

IDENTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE GENES INVOLUCRADOS EN LA SÍNTESIS DE LÍPIDOS ALQUILRESORCINOLES EN *Azotobacter vinelandii*.

Odón Vite, Daniel Segura y Guadalupe Espín. Instituto de Biotecnología, UNAM, Av. Universidad 2001, Chamilpa, Cuernavaca, Morelos. Fax: 777-3172388. E-mail: espin@ibt.unam.mx

Palabras clave: Alquilresorcinoles (AR's), Policétido cintaza (PKS).

Introducción. Los alquilresorcinoles (AR's) son lípidos fenólicos homólogos de orcinol, de cadena larga que se presentan en varias familias de plantas, algas y hongos y en algunas especies de bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Mycobacterium* y *Azotobacter*. Dentro del ciclo de vida de *A. vinelandii* estos lípidos se sintetizan sólo durante el cambio de células vegetativas a quistes y representan el 70 % de los lípidos presentes (1).

La ruta de síntesis de AR's no se conoce detalladamente. Existen evidencias que indican que en plantas se sintetizan por una vía tipo síntesis de policétidos. Recientemente se identificaron los genes que codifican para una policétido sintasa (PKS) que sintetiza dialquilresorcinoles en *Pseudomonas aurantiaca*. Los genes que codifican para las proteínas involucradas y los mecanismos de regulación de su biosíntesis en otros organismos no se conocen. El objetivo de este trabajo fue identificar los genes involucrados en la síntesis de AR's en *Azotobacter vinelandii*, determinar el tipo de ruta biosintética que utilizan para su producción y estudiar la importancia de los AR's en el enquistamiento de *A. vinelandii* y la resistencia a desecación.

Metodología. Con la finalidad de identificar los genes involucrados en la síntesis de AR's, se mutagenizó *A. vinelandii* con el transposón *Tn5gusA40* y se identificaron mediante tinción, con el colorante específico para AR's Azul Rápido B, mutantes afectadas en su capacidad de sintetizar AR's. Mediante esta estrategia se aislaron 11 mutantes, de las cuales se caracterizaron 5, que presentaron la menor producción de AR's.

Resultados. La clonación y la secuenciación de los *loci* afectados en las mutantes permitió la identificación del gen *nuoB* que codifica para la subunidad B de la NADH deshidrogenasa I, que participa en el metabolismo respiratorio de *A. vinelandii* (cepa OV1). Se identificó el gen *gor* que codifica para una glutatión reductasa (cepa OV10) aunque no se comprende el papel que juegan los productos de estos dos genes en la síntesis de AR's en *A. vinelandii*. Otro gen identificado (cepa OV7) presentó identidad significativa con reguladores transcripcionales tipo LysR. Este posible regulador de la síntesis de AR's se denominó *arsR*. En cuanto a los genes que codifican para las enzimas biosintéticas, se identificó el gen que codifica para una PKS modular (2), (cepas OV8 y OV11), el cual se denominó *arsA*. Con este resultado se determinó que la ruta de

biosíntesis de AR's en *A. vinelandii*, es a través de una ruta tipo policétidos, la cual presenta similitud con la ruta de biosíntesis de ácidos grasos.

Además del análisis de las mutantes obtenidas por la inserción del *Tn5*, se estudió si las proteínas AlgU, GaA, RpoS, AlgR y la enzima Γ^{III} , que participan en el control de la síntesis de otros compuestos que la bacteria produce durante el enquistamiento, participan en la producción de AR's. Se encontró que las proteínas GacA y RpoS son necesarias para la producción de AR's, por lo que deben de participar en la regulación de su síntesis.

En cuanto a la importancia de los AR's en el proceso de enquistamiento, se determinó que la falta de AR's lleva a la formación de quistes con la exina de la cápsula mal estructurada, lo que provoca la agregación de los quistes, por lo que se comprobó el importante papel estructural que desempeñan estos lípidos en los quistes.

Conclusiones. Se identificó el gen *arsA* que codifica para una PKS tipo I, lo cual sugiere que la vía de biosíntesis de AR's en *A. Vinelandii*, es una ruta de tipo policétidos.

Se identificó también un grupo de genes que pudieran estar involucrados en el metabolismo de AR's.

Se determinó que los AR's juegan un papel estructural importante en la formación de la cápsula de los quistes de esta bacteria.

Agradecimiento. A CONACYT por la beca otorgada. Proyecto # 36276-N.

Bibliografía.

- (1) Reush N. R. and Sadoff H. L. 1983. Novel lipid components of the *Azotobacter vinelandii* cyst membrane. *Nature*. **302**: 268-270
- (2) Hopwood D. A. 1997. Genetic contributions to understanding polyketide synthases. *Chem. Rev.* **97**: 2465-2497.