

Опероны О-антигенов патогенных бактерий *Herbaspirillum* sp. содержат фрагментированные гены

Кучур П.*, Комиссаров А.

Лаборатория прикладной геномики, SCAMT, Университет ИТМО, Санкт-Петербург, Россия

* chesnokova@scamt-itmo.ru

Ключевые слова: О-антиген; оперон; *Herbaspirillum*; патоген

Мотивация и цель: Интерес к изучению оперонов О-антигенов внутри отдельного рода бактерии обусловлен двумя причинами. Первая причина связана с разнообразием образов жизни бактерий внутри рода *Herbaspirillum*: это мутуалисты, ассоциированные с растениями, условные патогены растений и патогены человека. Вторая причина заключается в стремительной модификации О-антигенов под воздействием биотических и абиотических факторов. Этим исследованием мы хотим ответить на вопрос, как меняются О-антигены на геномном уровне у бактерий разного образа жизни. Чтобы найти этот ответ, целью нашего исследования становится сравнительный анализ оперонов О-антигенов у симбиотических бактерий, отличающихся по поведению.

Методы и алгоритмы: Исходными данными являются полные геномные сборки бактерий рода *Herbaspirillum* из базы данных NCBI. Всего получено девять геномов, из которых три – геномы мутуалистических гербаспирилл, два генома оппортунистов и четыре генома патогенных штаммов гербаспирилл. Каждый геном был аннотирован Bakta. Поиск оперонов О-антигена велся по уже известным генам из путей KEGG “O-antigen repeat unit” и “O-Antigen nucleotide sugar biosynthesis”. Для каждого гена были получены профили HMM. Границы оперонов предсказывались с помощью веб-сервиса Operon-mapper. Опероном О-антигена считались опероны, включающие два и более гена из списка уже известных. Последовательности неаннотированных белков использовались для поиска сходных белков в BlastP. Готовые опероны визуализированы с помощью библиотеки DNA Features Viewer. 3D модели белков с полонками моделировались в SWISS-Model.

Результаты: Исходя из наблюдений, мы отмечаем уникальность состава оперонов О-антигена у бактерий разных видов внутри рода. Мутуалистические виды, среди которых *H. seropedicae* SmR1, *H. seropedicae* Z67 и *H. rubrisubalbicans* DSM 11543, имеют целостные опероны, без генных поломок, инсерционных элементов и иных нарушений. Аналогичные наблюдения были сделаны для оперонов О-антигенов оппортунистических видов гербаспирилл – *H. hiltneri* N3 и *H. frisingense* IAC152. В то же время у патогенных представителей рода наблюдались поломки отдельных генов в оперонах О-антигена.

В геноме первой патогенной гербаспириллы *H. frisingense* AU14559 было найдено четыре оперона, контролирующих синтез О-антигена. Два из четырех оперонов содержат *rfbBACD* гены, но очередность их расположения в оперонах разная. Один из них несет полонку гена *rfbA* и по последовательности генов похож на аналогичные *rfb* опероны оппортунистических видов гербаспирилл. Геном второй патогенной бактерии *H. seropedicae* AU14040 содержит частично утраченный ген

rfbC. В О-антигене третьей гербаспириллы *H. rubrisubalbicans* M1 обнаружена поломка гена гликозилтрансферазы. В результате этой поломки предположительно синтезирующийся им белок становится короче на 49 аминокислот. Четвертый патогенный представитель – *H. rubrisubalbicans* Os34 – содержит в одном из оперонов О-антигена сразу две поломки генов гликозилтрансфераз.

Выводы: Подводя итог сравнительного анализа оперонов О-антигена внутри рода *Herbaspirillum*, стоит отметить, что наша гипотеза об изменении оперонов О-антигенов у бактерий разного образа жизни подтверждается только частично. У мутуалистических и оппортунистических видов гербаспирилл мы не обнаружили каких-либо нарушений и аномалий генного состава оперонов соматического антигена, хотя ожидали увидеть минорные нарушения оперонов у оппортунистов. При этом гипотеза не может быть отвергнута полностью, поскольку у патогенных видов гербаспирилл был обнаружен ряд поломок генов О-антигена, потенциально приводящих к синтезу фрагментированных белков. Примечательным является также тот факт, что эти поломки преимущественно затрагивают гены гликозилтрансфераз и *rfb* генов. По-видимому, эти участники синтеза О-антигена являются наиболее восприимчивыми к атаке со стороны иммунной системы организма хозяина.

Финансирование: Исследование поддержано грантом Комитета по науке и высшей школе Санкт-Петербурга для студентов, аспирантов, молодых ученых, молодых кандидатов наук 2022 г. (ПСП № 22108).

O-antigen operons of pathogenic bacteria *Herbaspirillum* sp. contain fragmented genes

Kuchur P. *, Komissarov A.

