



Caracterización del sistema de dos componentes CbrAB en *Pseudomonas putida* KT2440

Cristina Amador Hierro, Inés Canosa Pérez-Fragero y Eduardo Santero Santurino

Depto. Biología Molecular e Ingeniería Bioquímica. Área de Microbiología. Universidad Pablo de Olavide, CABD, CSIC. Ctra. Utrera Km. 1, 41013, Sevilla

CbrAB es un sistema de dos componentes donde *cbrA* codifica para una sensor/histidine quinasa (CbrA) y *cbrB* codifica para un regulador de respuesta (CbrB). Este sistema regulador se describió en *Pseudomonas aeruginosa* y está involucrado en la utilización de distintos aminoácidos usados como única fuente de carbono y/o nitrógeno (1). Estamos interesados en el posible papel de este sistema de regulación global en la asimilación de prolina, histidina, arginina, tirosina y glutamato como fuentes de carbono y/o nitrógeno en *Pseudomonas putida* KT2440. Hemos estudiado el fenotipo de un mutante *cbrB*, construido por inserción de un minitransposón Tn5, en medio mínimo suplementado con esos aminoácidos como fuente de nitrógeno y/o carbono, así como el patrón de expresión algunos genes involucrados en el transporte o asimilación de estos aminoácidos.

Hemos llevado a cabo un estudio fenotípico de nuestro mutante *cbrB* y *P. putida* silvestre más amplio, mediante el uso de los Phenotype Microarrays (Biolog). Los resultados confirman nuestros datos preliminares en cuanto a la capacidad de utilizar los aminoácidos estudiados como fuente de carbono o de nitrógeno, y también nos han aportado nuevos datos sobre la capacidad de metabolizar otros compuestos.

Para estudiar el papel del sistema Cbr en la asimilación de carbono y nitrógeno, hemos realizado un análisis global del patrón de expresión de *P. putida* frente al mutante *cbrB*, en condiciones de máxima inducción del sistema, mediante *microarrays* de ADN.

Puesto que NtrC ha sido descrito como el regulador global involucrado en la asimilación de nitrógeno en *P. putida*, actualmente estamos estudiando la posible integración del sistema dentro del circuito de regulación de Cbr, y la posible interacción entre ambos sistemas reguladores. Para ello hemos construido un mutante doble *cbrBntrC* y hemos estudiado su capacidad de crecimiento en los distintos aminoácidos como fuente de carbono o carbono y nitrógeno. Además hemos realizado un análisis mediante *microarrays* del patrón de expresión de la estirpe mutante *ntrC* frente al doble mutante *cbrBntrC*, para intentar dilucidar el control de Cbr independientemente del sistema Ntr.

1. Nishijyo *et al.* (2001) *Molecular Microbiology*, **40**:917-931.

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