1.093E-04	Proteína hipotética	HQ_2261A	arCOG079 58	S
HQ_RS09250	2.423	4.682E-03	Proteína hipotética	HQ_2811A	arCOG121 72	S
HQ_RS15465	2.407	7.794E-03	Proteína de la familia de la toxina de la nucleotidil transferasa AbiEii / AbiGii			S
HQ_RS06280	2.368	1.594E-09	Proteína hipotética	HQ_2217A	arCOG039 20	S
HQ_RS01860	2.296	2.236E-04	Fosfodiesterasa de la familia YfcE			S
HQ_RS05850	2.240	3.491E-02	Proteína hipotética	HQ_2135A	arCOG102 06	S
HQ_RS04235	2.222	5.342E-05	Proteína hipotética	HQ_1827A	arCOG115 66	S
HQ_RS07095	2.218	1.926E-09	Proteína hipotética	HQ_2384A	arCOG045 99	S
HQ_RS13145	2.194	2.396E-02	Proteína hipotética	HQ_3582A	arCOG061 72	S
HQ_RS03210	2.187	1.163E-03	Proteína hipotética	HQ_1623A	arCOG062 93	S
HQ_RS13140	2.183	2.653E-02	Proteína hipotética	HQ_3581A	arCOG102 06	S
HQ_RS05780	2.147	3.575E-02	Proteína similar a PemK			S
HQ_RS09505	2.060	4.886E-07	Proteína de biosíntesis de carotenoides	cruF	COG2324	S
HQ_RS11365	2.042	6.310E-06	Hidrolasa dependiente de metales	HQ_3225A	arCOG033 92	S
HQ_RS00100	1.971	1.541E-06	Proteína que contiene el dominio de la licopeno ciclasa	crtY		S
HQ_RS13200	1.940	1.776E-03	Proteína que contiene el dominio DUF1616	HQ_3593A	COG4743	S
HQ_RS01725	1.937	1.039E-02	Proteína hipotética	HQ_1334A	arCOG046 79	S
HQ_RS08235	1.925	5.231E-06	Permeasa	HQ_2611A	COG0701	S
HQ_RS11945	1.895	1.353E-03	Proteína hipotética	HQ_3333A	arCOG046 67	S
HQ_RS05670	1.887	7.811E-04	Proteína hipotética	HQ_2105A	arCOG064 33	S
HQ_RS01715	1.876	4.141E-04	Proteína hipotética	HQ_1332A	arCOG039 33	S
HQ_RS12960	1.875	1.701E-04	Proteína hipotética	HQ_3546A	arCOG064 47	S
HQ_RS03250	1.871	1.374E-02	Proteína hipotética	HQ_1630A	arCOG046 62	S
HQ_RS01685	1.865	2.980E-06	Proteína hipotética	HQ_1326A	arCOG028 29	S

HQ_RS05215	1.860	4.308E-02	Proteína de la familia de la ligasa de ARN 2'-5'	HQ_2015A	arCOG10375	S
HQ_RS10875	1.839	2.278E-03	Proteína de membrana	HQ_3126A		S
HQ_RS04470	1.838	2.098E-03	Proteína hipotética	HQ_1877A	arCOG04640	S
HQ_RS09140	1.827	4.493E-02	Proteína hipotética	HQ_2789A	arCOG06411	S
<b>REPRIMIDOS</b>						
HQ_RS01765	-1.853	2.494E-03	Proteína hipotética	HQ_1342A	arCOG04718	S
HQ_RS11205	-1.855	1.532E-03	Proteína hipotética	HQ_3193A	arCOG04783	S
HQ_RS07895	-1.881	3.910E-05	Proteína hipotética	HQ_2546A	arCOG06245	S
HQ_RS08560	-1.913	3.992E-04	Proteína hipotética	HQ_2677A	arCOG04576	S
HQ_RS11725	-1.933	1.454E-03	Proteína hipotética	HQ_3295A	2N5R2	S
HQ_RS02690	-1.948	4.256E-03	Proteína hipotética	HQ_1524A	arCOG04571	S
HQ_RS09855	-1.954	2.776E-02	Proteína hipotética	HQ_2932A	arCOG07558	S
HQ_RS08040	-2.005	1.021E-06	Proteína de la familia UPF0058	HQ_2574A	COG1745	S
HQ_RS00345	-2.005	6.244E-07	Proteína hipotética	HQ_1062A	arCOG02976	S
HQ_RS05140	-2.040	1.905E-06	Proteína hipotética	HQ_1997A	arCOG12133	S
HQ_RS08745	-2.060	2.735E-04	Proteína hipotética	HQ_2714A	arCOG06240	S
HQ_RS04495	-2.089	1.516E-06	Proteína hipotética	HQ_1882A	arCOG04649	S
HQ_RS02715	-2.118	8.637E-08	proteína en espiral	HQ_1530A	COG1340	S
HQ_RS03645	-2.122	1.683E-04	Rubryerythrin			S
HQ_RS10065	-2.133	1.131E-04	Proteína hipotética	HQ_2973A	arCOG04550	S
HQ_RS06740	-2.145	1.038E-06	Proteína de la región intergénica phbC-phbA	phaE	arCOG06343	S
