

# CONVERGENCIA CATABÓLICA DE LAS RUTAS DEGRADATIVAS DE ISOPRENOIDES ACÍCLICOS Y DE LEUCINA EN BACTERIAS DEL GÉNERO *PSEUDOMONAS*\*

Alma Laura Díaz Pérez y Jesús Campos García

Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Morelia, Michoacán, México. Correo E: jcgarcia@umich.mx

## RESUMEN

Bacterias del género *Pseudomonas* poseen la capacidad de crecer en una diversidad de compuestos orgánicos utilizándolos como fuente de carbono y energía. Entre estos se encuentran los isoprenoides, que son compuestos muy estables y ubicuos. La biodegradación de los isoprenoides está influenciada por su estructura, siendo los 2-metil ramificados más susceptibles a este proceso que los 3-metil ramificados. La estrategia microbiana para remover la ramificación 3-metílica en los isoprenoides consiste en su carboxilación, generando un grupo acetilo susceptible de ser hidrolizado. La vía degradativa de isoprenoides acíclicos se ha elucidado en *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas citronellolis* mediante compuestos modelo como el citronelol, geraniol o farnesol. Esta se conforma de 4 etapas: (i) vía superior de oxidación-activación, (ii) vía central de terpenos acíclicos (ATU), (iii) acoplamiento de la oxidación  $\beta$ , y (iv) convergencia con la vía de leucina/isovalerato (LIU). Los productos finales de estas etapas son canalizados a los ciclos del ácido tricarbóxico y glioxilato.

## ABSTRACT

Bacteria of the *Pseudomonas* genus possess the ability to grow in a variety of organic compounds using them as a source of carbon and energy. These include isoprenoids, which are very stable compounds and ubiquitous. Biodegradation of isoprenoids is influenced by its structure, being the 2-methyl branched compounds more susceptible than the 3-methyl branched. Microbial strategies for removing the 3-methyl branching group in the isoprenoids involves its carboxylation, generating an acetyl group capable of being hydrolyzed. The acyclic isoprenoid degradative pathway has been elucidated in *Pseudomonas aeruginosa* and *Pseudomonas citronellolis* using citronellol, geraniol or farnesol as model compounds. This is constituted by four stages: (i) oxidation-activation upper pathway, (ii) acyclic terpenes (ATU) central pathway, (iii) coupling of the  $\beta$  oxidation, and (iv) convergence to leucine/isovalerate (LIU) pathway. End products of these stages are channeled to the tricarboxylic acid cycle and glyoxylate.

## PALABRAS

### CLAVE:

Isoprenoides acíclicos, leucina, *Pseudomonas aeruginosa*, degradación

## KEY WORDS:

Acyclic isoprenoids, leucine, *Pseudomonas aeruginosa*, degradation

Los isoprenoides son compuestos orgánicos formados por unidades de isopreno; se dividen en terpenos y terpenoides; los primeros están formados por carbono e hidrógeno, mientras que los segundos contienen un grupo funcional adicional que contiene oxígeno. Los isoprenoides se caracterizan por ser ubicuos y proceden principalmente

de las plantas, en donde tienen un papel funcional y estructural que se ve reflejado en importantes funciones fisiológicas y ecológicas. Los terpenos se sintetizan a través de la condensación de unidades de isopreno (C5) a través de la vía del mevalonato y de la vía plastídica del 2-C-metil-D-eritro 4-fosfato (MEP). La primera es activa en el retículo

endoplasmático/citosol y es la responsable de la producción de sesquiterpenos (C15) y triterpenos (C30), como los esteroides; mientras que la segunda vía es la responsable de la producción del isopreno, monoterpenos, diterpenos (C20) como las giberelinas, y tetraterpenos (C40) como los carotenoides. Ambas vías convergen en la formación del isopentenilpirofosfato (IIP) y su isómero alílico, el dimetilalil-pirofosfato (DMAPP), los cuales son considerados como estructuras básicas para la biosíntesis de terpenos. La capacidad para sintetizar este tipo de compuestos se remonta aún antes de la evolución de la biosíntesis de la clorofila, ya que la presencia de terpenoides en restos fósiles de diversas formaciones geológicas y sedimentos sugiere que la capacidad para sintetizar isoprenoides ya estaba presente en bacterias no fotosintéticas, por lo que la aparición de estos compuestos en bacterias y específicamente en bacterias no fotosintéticas es de interés evolutivo y funcional. Otra clase de terpenoides sintetizados por los microorganismos son los carotenoides, los hopanoides cíclicos y los ésteres cerosos, los cuales pueden ser útiles como almacén de carbono y energía bajo condiciones limitantes (1). Estos compuestos son sintetizados por la condensación de un alcohol de cadena larga ramificada y ácidos grasos, todos provenientes de estructuras básicas de isoprenoides. Se ha observado que en bacterias marinas de los géneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y *Marinobacter* los ésteres cerosos de isoprenoides se producen durante el crecimiento aeróbico en fitol, derivados del pristano y farnesol (compuestos ampliamente distribuidos en sedimentos marinos) o cuando estas bacterias crecen en ambientes donde abundan los hidrocarburos (2).

### ASIMILACIÓN DE ISOPRENOIDES ACÍCLICOS EN *PSEUDOMONAS*

*Pseudomonas* es un género bacteriano ubicuo y metabólicamente versátil, siendo algunas de las especies de este género patógenas de humanos, insectos, nematodos y plantas. Por otro lado, es característica de algunas especies de este género la capacidad de asimilar isoprenoides como única fuente de carbono y energía. Algunos isoprenoides son compuestos recalcitrantes y comúnmente tóxicos para los microorganismos, ya que se intercalan en la membrana citoplasmática causando lisis celular (3).

