



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS

**Análisis mediante microarreglos de
ADN de la formación del biofilm en
Rhizobium etli CE3 y *Sinorhizobium
meliloti* 1021**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA EXPERIMENTAL)

PRESENTA
AGUSTÍN REYES PÉREZ

DIRECTOR DE TESIS: DR. SERGIO MANUEL ENCARNACIÓN GUEVARA

MÉXICO D.F.

AGOSTO 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue apoyado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) mediante una beca con número de registro: 194067

El presente proyecto fue realizado en el Centro de Ciencias Genómicas-UNAM, en el programa de Genómica Funcional de Procariotes.

Bajo la Dirección del Dr. Sergio Manuel Encarnación Guevara.

Agradezco la asesoría y apoyo de mi comité tutorial:

Dr. Guillermo Gosset Lagarda.
Dr. Víctor Manuel González Zúñiga

Agradezco el apoyo del jurado para el examen de grado:

Dr. Enrique Merino Pérez.
Dr. Víctor Manuel González Zúñiga
Dr. Sergio Manuel Encarnación Guevara
Dr. Michael Frederick Dunn
Dr. Guillermo Gosset Lagarda.

AGRADECIMIENTOS

De manera especial agradezco a la Biol. Ricarda Rivero Zaragoza y Ángel Gabriel Martínez Batallar por su valiosa ayuda en la toma de todas las muestras.

Agradezco de manera especial a la M. en C. Magdalena Hernández Ortiz, por todo el apoyo y asesoría para la realización de este proyecto. Por sus puntos de vista, ideas y colaboración para la realización de cada uno de las técnicas experimentales de este proyecto.

Agradezco la asesoría del Biol. Emmanuel Salazar Bustamante para la realización de las técnicas de microarreglos.

Agradezco a Martha Eréndira Ochoa Valencia por su asesoría en el resumen del presente escrito.

DEDICATORIA

“Los sueños y la perseverancia son una poderosa combinación”.

A mis padres con todo mi amor y respeto; por todos los ejemplos que me han dado. Por el roble que sembraron y que no ha olvidado sus raíces.

A mis hermanos Gloria, Rosendo y María Eugenia por todo el amor de hermanos que nos une a pesar de la distancia.

Con todo mi amor a mis hijos Marvin y Yariza, por la bendiciones que a diario me dan.

A todos mis compañeros de laboratorio que de alguna forma me han ayudado tanto.

PRESENTACIONES EN CONGRESOS.

Este proyecto ha sido presentado en congresos y conferencias científicas.

Agustín Reyes-Pérez, Magdalena Hernández, Sandra Contreras y Sergio Encarnación. “Análisis Transcriptómico de la formación de biofilm en *Rhizobium etli* y *Sinorhizobium meliloti*” en el XXVI Congreso Nacional de Bioquímica. Organizado por la Soc. Mexicana de Bioquímica. Del 12 al 17 de Noviembre del 2006 en la ciudad de Guanajuato Gto.

Sergio Encarnación, Emmanuel Salazar, Gabriel Martínez, Magdalena Hernández, **Agustín Reyes**, María del Carmen Vargas, Sandra Contreras, Miguel Elizalde, Raúl Noguez, Niurka Meneses, Omar Bueno, Ricardo Sánchez, Yolanda Mora & Jaime Mora. Proteomic and transcriptomic approaches to study genome expression in *Rhizobium etli* and *Sinorhizobium meliloti*. 15th INTERNATIONAL CONGRESS ON NITROGEN FIXATION & 12TH INTERNATIONAL CONFERENCE OF THE AFRICAN ASSOCIATION FOR BIOLOGICAL NITROGEN FIXATION. “BNF APLICACIONES FOR POVERTY ALLEVIATION” ORGANIZADO POR CAPE PENINSULA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY & SISTER INSTITUTIONS IN CAPE DOWN REALIZADO DEL 21- AL 26 DE ENERO DEL 2007 EN CAPE DOWN, SOUTH AFRICA.

Publicaciones

Sergio Encarnación, Emmanuel Salazar, Ángel Gabriel Martínez Batallar, Magdalena Hernández, **Agustín Reyes-Pérez**, Sandra Contreras, María del Carmen Vargas, Rocío Domínguez Vidaña, Claudia Gonzaga Jáuregui, Yolanda Mora, Ma. Ricarda Rivero y Jaime Mora. Transcriptoma y proteóma de *Rhizobium etli* y *Sinorhizobium meliloti* Rev. Latinoam. Microbiol. 2006; 48(2):131-145.

ÍNDICE

RESUMEN.....	1
ABSTRAC.....	2
1 INTRODUCCIÓN.....	3
1.1 BIOPELÍCULAS BACTERIANAS.....	3
1.1.1 Descripción de las etapas de formación de las biopelículas.....	4
1.1.2 Adhesión celular inicial.....	5
1.1.3 Formación de microcolonias.....	8
1.1.4 El crecimiento.....	8
1.1.5 Maduración del biofilm.....	8
1.1.6 Disgregación del biofilm maduro.....	8
1.2 IMPORTANCIA DE LOS BIOFILMS O BIOPELÍCULAS.....	10
1.2.1 Importancia Industrial.....	10
1.2.2 Importancia en la salud.....	11
1.2.3 Importancia en el ambiente.....	11
1.2.4 Punto de vista ecológico del biofilm.....	12
1.3 TIPOS DE BIOPELÍCULAS.....	13
1.3.1 Formado por múltiples especies.....	13
1.3.2 Por una sola especie.....	13
1.4 LOS FACTORES AMBIENTALES QUE AFECTAN EL BIOFILM.....	13
1.4.1 Nutrientes en medios de cultivo.....	13
1.4.2 pH.....	14
1.4.3 Oxígeno.....	14
1.4.4 Quorum sensing.....	14
1.4.5 Factores genéticos involucrados en el desarrollo de las biopelículas.....	16
1.5 ANÁLISIS DE PERFIL DE EXPRESIÓN GLOBAL DURANTE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS (MICROARREGLOS).....	20
1.6 PROTEOMA DE BIOFILMS.....	23
2 JUSTIFICACIÓN Y ANTECEDENTES DE LABORATORIO.....	25
3 OBJETIVO DE ESTE PROYECTO.....	26
4 MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
4.1 ESTRATEGIA EXPERIMENTAL.....	27
4.2 CULTIVOS BACTERIANOS.....	28
4.3 OBTENCIÓN DEL MATERIAL BIOLÓGICO.....	28
4.4 EXTRACCIÓN DE RNA TOTAL.....	29
4.5 SÍNTESIS DE CDNA.....	29
4.6 PROCESO DE HIBRIDACIÓN (CY3 Y CY5) EN LA LAMINILLA.....	30
4.7 LAVADOS.....	31
4.8 ANÁLISIS DEL MICROARREGLO.....	31
4.9 CARACTERÍSTICAS DEL "OLIGO SET" E IMPRESIÓN.....	32
4.10 HIDRATACIÓN DE LA LAMINILLA.....	33
5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
5.1 SINORHIZOBIUM MELILOTI 1021.....	35
5.2 ALMACENAMIENTO Y PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN GENÉTICA.....	36
5.2.1 J: Traducción, estructura y biogénesis de ribosomas.....	36
5.2.2 K: Transcripción.....	36
5.2.3 L: Replicación recombinación y reparación.....	37
5.3 SEÑALIZACIÓN Y PROCESOS CELULARES.....	38
5.3.1 D: control del ciclo celular, división celular y partición del cromosoma.....	38
5.3.2 V: Mecanismos de defensa.....	38
5.3.3 T: Mecanismos de transducción de señales.....	39
5.3.4 M: Formación de Pared y membrana celular.....	40

