



Regulación por nitrógeno en *Pseudomonas putida*: del genoma al gen

Ana B. Hervás, Inés Canosa y Eduardo Santero

Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, Departamento de Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica, Área de Microbiología, Universidad Pablo de Olavide-CSIC-Junta de Andalucía, Carretera de Utrera km 1 41013, Sevilla

Mediante la técnica de microarrays hemos descrito la red reguladora de respuesta a la disponibilidad de nitrógeno en *Pseudomonas putida* y el control global mediado por la proteína reguladora NtrC. En base a este estudio definimos NtrC como el principal regulador por nitrógeno en *P. Putida* (1) que no sólo activa rutas de asimilación de fuentes alternativas de nitrógeno, sino que al mismo tiempo reprime el catabolismo de carbono en condiciones de limitación de nitrógeno, posiblemente para evitar un excesivo flujo de carbono y energía en la célula en esas condiciones. También hemos definido una secuencia consenso de unión de NtrC mediante análisis *in silico* derivado de los resultados de los experimentos de microarrays.

Hemos seleccionado algunos genes activados y otros reprimidos por NtrC en condiciones de limitación de nitrógeno para estudiar en detalle su regulación tanto *in vivo* como *in vitro*. Mediante fusiones transcripcionales al gen *lacZ* y ensayos de actividad β -galactosidasa hemos estudiado su expresión y dependencia de NtrC. Asimismo hemos llevado a cabo ensayos de formación de complejo abierto y transcripción *in vitro* con objeto de determinar si la activación y represión de estos promotores por NtrC se produce de forma directa o mediada por otro elemento por determinar, y hemos localizado el inicio de la transcripción de dichos promotores regulados.

1. Hervás *et al.* (2008) *Journal of Bacteriology*, **190**:416-420