Applied Genomics Laboratory, SCAMT Institute, ITMO University, St. Petersburg, Russia

* chesnokova@scamt-itmo.ru

Key words: O-antigen; operon; *Herbaspirillum*; pathogen

Motivation and Aim: The interest in studying O-antigen operons within a single bacterial genus is motivated by two reasons. One reason is the diversity of bacterial lifestyles within the genus *Herbaspirillum*, namely the plant-associated mutualists, opportunistic plant pathogens, and human pathogens. The second reason is the rapid modification of O-antigens under biotic and abiotic selective pressures. With this study, we aim to address the question of how the genomic diversity of O-antigen operons correlates with the diverse lifestyles of the bacteria. To this end, we conduct a comparative analysis of O-antigen operons among representative symbiotic bacteria.

Methods and Algorithms: The input data for this study are the complete genome assemblies of *Herbaspirillum* strains retrieved from the NCBI database. In total, we collected nine genomes including three genomes of mutualistic *Herbaspirillum* strains, two genomes of opportunistic *Herbaspirillum* strains, and four genomes of pathogenic *Herbaspirillum* strains. Each genome was annotated using the Bakta pipeline. O-antigen operons were identified by searching for the KEGG pathways “O-antigen repeat unit” and “O-Antigen nucleotide sugar biosynthesis”. HMM profiles were obtained for each KEGG gene. Operon boundaries were predicted using the Operon-mapper web service.

O-antigen operons were defined as operons including two or more KEGG genes. The sequences of unannotated proteins were used to search for homologous proteins using BlastP. Assembled operons were visualized using the DNA Features Viewer library. 3D protein models with template breaks were modeled using SWISS-Model.

Results: Based on our observations, we note the uniqueness of the composition of the O-antigen operons in bacteria of different species within the genus. The mutualistic species, including *H. seropedicae* SmR1, *H. seropedicae* Z67, and *H. rubrisubalbicans* DSM 11543, have intact operons without gene breaks, insertion elements, or other disruptions. Similar observations were made for the O-antigen operons of the opportunistic *Herbaspirillum* species *H. hiltneri* N3 and *H. frisingense* IAC152. In contrast, disruptions of individual genes within the O-antigen operons were observed in the pathogenic representatives of the genus.

In the genome of the first pathogenic *Herbaspirillum* strain *H. frisingense* AU14559, we identified four operons controlling the synthesis of O-antigen. Two of the four operons contain the *rfbBACD* genes, but the order of their arrangement in the operons is different. One of them carries a disruption in the *rfbA* gene and resembles the *rfb* operons of the opportunistic *Herbaspirillum* species in terms of gene sequence. The genome of the second pathogenic bacterium, *H. seropedicae* AU14040, contains a partially truncated *rfbC* gene. In the O-antigen of the third *Herbaspirillum* strain, *H. rubrisubalbicans* M1, a disruption in the glycosyltransferase gene was identified. As a result of this disruption, the protein synthesized by this gene is predicted to be 49 amino acids shorter. The fourth pathogenic representative, *H. rubrisubalbicans* Os34, contains two disruptions in glycosyltransferase genes within one of the O-antigen operons.

Conclusion: Summarizing the comparative analysis of O-antigen operons within the genus *Herbaspirillum*, it is worth noting that our hypothesis about the alteration of O-antigen operons in bacteria with different lifestyles is only partially confirmed. In mutualistic and opportunistic *Herbaspirillum* species, we did not identify any disruptions or abnormalities in the gene composition of the somatic antigen operons, although we expected to find minor disruptions in the operons of the opportunists. However, the hypothesis cannot be completely rejected, since a number of disruptions in O-antigen genes were found in pathogenic *Herbaspirillum* species, potentially leading to the synthesis of truncated proteins. It is also noteworthy that these disruptions predominantly affect the glycosyltransferase and *rfb* genes. Apparently, these participants in O-antigen synthesis are the most susceptible to attack by the host immune system.

Funding: This study was supported by a grant from the Committee for Science and Higher Education of St. Petersburg for students, postgraduates, young scientists, and young candidates of sciences in 2022 (PSP No. 22108).

Список литературы/References

1. Moran N.A., Wernegreen J.J. Lifestyle evolution in symbiotic bacteria: insights from genomics. *Trends Ecol Evol.* 2000;15(8):321-326. doi 10.1016/S0169-5347(00)01902-9
2. Lerouge I., Vanderleyden J. O-antigen structural variation: mechanisms and possible roles in animal/plant-microbe interactions. *FEMS Microbiol Rev.* 2002;26(1):17-47. doi 10.1111/j.1574-6976.2002.tb00597.x
3. Kalynysh S., Morona R., Cygler M. Progress in understanding the assembly process of bacterial O-antigen. *FEMS Microbiol Rev.* 2014;38(5):1048-1065. doi 10.1111/1574-6976.12070