

Póster

Ensamblaje del genoma de *Sphingopyxis macrogoltabida* estirpe TFA y análisis de la anotación funcional



Inmaculada García, Belén Floriano y Eduardo Santero

Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Universidad Pablo de Olavide, ctra. Utrera Km 1, 41013 Sevilla, España.

Palabras clave: secuenciación, ensamblaje, anotación funcional, Pathway-Tools

RESUMEN

Motivación: El conocimiento del genoma de *Sphingopyxis macrogoltabida* estirpe TFA (bacteria de interés en el campo de la biodegradación) es el primer paso para el conocimiento de su mapa metabólico, lo que permitirá establecer las rutas importantes para la biodegradación de contaminantes. Debido a que el resultado de la secuenciación masiva es un genoma fragmentado, es necesario su ensamblaje y anotación como paso previo a la predicción del mapa metabólico.

Métodos: La secuenciación del genoma, el ensamblaje y la anotación inicial se han llevado a cabo por la empresa "LifeSequencing". Una anotación adicional que identifica secuencias truncadas se realizó por la empresa "Era7". Para ordenar los contigs (fragmentos), se han utilizado hipótesis basadas en el análisis de los extremos mediante BlastX y/o BlastN y la comparación con bacterias filogenéticamente cercanas, como *Sphingopyxis alaskensis*. La confirmación del orden y el cierre de gaps (huecos) se ha realizado mediante PCR y secuenciación. Una vez agotadas las hipótesis de unión, se han probado PCRs para todas las combinaciones de unión posibles y buscado los extremos contiguos en cósmidos de una genoteca de TFA, mediante Southern Blot. La anotación funcional ha sido organizada a través del software Pathway-Tools y completada con nuevos genes encontrados en las regiones intergénicas gracias a la herramienta GeneMark.

Resultados: El número de contigs se ha reducido de 42 a 5 y los gaps entre ellos han sido secuenciados, obteniendo un genoma parcialmente ensamblado. Se han anotado un total de 115 nuevos genes en las regiones intergénicas y el mapa metabólico en Pathway-Tools se ha completado con la ruta de degradación de tetralina, la cual no fue predicha inicialmente. Como era de esperar, se han detectado pocas reacciones de transporte, lo cual es característico de un organismo oligotrofo como TFA, y un solo operón ribosómico, propio de bacterias de crecimiento lento. Se han identificado genes de plásmidos dispersos en el genoma pero ninguna región que indique la presencia de un plásmido integrado. Además, a pesar de encontrar genes de fagos en la anotación, no se han detectado profagos en el genoma.

Conclusiones: La secuenciación del genoma y su anotación han permitido obtener una visión global de la distribución génica y el mapa metabólico de TFA, determinando sus características más relevantes. Se está trabajando en la identificación de genes codificantes de pequeños RNA para completar la anotación.

BIBLIOGRAFIA

- Claire, M. and Fraser-Liggett. (2005) Insights on biology and evolution from microbial genome sequencing. *Genome Res.*, **15**, 1603–1610.
- Martínez-Pérez, O. et al. (2004) Regulation of Tetralin Biodegradation and Identification of Genes Essential for Expression of the Operons. *J. Bacteriol.*, **186**, 6101–6109.
- Rothberg, J.M. and Leamon, J.H. (2008) The development and impact of 454 sequencing. *Nat. Biotechnol.*, **26**, 1117–1124.
- Karp, P.D., Paley, S. and Romero, P. (2002) The Pathway Tools Software. *Bioinformatics.*, **18**(Suppl.), 225–232.
- Besemer, J. and Borodovsky, M. (2005) GeneMark: web software for gene finding in prokaryotes, eukaryotes and viruses. *Nucleic Acids Res.*, **33**, 451–454.
- Baker, M. (2012) De novo genome assembly: what every biologist should know. *Nat. Methods.*, **9**, 333–337.