

### ANÁLISIS TRANSCRIPCIONAL DE GENES DEL METABOLISMO CENTRAL DE CARBONO EN MUTANTES DE *Escherichia coli* INACTIVADAS EN EL GENE *ptsG*.

Martha Gómez, Noemí Flores, Guillermo Gosset, Francisco Bolivar y José Luis Báez-Viveros.  
 Correspondencia: Av. Universidad 1001, Centro de Investigación en Biotecnología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Fax (777)329 70 30. Email: [jibaez@uaem.mx](mailto:jibaez@uaem.mx)

Palabras clave: *PTS*, *ptsG*, *regulon mlc*

**Introducción.** El componente EIICB<sup>Glc</sup> (gene *ptsG*) tiene un papel muy relevante dentro del Sistema de Transporte Fosfotransferasa (PTS), debido a que es el principal transportador de glucosa en *E. coli*. Asimismo, constituye el sensor de glucosa y participa en la transducción de esta señal mediante el secuestro de la proteína represora Mlc (1). En el presente estudio, se investigaron las respuestas transcripcionales de los genes del regulón Mlc y de otros genes del metabolismo central de carbono a la inactivación del principal transportador de glucosa (gene *ptsG*).

**Metodología.** La mutación  $\Delta ptsG$  fue transducida por fago P1 de la cepa donadora W3110*ptsG*<sup>-</sup> a las cepas receptoras: JM101(*PTS*<sup>+</sup>), PB11(*PTS*<sup>-</sup>) y PB12(*PTS*<sup>-</sup> Glc<sup>+</sup>). Las cepas transductantes se designaron como JM101*ptsG*<sup>-</sup>, PB11*ptsG*<sup>-</sup> y PB12*ptsG*<sup>-</sup> (Tabla 1) y se caracterizaron fisiológicamente en medio M9 adicionado con glucosa (10 g/l) y extracto de levadura (5 g/l), determinándose las velocidades específicas de crecimiento ( $\mu$ ) y de consumo de glucosa ( $q_s$ ). Se tomaron muestras para extraer RNA total. A partir del cual se sintetizó el cDNA de genes del metabolismo central de carbono, y éste se utilizó como molde para los experimentos de PCR en tiempo real (RT-PCR).

**Resultados y discusión.** La  $\mu$  de las cepas PB11 y PB11*ptsG*<sup>-</sup> disminuyó 44% y 51%, respectivamente, a diferencia de las cepas PB12 y PB12*ptsG*<sup>-</sup> en las cuales no disminuyó significativamente, con respecto a la JM101 (Tabla 1). Al inactivar el gene *ptsG* no se observaron diferencias significativas en las  $\mu$  al menos en este medio.

Tabla 1. Cepas utilizadas en este estudio. Velocidades específicas de crecimiento ( $\mu$ ) y de consumo de glucosa ( $q_s$ ).

Cepas	$\mu$ (h <sup>-1</sup> )	$\mu$ (%)	$q_{Glc}$ (g/g-peso seco*h)	$q_{Glc}$ (%)
JM101	0.70	100	10.42	100
JM101 <i>ptsG</i> <sup>-</sup>	0.68	97	5.66	54
PB11	0.39	56	2.31	22
PB11 <i>ptsG</i> <sup>-</sup>	0.34	49	1.25	12
PB12	0.66	94	8.41	81
PB12 <i>ptsG</i> <sup>-</sup>	0.67	96	6.44	62

Por otro lado, la  $q_{Glc}$  de la JM101*ptsG*<sup>-</sup> disminuyó significativamente, comparado con la JM101. No hubo

cambios significativos en las  $q_{Glc}$  de las cepas PB11*ptsG*<sup>-</sup> y PB12*ptsG*<sup>-</sup>, con respecto a las cepas de referencia.

En la figura 1 se observan los perfiles de transcripción relativa de los genes del metabolismo central de *E. coli* en las cepas JM101*ptsG*<sup>-</sup>, PB11, PB11*ptsG*<sup>-</sup>. El valor de transcripción de la cepa de referencia JM101 se normalizó a 1. En azul se muestran los genes reprimidos y en rojo los genes que fueron inducidos.

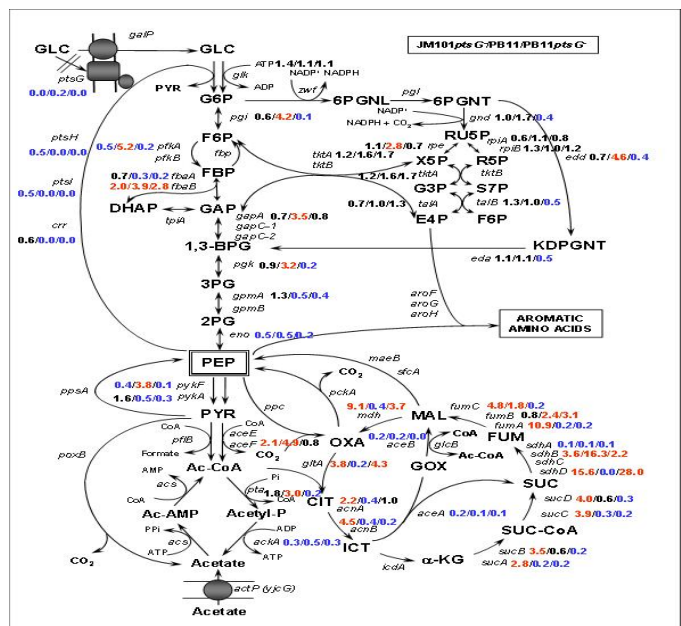


Fig.1. Niveles de expresión relativa de genes del metabolismo central de carbono para JM101*ptsG*<sup>-</sup>, PB11 y PB11*ptsG*<sup>-</sup>.

**Conclusiones.** La inactivación del gene *ptsG* en la cepa JM101 sobreexpresa la mayoría de los genes del Ciclo de Krebs (*gltA*, *acnAB*, *sucABCD*, *sdhBD*, *fumABC*, *mdh*), mientras los genes glicolíticos *pfkA*, *eno*, y *pykF* son reprimidos.

**Agradecimientos.** Beca otorgada proveniente de la convocatoria de la investigación científica SEP-CONACYT 2007 (proyecto 84782).

**Bibliografía.**

1. Tanaka Y, Kimata K, Aiba H. (2000). A novel regulatory role of glucose transporter of *Escherichia coli*: membrane sequestration of a global repressor Mlc. *EMBOJ.* 19(20): 5344-5352.