

Diversidad de genes de resistencia a arsénico en procariotas

Nallely Serrato-Gamiño y Carlos Cervantes

Instituto de Investigaciones Químico-Biológicas, UMSNH

Resumen

El arsénico es un metaloide presente de forma natural en ambientes acuáticos y terrestres. La elevada toxicidad de los compuestos derivados del arsénico convierte a este elemento en un grave problema de salud pública en todo el mundo. Existe un geociclo global del arsénico en el cual los microorganismos juegan un papel relevante. La exposición ancestral a los compuestos derivados del arsénico ha ejercido una presión selectiva para que los microorganismos desarrollen o adquieran diversos sistemas genéticos de tolerancia a arsénico. Las estrategias de resistencia al arsénico se basan principalmente en proteínas de transporte de la membrana que excluyen los compuestos tóxicos del citoplasma celular. Los operones *ars*, descubiertos por primera vez en los plásmidos R bacterianos, son los sistemas de resistencia al arsénico más comunes en procariotas. Numerosos operones *ars*, con una variedad de genes y diferentes combinaciones de ellos, se encuentran en los genomas microbianos, incluyendo sus componentes accesorios plásmidos, transposones e islas genómicas. Esta revisión resume la información actualizada acerca de la presencia, distribución, organización y redundancia de genes de resistencia al arsénico en organismos procariotas.

Abstract

Arsenic is a metalloid that occurs naturally in aquatic and terrestrial environments. The high toxicity of arsenic derivatives converts this element in a serious problem of public health worldwide. There is a global arsenic geocycle in which microorganisms play a relevant role. Ancient exposure to arsenic derivatives has exerted a selective pressure for microbes to evolve or acquire diverse arsenic resistance genetic systems. Arsenic resistance strategies rely mainly on membrane transport proteins that extrude the toxic compounds from the cell cytoplasm. The *ars* operons, first discovered in bacterial R-plasmids, are the most common arsenic resistance systems in prokaryotes. Numerous *ars* operons, with a variety of genes and different combinations of them, are present in microbial genomes, including their accessory plasmids, transposons and genomic islands. This review summarizes current information about the distribution, organization and redundancy of arsenic resistance genes in prokaryotic organisms.

Introducción

El arsénico es un metaloide presente de forma natural en ambientes acuáticos y terrestres. Aunque su abundancia en estos entornos es relativamente baja, la alta toxicidad de los compuestos derivados del arsénico han convertido a este elemento en uno de los venenos naturales mejor estudiados y en un serio problema de salud pública a nivel global (Mukhopadhyay y col., 2002). Esto es particularmente cierto por la contaminación con arsénico de los suministros de agua subterránea en muchos países. El arsénico es catalogado como un carcinógeno humano y se considera la toxina ambiental más prevalente del planeta (Zhu y col., 2014). Como ocurre con otros elementos químicos biológicamente relevantes, existe un geociclo global del arsénico y se sabe que los microorganismos juegan un papel crucial en su funcionamiento (Mukhopadhyay y col., 2002; Zhu y col., 2014).

Prácticamente todos los organismos, desde bacterias hasta los seres humanos, tienen mecanismos para la detoxificación del arsénico, en su mayor parte con sistemas de transporte capaces de expulsar el arsenito de las células (Rosen y Liu, 2009). La exposición al arsénico puede haber empezado desde el inicio de la vida sobre la Tierra (Gihring y col., 2003), llevando a Yang y Rosen (2016) a declarar que: "Sin sistemas de detoxificación de arsénico, la vida no existiría". En esta revisión, nos enfocaremos principalmente en la información acerca de la distribución

