

Identificación del probiótico *Shewanella putrefaciens* Pdp11 mediante PCR a través del transposón único que interrumpe al gen que codifica para la proteína fenazina



O. Pérez-Gómez ^{*1}, S. Roca-Fernández ¹, P. Seane ², ST. Tapia Paniagua ¹, M.C. Balebona ¹, M.A. Moriñigo ¹

¹ Departamento de Microbiología, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga, España. email: olipergom@uma.es

² Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de ciencias, Universidad de Málaga España



Shewanella putrefaciens Pdp11 (Pdp11) es una cepa descrita como probiótico en peces de importancia acuícola. La secuenciación de su genoma ha permitido establecer comparaciones a nivel genómico con otras cepas patógenas pertenecientes al mismo género. Como parte del estudio del genoma de Pdp11 se han identificado la presencia de 6 transposones y su ausencia en 7 cepas de *Shewanella.sp* (Pérez Gómez Olivia et al., 2021). En este trabajo se plantea el uso del transposón que interrumpe la proteína PhzE, implicada en la biosíntesis de la fenazina, para la identificación específica de Pdp11. Así como, la puesta a punto de la PCR para determinar la sensibilidad de los cebadores en la identificación del probiótico. En los cultivos acuícolas, Pdp11 se administra a los peces mediante su dieta en concentraciones de 10^9 ufc/gr de pienso, este trabajo permitiría la futura identificación y cuantificación del probiótico en muestras intestinales, así como el estudio del potencial de colonización del mismo.

