



ESTUDIO SOBRE LA REGULACIÓN GENÉTICA DE LA PRODUCCIÓN DE LÍPIDOS FENÓLICOS EN *Azotobacter vinelandii*.

Yanet Romero., Daniel Segura, Soledad Moreno, y Guadalupe Espín.

Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, UNAM. Apdo. Postal 510-3. Cuernavaca Morelos. CP 62271, Tel. (777)3-291629.

Fax (777)3-172388. yanetr@ibt.unam.mx

Palabras clave: lípidos fenólicos, enquistamiento, *Azotobacter vinelandii*.

Introducción. Los alquilresorcinolos (AR's) son lípidos fenólicos que se encuentran en una gran diversidad de organismos, participando principalmente en sus sistemas de defensa, ya que presentan actividades como antifúngicos, antibacteriales o antiparasitarios (1). *Azotobacter vinelandii* es una bacteria que produce AR's de cadena larga cuando lleva a cabo el proceso de diferenciación morfológica en el que se forman quistes resistentes a la desecación (4). Los AR's reemplazan a los fosfolípidos de las membranas de células vegetativas llegando a constituir el 95% de los lípidos en las membranas del quiste (3). Además, los AR's son un componente estructural de la cápsula del quiste, y se ha sugerido que son importantes para la resistencia a la desecación o para la protección contra organismos depredadores (1). A través de la mutagénesis con un Tn5*gusA* de *A. vinelandii* se identificó un grupo de 11 genes (*arsA* a *arsK*) cuya inactivación afecta la producción AR's, pues están involucrados en su síntesis (5). Además se identificó una mutante afectada en el gene *arsR*, el cual codifica para un regulador transcripcional tipo LysR. Mutantes afectadas en otros genes que codifican para reguladores globales, como el sistema de dos componentes GacS/GacA, y factores sigma como AlgU y RpoS, se ha observado que están afectadas en la producción de AR's. Proponemos que estos genes están involucrados en la regulación la expresión de los genes biosintéticos de AR's. Debido a que *arsA*, que codifica para la primera enzima en la ruta biosintética de AR's (2), es el gen que encabeza al grupo de genes biosintéticos, en este trabajo nos propusimos estudiar de qué manera están involucrados *arsR* y los reguladores globales en el control de la expresión genética de *arsA*.

Metodología. Se construyeron fusiones transcripcionales del gen reportero *gusA* bajo el control del promotor de *arsA* (*arsAp::gusA*) o *arsR* (*arsRp::gusA*). Se transfirió la construcción a la cepa silvestre (SW136) y a la cepa mutante en *algU* (UW136) y se incubaron en medio para crecimiento vegetativo (BS) y medio de inducción a enquistamiento (BOH). Se clonó la región codificante de *arsR* en vector de expresión para su posterior purificación y realizar ensayos de retardamiento.

Resultados y discusión. La fusión transcripcional *arsAp::gusA* nos permitió observar que la expresión del gene *gusA* se induce sólo en aquellas células en las que se promueve a enquistamiento y no en células vegetativas (Fig 1) lo que indica que la producción de AR's se controla mediante la regulación de la transcripción del gene *arsA* al menos. La fusión *arsAp::gusA* en la cepa UW136 (*algU*-) sugiere que el gene *algU* no tiene ningún papel de regulación

sobre *arsA*, ya que la inactivación de *algU* no refleja algún cambio en la actividad de *gusA* con respecto a la cepa silvestre (Fig. 2).

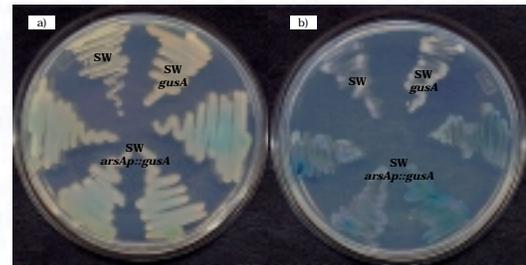


Fig. 1. Detección de la actividad de *gusA* bajo el control del promotor *arsA*. Cepas conjugantes SW136 incubadas en medio BS a), y en BOH b).

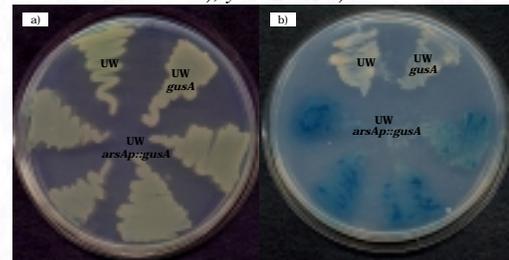


Fig. 2 Detección de la actividad de *gusA* bajo el control del promotor *arsA*. Cepas conjugantes UW136 incubadas en medio BS a), y en BOH b).

Conclusiones. El gene *arsA* es un gene marcador de enquistamiento ya que su expresión se induce durante el enquistamiento y no en células vegetativas. El gene *algU* no regula la expresión de *arsA* ya que en la mutante no se provocó ningún cambio en la actividad de *gusA*.

Agradecimiento. A CONACYT.

Bibliografía.

1. Kozubek A. and Tyman J. 1999. Resorcinolic lipids, the natural non-isoprenoid phenolic amphiles and their biological activity. *Chemical Review*. 99(1):1-25.
2. Nobutaka F, Hiroki O, Aiko H. and Suehara H. 2006. Phenolic lipid synthesis by type III poliketide synthases is essential for cyst formation in *Azotobacter vinelandii*. *PNAS*. 103:6356-6361.
3. Reush N. R. and Sadoff H.L. 1983. Novel lipid components of the *Azotobacter vinelandii* cyst membrane. *Nature*. 302:268-270.
4. Vela G. R. 1974. Survival of *Azotobacter* in dry soil. *Appl Microbiol*. 28:77-79.
5. Vite O. 2003. Identificación y caracterización de genes involucrados en la síntesis de lípidos alquilresorcinolos en *Azotobacter vinelandii*. Tesis de licenciatura en Biología, Universidad Autónoma del Estado de Morelos. 1-5.