



Influencia de la RNasa R en el transcriptoma de *Pseudomonas putida*

P. Fonseca, R. Moreno, G. Morales, F. Rojo

Centro Nacional de Biotecnología, CSIC. Campus U.A.M., Cantoblanco, Madrid

Un balance adecuado entre la síntesis y degradación del mRNA es muy importante en la regulación de la expresión génica. En bacterias, la degradación de los mRNAs comienza por un ataque endonucleolítico seguido por la acción de exorribonucleasas que continúan degradando el mRNA en dirección 3'-5'. Entre éstas, la RNasa R es una exorribonucleasa 3'-5' con la peculiaridad de ser muy activa sobre RNAs con una elevada estructura secundaria (rRNA, secuencias REP), lo que le confiere cierta especificidad. En *Escherichia coli*, los niveles de RNasa R fluctúan en diversas condiciones ambientales, como entrada en fase estacionaria, ayuno de carbono o choque térmico. Existen diversos datos que sugieren que este enzima podría tener una función importante en la respuesta a estrés; se ha visto que la inactivación del gen *rnr* inhibe el crecimiento en frío en diversas *Pseudomonas*. Para estudiar todos estos aspectos hemos inactivado el gen que codifica para la RNasa R (*rnr*) en *Pseudomonas putida* KT2440. Utilizando un microarray genómico desarrollado en el laboratorio se han analizado los cambios que genera en el transcriptoma de la bacteria la ausencia de la RNasa R cuando las células crecen exponencialmente en medio rico. Los resultados indican que, en estas condiciones, la ausencia de este enzima modifica de forma directa o indirecta los niveles de mRNA de unos 200 genes. En la mayoría de los casos, los niveles de estos mRNAs aumentan. Los genes afectados codifican proteínas de transporte de sustratos, enzimas del metabolismo de aminoácidos, proteínas reguladoras, enzimas de síntesis de vitaminas y cofactores, proteínas implicadas en la biosíntesis flagelar, entre otros. Se trata de un número relativamente reducido de genes que sugiere que este enzima podría tener cierta especificidad. Mediante RT-PCR de tiempo real se han corroborado los resultados del microarray en más de 18 genes, y se ha estudiado si el efecto de esta RNasa es directo o indirecto para 15 de ellos. También se ha analizado la expresión del gen *rnr* en diversas situaciones relevantes para el crecimiento de la bacteria, como fase exponencial, fase estacionaria, diversas fuentes de carbono, temperatura de crecimiento, etc. Nuestra intención es averiguar qué características tienen en común los genes regulados directamente por la RNasa R, así como entender el papel que desempeña esta RNasa en la célula.