5.3.5	<i>N: Motilidad</i>	41
5.3.6	<i>U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular</i>	42
5.3.7	<i>O: Modificaciones postraduccionales, plegamiento de proteínas y chaperonas</i>	42
5.4	METABOLISMO	43
5.4.1	<i>C: Producción y conversión de energía</i>	43
5.4.2	<i>G: Transporte y metabolismo de carbohidratos</i>	44
5.4.3	<i>E: Metabolismo y transporte de aminoácidos</i>	45
5.4.4	<i>F: metabolismo y transporte de nucleótidos</i>	46
5.4.5	<i>H: transporte y metabolismo de coenzimas</i>	47
5.4.6	<i>I: Transporte y metabolismo de lípidos</i>	47
5.4.7	<i>P: Transporte y metabolismo de iones inorgánicos</i>	49
5.5	GENES NO AGRUPADOS MEDIANTE GRUPO DE GENES ORTOLOGOS (COGS POR SUS SIGLAS EN INGLÉS)	49
5.5.1	<i>CÉLULAS SÉSILES</i>	49
5.5.2	<i>Población de células planctónicas</i>	50
5.6	<i>RHIZOBIUM ETLI CE3</i>	52
5.7	ALMACENAMIENTO Y PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN GENÉTICA	53
5.7.1	<i>J: Traducción, estructura de ribosomas y biogénesis</i>	53
5.7.2	<i>K: Transcripción</i>	53
5.7.3	<i>L: Replicación, recombinación y reparación</i>	54
5.8	SEÑALIZACIÓN Y PROCESOS CELULARES	55
5.8.1	<i>D: control de ciclo celular, división celular, partición del cromosoma</i>	55
5.8.2	<i>V: Mecanismos de defensa</i>	55
5.8.3	<i>T: Mecanismos de transducción de señales</i>	56
5.8.4	<i>M: Formación de Pared y membrana celular</i>	57
5.8.5	<i>N: Motilidad celular</i>	58
5.8.6	<i>U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular</i>	58
5.8.7	<i>O: Modificaciones postraduccionales, Chaperonas y plegamiento de proteínas</i>	59
5.9	METABOLISMO	61
5.9.1	<i>C: producción y conversión de energía</i>	61
5.9.2	<i>G: Metabolismo y transporte de carbohidratos</i>	61
5.9.3	<i>E: Metabolismo y transporte de aminoácidos</i>	62
5.9.4	<i>F: Transporte y metabolismo de nucleótidos</i>	63
5.9.5	<i>H: Transporte y metabolismo de coenzimas</i>	64
5.9.6	<i>I: Transporte y metabolismo de lípidos</i>	64
5.9.7	<i>P: Transporte y metabolismo de iones</i>	65
5.9.8	<i>Q: Biosíntesis, transporte y catabolismo de metabolitos secundarios</i>	66
5.10	GENES NO AGRUPADOS POR COGS	66
5.10.1	<i>Población de células sésiles</i>	66
5.10.2	<i>Población Planctónica</i>	67
5.10.3	<i>Gráficas de los grupos funcionales de S. meliloti 1021</i>	68
5.10.4	<i>Gráficas de los grupos funcionales de R. etli CE3</i>	69
6	CONCLUSIONES	70
7	PERSPECTIVAS DEL TRABAJO	72
8	ANEXOS	73
8.1	ANEXO A	73
8.1.1	<i>Sinorhizobium meliloti 1021</i>	73
8.2	ANEXO B	88
8.3	<i>RHIZOBIUM ETLI CE3</i>	88
9	BIBLIOGRAFÍA	124

RESUMEN

Los biofilms o biopelículas son definidos como una compleja comunidad bacteriana, embebida en una red de polisacáridos capaz de establecerse sobre cualquier superficie.

Se pueden encontrar en diversos ambientes, principalmente en lugares con humedad, las biopelículas permiten a las bacterias sobrevivir con las mínimas cantidades de nutrientes. Las comunidades bacterianas mediante la formación de biopelículas son capaces de adaptarse a ambientes adversos, modulando la expresión genética y proteica necesaria para su adaptación.

El presente proyecto se basa en el estudio de la expresión de dos genomas de bacterias fijadoras de nitrógeno durante la formación de biofilm en medio rico (PY), los microorganismos utilizados en este proyecto fueron: *Sinorhizobium meliloti* 1021, la cual establece simbiosis con *Medicago truncatula* (alfalfa) y *Rhizobium etli* CFN42 con *Phaseolus vulgaris* (frijol).

En nuestro grupo se han realizado experimentos en ambos modelos bacteriano, los cuales muestran la capacidad de formar biopelículas en diversas superficies, sin embargo, aun no se habían definido los genes implicados en este proceso celular.

Mediante la utilización de microarreglos de ADN se analizó la expresión del genoma de ambos tipos bacterianos. Los datos de expresión mediante esta técnica permitieron observar las diferencias de expresión genética entre células adheridas (sésiles) y células libres (planctónicas) durante el proceso de desarrollo y formación del biofilm, los datos muestran una diferencia clara en el metabolismo que estas dos poblaciones celulares presentan.

ABSTRACT

The biofilms are defined as a complex bacterial community, soaked in a polysaccharides net is able to become establish on any surface.

The biofilms can be found in several environments, mainly in places with humidity, the biofilms allow the surviving of the bacteria using or having the minimal quantities of nutrients. The bacterial communities by means of biofilms formation are able to adapt themselves to adverse environments, modulating the genetic and necessary protein expression for their adaptation.

The present project is based on the nitrogen fixation bacteria's study of the expression for two genomes during biofilms formation in rich means (PY). The micro-organisms used in this project were: *Sinorhizobium meliloti* 1021, which establishes symbiosis with *Medicago truncatula* (alfalfa) and *Rhizobium etli* CFN42 with *Phaseolus vulgaris* (bean).

Experiments in both bacterial types, which have been performed in our group, showed the capability of forming biofilms on different surfaces, however, the genes implicated in this cell process, have not been defined yet.