Los isoprenoides del tipo del citronelol son clasificados dentro del grupo de los alcanos 3-metil ramificados, caracterizados por su baja biodegradabilidad causada por la incapacidad de las enzimas de la oxidación  $\beta$  para reconocer como sustratos

compuestos con el grupo metilo sobre el carbono beta (radical 3-metilo). En contraste, los alcanos 2-metil ramificados no presentan este impedimento y por lo tanto pueden ser metabolizados mediante esta vía. Isoprenoides utilizados como prototipos 3-metil ramificados son el citronelol (3, 7-dimetil-6-octen-1-ol), el geraniol (3, 7-dimetil-2, 6-dien-1-ol) y el farnesol (3, 7, 11-trimetil-2, 6, 10-dodecatrien-1-ol). Por otro lado, los microorganismos capaces de degradar alcanos 3-metil ramificados son principalmente relacionados al género *Pseudomonas* (*P. citronellolis*, *P. aeruginosa*, *P. mendocina*, *P. delhiensis* y algunos aislados de *P. fluorescens*, como la cepa Pf-5). Estas bacterias para poder utilizar este tipo de compuestos han seleccionado un conjunto de reacciones conocidas como descarboximetilación beta, la cual origina un producto que posteriormente puede ser metabolizado por las vías de oxidación alfa o beta (2, 4).

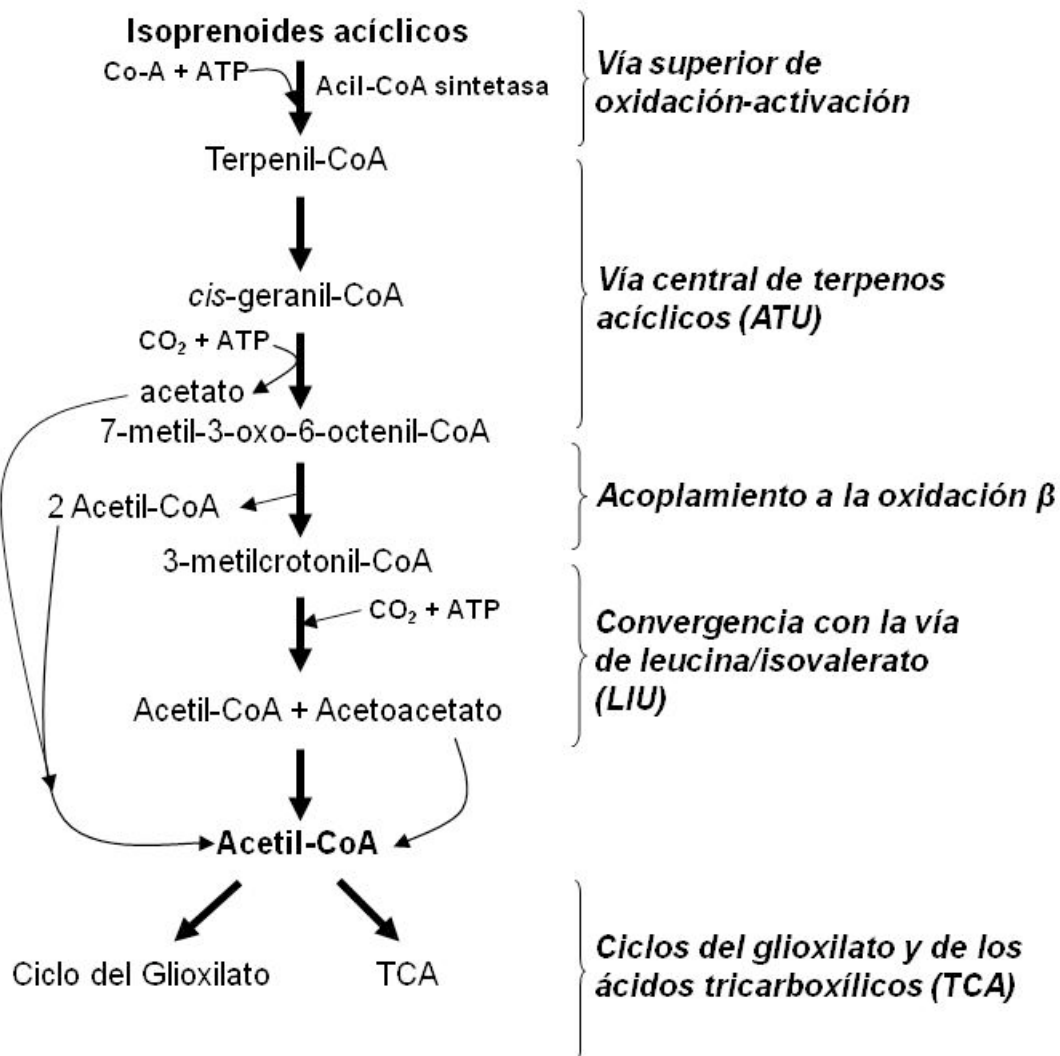
Los estudios pioneros dirigidos a elucidar el metabolismo de isoprenoides acíclicos datan de los años 60s con el aislamiento de la bacteria *P. citronellolis*, la cual fue nombrada así por su capacidad para utilizar los isoprenoides citronelol y farnesol. Posteriormente, se encontró que *P. aeruginosa*, *P. mendocina* y *P. delhiensis* también eran capaces de crecer en citronelol como única fuente de carbono (3), posteriormente se propuso la primera vía para la degradación de isoprenoides acíclicos en *P. citronellolis* (5).

