

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-alkilresorcinoles, 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 alkilresorcinoles 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 alkilresorcinoles 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 alkilresorcinoles. 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-hidroxibutirato), están también involucrados en el control de la síntesis de alkilresorcinoles (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.

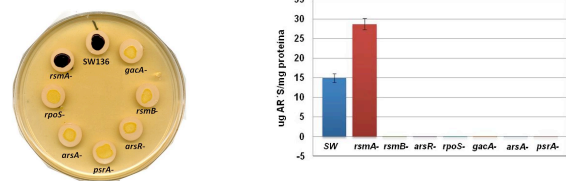


Fig. 1. Fenotipo y producción de alkilresorcinoles en la cepa silvestre (SW) y en las distintas cepas mutantes.

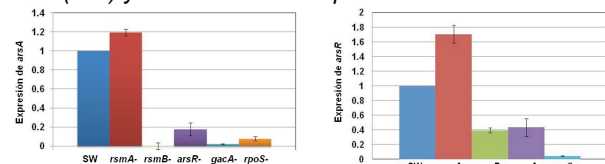


Fig. 2. Expresión relativa de *arsA* y *arsR* en la cepa silvestre (SW) y en las cepas mutantes.

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

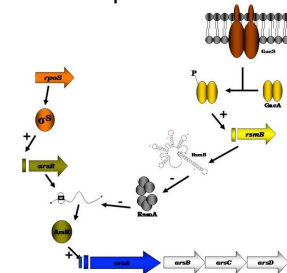


Fig. 3. Modelo de regulación propuesto para la expresión de los genes *ars* en *Azotobacter vinelandii*.

Bibliografía.

1. Lin L P and Sadoff H. A. 1968. Encystment and polymer production by *A. vinelandii* in the presence of β-hydroxybutyrate. *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 polyketide synthases is essential for cyst formation in *Azotobacter vinelandii*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **103**:6356-6361.