



REGULACION DE LA PRODUCCION DE NANOCABLES BACTERIANOS

Katy Juárez¹, Leticia Olvera¹, Enrique Morett¹, Derek Lovley² y Francisco Bolivar¹. 1 Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. 2. University of Massachusetts, Morrill Science IVN, Amherst, MA, USA.

fax: 52 777 3291601, katy@ibt.unam.mx

Palabras clave: Geobacter sulfurreducens, nanocables bacterianos

Introducción. *Geobacter sulfurreducens* es una bacteria del subsuelo capaz de acoplar la respiración anaeróbica a la reducción microbiana de metales. Característica que le permite generar electricidad a partir de la oxidación de compuestos orgánicos y transferir los electrones resultantes de dicha oxidación a electrodos, constituyendo una fuente alternativa de energía renovable (1).

Se ha demostrado que los pili de *G. sulfurreducens* presentan la capacidad de ser conductores de la electricidad y comportarse como nanocables (2). Se requiere de numerosos genes para la biogénesis del pili, entre los que se encuentran *pilA*, que codifica para la proteína estructural o pilina, *pilR* y *pilS*, los cuales constituyen un sistema regulador de dos componentes que participa de manera directa en la expresión de *pilA* (3) y otros genes como *pilB*, *pilT* y *pilC* cuyos productos intervienen en la secreción y ensamblaje del pili. La producción de estos nanocables microbianos así como la expresión de *pilA*, se encuentran estrictamente reguladas en estos microorganismos como lo demuestra una recopilación de estudios genéticos, análisis de proteoma y transcriptoma con diversas mutantes en reguladores globales que intervienen modulando su expresión. Nuestro objetivo es elucidar los mecanismos de regulación que intervienen en la formación del pili y manipular los genes involucrados en dichos procesos con el fin de obtener un incremento en la producción de electricidad.

Metodología. Se empleó la técnica de 5'RACE para la determinación de los inicios de transcripción de *pilA*. Se construyeron de fusiones transcripcionales y traduccionales, con las que se evaluará el efecto de las mutaciones en los reguladores globales identificados previamente que afectan la expresión de la pilina. También se empleó la técnica de qRT-PCR para cuantificar los dos inicios de transcripción identificados e involucrados en la expresión de *pilA*.

Resultados y discusión. Se realizó un análisis de los datos obtenidos con microarreglos realizados con mutantes en reguladores globales y diversas condiciones medio ambientales en las que se ve afectada la expresión de los genes que intervienen en la formación del pili en *G. sulfurreducens*. Se puede inferir mediante dichos análisis, que la regulación de la expresión de *pilA* es muy compleja y que participan numerosos reguladores, algunos de manera directa como PilR y algunos posiblemente de manera indirecta, entre los que se encuentran RelA y los 2 homólogos de FNR-CRP identificados en esta bacteria. Se identificaron dos inicios de transcripción que participan en la expresión de *pilA*. Uno dependiente de PilR, el cual

coincide con el promotor con una secuencia consenso -12/-24 típica de promotores transcritos por el factor sigma alternativo RpoN, y un segundo inicio que se encuentra dentro de la región codificadora de la pilina al parecer no dependiente de RpoN-PilR, el cual da origen a una proteína mas pequeña. Cabe mencionar que mediante el análisis de espectrometría de masas de la pilina, se encontraron péptidos que corresponden tanto a la proteína de mayor tamaño cuyo transcrito provendría de la expresión donde interviene RpoN y PilR, como péptidos cuya expresión podría provenir del segundo inicio transcripcional. del cual, actualmente estamos investigando los factores intervienen en su síntesis mediante fusiones traduccionales. Además, estamos tratando de elucidar en qué condiciones se expresa el transcrito que daría origen a una pilina con un péptido líder mas largo y que implicaciones tiene, de igual manera, determinaremos cuándo se expresa el transcrito que da origen a la proteína pequeña y que implicaciones podría tener en la producción de los nanocables bacterianos.

Conclusiones.

- El análisis de varios microarreglos obtenidos con mutantes en reguladores globales, así como microarreglos realizados en diversas condiciones medioambientales revelaron que la regulación de la expresión del pili es muy compleja y que participan varios reguladores.
- Se identificaron dos inicios de transcripción para *pilA*, uno dependiente de RpoN y otro dentro de la región codificadora, lo que da origen a dos proteínas de diferente tamaño.
- La sobreexpresión en *trans* de *pilR* resulta en un incremento de la formación de biopelícula, posiblemente por una sobreexpresión de *pilA*.

Agradecimiento.

Proyecto financiado en parte por Dirección General de Asuntos del Personal Académico, PAPIIT IN215207.

Bibliografía.

1. Lovley, D.R. (2006). Bug Juice:harvesting electricity with microorganisms. Nat Rev Microbiol. 4(7):497-508.
2. Reguera, G. McCarthy, KD: Mehta, T. Nicoll, J:S: Tuominen, M.T., Lovley, D. R. (2005) Extracellular electron transfer via microbial nanowires. Nature 435:1098-101.
3. Juarez, K., Byoung-Chan, K., Nevin, K. Olvera, L. Reguera, G. Lovley, D. Methe, B. PilR a transcriptional regulator for pilin and other genes required for Fe(III) reduction in *Geobacter sulfurreducens*. En revisión.