

Aproximación transcriptómica para estudiar la función biológica de la proteína antifúngica PdAfpB de *Penicillium digitatum*

Ropero-Pérez, Carolina¹; Manzanares, Paloma¹; Marcos, Jose F.¹
Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos (IATA-CSIC)
cropero@iata.csic.es

Programa de Doctorado en Biotecnología
Tutora: M^a Ángeles Castillo

1 INTRODUCCIÓN

Los hongos fitopatógenos comprometen la producción vegetal y la seguridad alimentaria. Por tanto, existe una necesidad urgente en la búsqueda de nuevos antifúngicos con mecanismos distintos a los ya descritos.

Las proteínas antifúngicas (AFPs) de hongos filamentosos son proteínas pequeñas y catiónicas que ofrecen gran potencial en el desarrollo de nuevos antimicóticos. El genoma del hongo fitopatógeno *Penicillium digitatum* contiene un gen codificante de la proteína antifúngica PdAfpB. A pesar de que el gen *afpb* presenta elevados niveles de expresión en *P. digitatum* [1], no se ha detectado su producción natural.

La producción biotecnológica de PdAfpB ha permitido identificar una potente actividad antifúngica frente a múltiples hongos fitopatógenos, incluyendo el propio hongo *P. digitatum* [2]. Sin embargo, la generación de mutantes nulos $\Delta afpB$ indica que *afpb* es prescindible tanto en el crecimiento vegetativo como en la virulencia de *P. digitatum* [1], por lo que su posible función biológica continua siendo desconocida.

2 OBJETIVO

Estudiar la función biológica de la proteína PdAfpB mediante la evaluación de los cambios en el transcriptoma de la cepa silvestre *P. digitatum* PHI26 (CECT 20769) y un mutante nulo para el gen *afpB* (PDMG122).

3 METODOLOGÍA

4 RESULTADOS

4

El análisis por RNA-seq reveló un total de 211 genes diferencialmente expresados (DEGs) en el mutante nulo, de los cuales **34 están sobreexpresados** y **177 reprimidos** (Figura 1). Entre otros destacan once genes implicados en transporte transmembrana, cuatro genes codificantes de sintetasas peptídicas no ribosomales (NRPS) y catorce genes de función desconocida.

5

Los genes reprimidos en $\Delta afpB$ mostraron una sobrerrepresentación generalizada en términos de ontología génica (GO) relacionados con el metabolismo de RNA y la biogénesis de ribosomas y ribonucleoproteínas (Figura 2), apuntando hacia una inesperada disminución en la síntesis ribosomal a pesar de que el mutante nulo no presenta un fenotipo macroscópico diferencial.

6

Los DEGs sobreexpresados mostraron únicamente dos términos GO sobrerrepresentados: "unión a fosfopanteteína" (GO:0031177) y "unión a aminoácidos modificados" (GO:0072341), anotados en cuatro genes codificantes de NRPS (Tabla 1). Estos genes se localizan en clusters putativos para la biosíntesis de metabolitos secundarios. El análisis por homología del cluster de PDIG_09960 revela que este gen codifica una NRPS implicada en la síntesis de triptoqualanina, compuesto indol alcaloide con propiedades fitotóxicas (82,13% de homología de PDIG_09960 con el gen *tqaA* de *Penicillium aetiopicum*, cobertura 99%, *e-value* 0.0 - BLAST, Figura 3).

Nombre	Anotación	logFC	logCPM	FDR
PDIG_09960	HC-toxin synthetase, AMP-dependentsynthetase/ligase	1,308	10,199	0,007
PDIG_39590	HC-toxin synthetase	1,274	7,158	0,006
PDIG_41980	NRPS Pes1, AMP-dependent synthetase/ligase	1,092	9,792	0,010
PDIG_55700	Hybrid NRPS/PKS enzyme 2C putative	1,089	7,061	0,005

7

A pesar de que el mutante nulo *afpB* de *P. digitatum* es prescindible para el crecimiento vegetativo del hongo, el análisis por RNA-Seq ha revelado la existencia de diferencias en los niveles de expresión génica en un **2,3%** de los 9312 genes anotados en *P. digitatum*. Los DEGs identificados permitirán profundizar en el potencial papel biológico de la proteína antifúngica PdAfpB mediante la generación y evaluación de mutantes nulos.