The expression of the genome in both bacterial types is analyzed by means of micro arrays of DNA. Data related to the expression enabled this technique to observe the differences of genetic expression between adhered cells (sessile) and free cells (planctonic) during the development process and the biofilms formation, the data showed a clear difference in the metabolism presented, between these two cells population.

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Biopelículas bacterianas.

Los análisis bacterianos sobre genética, biología molecular, crecimiento, metabolismo, adaptación y fisiología bacteriana se han realizado en cultivos de una sola especie, sin embargo esta manera tradicional de cultivos bacterianos ha sido explotada y ha permitido explicar las actividades bacterianas que actualmente conocemos. Sin duda, la percepción de las bacterias como comunidades unicelulares ha cambiado, el concepto de las biopelículas modificó radicalmente la percepción de la microbiología actual; sin embargo este concepto no es del todo nuevo, posiblemente los primeros biofilms fueron observados hace muchos años y uno de los primeros en hacerlo fue Antonie van Leeuwenhoek (Donlan 2002), el cual observó microorganismos sobre diversas superficies, no obstante, el estudio molecular de este estado metabólico inicio apenas hace tres décadas aproximadamente.

Los biofilms han sido aislados de diversos ambientes (De los Ríos *et al.*, 2003) ésto permitido identificar y clasificar las estructura de dichas comunidades bacterianas (Doggett 2000; Lawrence *et al.*, 2004; Rickard *et al.*, 2002; Wimpenny *et al.*, 2000), como la placa dental, la cual contienen un poco más de 500 taxas distintas (Kolenbrander, 2000; Kolenbrander *et al.*, 2002). El concepto de biocapa o biofilm fue acuñado en 1978 por Bill Costerton, en un trabajo sobre las estructuras que formaban las *Pseudomonas* sobre las rocas de arroyos alpinos, las cuales son muy resistentes a la eliminación (Costerton *et al.*, 1978) y en las últimas décadas los científicos a nivel mundial han tratado de entender las bases del proceso y desarrollo de las biocapas bacterianas. Desde hace tiempo, para su estudio dentro de la industria y ecología, se han utilizado diversas herramientas para observar estas comunidades, tales como el empleo de microscopia confocal acoplado con marcadores fluorescentes, los cuales permiten la visualización de las células vivas o muertas, así como su morfología; técnicas de biología molécula como la hibridación *in situ*, análisis comparativo de secuencias, por

ensayos de genes reporteros y PCR *in situ* entre otras (Hope *et al.*, 2002; Lawrence *et al.*, 2004; Morris *et al.*, 1997; Wimpenny *et al.*, 2000). Las herramientas mencionadas en conjunto con análisis globales tales como la proteómica y la transcriptómica, han permitido describir y visualizar con mas detalle estas pequeñas comunidades bacterianas, las cuales actualmente tienen gran importancia, no solo para el área clínica, sino también para áreas tales como la industria, la agronomía y la ecología de poblaciones, solo por mencionar algunas de las áreas.

1.1.1 Descripción de las etapas de formación de las biopelículas.

Para que las biopelículas se desarrollen se requiere de una serie de pasos altamente regulados, donde influyen factores ambientales, biológicos y físicos. Se sabe que el mecanismo genético-molecular de la formación de las biopelículas depende de cada microorganismo, sin embargo las etapas del desarrollo de biopelículas se conservan entre una amplia gama de microorganismos. Estas etapas consisten en un ciclo que incluye la adhesión de las células a un sustrato, el crecimiento y agregación de las células en microcolonias, la maduración, el mantenimiento de la arquitectura del las biopelículas y la dispersión de células o sub-poblaciones del biofilm, esta última con el fin de colonizar nuevos nichos. (O'Toole *et al.*, 2000).

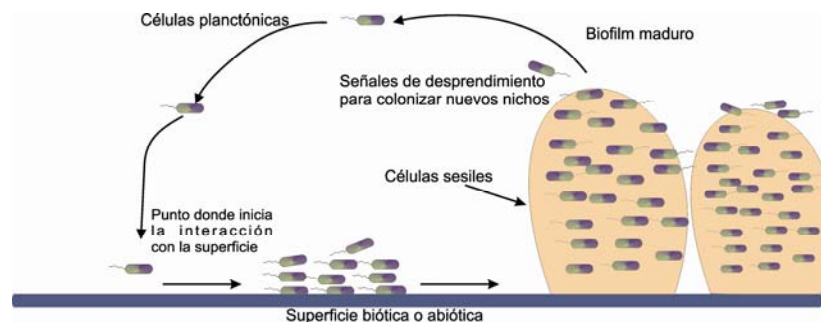


Figura 1 Modelo del desarrollo del biofilm, las células de manera individual forman uniones a una superficie dada y el contacto entre célula-célula permite el inicio de la formación de pequeñas microcolonias. La formación de los edificios celulares ilustrados en amarillo, inicia por una serie de señales celulares entre las que se encuentran homoserinas lactonas por mencionar algunas. El proceso reinicia nuevamente cuando las células se liberan de estas estructuras y colonizan nuevos nichos (O'Toole *et al.*, 2000).

Aunque la composición del biofilm es variable en función del sistema de estudio, en general, el componente mayoritario del biofilm es el agua, representando hasta un 97% del contenido total. Además del agua y de las células bacterianas, la matriz del biofilm es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos (EPS), secretados por las propias células. Los EPS forman del 50% al 90% del total de carbono orgánico de los biofilms. En menor cantidad se encuentran otras macromoléculas como proteínas, lípidos, fosfolípidos, ADN, ARN y productos diversos procedentes de la lisis de las bacterias (Donlan, 2002; Petersen *et al.*, 2005; Sutherland, 2001), así como materiales no celulares tales como cristales minerales, partículas corrosivas, arcillas o componentes sanguíneos dependiendo del ambiente donde se desarrolle el biofilm (Donlan, 2002). También los EPS se asocian con iones y cationes divalentes. Cabe mencionar que la matriz es un ambiente heterogéneo por los innumerables microambientes que co-existen dentro de él. Es importante mencionar que en la naturaleza podemos encontrar comunidades bacterianas de una sola especie y de distintas especies bacterianas, desde un punto de vista ecológico, todos pretenden la preservación de la especie y la adaptación a cualquier tipo de ambiente adverso encontrado en la naturaleza.