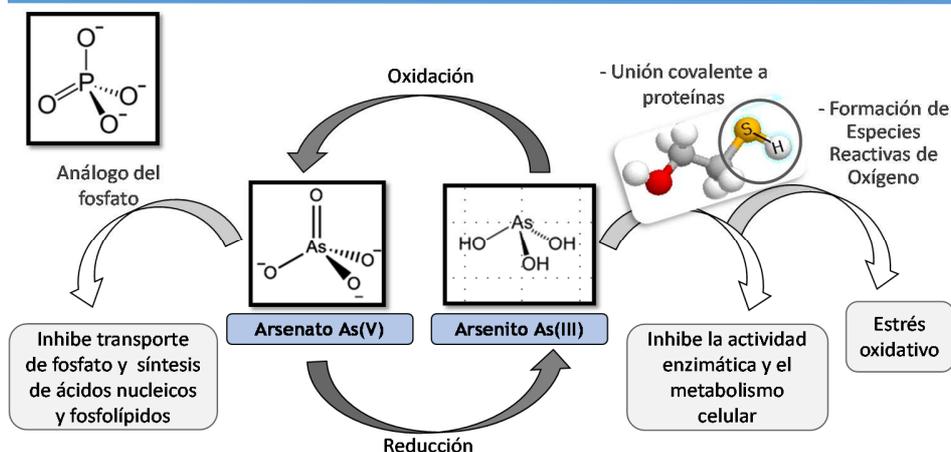


Figura 1. Estructura química y toxicidad del arsenato y el arsenito. Se indican las principales especies químicas de arsénico presentes en el ambiente: el arsenato, que ingresa a la célula como oxianión y el arsenito, que ingresa en su forma no disociada. Ambas especies pueden interconvertirse mediante reacciones de óxido-reducción. El arsenato debe su toxicidad a su analogía con el grupo fosfato, por lo cual puede sustituirlo en procesos vitales, causando daño celular. Por su parte, el arsenito puede unirse covalentemente a los grupos sulfhidrilo de las proteínas, afectando su función; además, el arsenito da lugar a la formación de Especies Reactivas de Oxígeno (ERO), generando estrés oxidativo.

y la redundancia de los genes procarióticos asociados con la resistencia a compuestos de arsénico.

Toxicidad del arsénico

La toxicidad del arsénico depende en gran parte de su estado de oxidación. Las formas químicas del arsénico más abundantes en el ambiente son la especie trivalente, As(III), comúnmente presente como el oxianión arsenito (AsO_2^-), y la especie pentavalente, As(V), o arsenato (AsO_4^{3-}). La interconversión de estos oxianiones ocurre en la naturaleza con una participación relevante de los microorganismos; estas biotransformaciones promueven la movilización y disponibilidad del arsénico en el ambiente (Zhu y col. 2014). El arsenito es más tóxico que el arsenato porque es capaz de unirse fuertemente a los grupos sulfhidrilo de residuos vecinos de cisteína en las proteínas (Figura 1); el arsenito también se une, aunque débilmente, a otros grupos tiol, como los del glutatión, ácido lipoico y cisteína (Mukhopadhyay y col., 2002). Por otra parte, el arsenito da lugar a estrés oxidativo, al inhibir la actividad de la enzima glutatión reductasa, impidiendo así la regeneración del glutatión reducido, un potente antioxidante celular. La toxicidad del

arsenato es debida a su capacidad de competir con su análogo fosfato, tanto para el transporte de este oxianión esencial al interior celular, como para sus funciones energéticas en el metabolismo (Figura 1). Sin embargo, los principales efectos tóxicos del arsenato surgen de su transformación en la especie más tóxica, el arsenito (Figura 1).

Los operones *ars*

La exposición continua de los organismos a agentes tóxicos en el ambiente ejerce una presión selectiva que puede conducir al desarrollo de genes de resistencia, cuyos productos contrarrestan los efectos nocivos de dichos compuestos. De manera similar a como ocurrió con otros metales pesados y metaloides tóxicos, los microorganismos han desarrollado una gran variedad de sistemas genéticos para hacer frente a la toxicidad del arsénico. La primera noción de genes microbianos que confieren resistencia a compuestos de arsénico surgió hace casi 50 años desde un campo distante, pero relacionado: el estudio de los genes de resistencia a los antibióticos presentes en los llamados factores R (o plásmidos R) de aislados clínicos bacterianos (Novick y Roth, 1968). En este trabajo se encontró que el plásmido pI258 de la bacteria Gram-positiva *Staphylococcus aureus* confiere resistencia múltiple a antibióticos, arsenato, arsenito y otros derivados de metales pesados. Pocos años después, se identificó otro factor R que portaba genes de resistencia a arsénico, el plásmido conjugativo R773 contenido en una cepa de la enterobacteria Gram-negativa *Escherichia coli*, aislada de un paciente con una infección del tracto urinario (Hedges y Baumberg, 1973).

