

# LA EXPRESION DEL GEN QUE CODIFICA PARA EL REGULADOR *RhlR* DE *Pseudomonas aeruginosa* ES AFECTADA POR LA COMPOSICION DEL MEDIO.

Gerado E. Medina, Rosalba Sánchez y Gloria Soberón  
Departamento de Microbiología Molecular. Instituto de Biotecnología.  
Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Universidad # 2001 col. Chamilpa, Cuernavaca Morelos.  
C.P 62250 México. Fax (73)17-23-88. e-mail: [gloria@ibt.unam.mx](mailto:gloria@ibt.unam.mx)

Palabras clave: *Quorum-sensing*, *ramnolípidos*, *Pseudomonas*

**Introducción.** Diversas bacterias Gram-negativas producen derivados acilados de homoserin lactona (Autoinductores), los cuales al interactuar con un regulador transcripcional específico activan una gran variedad de genes blanco de una manera dependiente de densidad celular. Dicho proceso al cual se ha llamado "sensor de quorum" se encuentra en el patógeno oportunista *P. aeruginosa* representado por dos sistemas interdependientes denominados *las* y *rhl*(1). El regulón *rhl* es responsable de la producción de los biosurfactantes denominados ramnolípidos (2), los cuales son sintetizados principalmente por una Ramnosil transferasa codificada por los genes *rhlAB*, por debajo de éstos y en la misma dirección se encuentran los genes *rhlR* (regulador transcripcional) y *rhlI* (N-Butiril-Homoserin-Lactona Sintetasa). En un trabajo anterior (3) se presentaron los inicios transcripcionales de *rhlR* y se mostró su dependencia de los factores transcripcionales  $\sigma_{54}$ , Vfr y LasR.

En el presente trabajo se llevaron a cabo ensayos de expresión de *rhlR* en diferentes medios y se midió la concentración de ramnolípidos, determinandose la dependencia de la composición del medio utilizado y la correlación existente entre la transcripción de *rhlR* y la producción de ramnolípidos.

**Metodología.** Se transformó la cepa PAO1 de *P. aeruginosa* con el plásmido pPCS1002 (1), el cual contiene una fusión transcripcional *rhlR-lacZ* y se midieron la actividad  $\beta$ -galactosidasa por el método de Miller y la producción de ramnolípidos por el método de orcinol (4). Los ensayos se hicieron creciendo la cepa en los medios LB (rico) PPGAS (bajo en fosfatos) y M9 (mínimo), modificandolos con la presencia de amortiguador de pH, fosfatos y agregando una mayor concentración de fuente de carbono respectivamente.

**Resultados y Discusión.** En el cuadro 1 se observa que la producción de ramnolípidos depende fuertemente de la presencia de amortiguador de pH, fosfatos y relación carbono/nitrógeno, sin embargo el efecto de éstos en la expresión de *rhlR* no es tan considerable. También se encuentra un efecto en la producción de ramnolípidos al utilizar diferentes fuentes de carbono, siendo el glicerol el que mayor producción presenta.

Cuadro 1. Expresión de *rhlR* y producción de ramnolípidos en la cepa PAO1/pPCS1002 en diferentes medios en fase estacionaria.

Medio	U.Miller	Ramnolípidos mg/mL
LB	21842	10.9
LB + MOPS	34780	82.4
PPGAS*	30429	148.6
PPGAS+PO <sub>4</sub> *	20430	35.3
M9+1.5% Glucosa	25730	406.9
M9+0.2% Glucosa	13868	11.4
M9+0.75 Glicerol	39391	715.8

\* En estos medios se muestran los datos obtenidos de cultivos en fase estacionaria temprana, donde se observa mejor el efecto de la adición de fosfatos al medio.

**Conclusiones.** Nuestros resultados muestran que la composición del medio es determinante tanto para la expresión de *rhlR* como para la producción de ramnolípidos, de esta manera se observa que tanto la presencia de buffer, la deprivación de fosfatos como el tener una relación alta carbono/nitrógeno resultan en una mayor producción de ramnolípidos aunque no se presente una diferencia significativa en la transcripción de *rhlR*. Por lo anterior, proponemos, que la producción de ramnolípidos presenta otros puntos de regulación además de la dependiente de *RhlR*, los cuales aún quedan por ser identificados.

**Agradecimientos.** Becas recibidas durante el desarrollo de la investigación: DGEP-UNAM y CONACyT.

- Bibliografía**
1. Pesci E. C. et. al. 1997. Regulation of *las* and *rhl* Quorum Sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 179(10):3127-3132.
  2. Ochsner U. A. et. al. 1994. Isolation and Characterization of a Regulatory Gene Affecting Rhamnolipid Biosurfactant Synthesis in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.* 176(7):2044-2054
  3. Medina G. E. y Soberón G. 2000. Regulación transcripcional de los genes *rhlA* y *rhlR* de *Pseudomonas aeruginosa*. *Memorias del XXIII Congreso Nacional de Bioquímica*. Sociedad Mexicana de Bioquímica. Acapulco Guerrero 19-24 de Noviembre 2000. pag. C-7.
  4. Zhang Y. y Miller R. M. 1992. Enhanced Octadecane Dispersion and Biodegradation by a *Pseudomonas* Rhamnolipid Surfactant (Biosurfactant). *Appl. Environ. Microbiol.* 58(10):3276-3282.