

Póster

Estudio del papel de la proteína PII en el control por carbono mediado por el sistema regulador CbrAB



M^a de los Ángeles Diéguez Torrico, Inés Canosa Pérez-Fragero.

Área de Microbiología

Dept. Biología Molecular e Ing. Bioquímica

Universidad Pablo de Olavide/ CABD/ CSIC

Ctra. De Utrera Km. 1, 41013- Sevilla

Palabras clave: *Pseudomonas*, metaboloma, β -galactosidasa.

RESUMEN

Motivación: *Pseudomonas* es un género de bacilos Gram negativos quimiorganótrofos aerobios pertenecientes al grupo de las gamma-proteobacterias que engloba un gran número de especies, algunas de gran interés biotecnológico, medioambiental o biosanitario como *P. putida* o *P. aeruginosa*, consideradas excelentes sistemas modelo por gran versatilidad y su fácil manipulación. La caracterización del metabolismo de *Pseudomonas* es de gran utilidad para muchas aplicaciones biotecnológicas, por lo que se profundizará en la regulación del metabolismo del carbono mediado por el sistema regulador CbrAB, y su posible interacción el metabolismo del nitrógeno. Estudios del metaboloma de *P. putida* realizados en el grupo indican que, ante de limitación de carbono, existen niveles elevados de α -cetoglutarato, molécula inductora del sistema de control por nitrógeno NtrBC, mediado por la proteína PII (M. García- Mauriño, 2013). Se pretende determinar si la proteína PII del sistema Ntr, está implicada en la activación del sistema Cbr. Para ello se estudiará si la activación de las dianas *crcZ* y *PP2810*, controladas por CbrB, está también bajo el control de la proteína PII.

Método: Estudio de la expresión génica mediante ensayo de la actividad β -galactosidasa (Miller, 1992) de una fusión transcripcional al promotor de *crcZ* y del gen *PP2810* en un fondo silvestre y un fondo mutante PII (Δ *glnK*), en distintas condiciones de disponibilidad de carbono/Nitrógeno. Como control llevaremos una fusión *nifL::lacZ*, controlada por PII. Los ensayos se realizarán a partir de pre-inóculos en medio mínimo con succinato para el fondo silvestre y en LB para el fondo mutante PII como fuente de carbono y amonio como fuente de nitrógeno, y se realizarán inducciones en medio rico LB y otros medios con distinta disponibilidad de carbono, como son Succ/NH₄, Succ /Ser, Succ/Gln, OAA/ NH₄, Pir/ NH₄ y Arg/ NH₄, todos ellos con antibiótico, y se incubarán hasta una fase exponencial media (A₆₀₀= 0,3-0,5), tras las cuales se realizará el ensayo.

Resultados: Los valores de actividad observados en succinato no difieren significativamente de los valores en oxalacetato, estas diferencias si son significativas para *PP2810*, para el cual obtenemos diferencias de inducción en los medios LB, succinato y oxalacetato, piruvato y arginina, aunque la inducción es mucho menor que la observada para *CrcZ*.

Conclusión: En base a los datos preliminares obtenidos *CrcZ* no parece estar regulado por pII en las condiciones ensayadas.

BIBLIOGRAFIA

- 1 Nishijyo, T., D. Haas y. Itoh, (2001) The CbrA-CbrB two-component regulatory system controls the utilization of multiple carbon and nitrogen sources in *Pseudomonas aeruginosa*. *Mol Microbiol* 40: 917-931.
- 2 García-Mauriño, S.; Perez-Martinez, I.; Amador, C.; et ál.. (2013) Transcriptional activation of the *CrcZ* and *CrcY* regulstory RNAs by the CbrB response regulator in *Pseudomonas putida*. *Mol Microbiol* 89:1:189-205.
- 3 Miller, J. H., (1992) A short course in bacterial genetics: a laboratory manual. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring harbor, N. Y.