Mecanismo de resistencia a arsénico

Un esfuerzo de investigación colaborativo reveló posteriormente el mecanismo bioquímico básico de resistencia al arsénico conferido por los plásmidos de las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas: el arsenito es expulsado del citoplasma celular de una forma dependiente de energía (Silver y Keach, 1982; Mobley y Rosen, 1982). El conocimiento de la secuencia de nucleótidos de los determinantes del plásmido pI258 de *S. aureus* permitió la identificación del grupo de genes *arsRBC*, que forman un operón implicado en el fenotipo de resistencia a arsénico; por otra parte, el plásmido R773 de *E. coli* contiene un operón más complejo, *arsRDABC* (Tabla 1), que codifica proteínas con homología con las codificadas por

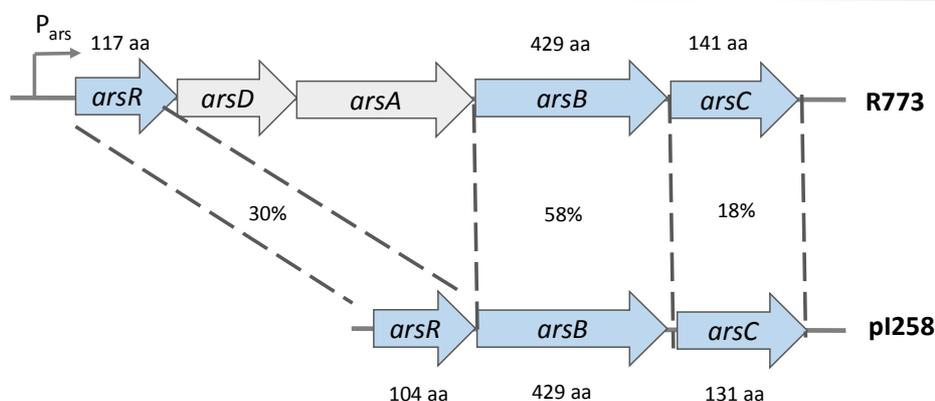


Figura 2. Comparación de los operones *ars* de los plásmidos R773 de *E. coli* y pI258 de *S. aureus*. Se indican con flechas los genes que conforman cada uno de los operones, cuya orientación representa la dirección de la transcripción, a partir del promotor P_{ars} . Para cada gen se indica el tamaño, en número de aminoácidos (aa), de la proteína para la cual codifica. Además, se señala el porcentaje de identidad de las secuencias de las proteínas presentes en ambos operones. Modificado de Rosen, 1999b.

pI258 (Figura 2). A continuación se describirá brevemente la función de los productos de los genes de los operones *ars*.

El gen *arsR* codifica ArsR, una proteína represora transcripcional que actúa de forma *trans*, uniéndose a la región promotora de los operones *ars* (Ji y Silver, 1992). La interacción del arsenito con ArsR disocia a la proteína represora del ADN permitiendo así la transcripción del operón (Figura 3).

ArsB, el producto del gen *arsB*, es una proteína integral de membrana capaz de expulsar al arsenito del citoplasma celular, lo que disminuye la acumulación del compuesto (Figura 3) (Yang y col., 2012). ArsB tiene un modo dual de acoplamiento de energía: el flujo de arsenito puede ser energizado por el potencial de membrana, en los operones *arsRBC*, o por la hidrólisis de ATP, catalizada por ArsA, en los operones complejos *arsRDABC* (Rosen, 1999a).

El gen *arsC* codifica a la enzima ArsC, la cual funciona como una arsenato reductasa capaz de transformar arsenato a arsenito antes de la expulsión de este último oxianión por la proteína ArsB (Silver y Phung, 2005) (Figura 3).

Además, el operon *ars* complejo contiene los genes *arsA* y *arsD* (Figura 2). La proteína ArsA es una ATPasa que interactúa con ArsB para formar una bomba de expulsión de arsenito energizada por la hidrólisis de ATP (Yang y col., 2012). ArsD funciona como un represor débil e independiente del inductor del operón *ars*, pero