Estudios recientes han sido enfocados a dilucidar la vía catabólica de isoprenoides acíclicos desde un punto de vista genético y bioquímico en dos de los principales microorganismos que poseen esta propiedad metabólica, *P. aeruginosa* y *P. citronellolis*. Esta ruta catabólica será descrita en los siguientes párrafos, la cual se puede dividir en cuatro etapas: (i) vía superior de oxidación-activación, (ii) vía central de terpenos acíclicos (ATU), (iii) acoplamiento a la oxidación  $\beta$  y (iv) convergencia con la vía de leucina/isovalerato (LIU) (Fig. 1).

### VÍA SUPERIOR DE OXIDACIÓN/ACTIVACIÓN DE ISOPRENOIDES ACÍCLICOS

La vía superior del catabolismo de isoprenoides acíclicos comienza con la oxidación y activación de la molécula de terpenol (citronelol, geraniol o nerol). El terpenol es oxidado por deshidrogenasas al correspondiente terpenal y ácido terpenoico (2, 5, 6) (Fig. 2). En *P. aeruginosa* se ha sugerido que la citronelol y citronelal deshidrogenasas son homólogos a deshidrogenasas de cadena corta, podrían estar codificadas por los genes *atuB* o *atuG*; mientras que la oxidación del geraniol a geranilato se sugiere es catalizada por enzimas diferentes a las

**Figura 1.**  
Etapas  
generales que  
comprende  
la vía  
catabólica de  
isoprenoides  
acíclicos en  
especies de  
*Pseudomonas*.



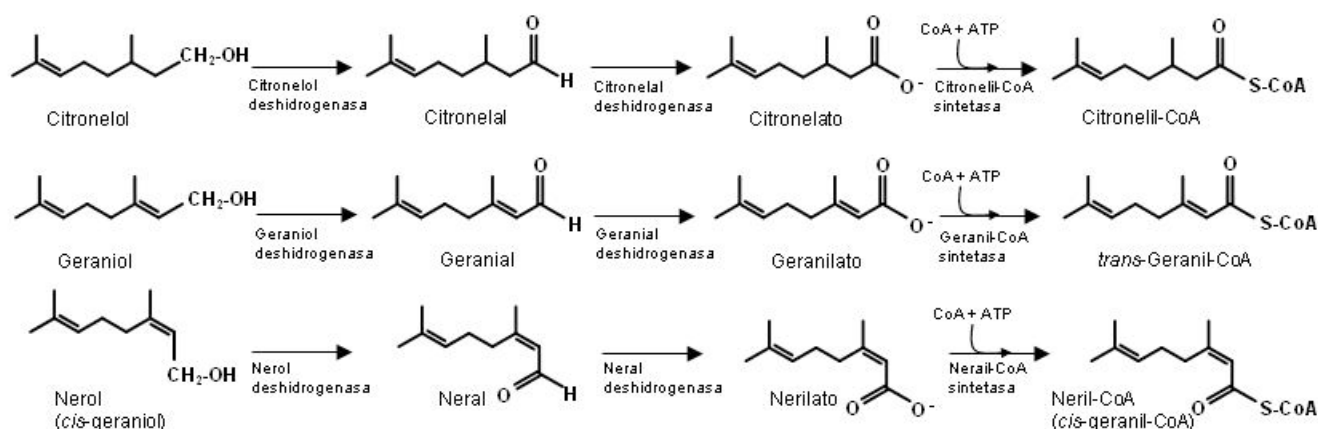
anteriores (7). Los respectivos ácidos producidos, ácido citronélico y ácido geránico, son activados por una reacción que involucra a una acil-CoA sintetasa, hasta el momento desconocida, produciendo el citronelil-CoA o geranil-CoA, respectivamente (Fig. 2). Para este paso enzimático no hay evidencia de los genes codificantes, sin embargo, se sugiere que puede estar involucrada una acil-CoA sintetasa homóloga a FadD (2).

### VÍA CENTRAL DE UTILIZACIÓN DE TERPENOS ACÍCLICOS (ATU)

El siguiente paso en el catabolismo de isoprenoides acíclicos es la vía central, cuyas enzimas están codificadas en el cluster genético *atuRABCDEFGH* (Fig. 3). Esta inicia con los metabolitos citronelil-CoA o *trans*-geranil-CoA, los cuales son oxidados o isomerizados a *cis*-geranil-CoA por la enzima citronelil-CoA deshidrogenasa si el compuesto inicial es citronelil-CoA (Fig. 4). Se ha descrito

que la enzima citronelil-CoA deshidrogenasa es codificada por el gen *atuD* y el ORF PA1535. La deshidrogenasa codificada por *atuD* tiene alta afinidad por el citronelil-CoA ( $K_m$  1.6  $\mu$ M), a diferencia de la codificada en el marco de lectura PA1535, la cual muestra una afinidad significativamente menor por el citronelil-CoA ( $K_m$  18  $\mu$ M), por lo que probablemente el ORF PA1535 no es esencial para la vía ATU (8).

