



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



DINÁMICA DE SWITCHES REGULATORIOS PARA EL USO JERÁRQUICO DE FUENTES DE CARBONO EN *Escherichia coli*.

Ruth Sarahi Pérez-Alfaro, Alejandro Hernández-Morales y Agustino Martínez-Antonio.
Laboratorio de Biología Sintética y BioSistemas del Departamento de Ingeniería Genética del CINVESTAV Irapuato, Gto. C. P. 36821, bioingenios@gmail.com.

Palabras clave: regulación transcripcional, jerarquía regulatoria, azúcares alternos

Introducción. La compilación de estudios experimentales y sus análisis teóricos nos han mostrado que las actividades de las bacterias son controladas en su mayor parte por proteínas reguladoras denominadas factores de transcripción (FT). El uso de fuentes de carbono alternativas a glucosa involucra a alrededor de veinte factores de transcripción regulados por CRP (proteína receptora de AMPc o proteína de represión catabólica), un regulador maestro dentro de la red de regulación transcripcional de *Escherichia coli* ⁽¹⁾. En los procesos de regulación, los mecanismos de señalización celular, son centrales para entender la manera en que los sistemas biológicos perciben, procesan la información y modifican la expresión de los genes más adecuados para contender con un cambio en el estado endógeno o ambiental.

Este estudio tiene como objetivo establecer una metodología para determinar el uso jerárquico de tres fuentes de carbono alternas a glucosa y la dinámica regulatoria existente entre los genes que codifican para los FT que regulan estos procesos en *E. coli*.

Metodología. Se cuenta con una copia de la colección de mutantes de *E. coli*, Keio ⁽²⁾, la cual consiste en la delección de cada uno de los genes no esenciales. Por otro lado, se dispone de un banco de fusiones transcripcionales de *E. coli* que incluye algunas de las regiones promotoras de los genes de este organismo fusionadas al gen reportero *gfpmut2* –sin promotor- ⁽³⁾. A partir de estos recursos disponibles se analizaron las fusiones transcripcionales de los reguladores involucrados en la utilización de fuentes de carbono alternas (arabinosa, galactosa y sorbitol). La actividad de las fusiones se evaluó en medio mínimo con una combinación de glucosa (0.03%) y azúcares alternos por pares (0.2% de cada azúcar). También se evaluó la actividad de las distintas fusiones de los reguladores alternos en un fondo mutado en CRP y en el primero de los reguladores de dos cascadas, por ejemplo, en el caso de GutM/SrIR se determinó la actividad del promotor de cada regulador en la mutante del otro, de manera recíproca, puesto que forman entre si un circuito genético regulatorio de dos elementos; esto por medio de un análisis de fluorometría.

Resultados. Las bacterias con distintas construcciones genéticas se crecieron en medio mínimo M9 con

cantidades limitantes de glucosa (0.03%) y con cada uno de los azúcares inductores (0.2%) y la combinación de estos por pares. Se detectó actividad diferencial de los promotores de los factores de transcripción encargados de regular el consumo de estos azúcares.

Las fusiones transcripcionales también fueron evaluadas en fondos mutantes de la colección Keio, por ejemplo; observamos que cuando el gen de *gutM* esta mutado, la actividad promotora de *gutM* es menor lo que quiere decir que este regulador se autoactiva. Caso contrario sucede con el promotor *gutM* en ausencia de su represor SrIR, en este caso la actividad del promotor *gutM* se ve aumentada.

Conclusiones. Usando este acercamiento pudimos montar la metodología para discernir la preferencia en la utilización de fuentes de carbono alternas a glucosa en *E. coli*, siendo el orden el siguiente: L-arabinosa seguido del azúcar D-sorbitol y por ultimo D-galactosa. Esta misma metodología la podemos aplicar para establecer el orden de jerarquía con el resto de azúcares alternos usados por esta bacteria. De los datos de la actividad promotora obtenidos para la fusión transcripcional de *gutM* podemos concluir que en ausencia del inductor D-sorbitol, GutM actúa como activador de su propio promotor y que esta activación aumenta en presencia del inductor. Mientras que SrIR actúa como proteína represora del promotor de *gutM* en ausencia de este mismo inductor. En presencia del inductor este metabolito se une a SrIR e impide que ejerza su actividad represora sobre del promotor *gutM*.

Agradecimientos. A CONACYT por los donativos 102854 y 103686 donde incluye el otorgamiento de una beca de tesis de licenciatura para RSPA.

Bibliografía.

1. Martínez-Antonio A, Janga SC y Thieffry D. (2008). *J Mol Biol.* 381(1):238-47.
2. Zaslaver A, Bren A, Ronen M, Itzovits S, Kikoin I, Shavit S, Liebermeister W, Surette M y Alon U. (2006). *Nature Methods.* 3 (8): 623-628.
3. Baba T, Ara T, Hasegawa M, Takai Y, Okumura Y, Baba M, Datsenko K, Tomita M, Wanner B y Mori H. (2006). *Molecular Systems Biology.* 1744: 4292-4306.