

Título: CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA REPRESIÓN POR CATABOLITO E INGENIERÍA METABÓLICA EN LACTOBACILLUS CASEI

Nombre: ESTEBAN NIETO, CARLOS DAVID

Universidad: Universitat de València (Estudi General)

Departamento: Bioquímica y biología molecular

Fecha de lectura: 30/01/2004

Programa de doctorado: 30A BIOLOGÍA MOLECULAR

Dirección:

> **Director:** GASPAR PÉREZ MARTÍNEZ

Tribunal:

> **presidente:** Daniel Ramón Vidal

> **secretario:** EMILIA MATALANA REDONDO

> **vocal:** JOSE LUIS GARCIA LOPEZ

> **vocal:** JOSEF DEUSTCHER

> **vocal:** MANUEL ZÚÑIGA CABRERA

Descriptores:

El fichero de tesis no ha sido incorporado al sistema.

Localización: BIBLIOTECA DEL CAMPUS DE BURJASSOT-UNIVERSITAT DE VALÈNCIA DR. MOLINER, 50 46100 BURJASSOT (VALENCIA) TELÉFONO: 96-354-41-58 FAX : 96-354-47-98

Resumen: En bacterias lácticas, los genes del metabolismo de carbohidratos normalmente presentan un doble sistema de regulación para su expresión: Represión por catabolito, mediada por la proteína CcpA e inducción por sustrato. En el operón lac de Lactobacillus casei la responsable de la inducción por sustrato es la proteína antiterminadora LacT. En la presente tesis se han estudiado estos dos fenómenos.

Se ha realizado un análisis mutacional de los dominios de unión al correpresor y al DNA de la proteína CcpA. Se han identificado dos mutaciones en el dominio de unión al DNA (T7S y N52S) que confieren desrepresión y otras dos, en este caso en el dominio de unión al correpresor (S80L y T307I), que producen un fenotipo de hiperrepresión. La comparación de estos efectos con los que producen mutaciones equivalentes en Bacillus megaterium y un estudio de complementación realizado en esta misma tesis, indican que aunque en ambas bacterias el proceso de represión por catabolito es funcional, los residuos de aminoácidos implicados y los cambios moleculares en CcpA causados por la interacción con el cofactor pueden ser diferentes en ambas

especies.

Se ha estudiado la regulación de la actividad del antiterminador LacT por fosforilación de las histidinas conservadas de los dominios PRD. Se han mutado estas histidinas por aspártico o alanina para mimetizar el estado de fosforilación o no fosforilación respectivamente. Los resultados obtenidos indican que las histidinas del PRD-I deben estar desfosforiladas para desempeñar la inducción por lactosa y que las histidinas del PRD-II están implicadas en la represión por glucosa del operón lac en un proceso independiente de CcpA.

Por último, se desarrolló un sistema de integración de genes dentro del operón lac para obtener su expresión regulada por CcpA y LacT. Se ha comprobado el buen funcionamiento de este vector y se ha empleado para expresar el enzima acetohidroxiácido