HQ_RS03395	-2.178	1.359E-04	Metiltransferasa Trm112		COG2835	S
HQ_RS11490	-2.178	1.007E-07	Proteína hipotética	HQ_3253A	arCOG03052	S
HQ_RS15835	-2.182	1.515E-06	Proteína operón rps			S
HQ_RS02565	-2.205	1.897E-03	Proteína hipotética	HQ_1498A	arCOG06167	S
HQ_RS06270	-2.230	3.132E-03	Proteína hipotética	HQ_2215A	arCOG03920	S
HQ_RS03965	-2.256	4.577E-05	Proteína hipotética	gvpl	arCOG06391	S
HQ_RS13930	-2.283	9.166E-11	Proteína que contiene el dominio DUF2073	oapB	COG3365	S
HQ_RS01165	-2.331	5.802E-07	Proteína hipotética	HQ_1223A	arCOG06212	S
HQ_RS03200	-2.333	1.670E-07	Proteína hipotética	HQ_1621A	arCOG06222	S
HQ_RS10245	-2.349	7.381E-04	Proteína que contiene el dominio DUF309	HQ_3006A	COG1547	S

HQ_RS02845	-2.355	4.293E-04	Proteína de la familia MTH865	HQ_1556A	COG4746	S
HQ_RS01385	-2.367	5.391E-10	Proteína hipotética	HQ_1265A	arCOG06890	S
HQ_RS03970	-2.504	4.635E-08	Proteína de vesícula de gas GvpH	gvpH	arCOG09352	S
HQ_RS10780	-2.583	1.119E-05	Proteína de la familia DUF5611	HQ_3109A		S
HQ_RS03945	-2.633	1.498E-06	Proteína de vesícula de gas	gvpM		S
HQ_RS04995	-3.111	1.184E-11	Proteína hipotética	HQ_1971A	arCOG06431	S
HQ_RS11140	-3.130	2.992E-08	Proteína hipotética	HQ_3179A	arCOG06272	S
HQ_RS03980	-3.293	4.379E-11	Proteína de vesículas de gas de la familia GvpL / GvpF	gvpF		S
HQ_RS04095	-3.367	7.323E-09	Proteína hipotética	HQ_1800A	arCOG02829	S
HQ_RS12855	-3.598	1.035E-10	Proteína transglicosilasa	HQ_3524A	arCOG06245	S
HQ_RS15125	-12.862	1.110E-02	integrasa específica del sitio			S
<b>PROTEÍNAS HIPOTÉTICAS INDUCIDAS</b>						
HQ_RS14530	25.045	1.755E-15	Proteína que contiene el dominio DUF2892	HQ_1972B		S
HQ_RS01575	14.721	6.725E-25	Proteína hipotética			
HQ_RS06105	10.633	3.657E-33	Proteína hipotética			
HQ_RS15170	8.003	1.436E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS05895	7.360	1.392E-05	Proteína hipotética	HQ_2143A		
HQ_RS15905	6.966	2.800E-37	Proteína hipotética			
HQ_RS05620	6.181	1.193E-19	Proteína hipotética	HQ_2095C		
HQ_RS13055	5.914	2.397E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS06580	5.811	3.652E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS05905	5.742	1.935E-11	Proteína hipotética			
HQ_RS15780	5.294	3.813E-21	Proteína hipotética			
HQ_RS14580	5.128	4.487E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS14895	4.938	1.614E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS15810	4.599	2.142E-16	Proteína hipotética			
HQ_RS06650	4.511	1.172E-12	Proteína hipotética			
HQ_RS15585	4.432	4.310E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS13075	4.184	5.815E-11	Proteína hipotética			
HQ_RS13185	4.179	4.825E-08	Proteína hipotética	repH		
HQ_RS14690	3.980	3.472E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS15345	3.890	1.065E-04	Proteína hipotética			

HQ_RS00755	3.797	1.911E-18	Proteína hipotética	HQ_1141A		
HQ_RS05275	3.598	3.853E-09	Proteína hipotética			
HQ_RS15575	3.527	3.560E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS10095	3.326	1.988E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS11620	3.242	2.002E-05	Proteína hipotética			
HQ_RS10195	3.134	1.457E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS04670	3.070	1.588E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS10600	2.978	6.867E-12	Proteína hipotética	HQ_3073B		
