

Una región genómica implicada en la formación de fibras tipo amiloide en el biofilm de *Bacillus cereus*.

Caro-Astorga, J.*, Pérez-García, A., de Vicente, A., Romero, D.

Instituto de Hortofruticultura Subtropical y Mediterránea "La Mayora", Universidad de Málaga. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Departamento de Microbiología. Facultad de Ciencias. Campus de Teatinos s/n, 29071 Málaga, España.
E-mail: jcaroastorga@uma.es

Bacillus cereus es una bacteria patógena responsable de numerosos brotes de intoxicación alimentaria. Las esporas y el biofilm son considerados los reservorios más importantes de *B. cereus* que se pueden encontrar en frutas y verduras frescas contaminadas. Los biofilms son comunidades bacterianas difíciles de erradicar de superficies bióticas y abióticas debido a una matriz extracelular estable que recubre y protege a las células bacterianas. Estas matrices extracelulares suelen estar formadas de exopolisacáridos, proteínas, ADN extracelular, y otros componentes minoritarios. Estudios de biofilms en *Bacillus subtilis*, especie filogenéticamente relacionada con *B. cereus*, han demostrado la existencia de fibras tipo amiloide en su matriz extracelular, y su relevancia en el desarrollo de biofilms. El objetivo de este trabajo ha sido investigar la existencia de este tipo de proteínas en *B. cereus* y su implicación en la formación de biofilms.

El análisis comparativo de los genomas de *B. subtilis* y *B. cereus* nos permitió identificar una región genómica que contiene dos loci que codifican ortólogos de la proteína tipo amiloide TasA y un ortólogo de la correspondiente peptidasa señal SipW, responsable del correcto procesamiento de TasA previo a su secreción. La mutación de esta región genómica condujo a la incapacidad de *B. cereus* de formar biofilms, un fenotipo compartido por mutantes en el gen *sipW*. Los mutantes en *tasA* o *calY* no perdieron completamente la capacidad de formación de biofilms, aunque desarrollaron fenotipos diferenciados entre sí. El estudio con microscopía electrónica reveló que TasA, y en menor medida CalY, polimerizan en forma de fibras largas y abundantes en la superficie de las células. La expresión heteróloga de estos loci en una cepa de *B. subtilis* que carece de los factores necesarios para el ensamblaje de fibras de tipo amiloide de TasA reveló: (i) la implicación de esta región genómica *B. cereus* en la formación de películas en la interfase aire-líquido y (ii) la capacidad intrínseca de TasA para formar fibras similares a las fibras formadas por su ortólogo en *B. subtilis*.

Los resultados obtenidos en este estudio indican: (i) La implicación de la región genómica que contiene los genes *sipW*, *tasA* y *calY* en la formación de biofilms de *B. cereus* en superficies abióticas, (ii) las propiedades adhesivas de TasA y CalY, y (iii) la potencial naturaleza amiloide de la proteína TasA de *B. cereus* como su ortólogo en *B. subtilis*.

Este trabajo ha sido financiado con una ayuda del Plan Nacional de I+D+i del Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2012-31968), cofinanciado con fondos FEDER (UE).