1.1.2 Adhesión celular inicial.

Inicialmente las células se aproximan al sustrato para iniciar la adhesión, en algunos casos la motilidad es indispensable para este proceso, con esto inicia la interacción entre el microorganismo y la superficie, durante esta etapa las bacterias utilizan fimbrias, curli y pili. Además de las interacciones entre la célula y la superficie, se desarrollan interacciones célula-célula participando fimbrias, curli y algunas adhesinas, las cuales permiten el establecimiento de microcolonias. Por otro lado la interfase sólido-líquido que se encuentra entre la superficie y un medio acuoso (como agua o sangre) provee un ambiente ideal para la adhesión y crecimiento de microorganismos. La adhesión depende de la naturaleza de la superficie, ya que se ha observado que si es áspera la adhesión aumenta. También las propiedades fisicoquímicas de las superficies influyen en la velocidad

y extensión del biofilm. Se ha visto que los microorganismos se adhieren más rápido a superficies hidrofóbicas, no polares como el Teflón y otros plásticos que a superficies hidrofílicas, tales como el vidrio o metales (Donlan, 2002). Además se ha observado que las interacciones hidrofóbicas entre las superficies y los microorganismos hacen posible que se establezca una adhesión irreversible.

La adhesión se ve influenciada por el acondicionamiento de la superficie debido a que se cubre de polímeros provenientes del medio que modifican químicamente a la superficie. Un ejemplo de superficie acondicionada es el esmalte de los dientes en la cavidad oral que es recubierta por albumina, lisozimas, glicoproteínas, fosfoproteínas, lípidos y fluidos gingivales (Carlén *et al.*, 2003; Kolenbrander, 2000; Kolenbrander *et al.*, 2002). Estas superficies acondicionadas se pueden encontrar en tejidos bañados por sangre, lágrimas, orina, saliva, fluidos intravasculares y secreciones respiratorias, que afectan la adhesión de las bacterias a las diversas superficies (Donlan, 2002).

La velocidad del flujo adyacente a la interfase sustrato-líquido forma una barrera hidrodinámica y su grosor depende de la velocidad lineal; la región afuera de esta barrera se caracteriza por ser turbulenta. Esta barrera hidrodinámica afecta las interacciones de las células con el sustrato, donde las células se comportan como partículas en el líquido y la velocidad de la asociación con la superficie sumergida depende en gran parte de las características y velocidad que tenga el líquido (Donlan, 2002). Esta hidrodinámica afecta el establecimiento y disgregación del biofilm.

Otras características que juegan un papel importante en la adhesión a las superficies son el pH, los niveles de los nutrientes, la fuerza iónica y la temperatura. Las estaciones climáticas por los parámetros climáticos, la presencia de cationes, y los niveles intracelulares de hierro (Banin *et al.*, 2005; Mey *et al.*, 2005).

También influye en la adhesión de las células a la superficie, la hidrofobicidad de las células debido a la presencia de fimbrias como los pilis y flagelos, así como a la producción de exopolisacáridos y otras proteínas de superficie, tales como finas fibrillas poliméricas extracelulares y los LPS (Watnick *et al.*, 2001).

Como mencionamos anteriormente uno de los componentes celulares principales para la formación de las biopelículas, son los polisacáridos extracelulares, los cuales han sido clasificados en polisacáridos capsulares o exopolisacáridos, los cuales determinan la arquitectura del biofilm (Branda *et al.*, 2005). Dentro de estos polisacáridos se encuentran la celulosa componente de la matriz extracelular de *Gluconacetobacter xylinus*, *Salmonella typhimurium* y *Escherichia coli* (Zogaj *et al.*, 2001). El polisacárido llamado adhesina intracelular con siglas en inglés PIA de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* producido por la enzima codificada en el gen *ica*, tiene un homólogo en *E. coli* MG1655 llamado PGA codificado en los genes *pgaABCD* (Wang *et al.*, 2004). Este polisacárido participa en la adhesión intercelular y en la desunión y dispersión de biofilms en *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *A. actinomycetemcomitans* (Kaplan, *et al.*, 2004). Por otro lado el polisacárido extracelular alginato que secreta *Pseudomonas aeruginosa* o los polímeros ricos en carbohidratos PEL (polímero rico en glucosa) y PSL (polímero rico en manosa) han sido involucrados en el desarrollo y formación del biofilm (Friedman y Kolter, 2004).

La fimbria, proteínas y los EPS ayudan a la adhesión en superficies hidrofóbicas por ser no polares, mientras que los LPS son útiles en la adherencia a superficies hidrofílicas. Además el flagelo es importante en la adhesión ya que su papel es superar las fuerzas repulsivas mas que actuar como absorbente o adhesivo (Donlan, 2002).

1.1.3 Formación de microcolonias.

Los biofilms no son capas de células depositadas acumulativamente, los biofilms son heterogéneos y contienen microcolonias de células bacterianas encapsuladas en una matriz de EPS, separadas de otras microcolonias por los canales intersticiales, donde fluye el medio permitiendo la difusión de nutrientes, oxígeno y otros agentes externos tales como agentes anti-microbianos.

1.1.4 El crecimiento.

La arquitectura del biofilm es heterogénea en espacio y tiempo, ya que constantemente hay cambios internos y externos. Se ha visto que la motilidad genera la migración de las células de una microcolonia a otra, entonces la estructura de la microcolonia cambia, para hacerse más compacta.

1.1.5 Maduración del biofilm.

Los gradientes de nutrientes, productos de desecho, factores de señalización, hacen que el biofilm sea heterogéneo. Los biofilms maduros demuestran una estructura tridimensional compleja con numerosos microambientes que difieren en osmolaridad, el acceso a los nutrientes y en la densidad celular. La heterogeneidad produce una variedad de fenotipos dentro de los biofilms, (Fux *et al.*, 2005). Además, en el interior de los biofilms las células exhiben un patrón de expresión genética diferente (Costerton *et al.*, 1999). Después de la adhesión las microcolonias maduran y se genera una matriz extracelular que presenta una señalización dentro del biofilm, como en *Serratia liquefaciens* regulando la motilidad tipo swarming (Labbate *et al.*, 2004).

1.1.6 Disgregación del biofilm maduro.

Esto se da por los niveles de los nutrientes, la concentración celular, efectos del flujo continuo del medio, cambios en los niveles de oxígeno o pH, también por la acción de enzimas que disgregan los componentes de la matriz como las polisacárido liasas o las DNAsas (Boyd *et al.*, 1994), así como la motilidad esta

involucrada en la dispersión de biofilm, resultando en la disolución de las microcolonias (Hall-Stoodley y Stoodley, 2005; Parsek *et al.*, 2004; Parsek y Greenberg, 2005).

La disgregación para las bacterias formadoras de biofilms es importante debido a que desta manera se disemina infecciones y se contaminan los sistemas de agua. Esta disgregación se presenta como una erosión continua de células y/o de pequeñas porciones del biofilm (Stoodley *et al.*, 2001).

Un ejemplo de la dispersión es la biopelícula que forma la bacteria oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* donde se ha observado que el polisacárido O de los lipopolisacáridos se requiere para la disgregación de las células, provocando el desprendimiento de células para formar nuevas microcolonias, permitiendo la dispersión del biofilm y la población de nuevas superficies (Kaplan *et al.*, 2003a).