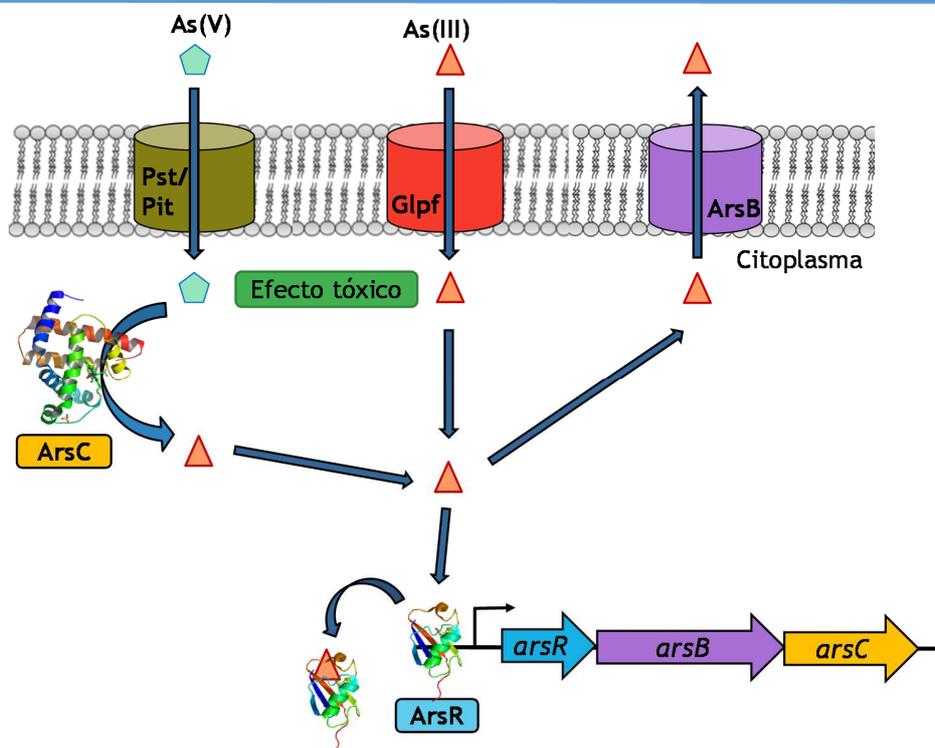


Figura 3. Sistema bacteriano de resistencia a arsénico. El arsenato (esquemático con pentágonos) ingresa a la célula a través de los transportadores de fosfato (Pst/Pit) mientras que el arsenito (triángulos) lo hace a través de las acuagliceropinas (Glpf). Dentro de la célula, ambos oxianiones pueden llevar a cabo sus efectos tóxicos. Por otra parte, el arsenito se une a la proteína represora ArsR, provocándole un cambio conformacional que resulta en la liberación de la región reguladora del operón, promoviendo así su transcripción. De esta forma el arsenato puede ser reducido por la arsenato reductasa (ArsC) a arsenito, el cual a su vez es expulsado a través de la proteína de membrana ArsB. (Modificado de Branco y col. 2008).

su función principal está relacionada con su capacidad para unir el arsenito y transferirlo a la ATPasa ArsA antes de la expulsión del oxianión por la bomba ArsB (Lin y col., 2006; Yang y col., 2012).

Evolución de los operones *ars*

Los operones más simples, que contienen sólo los genes *arsRB*, probablemente evolucionaron en los ambientes anaeróbicos primordiales de la tierra, donde el arsenito sería el oxianión de arsénico predominante; los grupos de genes ancestrales codificarían el omnipresente regulador ArsR y la bomba de expulsión

de arsenito ArsB (Rosen, 1999a; Mukhopadhyay y col., 2002; Zhu y col., 2014). Estos operones mínimos *arsRB* permitirían a las células controlar las concentraciones intracelulares de arsenito, con lo cual evitarían su toxicidad. De acuerdo con estas ideas, cuando el oxígeno apareció en la atmósfera terrestre, las oxianiones de arsenato serían ahora más abundantes y las enzimas ArsC, capaces de reducir arsenato a arsenito, evolucionaron dando lugar a los operones *arsRBC*, cuyos productos génicos detoxificarían al arsenito mediante la bomba de expulsión preexistente. Los genes que codifican la ATPasa ArsA y la chaperona ArsD probablemente fueron adquiridos en una etapa posterior, originando los operones complejos *arsRDABC* que confieren mayores niveles de resistencia a arsénico y ejercen una regulación estricta (Rosen, 1999b). Los genes *arsD* y *arsA* generalmente se encuentran adyacentes en plásmidos y cromosomas, lo que sugiere que actúan como una unidad (Lin y col., 2006).

Distribución y diversidad de los operones *ars*

Además de los plásmidos pioneros mencionados, pI258 y R773, se han descrito otros plásmidos de resistencia a arsénico con operones *arsRBC* o *arsRDABC*, como los que se muestran en la Tabla 1. (Esta Tabla fue elaborada, por razones de espacio, mediante una selección arbitraria, por lo tanto incompleta, con la finalidad de ejemplificar la amplia diversidad de especies microbianas que poseen operones *ars*). Los ejemplos incluyen plásmidos de cepas de *E. coli*, del patógeno entérico *Yersinia* sp., de *Acidiphilium multivorans* AIU 301, de *Serratia marcescens*, de la arquea *Halobacterium* sp. NRC-1, y de la cepa M14 de *Sinorhizobium* sp. aislada de sedimentos de suelo ricos en arsénico en una mina de oro. Variantes de los operones *arsRBC* se identificaron en transposones de la cepa JH642 de *Bacillus subtilis*, de la cepa f de la bacteria empleada en biominería *Acidithiobacillus caldus* y en la bacteria oxidante de hierro *Leptospirillum ferriphilum* (Tabla 1). La presencia de genes de resistencia a arsénico en plásmidos y transposones constituye una oportunidad para que esta propiedad adaptativa sea difundida a otros microorganismos mediante la transferencia horizontal de genes.