La siguiente reacción es mediada por la geranil-CoA carboxilasa (GCCasa), la cual está conformada por las subunidades  $\alpha$  y  $\beta$ , codificadas por los genes *atuF* y *atuC*, respectivamente (9). La GCCasa se encarga de introducir una molécula de CO<sub>2</sub> sobre la ramificación metílica localizada en el carbono 3 de la cadena principal del *cis*-geranil-CoA para generar isohexenil-glutaconil-CoA (Fig. 4). En la subunidad  $\beta$  de la GCCasa se lleva a cabo el reconocimiento del sustrato y se encuentra el dominio de unión a carboxibiotina, mientras que en la subunidad  $\alpha$  se localizan cuatro motivos altamente conservados:



**Figura 2.** Etapas y probables enzimas de la vía superior de oxidación-activación de isoprenoides acíclicos (2).

el sitio de unión a ATP, el dominio de fijación de  $\text{CO}_2$ , el sitio catalítico de la familia de carboxilasas dependientes de biotina y el dominio acarreador de biotin-carboxilo (10). La GCCasa de *P. aeruginosa* tiene como sustrato preferencial al geranil-CoA ( $K_{0.5}$  8.8  $\mu\text{M}$ ,  $V_{\text{max}}$  492 nmol/min mg de proteína); sin embargo, también es capaz de carboxilar al 3-metil-crotonil-CoA ( $K_m$  14  $\mu\text{M}$  y  $V_{\text{max}}$  308 nmol/min.mg de proteína). Por otro lado, la GCCasa de *P. citronellolis* puede carboxilar 15 diferentes sustratos. Esto sugiere que en *Pseudomonas* la GCCasa puede tener un papel multifuncional, ya que es una enzima promiscua (10, 11).

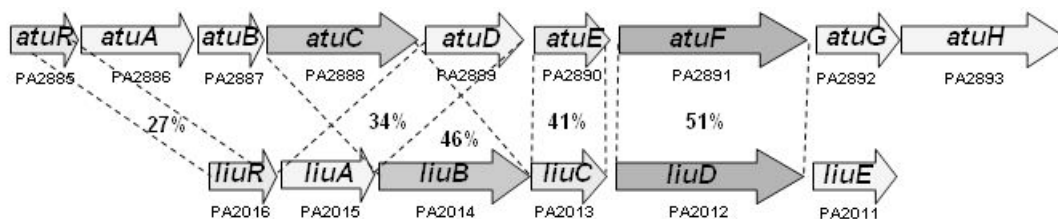
A la etapa de carboxilación le sigue la reacción de hidratación (3), realizada por la enzima isohexenil-glutaconil-CoA hidratasa, que convierte al isohexenil-glutaconil-CoA producido por la geranil-CoA carboxilasa, a 3-hidroxi-3-isohexenilglutaril-CoA (Fig. 4). El gen *atuE* codifica a esta hidratasa no esencial para el crecimiento de *P. aeruginosa* en terpenos acíclicos, probablemente reemplazada por otras isoenzimas. (8, 9, 10).

La siguiente reacción en la vía central es realizada por la 3-hidroxi-3-isohexenilglutaril-CoA liasa

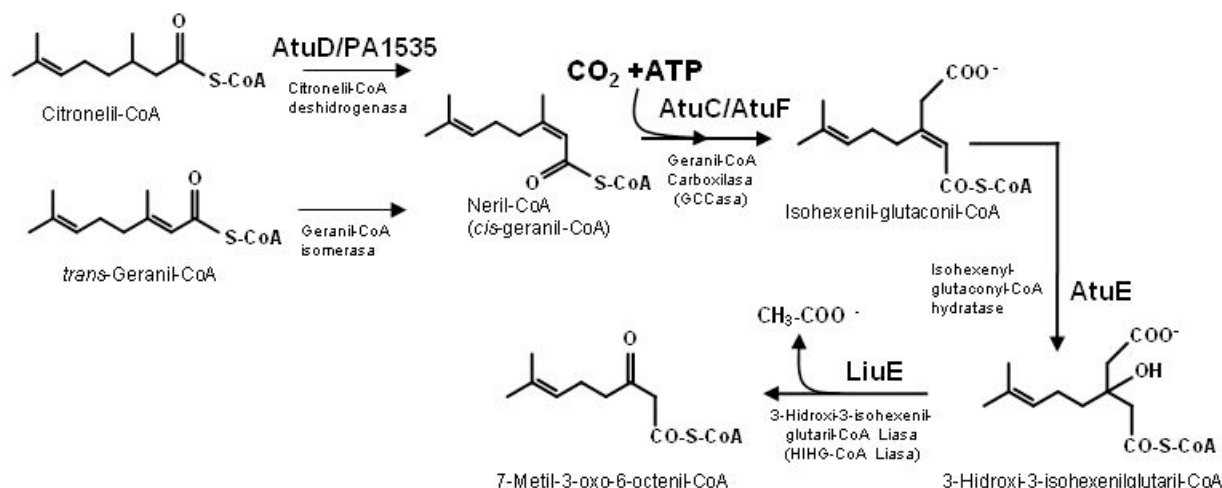
(HIHG-CoA liasa), también llamada 3-hidroxi-3-isohexenilglutaril-CoA: acetato-liasa. Los productos de reacción de la HIHG-CoA liasa es una molécula de acetato y el 7-metil-3-oxo-6-octenil-CoA, el cual es considerado como producto final de la vía central ATU y metabolito que se acopla a la oxidación  $\beta$  (Figs. 4 y 5). Esta enzima es codificada por el gen *liuE*, el cual se encuentra formando parte del operón *liu*, localizado en otra región genética distante del cluster *atu* en el genoma de *P. aeruginosa*. Esta enzima es bi-funcional (capaz de utilizar como sustrato compuestos de diferentes vías metabólicas) con actividades de HIHG-CoA liasa y HMG-CoA liasa, la cual participa en la vía central de isoprenoides acíclicos y en la vía de degradación de leucina/isovalerato, respectivamente (12, 13).