En los biofilms, particularmente dentro de las microcolonias de *P. aeruginosa*, se presenta una muerte de las células por una lisis mediada por los fagos filamentosos Pf1 los cuales existen como profagos dentro del genoma (Webb *et al.*, 2003) o por la interacción de fagos externos con el biofilm (Sutherland *et al.*, 2004). Otro determinante involucrado en la disgregación de los biofilms de *P. aeruginosa* es la presencia de los ramnolípidos los cuales producen cavidades dentro de los biofilms provocando que las células se desprendan (subpoblaciones) (Boles *et al.*, 2005) o que biofilms maduros de *Bordetella bronchiseptica* se disgreguen por la presencia de ramnolípidos exógenos (Boles *et al.*, 2005; Irie *et al.*, 2005). También el biofilm de *P. aeruginosa* se dispersa por un incremento súbito de succinato, glutamato o glucosa, provocando que las células que se desprenden incrementen la expresión de flagelo (*fliC*) y disminuyan la expresión de pili (*pilA*) (Sauer *et al.*, 2004).

Otros ejemplos sobre la dispersión son los biofilms de *Streptococcus mutans* donde la dispersión de las células se da por la presencia de una proteína de superficie celular llamada proteína de desintegración celular o desunión por sus siglas en inglés SPRE (Lee *et al.*, 1996). También en *Actinobacillus actinomycetemcomitans* la dispersión del biofilm se presenta por la presencia de la proteína DspB, la cual también disgrega biofilms ya establecidos (Kaplan *et al.*, 2003b).

1.2 Importancia de los biofilms o biopelículas.

Los biofilms tienen múltiples impactos para los recursos de la Tierra ya que son esenciales en los procesos de aguas residuales (Peyton y Characklis, 1995); en procesos de biorremediación como el tratamiento de suelos contaminados, útiles en la digestión de alimentos; son inconvenientes en evasión del sistema inmune, dañinas en nuestras placas dentales de humanos, destructores de conductos de agua y fatales en problemas de salud.



Figura 2. Ejemplos del impacto de los biofilms. A) Obstrucción de ductos industriales B) biofilms formados por *Listeria monocytogenes* sobre alimentos industrializados.

1.2.1 Importancia Industrial.

Los biofilms son importantes para muchas actividades industriales, sin embargo algunos de estos puntos pueden afectarla, el incremento de la corrosión es un aspecto; dentro de la industria alimenticia, la formación de biofilms se presenta sobre los alimentos y en los sistemas de agua potable, lo cual incrementa el riesgo de contaminación con microflora patógena. La presencia de

biofilms mixtos en los sistemas de agua ha sugerido que son una fuente de reserva y propagación de algunas enfermedades (Banning *et al.*, 2003; Doggett, 2000).

1.2.2 Importancia en la salud.

Los microbiólogos clínicos reconocen que los biofilms son reservorios de algunos microorganismos patógenos ya que estos pueden estar en ambientes naturales o dentro del cuerpo humano (Hall-Stoodley y Stoodley, 2005). Los biofilms tienen un impacto en la medicina ya que se presentan en enfermedades como la fibrosis quística, endocarditis, otitis media, periodontitis, prostatitis, caries dentales asociados a infecciones en implantes (Saint y Chenoweth, 2003). Aunado a esto, los biofilms son tolerantes a agentes antimicrobianos en concentraciones de 10 a 1000 veces mayores que lo que se necesita para matar a las células en estado planctónico. Cabe señalar que los antibióticos aminoglicosídicos en concentraciones subinhibitorias inducen la formación de biofilm en *E. coli* y *P. aeruginosa* (Hoffman *et al.*, 2005). Los biofilms son resistentes a la fagocitosis, lo que hace que sea difícil erradicarlos de los huéspedes. La estructura de la matriz exopolisacárida bacteriana permite que sean resistente a los biocidas, debido a la composición de los exopolisacáridos, la baja tasa de crecimiento, la resistencia al estrés y la presencia de bombas multidrogas (Fux *et al.*, 2005).

1.2.3 Importancia en el ambiente.

La presencia de contaminantes xenobioticos (como los hidrocarburos y los metales pesados) causan en el ambiente grandes estragos, por lo que la biorremediación trata de eliminarlos. En los biofilms se lleva a cabo la biorremediación, esto se logra inmovilizando, acumulando, procesando, mineralizando y degradando los contaminantes del medio ambiente, por lo cual los biofilms se utilizan en los tratamientos de aguas residuales o de aguas contaminadas (Macedo *et al.*, 2005; Peacock *et al.*, 2004; Singh *et al.*, 2006).

1.2.4 Punto de vista ecológico del biofilm.

En la naturaleza, las bacterias sobreviven en pequeñas comunidades perfectamente organizadas, pueden formar flóculos en suspensión, películas en la superficie de los líquidos formando verdaderas natas, sin embargo los biofilms son las comunidades microbianas que se desarrollan en las interfases de sólidos-líquidos o en la interfase aire-líquido o en las interfases liquido-liquido (Macedo *et al.*, 2005; Spiers y Rainey, 2005). Posiblemente las bacterias adopten este estilo de vida en biofilm por las ventajas ecológicas que el nicho les proporciona, como la protección del medio ambiente, por una mayor resistencia a diversos tipos de estrés y por la cooperación metabólica dentro del biofilm, soportan la falta de nutrientes, los cambios de pH, los radicales de oxígeno, resistencia a la fagocitosis por mencionar algunos (Costerton *et al.*, 1999; Jefferson, 2004; Lawrence *et al.*, 2004).

Las microcolonias son la estructura básica del biofilm, donde se crea un ambiente de gradientes de nutrientes, intercambio de genes y se establece un sistema de detección de densidad celular conocido como quórum sensing. Cuando las microcolonias están compuestas de una mezcla de microorganismos, se llevan a cabo los ciclos de nutrientes como el del nitrógeno, azufre y carbono a través de reacciones redox que ocurren en los biofilms acuáticos y de los suelos.

Además los biofilms son un excelente nicho para el intercambio de ADN extracromosomal, se presenta por la transferencia de genes mediante conjugación y transducción. Ghigo ha reportado que la presencia del pili conjugativo F en *E. coli* actúa como factor de adhesión de las células con células y de las células con la superficie (Ghigo, 2001).

1.3 Tipos de biopelículas.

1.3.1 Formado por múltiples especies.

Los biofilms son grupos de microorganismo conformados de muchas especies bacterianas, hongos, algas, virus y de protistas. Una de las primeras comunidades estudiadas son las que se encuentran en la cavidad bucal de la cual se han identificado los componentes estructurales de esta forma de vida, las interacciones entre las células y la comunicación celular (Esteves *et al.*, 2005; Yamada *et al.*, 2005; Filoche *et al.*, 2004).

