

# EL FACTOR $\sigma^E$ REGULA NEGATIVAMENTE LA LOCOMOCIÓN EN *Azotobacter vinelandii*.

Renato León-Rodríguez, 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) 313-88-11, e-mail: renato@ibt.unam.mx

Palabras clave: locomoción, *algU*, *Azotobacter vinelandii*.

**Introducción** *A. vinelandii* es una bacteria Gram-negativa del suelo, fija nitrógeno, en su ciclo de vida presenta una fase vegetativa y otra en forma de quiste, esta última resiste a la desecación. Las células vegetativas presentan flagelos peritricos los cuales se pierden al entrar en enquistamiento. En la generación de los quistes la bacteria utiliza alginato y poli- $\gamma$ -hidroxibutirato (PHB), estos polímeros son de interés industrial. En nuestro laboratorio se estudia la regulación genética de la producción de estos polímeros y del enquistamiento en *A. vinelandii*. En nuestros estudios se ha determinado que los genes *algU*, *mucA* codifican para proteínas que están regulando la síntesis de alginato y el enquistamiento, el primer gen codifica un factor sigma ( $\sigma^E$ ) y *MucA* es un antisigma, el cual regula negativamente a  $\sigma^E$  (1). Observaciones preliminares en el microscopio óptico indican que estas proteínas también están regulando la locomoción de *A. vinelandii*. En el presente trabajo se ha comenzado a estudiar como se da la represión del movimiento por parte de  $\sigma^E$  en esta bacteria, también se estudiara la actividad de este sigma la fase vegetativa y al inducirse el enquistamiento en esta bacteria.

**Metodología.** Varias bacterias presentan locomoción mediante flagelos (*A. vinelandii* tiene flagelos peritricos), el cual se conoce como “swimming” y “swarming”. En la determinación de “swimming” y “swarming” se utilizaron las cepas: 1) silvestre, 2) *algU*, 3) *mucA*. y se emplearon medios de fase vegetativa (BS, CM, PY) y de inducción al enquistamiento (Burk-Butanol). Se realizó microscopía electrónica de las cepas utilizadas en los ensayos de movimiento. Para determinar el efecto de  $\sigma^E$  en la locomoción de la bacteria, se usó la secuencia del genoma de *A. vinelandii* para buscar y elegir genes homólogos involucrados en la biogénesis y funcionamiento del flagelo, para posteriormente analizarlos mediante RT-PCR o fusiones transcripcionales, cual gen se está afectando su expresión. El gen que sea afectado su expresión, se averiguara si se afecta directa o indirectamente por parte de  $\sigma^E$ . Para analizar la actividad del factor  $\sigma^E$  en la fase vegetativa y al inducir el enquistamiento se realizó una fusión transcripcional en el gen *algC::gusA*, *algC* es un gen estructural de la síntesis de alginato que tiene un promotor dependiente de  $\sigma^E$ .

**Resultados y discusión.** En nuestros resultados determinamos que el “swarming” no se detectó en ninguno de los medios. Mientras que el “swimming” se presentó en los medios BS, CM y Burk-butanol con 0.3% de agar. La ausencia de “swimming” en el medio PY posiblemente sea

porque es un medio rico y las células no necesitan desplazarse para conseguir sus nutrientes, aunque también puede ser que algún componente del medio inhiba este proceso. En los medios donde se presentó “swimming” se observó que, la mutante *algU* tiene mayor locomoción que la cepa silvestre, mientras que la mutante *mucA* no presentó “swimming”. En el medio de inducción al enquistamiento, se observó que la cepa SMU88 sigue presentando “swimming” (menor que en crecimiento vegetativo), mientras que la cepa silvestre lo pierde en este medio, en cuanto a la mutante *mucA* se observó que también careció de movimiento en este medio. Las cepas que se utilizaron en la determinación de “swimming” se les realizó microscopía electrónica en estado vegetativo (medio BS), en nuestros resultados observamos que: La cepa silvestre presenta flagelos, la mutante *mucA* (la cual no presentó “swimming”) carece de ellos, mientras que la mutante en *algU* presenta más flagelos que la silvestre. Nuestros datos sugieren que  $\sigma^E$  está regulando negativamente la biogénesis del flagelo y en consecuencia está reprimiendo la locomoción mediada por flagelo en *A. vinelandii*. Actualmente se está trabajando en la microscopía electrónica de las células en el medio de inducción del enquistamiento. En el estudio del mecanismo de la represión del movimiento por  $\sigma^E$ , se está generando un programa computacional, para buscar secuencias consenso que reconozca este sigma en las regiones de regulación de los genes involucrados en la generación y funcionamiento del flagelo.

**Conclusiones.** Los resultados que tenemos hasta ahora, nos permite decir que: 1) la locomoción en *A. vinelandii* es realizada por flagelos, donde presenta “swimming” y el “swarming” está ausente en las condiciones que probamos. 2) el factor  $\sigma^E$  regula negativamente el movimiento de la bacteria, mediante la represión de la biogénesis del flagelo.

**Agradecimientos.** León-Rodríguez para la realización de este trabajo cuento con la beca 113974 del CONACyT.

## Bibliografía

- 1.- Gaona y Núñez. 2002. Comunicación personal.
- 2.- Martínez-Salazar J. M., S. Moreno, R. Najera, J. C. Boucher, G. Espín, G. Soberón-Chávez and V. Deretic. 1996. *J. Bacteriol.* **178**: 1800-1808.