### ACOPLAMIENTO DE LA OXIDACIÓN B A LA VÍA ATU

En general, los genes que participan en esta etapa son los genes *fad*, mismos que participan en el metabolismo bacteriano de ácidos grasos (14). Una vez que el 7-metil-3-oxo-6-octenil-CoA es ob-



**Figura 3.** Grupo de genes *atu* y *liu* de *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 que codifican a las enzimas involucradas en las vías catabólicas de terpenos acíclicos y leucina/isovalerato. *atu* (acyclic terpene utilization), *liu* (leucine/isovalerate utilization). Se muestran los nombres de los genes y sus respectivos ORFs del genoma de PAO1. La identidad de aminoácidos de las proteínas homólogas se indica en porcentaje bajo los genes [Adaptado de (2)].



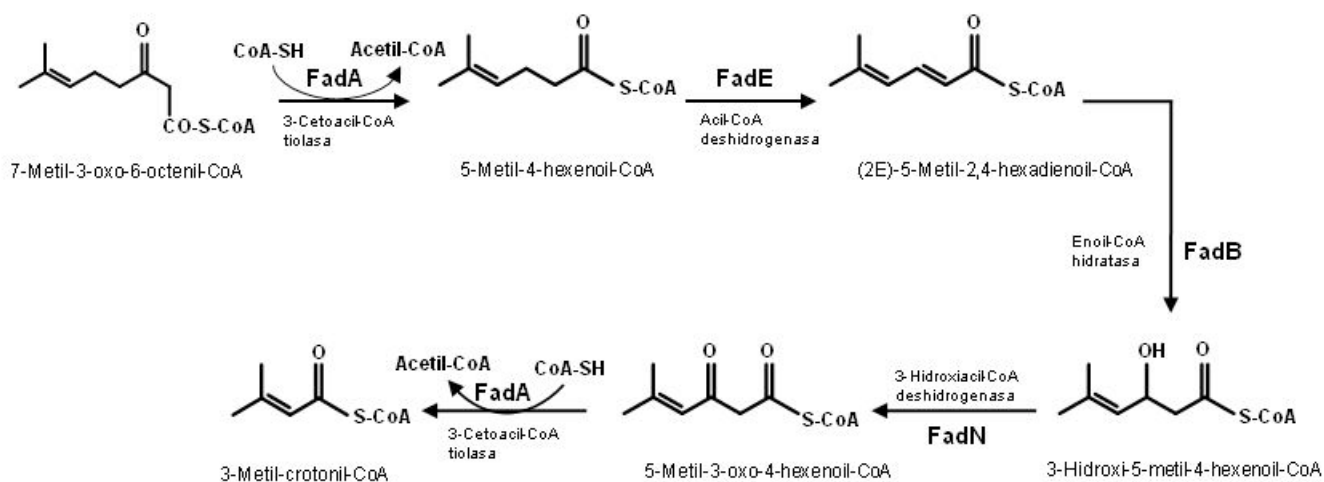
**Figura 4.** Vía catabólica central de terpenos acíclicos (ATU) y enzimas involucradas en *P. aeruginosa*. Los productos de la vía superior de oxidación-activación de isoprenoides acíclicos convergen en el compuesto *cis*-geranyl-CoA, compuesto que es carboxilado por la *cis*-geranyl-CoA carboxilasa (GCCasa). Las reacciones de hidratasa y liasa producen acetato y el 7-metil-3-oxo-6-octenil-CoA, sustrato de la oxidación  $\beta$  [Adaptado de (2)].

tenido por la vía central ATU, este es integrado a la vía de oxidación  $\beta$  (Fig. 5) (2). Este compuesto es hidrolizado a 5-metil-4-hexenoil-CoA y acetil-CoA, probablemente por la actividad de acil-CoA tiolasa (FadA) del complejo de oxidación de ácidos grasos. El 5-metil-4-hexenoil-CoA, es oxidado a (2E)-5-metil-2,4-hexadienoil-CoA por la acil-CoA deshidrogenasa (FadE); cuyo producto es hidratado por la enoil-CoA hidratasa (FadB) a 3-hidroxi-5-metil-4-hexenoil-CoA. Subsecuentemente la 3-hidroxiacil-CoA deshidrogenasa (FadN) origina al metabolito 5-metil-3-oxo-4-hexenoil-CoA, que es finalmente hidrolizado a 3-metil-crotonil-CoA y acetil-CoA por

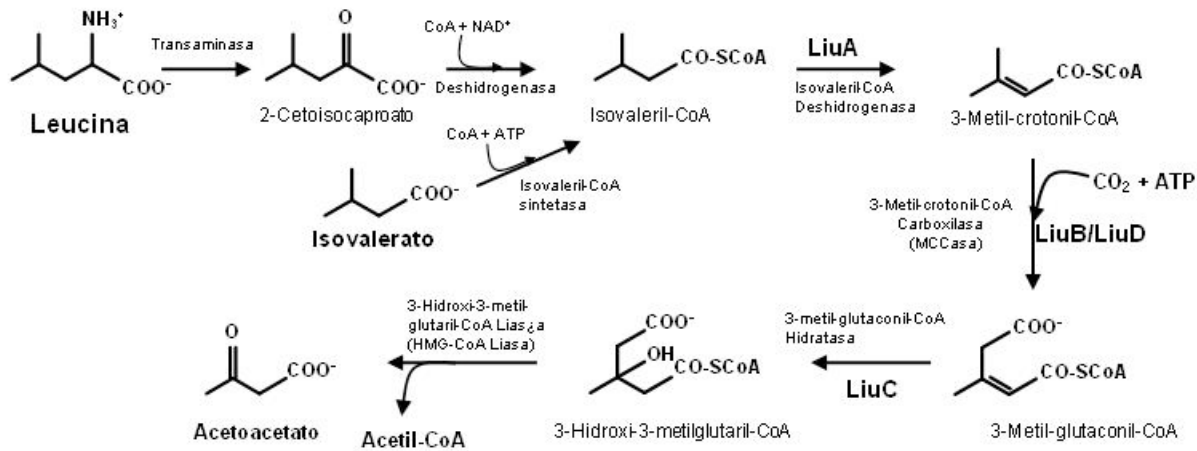
acción de la acil-CoA tiolasa (FadA; Fig. 5). En este caso, el 3-metil-crotonil-CoA es el metabolito convergente de la vía de isoprenoides acíclicos con la vía catabólica de leucina/isovalerato (2, 9).