TABLA 1

Ejemplos de operones *ars* presentes en microorganismos resistentes a arsénico.

Especie	Clasificación/Origen*	Genes <i>ars</i>	Replicón#	Referencia No.
<i>Staphylococcus aureus</i>	Firmicutes/C	RBC	pI258	14
<i>Escherichia coli</i>	γ-proteobacteria/C	RDABC	R773	6
<i>Escherichia coli</i>	γ-proteobacteria/R	RBC	Crom	9
<i>Yersinia sp.</i>	γ-proteobacteria/A	HRBC	pYV	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	γ-proteobacteria/R	RBC	Crom	5
<i>Bacillus subtilis</i>	Firmicutes/R	RBC	Tn (skin)	31
<i>Acidiphilium multivorum</i>	α-proteobacteria/A	RDABC	pKW301	34
<i>Thiobacillus ferrooxidans</i>	γ-proteobacteria/A	BCHR	Crom	3
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	γ-proteobacteria/A	RBC	Crom	25
<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	γ-proteobacteria/R	CRBH	Crom	4
<i>Serratia marcescens</i>	γ-proteobacteria/C	RBCH	R478	29
<i>Ferroplasma acidarmanus</i>	Arquea/A	RB--A	Crom	11
<i>Synechocystis sp.</i>	Cianobacteria/A	BHC---R	Crom	17
<i>Shewanella oneidensis</i>	γ-proteobacteria/A	DABC	Crom	30
<i>Halobacterium sp.</i>	Arquea/A	ADRC---MR₂	pNRC100	36
<i>Corynebacterium glutamicum</i>	Actinobacteria/A	R₁B₁C₁--- R₂B₂C₂	Crom	23
<i>Acidithiobacillus caldus</i>	γ-proteobacteria/A	RCDADA---B RCaBH---	TnAtcArs	35
<i>Herminiimonas arsenicoxydans</i>	β-proteobacteria/A	RCaBCbH--- RCaAcr3CbH- RCaH	Crom	20
<i>Ochrobactrum tritici</i>	α-proteobacteria/A	RDAB--- R₂C₂Acr3H	Crom	2
<i>Campylobacter jejuni</i>	ε-proteobacteria/C	PRCAcr3	Crom	37
<i>Bacillus sp.</i>	Firmicutes/A	RBCDA--- R2BC2	Crom	1
<i>Geobacillus kaustophilus</i>	Firmicutes/A	R1B1C1--- R2B2C2--C3	Crom	7
<i>Sinorhizobium sp.</i>	α-proteobacteria/A	RC--- RCaCbB--HR	pSinA	8
<i>Pseudomonas putida</i>	γ-proteobacteria/A	R1B1C1H1--- R2B2C2H2	Crom	24
<i>Rhodopseudomonas palustris</i>	α-proteobacteria/A	RCBH--- RRCC--RM	Crom	40
<i>Leptospirillum ferriphilum</i>	Nitrospira/A	URCB	Crom	
<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i>	γ-proteobacteria/A	CRBH	Crom	13

C, origen clínico; A, origen ambiental; R, cepa de referencia. # Crom, cromosoma; Tn, transposón. Cuando son genes plasmídicos, se da el nombre del plásmido.

Los esfuerzos iniciales para secuenciar fragmentos grandes de genomas bacterianos proporcionaron evidencias *in silico* de un operón *arsRBC* cromosómico en *E. coli*, seguidos de datos experimentales bioquímicos y moleculares que confirmaron que funcionan de una manera similar a sus homólogos plasmídicos;

más adelante, un operón *arsRBC* funcional fue identificado en el genoma de la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 (Tabla 1).

La disponibilidad de secuencias de genomas completos de diversas especies procariotas dio lugar a una formidable cantidad de información sobre los genes adaptativos presentes en esos organismos. Estos incluyeron numerosos genes *ars* cromosómicos de una enorme variedad de cepas microbianas con similitud a los inicialmente identificados en plásmidos; estos genes están organizados en una amplia diversidad de configuraciones en los diferentes microorganismos (Tabla 1).

