

---

**DIFERENCIAS EN LA EXPRESIÓN DE GENES DE VIBRIO  
PARAHAEMOLYTICUS CRECIDO EN CONDICIONES AMBIENTALES  
Y DE AISLAMIENTO CLINICO**

**PEDRO SEPÚLVEDA  
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

**RESUMEN**

*Vibrio parahaemolyticus* es una bacteria gram negativa que habita en océanos formando parte de la flora bacteriana de moluscos bivalvos o bien de forma libre en el agua. Algunas de las bacterias de esta especie infectan humanos por medio del consumo de alimentos poco cocidos o crudos, produciendo una gastroenteritis aguda a nivel intestinal. Pese a que su origen es antiguo, los estudios de esta bacteria comenzaron en mayor medida en 1996, cuando surge un serotipo con características pandémicas (O3:K6), correspondiente a un grupo clonal específico, infectando a un gran número de personas en Asia, Europa, África, América del norte y América del Sur. En Chile en el año 2005 produjo un brote con aproximadamente 10.000 casos. Las características de *V. parahaemolyticus* le permiten adaptarse a diferentes condiciones ambientales. La mayoría de las cepas conocidas puede crecer a una temperatura de 37°C, pH ácido, y sales biliares, condiciones que se usan para su aislamiento y diagnóstico en el laboratorio. Las características de patogenicidad de la bacteria están relacionadas a los factores de virulencia que puede expresar, entre estos, existen sistemas de secreción específicos, pueden secretar diferentes sustancias dañinas o tóxicas en el medio donde habitan. En este proyecto se propuso realizar un análisis de expresión diferencial, para comprender los cambios de *V. parahaemolyticus* en sus etapas de crecimiento cuando vive en 2 condiciones diferentes simuladas en laboratorio, las cuales abarcan la condición ambiental de la bacteria en los océanos (LB a 12 °C con 3% NaCl), y la condición de aislamiento en laboratorio (LB a 37°C con 0.9% NaCl con sales biliares 0.04 %). Las muestras abarcan tres replicas biológicas para cada condición, y fueron obtenidas a partir de secuenciación de alto rendimiento de RNA. El análisis estuvo enfocado a estudiar el transcriptoma de *V. parahaemolyticus* e identificar los genes que aumentan o disminuyen su expresión en ambas condiciones, para ello, se utilizaron herramientas de software computacional bioinformáticas capaces de trabajar con las lecturas de RNA obtenidas por el secuenciador; con ellas se calculó la expresión diferencial de los

---

genes. Los resultados obtenidos muestran que en las condiciones de aislamiento se expresaron diferencialmente 767 genes de los 4991 genes anotados, 337 (6,75 %) aumentados y 430 disminuidos (8,62 %). 449 genes son del cromosoma I y 318 del cromosoma II, similar a la relación de sus tamaños. Entre los 50 genes con mayor expresión, la proteína ornitina decarboxilasa (VPA1635) encargada de la síntesis de putrescina, aumentó su expresión aproximadamente 328 veces, por otro lado, la proteína co-regulada por hemolisina (Hcp1) secretada por T6SS1, disminuyó su expresión aproximadamente 142 veces. Entre los 10 genes con mayor expresión diferencial se identifica un grupo genes vecinos que codifican proteínas relacionadas con la respiración celular, aumentaron su expresión aproximadamente 45 veces. Entre los sistemas de secreción estudiados, T3SS1 presentaba en su mayoría una expresión disminuida, a diferencia de T3SS2 que presentaba una expresión aumentada. T6SS1 y T6SS2 presentaban en su mayoría una expresión disminuida. Las categorías de Gene Ontology sobre representadas de mayor interés en expresión aumentada fueron relacionadas a transporte y localización, mientras que en expresión disminuida fueron relacionadas a patogénesis y secreción.

## ABSTRACT

*Vibrio parahaemolyticus* is a gram negative bacterium that inhabits oceans freely in seawater or associated with higher organisms, specially. Some bacteria of this species can infect humans when they ingest undercooked or raw seafood, producing an intestinal gastroenteritis. Although its origin is ancient, the studies of this bacterium began to a greater extent in 1996, when a serotype with pandemic characteristics (O3: K6), corresponding to a specific clonal group emerge, infecting a large number of people in Asia, Europe, Africa, North America and South America. In Chile in 2005, it produced an outbreak with approximately 10,000 cases. *V. parahaemolyticus* may adapt to different conditions. Most of the known strains can grow at 37°C of temperature, acid pH, and bile salts, conditions that are used for isolation and diagnosis in the laboratory. The pathogenicity properties of the bacteria are related to the virulence factors such as specific secretion systems that can secrete different harmful or toxic substances. In this project it was proposed to perform a differential expression analysis to understand the changes of *V. parahaemolyticus* in its growth stages when it lives in 2 different simulated laboratory conditions, which cover the environmental condition of the bacterium in the oceans (LB, 12°C, 3% NaCl), and the condition isolated in laboratory (LB, 37°C, 0.9% NaCl with bile salt 0.04%). The samples were composed of three biological replicates for each condition, and were obtained from high throughput RNA sequencing. The analysis was focused on studying the *V. parahaemolyticus* transcriptome and identifying the upregulated and downregulated genes, using bioinformatics computational software tools able to work with the RNA reads obtained by the sequencer; With them the differential expression of the genes was calculated. The results show that in the isolation conditions, 767 genes were differentially expressed from the 4991 genes annotated, 337 (6.75%) upregulated and 430 downregulated (8.62%). 449 genes are on chromosome I and 318 on chromosome II, similar to the ratio of their sizes. Between the 50 more highly expressed genes, the ornithine decarboxylase protein (VPA1635) performs the synthesis of putrescine, was about 328 times up regulated, instead, the protein co-regulated by hemolysin (Hcp1) secreted by T6SS1, was about 142 times down regulated. Between the 10 more highest differential expression genes, were found among neighboring genes coding for proteins related with respiration, about 45

---

times up regulated. Between the Secretion systems, T3SS1 had a down regulated expression, unlike T3SS2 which had an up regulated. T6SS1 and T6SS2 had mostly down regulated. Gene Ontology categories most significantly overrepresented up regulated processes were those related to transport and localization while secretion and pathogenesis related genes were overrepresented among down regulated genes