#### CONVERGENCIA DE LA VÍA DE LEUCINA/ISOVALERATO (LIU) A LA VÍA ATU

En *P. aeruginosa* la vía catabólica LIU involucra enzimas codificadas por el cluster *liuRABCDE*, vía esencial en el catabolismo de leucina/isovalerato (Fig. 3). Esta vía catabólica inicia con la transaminación de la leucina al ácido 2-cetoisocáprico, el



**Figura 5.** Acoplamiento de la oxidación de ácidos grasos a la vía catabólica de terpenos acíclicos. Las probables etapas enzimáticas y las enzimas sugeridas se adaptaron del metabolismo general de los ácidos grasos descrito en bacterias [Adaptado de (2, 14)].



**Figura 6.** Vía catabólica de leucina/isovalerato (LIU) y las probables enzimas codificadas por el grupo de genes *liu*. El metabolito de convergencia entre la vía ATU y la vía LIU es el 3-metil-crotonil-CoA, el cual es transformado a acetoacetato por medio de reacciones análogas ocurridas en la vía ATU: carboxilación de la ramificación metílica, hidratación en el carbono que contiene la ramificación y liberación de la ramificación metílica [Adaptado de (2)].

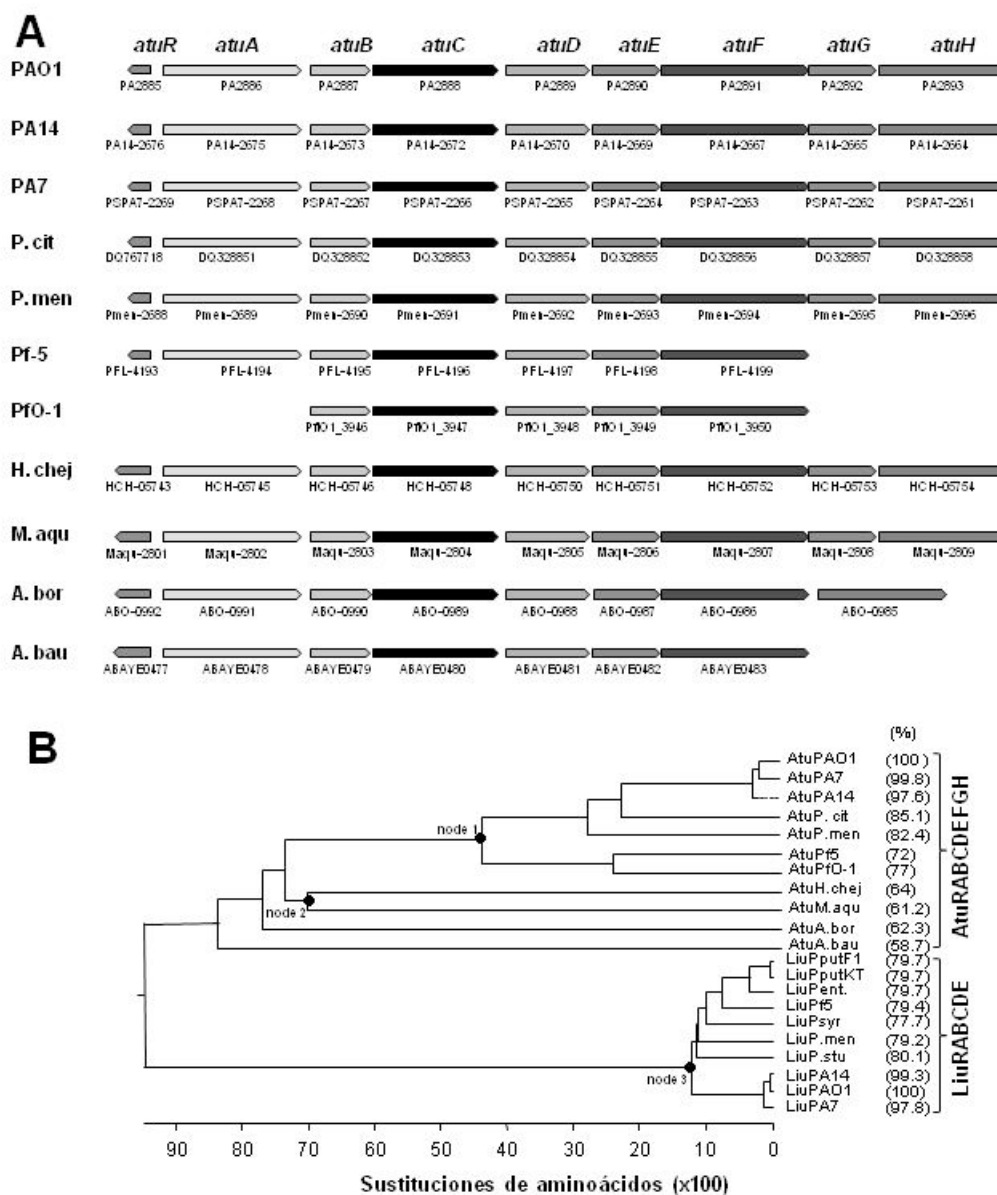
cual después de una reacción de deshidrogenación-descarboxilación, produce el isovaleril-CoA, metabolito en el cual converge el catabolismo del isovalerato (Fig. 6). Posteriormente, mediante una deshidrogenación catalizada por la isovaleril-CoA deshidrogenasa (codificada por el gen *liuA*), se produce el 3-metil-crotonil-CoA (MC-CoA) (2, 15), que es el metabolito de convergencia de las vías de leucina/isovalerato y de terpenos acíclicos. En este punto, estas vías están constituidas por cuatro reacciones análogas (deshidrogenación, carboxilación, hidratación y tiolisis) (Figs. 4 y 6). La reacción de carboxilación es realizada por la 3-metil-crotonil-CoA carboxilasa (MCCasa), codificada por los genes *liuB/liuD* para producir el 3-metil-glutaconil-CoA (10). Este último da lugar al 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA por la acción de la enzima 3-metil-glutaconil-CoA hidratasa, probablemente codificada por el gen *liuC* (9, 10, 15).

