

### REGULACIÓN GENÉTICA DE LA PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS FENÓLICOS DURANTE EL PROCESO DE DIFERENCIACIÓN EN *Azotobacter vinelandii*.

Yanet Romero, Daniel Segura, Soledad Moreno, Josefina Guzmán y Guadalupe Espín. Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM. Apdo. Postal 510-3. Cuernavaca, Morelos, CP 62210, Tel. (777) 3-291629. Fax. (777) 3-172388. yanetr@ibt.unam.mx

Palabras claves: *Enquistamiento, lípidos fenólicos, regulación.*

**Introducción.** *Azotobacter vinelandii* es una bacteria Gram-negativa que sufre un proceso de diferenciación, resultando en la formación de quistes (1). Los quistes son células rodeadas por una capsula formada por una capa externa llamada exina y una capa interna llamada intina. Durante este proceso de diferenciación se sintetizan 5-alquilresorcinoles, una familia de lípidos fenólicos que se acumulan en la exina y rempazan los fosfolípidos de la membrana (2). Se ha reportado que en biosíntesis de alquilresorcinoles participan las proteínas codificadas por los genes del operon *arsABCD* (3). Sin embargo, poco se sabe acerca de su regulación genética.

**Metodología.** Para estudiar la participación de reguladores globales en el control de la síntesis de alquilresorcinoles se generaron mutantes en los genes correspondientes mediante la inserción de cassettes de resistencia a antibióticos. La expresión de *arsA* y *arsR* fue determinada por fusión transcripcional *arsA::gusA* y RT-PCR en tiempo real. Los sitios de inicio de la transcripción de *arsA* fueron identificados por experimentos tipo "primer extension".

**Resultados y discusión.** En este estudio, determinamos la regulación de la expresión de los genes *ars* utilizando una fusión transcripcional *arsA::gusA* y RT-PCR en tiempo real. Encontramos que la expresión de *arsA* fue inducida (14 veces) en células vegetativas a largos periodos de tiempo, cuando sólo un bajo porcentaje del cultivo llegó a formar quistes maduros (menos del 0.001%), mientras que en cultivos inducidos a enquistamiento, observamos una inducción de hasta 200 veces, que corresponde con el incremento en la síntesis de alquilresorcinoles. Identificamos un regulador transcripcional del tipo LysR, denominado *ArsR*, que está involucrado en la activación de la transcripción de *arsA*. Encontramos también que reguladores globales implicados en la regulación de la síntesis de los otros componentes del quiste (alginato y poli-β-hidroxitirato), están también involucrados en el control de la síntesis de alquilresorcinoles (Fig. 1). Los reguladores globales que controlan la expresión de *arsA* son el sistema de dos componentes GacS/GacA, el factor sigma RpoS y el sistema CsrA/CsrB (RsmA/RsmB) (Fig. 2). Se determinó que en el gen *arsA* existen dos sitios de inicio de la

transcripción, P1 y P2, siendo P2 el principal punto de regulación sobre el cual actúan los reguladores identificados.

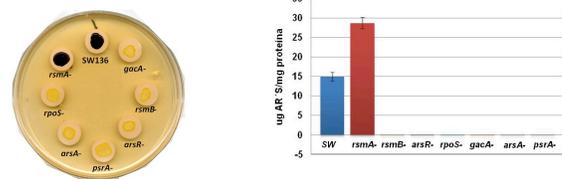


Fig. 1. Fenotipo y producción de alquilresorcinoles en la cepa silvestre (SW) y en las distintas cepas mutantes.

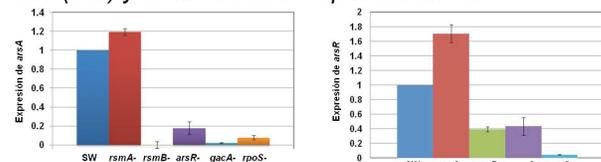


Fig. 2. Expresión relativa de *arsA* y *arsR* en la cepa silvestre (SW) y en las cepas mutantes.

**Conclusiones.** Proponemos que los reguladores globales ejercen su efecto sobre la expresión de *arsA* a través de controlar la expresión de *arsR* (Fig. 3).

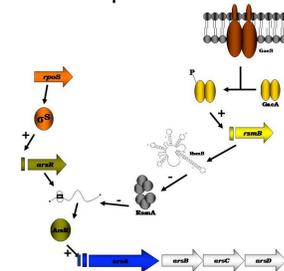


Fig. 3. Modelo de regulación propuesto para la expresión de los genes *ars* en *Azotobacter vinelandii*.

#### Bibliografía.

1. Lin L P and Sadoff H. A. 1968. Encystment and polymer production by *A. vinelandii* in the presence of β-hidroxybutyrate. *J. Bacteriol.* **95**:2336-2343. *genes ars en Azotobacter vinelandii.*
2. Reusch R N and Sadoff H L. 1979. 5-*n*-Alkylresorcinols from encysting *Azotobacter vinelandii*: isolation and characterization. *J. Bacteriol.* **139**:448-453.
3. Funa N, Ozawa H, Hirata A and Horinouchi S. 2006. Phenolic lipid synthesis by type III poliketide synthases is essential for cyst formation in *Azotobacter vinelandii*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **103**:6356-6361.