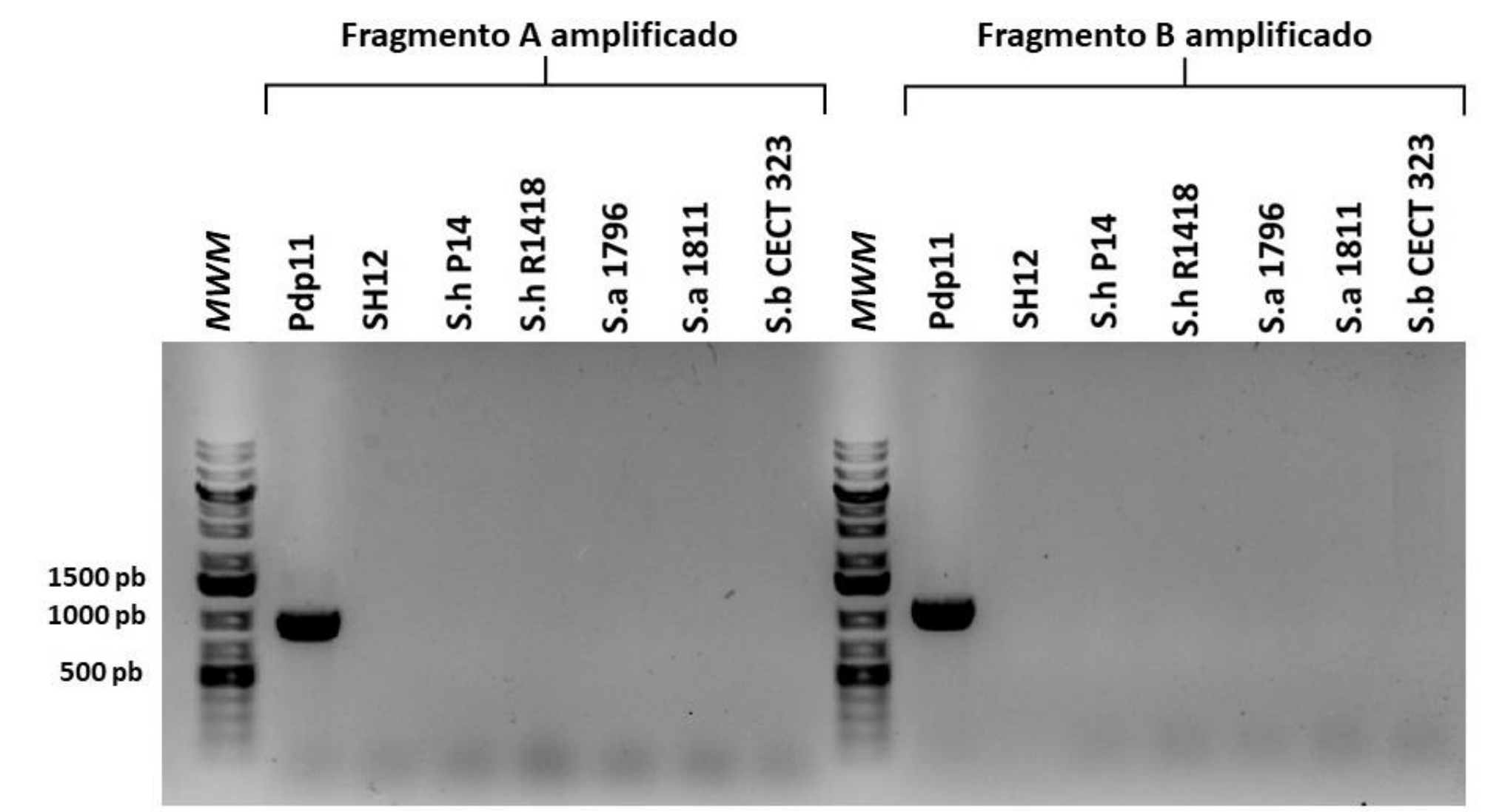


Figura 1. Comprobación mediante gel de Agarosa del producto de PCR, evidenciándose la presencia del transposón (región A y B) en el genoma del probiótico y su ausencia en otras cepas del género *Shewanella.sp*

