

Charla

Caracterización del operón PP2810-13 en *Pseudomonas putida*



Rocío Barroso García, SM García-Mauriño, E Santero & I Canosa
 Área de Microbiología, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica,
 Ctra. de Utrera Km. 1 41013-Sevilla.

Palabras clave: *Pseudomonas*; sistema de dos componentes.

RESUMEN

Motivación: El género *Pseudomonas* se encuentra en una gran diversidad de nichos ecológicos, debido a su gran versatilidad metabólica, es capaz de degradar contaminantes del tipo compuestos orgánicos, etc. Su estudio nos puede abrir las puertas hacia el desarrollo de estrategias con aplicación ambiental, industrial, etc. Nosotros nos centraremos en *Pseudomonas putida*, su genoma está secuenciado, y es inocuo (GRAS). Aproximadamente un 10% de sus genes participan en la transducción de señales y la regulación de la expresión; algunos de éstos pertenecen a sistemas de dos componentes(1) permitiendo acoplar un estímulo-respuesta haciendo que el organismo pueda responder ante cambios en el ambiente, formando una compleja red de regulación. Uno de los sistemas de dos componentes, exclusivo de *Pseudomonas* es el sistema CbrAB, donde CbrA es la proteína sensora y CbrB es un regulador transcripcional dependiente de σ_{54} . En estudios anteriores se observó mediante ChIP-Seq(no publicado) que el gen PP2810 era candidato a estar regulado por este sistema de dos componentes, y su región promotora tiene tres posibles sitios de unión para CbrB.

Métodos: Se analizará la expresión como medida de la actividad β -galactosidasa para fusiones transcripcionales de la región promotora del gen PP2810 a lacZ tanto silvestre como con modificaciones en los sitios de unión en dos fondos: silvestre y mutante carente de *cbrB*. Además se realizarán ensayos de unión de la proteína CbrB a la región promotora silvestre y mutante. También se construirá un mutante por inserción en el primer gen del operón de un casete de Kanamicina y se realizará un análisis fenotípico en medio mínimo con distintas fuentes de carbono, antibióticos y metales(3).

Resultados: Los resultados muestran que CbrB activa transcripcionalmente el gen PP2810 y que la contribución de los subsitios es diferente para cada uno de ellos. En los ensayos de unión se apreció diferencias que correlacionan con los datos obtenidos mediante los ensayos de actividad β -galactosidasa. No se han obtenido diferencias significativas todavía del mutante de inserción en los ensayos realizados, aunque esta parte se encuentra en desarrollo.

Conclusiones: El operón PP2810-13 parece está regulado por CbrB, pero hay que seguir trabajando en la búsqueda de un fenotipo asociado a este operón.

BIBLIOGRAFIA

- (1)West, A.H. Y. A.M. Stock, (2001) Histidine Kinase and response regulator proteins in two-component signaling systems. Trends Biochem Sci **26**: 369-376.
- (2)García-Maurino S, Perez-Martínez I, Amador CI, Canosa I, Santero E.(2013) Transcriptional activation of the CrcZ and CrcY regulatory RNAs by the CbrB response regulator in *Pseudomonas putida*. Mol Microbiol JUL 2013; **89**(1):189-205.
- (3)Godoy P, Molina-Henares AJ, de la Torre J, Duque E, Ramos JL. (2010) Characterization of the RND family of multidrug efflux pumps: in silico to in vivo confirmation of four functionally distinct subgroups. Microbial Biotechnology NOV 2010;**3**(6):691-700.