HQ_RS08750	2.972	1.045E-12	Proteína hipotética	HQ_2715A		
HQ_RS13290	2.942	1.466E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS00470	2.803	2.314E-03	Proteína hipotética	HQ_1086A		
HQ_RS15760	2.763	4.198E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS03700	2.636	9.070E-10	Proteína hipotética	HQ_1719A		
HQ_RS15100	2.631	1.383E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS03620	2.549	2.026E-04	Proteína hipotética	HQ_1704A		
HQ_RS12790	2.501	3.203E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS15285	2.346	1.399E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS15875	2.323	8.525E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS09275	2.255	2.625E-03	Proteína hipotética	HQ_2816A		
HQ_RS04730	2.223	4.126E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS08085	2.214	3.671E-06	Proteína hipotética	HQ_2583B		
HQ_RS12455	2.196	1.666E-03	Proteína hipotética	HQ_3440A		
HQ_RS14890	2.166	1.718E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS01950	2.149	1.111E-07	Proteína hipotética	HQ_1378A		
HQ_RS07515	2.136	4.967E-04	Proteína hipotética	HQ_2474A		
HQ_RS09580	2.135	2.949E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS15745	2.122	1.640E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS04345	2.109	1.885E-03	Proteína hipotética	HQ_1849A		
HQ_RS15115	2.106	1.398E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS11845	2.036	8.745E-06	Proteína hipotética			
HQ_RS04620	2.018	1.776E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS15565	2.011	3.693E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS05660	1.939	2.786E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS15785	1.923	2.129E-02	Proteína hipotética			

HQ_RS08265	1.905	2.097E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS15540	1.888	1.613E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS01705	1.888	1.932E-03	Proteína hipotética			
<b>REPRIMIDAS</b>						
HQ_RS11710	-1.829	1.192E-05	Proteína hipotética	HQ_3292A		
HQ_RS00280	-1.951	9.309E-03	Proteína hipotética	HQ_1053A		
HQ_RS15730	-2.012	2.833E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS07655	-2.037	5.011E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS15855	-2.131	3.419E-08	Proteína hipotética			
HQ_RS13700	-2.151	9.500E-03	Proteína hipotética	HQ_3689A		
HQ_RS03015	-2.266	5.463E-05	Proteína hipotética	HQ_1587A		
HQ_RS13690	-2.332	5.019E-09	Proteína hipotética			
HQ_RS02825	-2.369	8.760E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS02365	-2.394	9.618E-05	Proteína hipotética			
HQ_RS02320	-2.544	1.692E-07	Proteína hipotética	HQ_1450A		
HQ_RS15160	-2.604	3.436E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS15375	-2.604	8.705E-04	Proteína hipotética			
HQ_RS15620	-2.639	1.353E-02	Proteína hipotética			
HQ_RS02830	-2.695	1.123E-04	Proteína hipotética	HQ_1553A		
HQ_RS12865	-2.909	1.317E-04	Proteína hipotética	HQ_3526A		
HQ_RS15725	-3.112	9.479E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS00610	-3.233	3.703E-10	Proteína hipotética	HQ_1114A		
HQ_RS15880	-3.600	1.119E-03	Proteína hipotética			
HQ_RS01075	-5.919	1.718E-47	Proteína hipotética			
HQ_RS06440	-13.178	4.737E-03	Proteína hipotética	HQ_2251A		