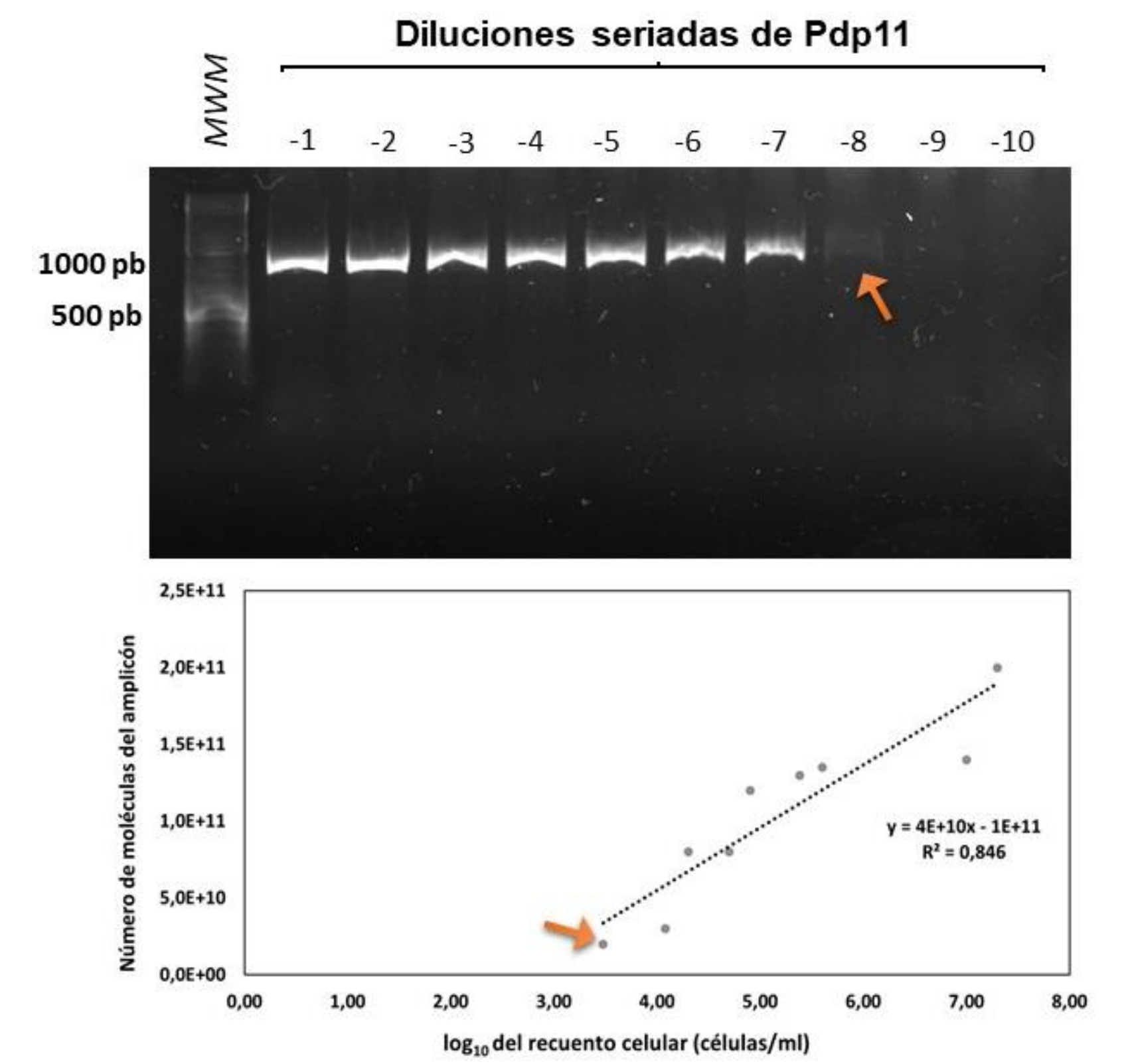
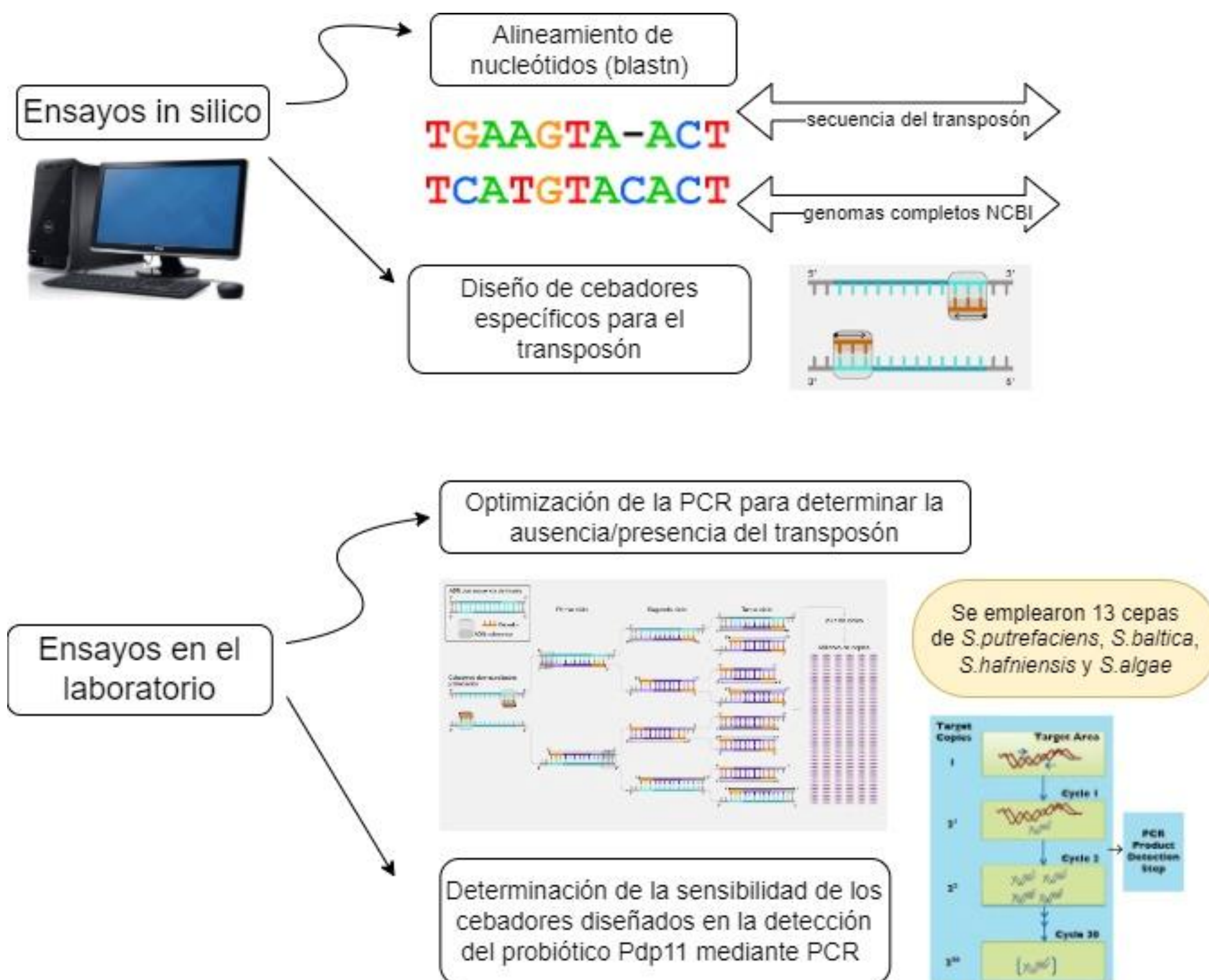


