



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN  
FACULTAD CIENCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE MAGÍSTER EN CIENCIAS MENCIÓN MICROBIOLOGÍA

**DETECCIÓN MOLECULAR Y FENOTÍPICA DE PROTEÍNAS  
CSP EN BACTERIAS PSICROTOLERANTES, AISLADAS  
DEL TERRITORIO PATAGÓNICO Y ANTÁRTICO CHILENOS.**

Profesor Guía: Carlos González Correa.

Departamento de Microbiología

Facultad de Ciencias Biológicas

Universidad de Concepción

Tesis para ser presentada a la Dirección de Postgrado de la Universidad  
de Concepción

FELIPE ANDRES CONTRERAS ROJAS

CONCEPCIÓN-CHILE

2011

## RESUMEN

La temperatura ambiente condiciona el crecimiento y la fisiología de los microorganismos en la naturaleza. Los cambios en la temperatura ambiente a que se ven enfrentados los microorganismos, afectan su estructura y fisiología observándose cambios en la maquinaria celular a fin de sobrevivir o adaptarse a las nuevas condiciones. Uno de los parámetros críticos para la viabilidad bacteriana es la temperatura. Así, el frío induce la síntesis de proteínas denominadas *cold shock proteins* (Csp), que han demostrado ser esenciales en la adaptación a este tipo de estrés en bacterias mesófilas, termófilas y psicrófilas. En esta Tesis se determinó la presencia y la participación de las proteínas tipo Csp en la sobrevivencia al estrés frío en cepas seleccionadas. Se detectó la presencia de genes tipo *cspA* en bacterias antárticas y patagónicas. Utilizando técnicas de knock-out de genes, se inactivó el gen *cspA* en tres cepas seleccionadas, y se analizó el efecto sobre la viabilidad bacteriana. Además, se comparó los perfiles de proteínas de las cepas silvestres y las mutantes knock-out mediante SDS-PAGE. Los resultados indican que las cepas *Sphingopyxis chilensis*, *Sphingopyxis alaskensis* y *Psychrobacter cryohalolentis* presentan proteínas homólogas a CspA de *Escherichia coli*, que permiten adaptarse y sobrevivir al estrés por frío. Las mutantes knock-out isogénicas, a su vez, fueron incapaces de mantener su viabilidad cuando se sometieron a shock por frío, lo que sugiere un papel principal de los genes homólogos a *cspA* en la sobrevivencia al frío en las bacterias antárticas y patagónicas indicadas. Los perfiles de proteínas inducidas por estrés frío en las cepas silvestres y mutantes indican que este estrés induce preferentemente proteínas de bajo peso molecular (menor a 25 kDa) y de alto peso molecular (sobre 100 kDa). Los resultados presentados en esta tesis, en su conjunto, permiten concluir que las bacterias ensayadas presentan mecanismos de adaptación al frío que serían dependientes de un sólo gen. Asimismo, los resultados presentados no permiten descartar otros mecanismos involucrados en esta adaptación. La función de estas proteínas Csp parece jugar un papel prioritario y vital para la organización de la respuesta al estrés frío en estas especies.