Finalmente, el 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA es hidrolizado a acetil-CoA y acetoacetato por la enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liasa (HMG-CoA liasa), codificada por el gen *liuE* (9, 10, 12, 13). Los productos finales de las etapas ATU, oxidación  $\beta$  y LIU son acetato, acetil-CoA y acetoacetato, los cuales son canalizados a vías centrales tales como los ciclos de los ácidos tricarboxílicos y del glicoxilato (Fig. 1).

### CONTEXTO GENÓMICO DE LOS GENES *ATU/LIU* ENTRE ESPECIES DE *PSEUDOMONAS*

El arreglo genético del cluster *atu* consta de nueve marcos de lectura abiertos (*atuRABCDEFGH*) altamente conservados en varias especies de

*Pseudomonas*, siendo su ordenamiento similar para las cepas de *P. aeruginosa* PAO1, PA14 y PA7, *P. citronellolis* y *P. mendocina* (Fig. 7A). En la cepa Pf-5 y PfO-1 de *P. fluorescens* el grupo de genes está constituido por siete y cinco genes homólogos, respectivamente. Adicionalmente, potenciales clusters *atu* se han identificado en *Hahella chejuensis* KCTC 2396, *Marinobacter aquaeolei* VT8, *Alcanivorax borkumensis* SK2 y *Acinetobacter baumannii* AYE (Fig. 7A), pero no en *P. putida* y *P. syringae*. Esto sugiere que otras especies independientes al género *Pseudomonas* podrían utilizar isoprenoides acíclicos como fuente de carbono. Análisis filogenético llevado a cabo para las proteínas *AtuRABCDEFGH* ha mostrado que las cepas de *Pseudomonas* que asimilan isoprenoides acíclicos se agrupan en el mismo nodo filogenético (nodo 1, Fig. 7B). Mientras que la filogenia de las proteínas *LiuRABCDE* indica que estas se agrupan en una raíz muy distante (Fig. 7B). Este análisis indica claramente que ambos grupos de proteínas (codificadas en los genes *atu* y *liu*) pertenecen a la misma familia y han evolucionado como dos subfamilias filogenéticas distintas. Por otro lado, las proteínas *LiuABCD* de *P. aeruginosa* PAO1 poseen mayor identidad a los ortólogos *LiuABCD* de otras especies de *Pseudomonas* (77-79%), que con las proteínas parálogas *AtuCDEF* de *P. aeruginosa* (41.5%). Además, los análisis filogenéticos de *AtuF*, correspondiente a la subunidad  $\alpha$  de la GCCasa, localizaron a esta proteína en una raíz con proteínas homólogas de alfa proteobacterias como *Bradyrhizobium japonicum* y *Rhodopseudomonas palustris*, separada a la procedente de otras *Pseudomonales*, localizadas en la raíz de la gama



**Figura 7.** Análisis de secuencia de los productos codificados por los operones génicos *atu* y *liu*. (a) Arreglo genético de los genes *atu* de *P. aeruginosa* PAO1 comparado con grupos homólogos de otras especies bacterianas. (b) Arbol filogenético de las proteínas homólogas *Atu*/*Liu* de especies bacterianas. Las secuencias de aminoácidos de *Atu*RABCDEF<sub>8</sub>H (*Atu*) y *Liu*RABCDE (*Liu*) se unieron y alinearon usando el software ClustalW y el árbol filogenético fue llevado a cabo con el método de Neighbour-Joining. La identidad entre las proteínas *Atu*/*Liu* y proteínas homólogas se indica en porcentaje. PAO1; *P. aeruginosa* PAO1; PA14, *P. aeruginosa* PA14; PA7, *P. aeruginosa* PA7; *P. cit*, *P. citronellolis*; *P. men*, *P. mendocina*; Pf5, *P. fluorescens* Pf5; PfO1, *P. fluorescens* PfO1; *H. chj*, *H. chejuensis* KCTC; *M. aqu*, *M. aquaeolei*; *A. bor*, *A. borkumensis* SK2; *A. bau*, *A. baumannii* AYE; PputF1, *P. putida* F1; PputKT, *P. putida* KT2440; *P. ent*, *P. entomophila* L48; Psyr, *P. syringae* pv. *syringae* B728a, *P. stu*, *P. stutzeri* A1501. Nodo 1, indica especies de *Pseudomonas* con la capacidad de asimilar terpenos acíclicos; nodo 2, indica géneros bacterianos que podrían ser capaces de asimilar terpenos acíclicos; nodo 3, especies de *Pseudomonas* con la capacidad de asimilar leucina/isovalerato.

proteobacterias. Este hallazgo sugiere que los genes *atu* de *P. aeruginosa* PAO1 probablemente se originaron por transferencia horizontal de alfa proteobacterias del género *Rhizobiales* (9).