1.3.2 Por una sola especie.

La estructura precisa, la química y fisiología de los biofilms varía con la naturaleza de las células bacterianas y del ambiente local. Para su estudio en el laboratorio se ha tratado de maximizar la reproducibilidad de lo que sucedería en el ambiente natural, por lo que la mayoría de los estudios se han realizado de una sola especie bacteriana.

1.4 Los factores ambientales que afectan el biofilm.

1.4.1 Nutrientes en medios de cultivo.

En algunos estudios se observó que la adición de glucosa al medio inhibe la formación de biofilm en *E. coli* K-12 MG1655, MC4100 y W3110 causando un decremento entre el 30 y 90%, lo cual implica una represión catabólica mediada por el AMP cíclico y su proteína receptora CRP (Jackson *et al.*, 2002a).

Las células coordinan la expresión de los genes en respuesta a señales ambientales vía proteínas reguladoras y un selecto grupo de pequeñas moléculas, que incluyen a ppGpp (guanosin trifosfato), cAMP (AMP cíclico), leucina y el acetil fosfato (*acP*). La concentración intracelular del *acP* está involucrada en la expresión de estructuras celulares de superficie y en los procesos involucrados en

los pasos iniciales de la formación de biofilm como síntesis de ácido colánico, fimbria y pili (Wolfe *et al.*, 2003).

1.4.2 pH.

Muchas especies bacterianas tienen un pequeño rango de pH para su crecimiento y su sobrevivencia depende de la heterogeneidad del biofilm, ya que las bacterias pueden modular su pH local, regulando genes que codifican para enzimas relacionadas con la producción de bases o ácidos (Stoodley *et al.*, 1997).

1.4.3 Oxígeno.

Cuando las bacterias crecen adheridas a superficies presentan gradientes de oxígeno y condiciones locales de anaerobiosis. Por ejemplo, en biofilms maduros de *P. aeruginosa* la limitación de oxígeno y la presencia de nitrato reduce la susceptibilidad de antibióticos (Borriello *et al.*, 2004). La presencia de oxígeno se ha cuantificado por medio de microelectrodos, comprobando que en un biofilm de 210 μm de espesor existe una región de 50 μm donde penetra el oxígeno, lo cual genera un crecimiento lento o inanición por la limitación de oxígeno cuando el espesor es mayor a los 50 μm (Borriello *et al.*, 2004).

El hongo oportunista *Candida albicans*, a pesar de crecer en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, solo es capaz de formar biofilms en presencia de oxígeno (Biswas y Chaffin, 2005), por lo cual el oxígeno es un factor determinante en el establecimiento del biofilm para algunos microorganismos.

1.4.4 Quorum sensing.

Numerosas evidencias experimentales sugieren que el proceso de formación del biofilm es regulado por una compleja cascada de reguladores (Van *et al.*, 2007). Se ha demostrado que la formación de biofilm es regulado por la concentración celular, la cual es detectada por la célula mediante el quórum sensing o detección de la autoinducción. El sistema de quórum sensing es un mecanismo de regulación dependiente de la acumulación en el medio ambiente de

una molécula señal, el autoinductor, que permite a la bacteria detectar la densidad de población existente. En bacterias Gram-negativas el autoinductor (molécula señal) es principalmente acilhomoserina lactona, mientras que en bacterias Gram-positivas el autoinductor son péptidos detectados mediante el sistema de dos componentes. Cuando se acumula en el medio una suficiente cantidad del autoinductor se activa un receptor específico que altera la expresión de genes que afectan a distintos fenotipos como la virulencia, esporulación, producción de antibióticos, luminiscencia, motilidad, todo esto durante la interacción con hospederos eucariontes (Bassler, 1999; Federle y Bassler, 2003; Zhang y Dong, 2004). El quórum sensing es usado por las bacterias que desarrollan un biofilm en los pulmones de pacientes con fibrosis quística (Kievit *et al.*, 2001; Riedel *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2000). Por lo que el papel de las señales extracelulares y del quórum sensing es esencial para la diferenciación del biofilm. Debido al complejo y multifactorial comportamiento dentro de las comunidades bacterianas, el quórum sensing se relaciona con en el establecimiento de las microcolonias, en la heterogeneidad, arquitectura, resistencia al estrés, en el mantenimiento y desprendimiento de células del biofilm que comprende la regulación de genes para la adhesión, motilidad, quimiotaxis, producción de EPS, en el crecimiento y competencia, en la toma y liberación de ADN (Davies *et al.*, 1998; Kjelleberg y Molin, 2002; Spoering y Gilmore, 2006). Consistentemente con estas observaciones, se ha reportado que el alga australiana *Delisea pulchra* produce una furanona halogenada que interfiere con el quorum sensing (QS) mediado por acil homoserina lactonas, posiblemente al competir por el sitio de unión de la homoserina en la proteína receptora; además los biofilms tratados con dicha furanona son incapaces de madurar, se afecta la arquitectura y promueve la desunión de bacterias del biofilm con la consecuente pérdida de biomasa (Hentzer *et al.*, 2002).

En *P. aeruginosa* existen dos sistemas de comunicación celular, *lasR-lasI* y *rhlR-rhlI* involucrados en la formación de biofilm. A una densidad de población suficiente las señales se acumulan y se alcanza la concentración necesaria para la

activación de genes involucrados en la diferenciación del biofilm, mutantes incapaces de secretar estas señales forman un biofilm distinto en la arquitectura.

1.4.5 Factores genéticos involucrados en el desarrollo de las biopelículas.

Además de la regulación a nivel transcripcional, existen numerosos indicios de la existencia de regulación postranscripcional en el proceso de formación de biofilm. La activación de la síntesis de celulosa en *S. enterica* serovar *Typhimurium* se produce por el activador alostérico diguanocil monofisfato cíclico (c-diGMP). La concentración de este activador depende de dos actividades enzimáticas, diguanilato ciclasa y fosfodiesterasa, asociadas a enzimas que contienen los dominios GGDEF y EAL. Estos dominios son ampliamente distribuidos en proteínas de procariontes (Méndez-ortiz y Membrillo-Hernández 2005). En *P. aeruginosa* hay un gran número de genes involucrados en la formación del biofilm, un ejemplo es el gen *wspF* que presenta el dominio GGDEF, el cual está involucrado en generar un biofilm menos robusto y grueso que el tipo silvestre, lo que indica que la presencia de c-diGMP es necesaria para la formación de biofilm (Hickman *et al.*, 2005). Un tratamiento con c-diGMP extracelular en *Staphylococcus aureus* inhibe las interacciones intracelulares y la formación de biofilm (Karaolis *et al.*, 2005). El c-diGMP involucrado en diversos procesos de diferenciación celular y en mecanismos de multicelularidad en bacterias, como el proceso de la motilidad, virulencia, resistencia a metales, niveles de competitividad, comunicación célula-célula, en la morfología de la célula, en la síntesis de fimbria, en la producción de celulosa, en la vida libre y en los diferentes pasos del biofilm (García *et al.*, 2004; Méndez-Ortiz *et al.*, 2006; Romling *et al.*, 2005; Römling y Amikam, 2006; Simm *et al.*, 2004). También el c-di-GMP regula la expresión de genes involucrados en la expresión de exopolisacáridos controlando la estabilidad de los biofilms (Thormann *et al.*, 2006).

