

## Explorando el secretoma de *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi*: Un enfoque bioinformático para el análisis de proteínas secretadas durante la interacción planta-patógeno

Domínguez-Cerván, Hilario<sup>1,2</sup>; Díaz-Martínez, Luis<sup>3</sup>; Ramos, Cayo<sup>1,2</sup>; Rodríguez-Moreno, Luis<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Área de Genética, Facultad de Ciencias, Campus Teatinos s/n, Universidad de Málaga, E-29010 Málaga

<sup>2</sup>Microbiología y Protección de Cultivos, Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Extensión Campus de Teatinos, Universidad de Málaga-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (IHSM-UMA-CSIC), E-29010 Málaga

<sup>3</sup>Unidad de Bioinformática, Universidad de Málaga, E-29010 Málaga

La tuberculosis del olivo, causada por *Pseudomonas savastanoi* pv. *savastanoi* (Psv), se caracteriza por la formación de tumores en los troncos y ramas de las plantas infectadas. La sintomatología se debe, entre otros factores, a la producción de fitohormonas por parte de la bacteria y a la translocación de proteínas efectoras al interior de las células vegetales mediante el sistema de secreción tipo III (T3SS). Además, las bacterias gramnegativas poseen mecanismos moleculares para la secreción de proteínas al espacio extracelular, si bien, las proteínas liberadas durante el proceso invasivo del patógeno han sido poco estudiadas en comparación con los efectores del T3SS. En este estudio hemos caracterizado el secretoma de la cepa Psv NCPPB 3335 y dos cepas mutantes en genes del T3SS, *hrpA*, codificante de la unidad estructural del *pilus*, y *hrpL*, proteína reguladora de los genes estructurales y los efectores. Utilizando una combinación de espectrometría de masas y herramientas bioinformáticas hemos aislado e identificado el conjunto de proteínas secretadas al espacio extracelular en un medio de cultivo que simula las condiciones del apoplasto de la planta. De entre las detectadas, se seleccionaron aquellas con péptido señal para su secreción, descartando las que presentaban dominios hidrofóbicos y analizando posteriormente la localización de las proteínas seleccionadas a nivel subcelular. Con el conjunto de proteínas resultantes, el secretoma de Psv NCPPB 3335, se realizaron análisis para visualizar las diferencias en la distribución de proteínas entre las distintas cepas utilizando diagramas de Venn, así como análisis de abundancia *heatmap* y STEM con los que definir posibles patrones diferenciales entre ellas. Finalmente, las proteínas se caracterizaron funcionalmente utilizando diversos programas para la identificación de dominios funcionales. El enfoque bioinformático realizado, nos ha permitido analizar exhaustivamente el secretoma de Psv y dos mutantes del T3SS, identificando una gran cantidad de proteínas secretadas al espacio extracelular con independencia del T3SS. Este estudio proporciona nuevas perspectivas sobre flujos bioinformáticos dirigidos al análisis de proteínas secretadas en bacterias fitopatógenas y estudiar su potencial papel en la interacción con el huésped vegetal.