

“PREDICCIÓN DE REGIONES REGULADORAS DE GENES DE NODULACIÓN Y FIJACIÓN DE NITROGENO EN EL PLASMIDO NGR234”

Torres Rivera R¹, Perret X.², García A.D., y Collado-Vides J.¹, .1 CIFN/UNAM, Av. Universidad s/n Col. Chamilpa Cuernavaca Morelos, Fax: (52) (5) 622-7694. 2. Laboratoire de Biologie Moleculaire des Plantes Superieures, University of Geneva, 1 chemin de l’Imperatrice, 1292 Chambesy, Geneva, Switzerland.

* mailto: rtorres@cifn.unam.mx

Palabras clave: *secuencias consenso, regiones upstream, regiones reguladoras*

Introducción: Muchos de los genes bacterianos para la nodulación (nod, nol y noe) y fijación de nitrógeno (nif y fix) están contenidos en el plasmido NGR234, un plasmido simbiótico de 536 Kb que esta presente en la bacteria *Rhizobium sp.* NGR234. En este trabajo se plantea obtener regiones reguladoras de 3 a 8 nucleotidos de longitud a través de programas que obtengan secuencias consensos de regiones upstream que pueden reprimir o activar a la transcripción de genes de nodulación y fijación de nitrógeno ante diversas situaciones físicas ya caracterizadas [1].

Metodología: Las regiones reguladoras se obtienen a través de programas que obtienen motivos de secuencia, esto quiere decir secuencias consensos; se obtuvieron las regiones upstream de los genes de nodulación de la literatura [1], y después se utilizaron para su desarrollo en métodos numéricos [2] (en este caso oligo análisis y dyad detector de RSA-tools) que lo que hacen es predecir algunas posibles regiones reguladoras basándose en regiones ya caracterizadas en otros organismos como *E. coli*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus Subtilis*. Para los genes de fijación de nitrógeno las secuencias se obtuvieron del GenBank de NCBI, obteniendo regiones de la secuencia completa del plasmido simbiótico NGR234, se separaron de las secuencias crudas de genes las regiones upstream, después se utilizo un programa llamado wconsensus que lo que hace es generar matrices para obtener regiones especificas consensos, y de nuevo al obtener esas regiones especificas se pasa a utilizar RSA-tools para predecir las posibles regiones reguladoras basándose en otras ya bien definidas de otros organismos.

Resultados y Discusión: Las regiones reguladoras que se obtuvieron de las regiones upstream son aproximadamente 90% exactas debido a que un programa computacional puede determinar que el Sitio de Pegado para los Ribosomas (RBS) es una región reguladora y por lo tanto se genera cierto grado de error, entonces estos resultados deberían ser demostrados experimentalmente.

Conclusiones: Del trabajo teórico que se realizo se obtuvieron las siguiente conclusiones:

-PRIMERA: Todos los resultados teóricos que se han obtenido hasta ahora deben ser analizados experimentalmente, debido a cierta probabilidad de error.

-SEGUNDA: Las posibles regiones reguladoras que se obtuvieron se basaron en regiones reguladoras de otras bacterias como *E. coli*, *B. Subtilis*, *S. cerevisiae* sin embargo el organismo del cual hablamos es de *Rhizobium sp.* NGR234.

Agradecimientos:

Al Dr. Julio Collado V. por la oportunidad brindada, al Dr. Miguel A. Ramírez, a Delfino García, a Araceli Huerta, al Dr. Gabriel Moreno y a Arturo Medrano.

Bibliografía:

-[1]Xavier Perret, Christoph Freiberg, Andre Rosenthal, (1999) “High-resolution transcriptional analysis of the symbiotic plasmid of *Rhizobium sp.* NGR234” *Molecular Microbiology* 32(2), 415-425.

-[2]J van Helden, B. Andre and J Collado-Vides (1998) “Extracting regulatory sites from the upstream region of yeast genes by computational analysis of oligonucleotide frequencies” *J. Mol. Biol.* 281, 827-842.

-[3]Van Helden J., Ríos A.F., Collado-Vides J. (2000) “Discovering regulatory elements in non-coding sequences by analysis of spaced dyads” *Nucleic Acids Research* 28:1808-1818

-[4] Pérez-Rueda E., and Collado-Vides J. (2000) “The Repertoire of DNA-Binding Transcriptional Regulators in *Escherichia coli*” *Nucleic Acids Research* 28:1838-1847

FIJACIÓN	NODULACIÓN
FixF	FA1 y4iR
NifB	NodZ y4mC
FixA	NoiL NodS
NifQ	NoeE y4vc
NifH1	NodA y4wE
NifS	y4gE y4wH
NifH2	y4hM y4wM

Cuadro 1 Este cuadro presenta los genes de fijación de nitrógeno y de nodulación que fueron analizados teóricamente.