Las variantes de los operones *arsRBC* ahora parecen ser bastante comunes en los cromosomas de especies de bacterias y arqueas de diversos orígenes; es posible que toda especie procariota tenga al menos un sistema de resistencia a arsénico. Ejemplos de variantes de operones *ars* son los identificados en las bacterias mineras *Thiobacillus ferrooxidans* y *Acidithiobacillus ferrooxidans*, la cepa marina *Pseudomonas fluorescens* MSP3, la cianobacteria *Synechocystis* sp. PCC 6803, la gamma-proteobacteria *Shewanella oneidensis* ANA-3 y el patógeno alimentario *Campylobacter jejuni* (Tabla 1). Operones *ars* cromosómicos se identificaron en la arquea *Ferroplasma acidarmanus*, lo cual confirmó un origen ancestral de los genes de resistencia a arsénico.

Redundancia de los genes *ars*

Además de los operones *ars* simples, la Tabla 1 muestra ejemplos de grupos complejos de genes *ars* con una gran variedad de configuraciones génicas. Los procariotas con múltiples genes *ars* redundantes parecen ser frecuentes, lo que suele dar lugar a mayores niveles de resistencia a los compuestos derivados de arsénico (Li y Krumholz, 2007). La redundancia de genes *ars* puede ser el resultado de la duplicación de genes o de la transferencia horizontal. Algunos microorganismos poseen variantes repetidas de los operones *ars* canónicos, como la cepa *Bacillus* CDB3, aislada de una solución arsenical de inmersión de ganado, el organismo termófilo *Geobacillus kaustophilus* A1 y la bacteria de suelo *Pseudomonas putida* KT2440 (Tabla 1). Curiosamente se descubrió que los operones “gemelos” de *P. putida* no funcionan aditivamente en la resistencia al arsénico, sino que se expresan diferencialmente dependiendo de la temperatura de crecimiento bacteriano (Páez-Espino y col., 2015). La arquea *Halobacterium* sp. posee genes *ars* tanto en el cromosoma principal como en uno de sus megaplásmidos; de forma similar *L. ferriphilum* tiene genes *ars* en el cromosoma y

en un transposón (Tabla 1). Genes *ars* redundantes también están presentes en el transposón Tn*AtcArs* de *A. caldus* (Tabla 1). Los niveles de resistencia a arsénico no tienen necesariamente una correlación directa con el número o la complejidad de los operones *ars*; es razonable pensar que los organismos procariotas con genes *ars* redundantes los expresan de manera diferencial, dependiendo de las condiciones ambientales.

Ejemplos notables de organismos que poseen grupos de genes *ars* más complejos son la bacteria de importancia industrial *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032, la Beta-proteobacteria *Herminiimonas arsenicoxydans*, la bacteria resistente a metales pesados *Ochrobactrum tritici* SC1124 y el fotótrofo anoxigénico *Rhodospseudomonas palustris* CGA009 (Tabla 1). Los operones *ars* redundantes de *C. glutamicum* y *R. palustris* se expresan diferencialmente según los niveles de exposición al arsenito (Ordóñez y col., 2005; Zhao y col., 2015). Las especies bacterianas con genes *ars* redundantes usualmente habitan ambientes complejos, perturbados, incluyendo ecosistemas que sufren de contaminación por arsénico.

Las cepas del género *Thiomonas* aisladas del drenaje de una mina ácida que contiene arsénico, presentan islas genómicas con grupos de genes tanto para la resistencia a arsénico como para la oxidación de arsenito (Freel y col., 2015). Las "Islas de genes de arsénico" fueron mencionadas por primera vez por Silver y Phung (2005) en referencia a grupos de genes relacionados con la resistencia y el metabolismo de arsénico identificados en la bacteria de suelo *Alcaligenes faecalis*. El plásmido pSinA de *Sinorhizobium* sp. también presenta una isla genómica de arsénico (Tabla 1). La presencia de islas genómicas representa otro ejemplo de transferencia horizontal de genes de resistencia a arsénico.

Consideraciones finales

La exposición de los microorganismos a los compuestos de arsénico en el ambiente, posiblemente desde el inicio de la vida sobre la tierra, ha ejercido una fuerte presión selectiva para que aquellos desarrollen variados sistemas genéticos para hacer frente a la toxicidad del metaloide. Estos sistemas incluyen principalmente los operones *ars* omnipresentes, dedicados a la expulsión de arsenito. Esta vía conduce a la disminución de la concentración de arsénico en el citoplasma, aparentemente la estrategia evolutiva más eficaz para la detoxificación microbiana de los derivados del metaloide. La mayoría de las biotransformaciones de arsénico

que ocurren en el planeta involucran a los microorganismos como participantes activos en el ciclo geoquímico global del arsénico.