Estudios genéticos han ayudado a definir los genes que participan en la diferenciación de los estadios de la formación de biofilm. Los genes requeridos para la formación de biofilm son los relacionados con la adhesión, el quórum sensing, con la pared celular, con el metabolismo y con plásmidos (Jefferson, 2004) ,

La siguiente tabla muestra algunos de los genes donde su producto de éstos se encuentra implicado en la formación del biofilm.

Gene	Función	Bacteria	Cita
<i>dspB</i>	Participa en disgregación del biofilm (<i>N</i> -acetilglucosaminidasa)	<i>A. actinomycetemcomitans</i>	Kaplan <i>et al.</i> , 2003b.
<i>agn43 (flu)</i>	Media interacciones célula-célula y célula-superficie en medio mínimo suplementado con glucosa (Ag43, antígeno 43)	<i>E. coli</i>	Danese <i>et al.</i> , 2000a.
<i>csrA</i>	Represor de la formación de biofilm y activador de la dispersión del mismo (CsrA, regulador global de unión a RNA)	<i>E. coli</i>	Jackson <i>et al.</i> , 2002b.
<i>dsbA</i>	Participa en el plegamiento de proteínas extracitoplásmicas que contienen puentes disulfuro y en ensamblaje de fimbria tipo I y del cuerpo basal del flagelo (DsbA)	<i>E. coli</i>	Genevaux <i>et al.</i> , 1999a.
<i>flhD</i>	Regulador maestro de síntesis de flagelo involucrado en la adhesión reversible (FlhDC)	<i>E. coli</i>	Pratt y Kolter, 1998.
<i>fliC</i>	Subunidad estructural del flagelo (Flagelina)	<i>E. coli</i>	Pratt y Kolter, 1998.
<i>nlpE</i>	Transmite señales al dominio periplásmico de CpxA en respuesta a daño en membrana causado al momento de adhesión (Lipoproteína de membrana externa)	<i>E. coli</i>	Otto y Silhavy, 2002.
<i>ompR234</i>	Mutantes en este gen estimulan la formación de biofilm vía producción de curli (OmpR, parte del sistema de dos componentes EnvZ/OmpR que responde a osmolaridad)	<i>E. coli</i>	Prigent-Combaret <i>et al.</i> , 2001.
<i>oxyR</i>	La forma reducida de OxyR reprime la expresión del gen <i>flu</i> (OxyR, regulador maestro durante estrés oxidativo)	<i>E. coli</i>	Danese <i>et al.</i> , 2000a; Schembri <i>et al.</i> , 2003.
<i>rfaG</i>	Mutantes en estos genes están	<i>E. coli</i>	Genevaux <i>et al.</i> , 1999b.

Gene	Función	Bacteria	Cita
<i>rfaP</i> <i>galU</i>	afectadas en motilidad y fimbria tipo I (Participan en la biosíntesis del "core" de LPS)		
<i>rpoS</i>	Factor sigma de fase estacionaria (RpoS)	<i>E. coli</i>	Adams y McClean, 1999. Corona-Izquierdo y Membrillo-Hernández, 2002a. Whiteley <i>et al.</i> , 2001.
<i>wcaF</i>	Participa en la producción de ácido colánico.	<i>E. coli</i>	Danese <i>et al.</i> , 2000b.
<i>cpsE</i>	Participa en síntesis de ácido colánico	<i>E. coli</i>	Prigent-Combaret <i>et al.</i> , 2000.
<i>aafA</i>	Participa en adherencia agregativa (AafA, subunidad de AAF/II)	EAEC	Czeczulin <i>et al.</i> , 1997.
<i>aggR</i>	Activador transcripcional de AAF/II que afecta la formación de biofilm (AggR)	EAEC	Sheikh <i>et al.</i> , 2001.
<i>fis</i>	Activa la expresión de AggR (Fis)	EAEC	Sheikh <i>et al.</i> , 2001.
<i>yafK</i>	Proteína hipotética, posiblemente regula los genes que codifican AAF/II a nivel transcripcional (YafK)	EAEC	Sheikh <i>et al.</i> , 2001.
<i>algL</i>	Degrada alginato, participa en disgregación del biofilm (Alginato liasa)	<i>P. aeruginosa</i>	Boyd y Chakrabarty, 1994.
<i>algT</i>	Regula síntesis de alginato (AlgT)	<i>P. aeruginosa</i>	Hentzer <i>et al.</i> , 2001
<i>flgK</i>	Proteína flagelar asociada al gancho	<i>P. aeruginosa</i>	O'Toole y Kolter, 1998a.
<i>lasI</i>	(LasI) N-(3-oxododecanoil)-L-homoserina lactona	<i>P. aeruginosa</i>	Davies <i>et al.</i> , 1998.
<i>mucA22</i>	Mutantes en este gen sobrepoducen alginato (Factor anti-sigma de <i>algT</i>)	<i>P. aeruginosa</i>	Hentzer <i>et al.</i> , 2001.
<i>pilBCD</i>	Síntesis de pili tipo IV (PilB, PilC, PilD)	<i>P. aeruginosa</i>	O'Toole y Kolter, 1998a.
<i>agfA</i>	Estabiliza el contacto intracelular y participa en adhesión a superficies (AgfA, subunidad de fimbria SEF17)	<i>S. enteritidis</i>	Austin <i>et al.</i> , 1998.
<i>mbaA</i>	Participa en la formación y mantenimiento de la arquitectura tridimensional del biofilm maduro (MbaA)	<i>Vibrio cholerae</i>	Bomchil <i>et al.</i> , 2003.
<i>rbf</i>	Involucrado en la agregación multicelular dentro del biofilm que responde a glucosa y NaCl (Regulador transcripcional Rbf)	<i>Staphylococcus aureus</i>	Lim, <i>et al.</i> , 2004.
<i>sigB</i>	Participa en la inducción de	<i>Staphylococcus</i>	Rachid <i>et al.</i> , 2000.

