



Departamento de Microbiología
Facultad de Biología
Universidad de Barcelona

Caracterización del lipopolisacárido de *Aeromonas* mesófilas

Memoria presentada por Natalia Jiménez Blasco
para optar al grado de Doctora por la Universidad de Barcelona

Programa de Doctorado
Microbiología Ambiental y Biotecnología
Bienio: 2003-2005

VºBº del director

VºBº de la codirectora

La doctoranda

Dr. Juan Tomás Magaña

Dra. Susana Merino Montero

Natalia Jiménez Blasco

Barcelona, mayo 2008

2. OBJETIVOS

Teniendo en cuenta el importante papel del LPS como factor de virulencia y que *Aeromonas hydrophila* es una de las especies del género *Aeromonas* más frecuentemente relacionada con infecciones emergentes en humanos, se planteó, en primer lugar, la caracterización de los genes implicados en la biosíntesis del núcleo del LPS en la cepa AH-3 de serotipo O:34, por ser una de las mejor caracterizadas en nuestro grupo de investigación.

Uno de los objetivos fue la obtención y caracterización de mutantes por inserción del transposón mini-Tn5 que presentaran alteraciones en el núcleo del LPS con el propósito de hallar la agrupación génica *wa* implicada en la biosíntesis del núcleo y realizar su secuenciación y posterior análisis, así como el estudio de su grado de conservación en diferentes serotipos de *Aeromonas* mesófilas.

Un estudio previo había determinado la estructura química del núcleo completo de la cepa de *A. hydrophila* AH-901, mutante de la cepa AH-3 sin antígeno O:34 (Knirel *et al.*, 2004), de manera que el siguiente objetivo consistió en la caracterización funcional de los genes responsables de la biosíntesis del núcleo mediante la construcción de mutantes y el análisis de las estructuras de núcleo incompletas que éstos generan; así como también mediante estudios de complementación de mutantes de *Klebsiella pneumoniae* 52145 y de la cepa de *E. coli* CJB26.

Por otro lado, en experimentos anteriores realizados en nuestro grupo de investigación, se había clonado y secuenciado el conjunto de genes de la agrupación *wb*_{O:34} de *A. hydrophila* AH-3, implicada en la biosíntesis del antígeno O:34, y parte de ellos habían sido caracterizados (Aguilar, 1999). De modo que otro de los objetivos de este trabajo fue el de asignar funciones a los genes que quedaban sin identificar mediante un nuevo análisis de la secuencia, su correlación con la estructura química que había sido descrita (Knirel *et al.*, 2002) y la construcción y caracterización de mutantes.

Por último, debido a las diferencias descritas en el LPS de la cepa AH-3 en función de la temperatura de crecimiento, S-LPS a 20°C y R-LPS a 37°C y baja osmolaridad (Aguilar *et al.*, 1997), se planteó estudiar la regulación que podía presentar la expresión de la agrupación *wb*_{O:34} por la temperatura mediante ensayos de RT-PCR semicuantitativa de diferentes regiones de la agrupación y el análisis de la actividad β -galactosidasa de fusiones transcripcionales de los promotores presentes con el gen *lacZ*.