La naturaleza ubicua y diversa de los genes *ars* en el mundo microbiano ilustra claramente su origen antiguo y sugiere que estos genes estuvieron presentes en los genomas procariotas más primitivos. Finalmente, la localización de los determinantes de resistencia a arsénico en plásmidos, transposones e islas genómicas enfatiza la participación de los procesos de transferencia horizontal de genes como mecanismos eficaces para la diseminación de propiedades adaptativas en los microorganismos.

Referencias

1. Bhat, S., X. Luo, Z. Xu, L. Liu y R. Zhang (2011) *Bacillus sp.* CDB3 isolated from cattle dip-sites possesses two *ars* gene clusters. *J Environ Sci* 23:95-101.
2. Branco, R., A.P. Chung y P.V. Morais (2008) Sequencing and expression of two arsenic resistance operons with different functions in the highly arsenic-resistant strain *Ochrobactrum tritici* SCII24T. *BMC Microbiol* 8:95.
3. Butcher, B.G., S.M. Deane y D.E. Rawlings (2000) The chromosomal arsenic resistance genes of *Thiobacillus ferrooxidans* have an unusual arrangement and confer increased arsenic and antimony resistance to *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 66:1826-1833.
4. Butcher, B.G. y D.E. Rawlings (2002) The divergent chromosomal *ars* operon of *Acidithiobacillus ferrooxidans* is regulated by an atypical ArsR protein. *Microbiology* 148:3983-3992.
5. Cai, J., K. Salmon y M.S. DuBow (1998) A chromosomal *ars* operon homologue of *Pseudomonas aeruginosa* confers increased resistance to arsenic and antimony in *Escherichia coli*. *Microbiology* 144:2705-2713.
6. Chen, C.M., T.K. Misra, S. Silver y B.P. Rosen (1986) Nucleotide sequence of the structural genes for an anion pump. The plasmid-encoded arsenical resistance operon. *J Biol Chem* 261:15030-15038.
7. Cuebas, M., A. Villafane, M. McBride, N. Yee y E. Bini (2011) Arsenate reduction and expression of multiple chromosomal *ars* operons in *Geobacillus kaustophilus* A1. *Microbiology* 157:2004-2011.

8. Diorio, C., J. Cai, J. Marmor, R. Shinder y M.S. DuBow (1995) An *Escherichia coli* chromosomal *ars* operon homolog is functional in arsenic detoxification and is conserved in gram-negative bacteria. *J Bacteriol* 177:2050-2056.
9. Drewniak, L., L. Dziewit, M. Cieczkowska, J. Gawor, R. Gromadka y A. Sklodowska (2013) Structural and functional genomics of plasmid pSinA of *Sinorhizobium* sp. M14 encoding genes for the arsenite oxidation and arsenic resistance. *J Biotechnol* 164:479-488.
10. Freel K.C. y col. (2015) Adaptation in toxic environments: Arsenic genomic islands in the bacterial genus *Thiomonas*. *PLOS One* 10: E0139011.
11. Gihring, T.M., P.L. Bond, S.C.Peters y J.F. Banfield (2003) Arsenic resistance in the archaeon "*Ferroplasma acidarmanus*": new insights into the structure and evolution of the *ars* genes. *Extremophiles* 7:123-130.
12. Hedges, R.W. y S. Baumberg (1973) Resistance to arsenic compounds conferred by a plasmid transmissible between strains of *Escherichia coli*. *J Bacteriol* 115:459-460.
13. Ji, G. y S. Silver (1992) Regulation and expression of the arsenic resistance operon from *Staphylococcus aureus* plasmid pI258. *J Bacteriol* 174:3684-3694.
14. Jiang, H. y col. (2015) Effects of arsenite resistance on the growth and functional gene expression of *Leptospirillum ferriphilum* and *Acidithiobacillus thiooxidans* in pure culture and coculture. *Biomed Res Int* 2015:203197.
15. Li, X. y L.R. Krumholz (2007) Regulation of arsenate resistance in *Desulfovibrio desulfuricans* G20 by an *arsRBCC* operon and an *arsC* gene. *J Bacteriol* 189:3705-3711.
16. Lin, Y.F., A.R. Walmsley y B.P. Rosen (2006) An arsenic metallochaperone for an arsenic detoxification pump. *Proc Natl Acad Sci USA* 103:15617-15622.
17. López-Maury, L., F.J. Florencio y J.C. Reyes (2003) Arsenic sensing and resistance system in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. strain PCC 6803. *J Bacteriol* 185:5363-5371.

