



Análisis de los sistemas implicados en la producción de bioestabilizadores en la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*

Mercedes Reina-Bueno, Montserrat Argandoña, Javier Rodríguez de Moya, Carmen Vargas, Joaquín J. Nieto

Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Sevilla

La bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens* sintetiza *de novo* los solutos compatibles ectoína, hidroxiectoína y trehalosa en respuesta a diferentes tipos de estrés abiótico, como son la elevada salinidad y la temperatura (1, 2). Las ectoínas tienen propiedades bioestabilizadoras con aplicación actual en dermofarmacia y como agentes protectores de enzimas y anticuerpos, y un gran potencial en biomedicina como crioprotectores y neuroprotectores. Nuestro grupo está interesado en estudiar los mecanismos de respuesta al estrés abiótico en *C. salexigens* y su aplicación en la ingeniería metabólica de este microorganismo para superproducir ectoínas.

Previamente a la secuenciación y anotación del genoma, nuestro grupo había caracterizado los sistemas implicados en las rutas principales de síntesis de ectoína (*ectABC*) e hidroxiectoína (*ectD*) en *C. salexigens*. Posteriormente, se localizaron en el genoma genes de síntesis de trehalosa (*otsAB*), transporte de ectoínas (*teaA*, *teaBC*, *ectM*), otra copia del gen *ectD* (*ectE*), una posible ruta alternativa de síntesis de hidroxiectoína (γ -BBH) y sistemas responsables de la adaptación de las membranas al estrés osmótico (*cfa*, *cls*). Todos estos sistemas están siendo estudiados con una aproximación filogenómica.

Mediante la caracterización de mutantes simples y dobles afectados en los genes *ectABC* y *ectD*, hemos demostrado que *ectD* es el principal gen responsable de la síntesis de hidroxiectoína mediante hidroxilación de la ectoína. Además, la hidroxiectoína producida por EctD es el principal soluto compatible implicado en la respuesta al estrés térmico en *C. salexigens*, ya que un mutante en *ectD* es termosensible (3). Delante de *ectA* se localiza una región promotora múltiple, cuya expresión está regulada por al menos los factores generales de estrés σ^S y Fur. Por otro lado, existe otro promotor delante de *ectB* cuya expresión aumenta con la temperatura, y que podría ser dependiente de σ^{32} , a juzgar por su similitud con regiones consenso dependientes de dicho promotor. Los estudios realizados mediante expresión de fusiones génicas y qPCR han demostrado que la síntesis de hidroxiectoína está termorregulada a nivel transcripcional y sujeta a un doble control tanto por el factor general de respuesta a estrés por temperatura σ^{32} como por un regulador transcripcional específico (EctR), cuyo gen se localiza en 5' del gen estructural de la ectoína hidroxilasa. La expresión del transcrito *ectD* aumenta 5 veces en respuesta a una elevada salinidad y esta expresión se duplica a elevada temperatura. Comparado con estos niveles, la expresión de la copia *ectE* se puede considerar mínima. Todos estos datos indican que la regulación transcripcional de la síntesis de ectoínas es muy compleja, por lo que se haría necesario un análisis del transcriptoma de *C. salexigens* en respuesta a los diferentes tipos de estrés abiótico con objeto de medir simultáneamente la expresión de todos los sistemas implicados.

1. Cánovas y col., 1996. *J. Bacteriol.* 176: 7221.

2. Calderón y col., 2004. *Microbiology* 150: 3051

3. García-Esteva y col., 2006. *J. Bacteriol.* 188: 3774