



EL FACTOR SIGMA AlgU Y CydR REGULAN NEGATIVAMENTE LA LOCOMOCIÓN EN *Azotobacter vinelandii*.

Renato León-Rodríguez, Josefina Guzmán, Soledad Moreno y Guadalupe Espín. Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM. Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, Morelos, 62250, MÉXICO. Fax: (777) 313-88-11, e-mail: rnato10@yahoo.com.mx

Palabras clave: *flagelo*, *flhDC*, *cydR*.

Introducción *A. vinelandii* es una bacteria que fija nitrógeno (N₂), presenta flagelos peritricos y forma quistes resistentes a la desecación. Al entrar en enquistamiento deja de fijar N₂, pierde sus flagelos, y requiere de alginato, polímero de interés industrial. Por su participación en el quiste y su importancia económica, estudiamos la regulación genética de la biosíntesis del alginato en *A. vinelandii*. Se encontró que el factor sigma AlgU (σ^E), transcribe los genes estructurales del alginato. Además en datos preliminares, se descubrió que σ^E también modula la locomoción de *A. vinelandii* y lo hace de manera negativa. En *E. coli*, para la expresión de genes flagelares se requiere de FlhDC junto con σ^{70} (1). En *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria relacionada filogenéticamente a *A. vinelandii*, el que inicia la expresión de genes flagelares es FleQ y σ^{54} (2).

El objetivo de este trabajo fue determinar como el factor σ^E modula la locomoción de *A. vinelandii*.

Metodología. Se utilizó la secuencia del genoma de *A. vinelandii* para buscar genes homólogos a los flagelares y secuencias consenso para elementos de regulación en estos genes. La mutación de genes se hizo con casetes de resistencia a antibióticos, La expresión de genes se analizó por Northern blot y RT-PCR cuantitativo. El nado se determinó en cajas de agar suave, y la observación de flagelos fue por microscopía electrónica.

Resultados y discusión. Lo primero que se documentó, es que el efecto negativo de σ^E sobre la locomoción de *A. vinelandii*, es por la represión de la generación del flagelo. Después se identificó los genes flagelares de esta bacteria, mediante alineamientos del tipo tblas. Se encontraron alrededor de 60 genes flagelares en *A. vinelandii*, a pesar de que contiene los homólogos a *flhDC*, y a *fleN-fleQ*, solo el sistema FlhDC es el que inicia la expresión de los genes flagelares. Los genes *flhDC* forman un operón y su expresión es afectada negativamente por σ^E . Mediante un análisis *in silico*, de la región de regulación del operón *flhDC*, se encontró unas secuencias consenso para la unión de FnR. FnR es homólogo a CRP y actúa como un represor en *E. coli*. En

A. vinelandii existe CydR y es homóloga a FnR. CydR reprime la transcripción de los genes *cydAB*, que codifican para el citocromo *bd*, que se requiere en la fijación de nitrógeno en crecimiento aeróbico (3). Las secuencias de unión a CydR que están en la región de regulación de los genes *cydAB* son muy similares a las que están en la zona de regulación del operón *flhDC*. El gen *cydR*, en su zona de regulación presenta secuencias consenso de promotores dependientes de σ^E , al analizar la expresión de *cydR*, observamos que σ^E tiene un efecto positivo en su transcripción, por otra parte la mutante en *cydR*, presenta mayor nado que la silvestre, sugiriendo que CydR es el intermediario de σ^E para reprimir el nado de *A. vinelandii*. Con estos datos y los que existen en la literatura proponemos una cascada de regulación negativa por parte de σ^E en la generación del flagelo y la fijación de nitrógeno al entrar al enquistamiento en *A. vinelandii*, donde σ^E esta arriba de CydR, el cual a su vez actúa como represor de la expresión de los operones *cydAB* y *flhDC*.

Conclusiones. El factor σ^E a través de CydR modula de manera negativa el operón *flhDC* y en consecuencia reprime el nado de *A. vinelandii*.

Agradecimientos. R.L.R. para la realización de este trabajo contó con la beca 113974 del CONACyT .

Bibliografía

- 1.- Macnab, R. M. 1996. Flagella and motility. p. 123-145. In F. C. Neidhart et al., (ed.) *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: cellular and molecular biology. 2nd ed. ASM Press, Washington, D. C.
- 2.- Arora, S., B. W. Ritchings, E. C. Almira, S. Lory and R. Ramphal. 1997. A transcriptional activator, FleQ, regulates mucin adhesion and flagellar gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* in a cascade Manner. *J. Bacteriol.* 179: 5574-5581.
- 3.- Wu, G., H. Cruz-Ramos, S. Hill, J. Green, G. Sawers and R. K. Poole. 2000. Regulation of cytochrome *bd* expression in the obligate aerobe *Azotobacter vinelandii* by CydR (FnR). *J Biol. Chem.* 275: 4679-4686.