### PERSPECTIVAS

Los genes involucrados en la vía central de terpenos acíclicos, además de los genes de la vía

de leucina/isovalerato ya han sido identificados y algunos de sus productos se han caracterizado, esto ha permitido comprender que el metabolismo de isoprenoides acíclicos involucra el reclutamiento de varias vías catabólicas, que no necesariamente están codificadas una junto a la otra, ya que la vía LIU (cluster *liuRABCDE*) se encuentra en el genoma de *P. aeruginosa* alrededor de 1 Mb distante de la vía ATU (cluster *atuRABCDEFGH*). Sin embargo, los productos de ambos clusters son esenciales en el catabolismo de isoprenoides acíclicos, confirmando la relación metabólica entre ambas vías. Aunque se ha avanzado en el conocimiento del catabolismo de isoprenoides acíclicos, aún permanecen genes por ser identificados, por ejemplo, los genes involucrados en la vía de oxidación/activación. En esta etapa estarían participando genes que codifican para las deshidrogenasas necesarias en la oxidación de los terpenoides (citronelol, geraniol, nerol, farnesol) y las acil-CoA sintetasas requeridas para su acti-

vación. A la lista de genes por identificar, resta la caracterización de las enzimas involucradas en la vía de oxidación  $\beta$ , aunado a esto es importante elucidar su regulación y el control de la expresión de los cluster *atu* y *liu*, así como su relación la oxidación de ácidos grasos. Finalmente al conjuntar toda la información se podrá conocer el contexto biológico que tiene la vía de degradación de isoprenoides acíclicos en *Pseudomonas*, ampliando el conocimiento referente a la regulación del metabolismo microbiano. Por otra parte, desde el punto de vista ecológico permanece por explicar por qué la ruta de isoprenoides acíclicos se encuentra sólo en algunas especies del género *Pseudomonas*, cuál fue la presión de selección que ha hecho que la ruta se mantenga a pesar de que estas bacterias pueden vivir en nichos ecológicos completamente distintos y cómo la ruta contribuye con la adaptabilidad de estas bacterias.



## REFERENCIAS

1. Taylor RF (1984) Bacterial triterpenoids. *Microbiol Rev* 48: 181–198.
2. Campos-García J (2010) Metabolims of acyclic terpenes by *Pseudomonas*. En: *Pseudomonas molecular microbiology, infection and biodiversity*, vol. 6. Editor: Ramos J. L. y A. Filloux, Springer, New York, NY. pp 235–254.
3. Seubert W (1960) Degradation of isoprenoid compounds by microorganisms. Isolation and characterization of an isoprenoid-degrading bacterium, *Pseudomonas citronellolis* n. sp. *J Bacteriol* 79: 426–434.
4. Pirnik MP (1977) Microbial oxidation of methyl branched alkanes. *Critical Rev Microbiol* 5: 413–422.
5. Cantwell SG, Lau EP, Watt DS, Fall RR (1978) Biodegradation of acyclic isoprenoids by *Pseudomonas* species. *J Bacteriol* 153: 324–333.
6. Díaz-Pérez AL, Zavala-Hernández NA, Cervantes C, Campos-García J (2004) The *gnyRDBHAL* cluster is involved in acyclic isoprenoid degradation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 70: 5102–5110.
7. Förster-Fromme K, Jendrossek D (2006) Identification and characterization of the acyclic terpene utilization gene cluster of *Pseudomonas citronellolis*. *FEMS Microbiol Lett* 264: 220–225.
8. Förster-Fromme K, Chattopadhyay A, Jendrossek D (2008) Biochemical characterization of *AtuD* from *Pseudomonas aeruginosa*, the first member of a new subgroup of acyl-CoA dehydrogenases with specificity for citronellyl-CoA. *Microbiology* 154: 789–796.
9. Aguilar JA, Zavala AN, Díaz-Pérez C, Cervantes C, Díaz-Pérez AL, Campos-García J (2006) The *atu* and *liu* clusters are involved in the catabolic pathways for acyclic monoterpenes and leucine in *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl Environ Microbiol* 72: 2070–2079.
10. Aguilar JA, Díaz-Pérez C, Díaz-Pérez AL, Rodríguez-Zavala JS, Nikolau BJ, Campos-García J (2008) Substrate specificity of the 3-methylcrotonyl Coenzyme A (CoA) and geranyl-CoA carboxylases from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol* 190: 4888–4893.
11. Fall RR (1981) 3-Methyl-crotonyl-CoA and geranyl-CoA carboxylases from *Pseudomonas citronellolis*. *Methods Enzymol* 71: 791–799.
12. Chávez-Aviles M, Díaz-Pérez AL, Reyes-de la Cruz H, Campos-García J (2009) The *Pseudomonas aeruginosa liuE* gene encodes the 3-hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzyme A lyase, involved in leucine and acyclic terpenes catabolism. *FEMS Microbiol Lett* 296: 117–123.



13. Chávez-Aviles M, Díaz-Pérez AL, Campos-García J (2010) The bifunctional role of LiuE from *Pseudomonas aeruginosa*, displays additionally HIHG-Coa lyase enzymatic activity. *Mol Biol Rep* 37:1787–1791.
14. Fujita Y, Matsuoka H, Hirooka K (2007) Regulation of fatty acid metabolism in bacteria. *Molec Microbiol* 66: 829–839.
15. Förster-Fromme K, Jendrossek D (2008) Biochemical characterization of isovaleryl-CoA dehydrogenase (LiuA) of *Pseudomonas aeruginosa* and the importance of liu genes for functional catabolic pathway of methyl-branched compounds. *FEMS Microbiol Lett* 286:78–84.