



ESTUDIO DE LOS GENES *fleQ* y *fleN* DE *Azotobacter vinelandii*.

Nashbly Rosas, Renato León, Josefina Guzmán, y Guadalupe Espín

Departamento de Microbiología Molecular, Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Apdo. Postal 510-3, Cuernavaca, Morelos, 62250, MÉXICO.

Fax: (777) 317-23-88, e-mail: neshville_e@yahoo.com.mx

Palabras clave: *fleQ*, *fleN*, *A. vinelandii*.

Introducción. En *Escherichia coli*, los genes flagelares para el inicio de su transcripción requieren del activador transcripcional FlhDC (heterotetrámero) junto con σ^{70} (1). En *Pseudomonas aeruginosa*, bacteria relacionada filogenéticamente a *A. vinelandii*, el que inicia la cascada de expresión de genes flagelares es FleQ y σ^{54} (2), la actividad de FleQ es regulada negativamente por la proteína FleN (3), al sobreexpresar *fleQ* o mutar *fleN* las células se hiperflagelan. En bacterias patógenas, el flagelo genera problemas clínicos porque constituye un factor de virulencia, se podrían generar fármacos u otros elementos que eviten la formación o inactiven el funcionamiento del flagelo, pero para ello se tiene que estudiar a detalle que elementos lo constituyen y como funcionan. *A. vinelandii* tiene en su genoma los genes que codifican para los reguladores maestros de *E. coli* y *P. aeruginosa*. Nosotros estamos interesados en estudiar los genes maestros de la biogénesis del flagelo en *A. vinelandii*, para conocer más sobre esta estructura y porque esta bacteria tiene importancia económica por la producción de alginato. En este trabajo nos enfocamos principalmente a *fleN* y *fleQ*.

Metodología. Los genes *fleQ* y *fleN* de *A. vinelandii* se introducirán en *trans* a *P. aeruginosa*, se analizará el efecto de la sobreexpresión de estos genes en el nado (cajas de agar suave) y en la generación del número de flagelos (microscopía electrónica).

Resultados y discusión. *A. vinelandii*, es la primera bacteria que se conoce que tenga dos sistemas de genes maestros (*flhD-flhC* y *fleQ-fleN*), para el inicio de la expresión de genes flagelares. Por RT-PCR sabemos que se expresan los genes maestros de ambos sistemas y mediante la inactivación de genes de ambos sistemas, observamos que solo FlhDC es el encargado de iniciar la expresión de los genes flagelares en células vegetativas de *A. vinelandii*. Para saber si los genes *fleQ* y *fleN* participan en la expresión de genes flagelares en otras condiciones o regulan otro tipo de genes, estamos determinando si *fleQ* y *fleN* de *A. vinelandii* generan proteínas funcionales, para esto ya se tiene clonados los genes *fleQ* y *fleN* en el plásmido pUCP20 el cual se replica en *P. aeruginosa* y además tiene un promotor inducible. Se procederá a transferir estas construcciones a *P.*

aeruginosa y en el congreso mostraremos los resultados del efecto de la sobreexpresión de estos genes en el nado y el número de flagelos de *P. aeruginosa*.

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.- Dasgupta, N., and R. Ramphal. Interaction of the antiactivator FleN with the transcriptional activator FleQ regulates flagellar number in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 183: 6636-6644.