18. Mobley, H.L. y B.P. Rosen (1982) Energetics of plasmid-mediated arsenate resistance in *Escherichia coli*. Proc Natl Acad Sci USA 79:6119-6122.
19. Mukhopadhyay, R., B.P. Rosen, L.T. Phung y S. Silver (2002) Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes. FEMS Microbiol Rev 26:311-325.
20. Muller, D. y col. (2007) A tale of two oxidation states: bacterial colonization of arsenic-rich environments. PLOS Genetics 3:e53.
21. Neyt, C., M. Iriarte, V.H. Thi y G.R. Cornelis (1997) Virulence and arsenic resistance in *Yersinia*. J Bacteriol 179:612-619.
22. Novick, R.P. y C. Roth (1968) Plasmid-linked resistance to inorganic salts in *Staphylococcus aureus*. J Bacteriol 95:1335-1342.
23. Ordóñez, E., M. Letek, N. Valbuena, J.A. Gil y L.M. Mateos (2005) Analysis of genes involved in arsenic resistance in *Corynebacterium glutamicum* ATCC 13032. Appl Environ Microbiol 71:6206-6215.
24. Páez-Espino, A.D., G. Durante-Rodríguez y V. de Lorenzo (2015) Functional coexistence of twin arsenic resistance systems in *Pseudomonas putida* KT2440. Environ Microbiol 17:229-238.
25. Prithivirajasingh, S., S.K. Mishra y A. Mahadevan (2001) Detection and analysis of chromosomal arsenic resistance in *Pseudomonas fluorescens* strain MSP3. Biochem Biophys Res Commun 280:1393-1401.
26. Rosen, B.P. (1999a) Families of arsenic transporters. Trends Microbiol 7:207-212.
27. Rosen, B.P. (1999b) The role of efflux in bacterial resistance to soft metals and metalloids. Essays Biochem 34:1-15.
28. Rosen, B.P. y Z. Liu (2009) Transport pathways for arsenic and selenium: a minireview. Environ Int 35:512-515.
29. Ryan, D. y E. Colleran (2002) Arsenical resistance in the IncHI2 plasmids. Plasmid 47:234-240.
30. Saltikov, C.W., A. Cifuentes, K. Venkateswaran y D.K. Newman (2003) The *ars* detoxification system is advantageous but not required for As(V) respiration by the genetically tractable *Shewanella* species strain ANA-3. Appl Environ Microbiol 69:2800-2809.

31. Sato, T. y Y. Kobayashi (1998) The *ars* operon in the skin element of *Bacillus subtilis* confers resistance to arsenate and arsenite. *J Bacteriol* 180:1655-1661.
32. Silver, S. y D. Keach (1982) Energy-dependent arsenate efflux: the mechanism of plasmid-mediated resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 79:6114-6118.
33. Silver, S. y L.T. Phung (2005) Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic. *Appl Environ Microbiol* 71:599-608.
34. Suzuki, K., N. Wakao, T. Kimura, K. Sakka y K. Ohmiya (1998) Expression and regulation of the arsenic resistance operon of *Acidiphilium multivorum* AIU 301 plasmid pKW301 in *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 64:411-418.
35. Tuffin, I.M., P. de Groot, S.M. Deane y D.E. Rawlings (2005) An unusual Tn21-like transposon containing an *ars* operon is present in highly arsenic-resistant strains of the biomining bacterium *Acidithiobacillus caldus*. *Microbiology* 151:3027-3039.
36. Wang, G., S.P. Kennedy, S. Fasiludeen, C. Rensing y S. DasSarma (2004) Arsenic resistance in *Halobacterium sp.* strain NRC-1 examined by using an improved gene knockout system. *J Bacteriol* 186:3187-3194.
37. Wang, L., B. Jeon, O. Sahin y Q. Zhang (2009) Identification of an arsenic resistance and arsenic-sensing system in *Campylobacter jejuni*. *Appl Environ Microbiol* 75:5064-5073.
38. Yang, H.C., H.L. Fu, Y.F. Lin y B.P. Rosen (2012) Pathways of arsenic uptake and efflux. *Curr Top Membr* 69:325-358.
39. Yang, H.C. y B.P. Rosen (2016) New mechanisms of bacterial arsenic resistance. *Biomed J* 39:5-13.
40. Zhao, C., Y. Zhang, Z. Chan, S. Chen y S. Yang (2015) Insights into arsenic multi-operons expression and resistance mechanisms in *Rhodospseudomonas palustris* CGA009. *Front Microbiol* 6:986.
41. Zhu, Y.G., M. Yoshinaga, F.J. Zhao y B.P. Rosen (2014) Earth abides arsenic biotransformations. *Annu Rev Earth Planet Sci* 42:443-467.