Figura 2. Comprobación mediante gel de Agarosa del producto de PCR de la amplificación del transposón a diferentes concentraciones de DNA/cultivo del probiótico. Determinándose una sensibilidad de 3×10^3 células/ml.

Introducción

Material & Métodos



Bibliografía

Domínguez-Maqueda, M., et al (2022). Pathogenic strains of *Shewanella putrefaciens* contain plasmids that are absent in the probiotic strain Pdp11. PeerJ, 10.

Pérez Gómez O, et al (2021). Identificación in silico de transposones en el genoma del probiótico *Shewanella.sp* Pdp11 (XXVIII de la Sociedad Española de Microbiología, Ed.).

Zhao, L., et al (2022). Quantitative PCR Assays for the Strain-Specific Identification and Enumeration of Probiotic Strain *Lactocaseibacillus rhamnosus* X253. Foods, 11(15).

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el proyecto del Ministerio de ciencias e innovación: PID2020-113637RB-C22.

Resultados & Discusión

El transposón compuesto por el gen interrumpido de la PhzE y transposasa, evidencia unos bajos valores de cobertura con las secuencias disponibles en el NCBI, confirmándose *in silico* la presencia única en Pdp11. Se diseñaron dos pares de cebadores, siendo más específicos los correspondientes a la región B (forward: TGGTATCATCGACTGGGACA, reverse: TACCGCATATGGTTGTGCGAA) empleado en los ensayos de sensibilidad. Las PCR realizadas en las 13 cepas de *Shewanella.sp* ensayadas y su análisis en gel de agarosa, confirman la presencia de este transposón en el probiótico y su ausencia en otras cepas y especies de *Shewanella*. El ensayo de sensibilidad de los cebadores permite identificar la presencia del probiótico en cultivos con 3×10^3 células/ml para una concentración de 10 ng/ μ l de DNA, siendo una sensibilidad similar a la determinada en investigaciones previas para otros microorganismos como *Tenacibaculum maritimus*, *Aeromonas salmonicida* o *Lactocaseibacillus rhamnosus* X253 próximas a 10^3 - 10^4 ufc/ml (Zhao et al., 2022).

Conclusiones

El transposón que interrumpe la proteína implicada en la biosíntesis de fenazina, es un elemento que parece no detectarse en otras cepas relacionadas, como se propuso con los análisis *in silico*, siendo un potencial candidato como elemento molecular para la identificación del probiótico en muestras biológicas.