Gene	Función	Bacteria	Cita
	biofilm bajo estrés osmótico (Factor sigma σ^B)	<i>aureus</i>	
<i>bolA</i>	La sobreexpresión de este gen induce la formación biofilm y la delección la disminuye (morfogene para célula redonda, BolA)	<i>E. coli</i>	Vieira <i>et al.</i> , 2004
<i>cysE</i>	Mutantes en este gen forman biofilm mas rápido comparado con la cepa silvestre (Enzima que convierte la serina en O-acetil-L-serina (OAS))	<i>E. coli</i>	Sturgill <i>et al.</i> , 2004.
<i>tnaA</i>	Participa en la formación de biofilm y adherencia a células epiteliales (Triptofanasa)	<i>E. coli</i>	Di Martino <i>et al.</i> , 2002.
<i>ryhB</i>	Mutantes en este gen presentan un biofilm diferente a la cepa silvestre y una reducción en motilidad y quimiotaxis en bajo hierro (Pequeño RNA; regulador)	<i>Vibrio cholerae</i>	Mey <i>et al.</i> , 2005.
Grupo <i>pel</i>	Son responsables de la producción de matriz extracelular rica en glucosa en la formación de biofilm (Proteínas transmembranales y de procesamiento de carbohidratos)	<i>P. aeruginosa</i>	Friedman y Kolter, 2004.
<i>pgaABCD</i>	Promueve la adhesión intercelular y a las superficies en la formación de biofilm (Adhesina tipo polisacárido, PGA)	<i>E. coli</i>	Wang <i>et al.</i> , 2004.
<i>Katar</i>	Dan protección contra el peróxido de hidrógeno en biofilm (Catalasas)	<i>P. aeruginosa</i>	Elkins <i>et al.</i> , 1999.
<i>relA</i> , <i>spoT</i>	Mutantes en estos genes presentan un decremento en la formación de biofilm en medio mínimo (Biogénesis de (p)ppGpp)	<i>E. coli</i>	Balzer y McLean, 2002.
<i>hha</i> , <i>ybaJ</i> , <i>ompA</i>	Participan en la formación de biofilm, en la motilidad, en conjugación y agregación (Hha, YbaJ y OmpA)	<i>E. coli</i>	Barrios <i>et al.</i> , 2005.
<i>bvgA</i>	Mutantes en este gen disminuyen la formación de biofilm (BvgAS, sistema de transducción de señales)	<i>Bordetella</i> sp.	Mishra <i>et al.</i> , 2005.
<i>wspF</i>	Mutantes en este gen aumentan la formación de biofilm por un incremento de c-diGMP (operon <i>wsp</i> , parte del sistema de traducción de señales)	<i>P. aeruginosa</i>	Hickman <i>et al.</i> , 2005.

Gene	Función	Bacteria	Cita
<i>sinR</i>	Regula la transición entre células planctónicas a biofilm (SinR, regulador maestro)	<i>Bacillus subtilis</i>	Kearns <i>et al.</i> , 2005.
<i>Smu0630</i>	Mutante en este gen disminuye la formación de biofilm a pesar de la fuente de carbono (Smu3630, posible lipoproteína de unión a glucano)	<i>Streptococcus mutans</i>	Brown <i>et al.</i> , 2005.
<i>sarA</i>	Mutantes en este gen inhiben la formación de biofilm vía la regulación de polisacáridos PIA/PNAG (SarA, regulador central)	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>S. epidermidis</i> .	Valle <i>et al.</i> , 2003; Tormo <i>et al.</i> , 2005
<i>rfaH</i>	Reprime la formación de biofilm por la reducción de la adhesión (RfaH, antiterminador transcripcional)	<i>E. coli</i>	Beloin <i>et al.</i> , 2006.
<i>luxO</i> , <i>hapR</i>	Mutantes en estos genes disminuyen la formación de biofilm (LuxO, HapR, sistema quórum sensing)	<i>Vibrio cholerae</i>	Zhu y Mekalanos, 2003.
<i>comCDEX</i>	Mutantes en estos genes presentan un biofilm anormal (ComCDEX, sistema quórum sensing en Gram-positiva)	<i>Streptococcus mutans</i>	Li <i>et al.</i> , 2002.
<i>esal/esaR</i>	Regula la adhesión y formación de biofilm (Esal/EsaR sistema quórum sensing)	<i>Pantoea stewartii</i>	Koutsoudis <i>et al.</i> , 2006.
<i>Fap1</i>	Participa en biogénesis de fimbrias (Fap1, adhesina asociada a fimbria)	<i>S. parasanguis</i>	Froeliger y Fives-Taylor, 2001.

Tabla 1 La tabla muestra genes descritos en el proceso de desarrollo y formación de biofilm en diversos modelos bacterianos.

1.5 Análisis de perfil de expresión global durante la formación de biopelículas (microarreglos).

La técnica de análisis mediante microarreglos ha sido utilizada para identificar el perfil de expresión global durante la formación de biofilm, en distintos tipos de especies bacterianas; de acuerdo a estos análisis se ha sugerido que de manera común, la expresión en los biofilms son genes relacionados con la represión de flagelo, aumento en la expresión de genes de adhesión y proteínas ribosomales entre otros, lo que sugiere que genes de este tipo son de importancia

para cada caso de estudio durante el proceso de desarrollo y formación del biofilm. Sin embargo se han encontrado algunas excepciones al respecto, según sea el caso la expresión es diferente, debido a que cada organismo regula la expresión de sus genes de diferente manera; como podemos observar, en la siguiente tabla se muestran algunos ejemplos de la expresión genética en distintas especies bacterianas durante el proceso de desarrollo y formación del biofilm. (Lazazzera 2005).

La tabla muestra los genes diferencialmente expresados en formación de biofilm, todos analizados mediante microarreglos de ADN.

Especie	Producto de gene diferencialmente expresado			
	Motilidad	Adhesión	Proteína ribosomal	Enzimas de cadena respiratoria
<i>P. aeruginosa</i>	Pili tipo IV flagelos reprimidos	n/a	Activadas	Citocromos C reprimidas
<i>B. subtilis</i>	Reprimida	n/a	Activadas	Activación de citocromo C
<i>E. coli</i> **	Sin cambios	Activada	Activada	Activación de citocromo d
	Sin cambios	Activada	Sin cambios	Citocromo o oxidasa activ.

Tabla 2 Patrón de expresión en diferentes especies bacterianas

n/a = no aplica

**El caso de *E. coli* la expresión diferencial depende del estado de crecimiento.

Los microarreglos de DNA utilizan normalmente todos los ORFS predichos para un organismo y con esto determinar cuáles de los genes son utilizados en un estado metabólico dado. Para esto se utiliza un control y un problema los cuales son marcados con dos cianinas diferentes Cy3 o Cy5 según sea el caso, lo que permite observar la expresión diferencial entre ambas condiciones. De manera tradicional, la genética clásica aplica el análisis a uno o unos cuantos genes para poder determinar la posible función dentro de un proceso; en análisis globales es de manera diferente, estas técnicas permiten ver la expresión global del

organismo analizado y poder proponer como se modula la expresión del genoma de dicho organismo (Schaber *et al.*, 2007).

Los microarreglos de ADN en la formación de biofilms, ha sido utilizada durante los últimos diez años, desde los primeros análisis realizados generalmente en patógenos, como *Pseudomonas aeruginosa* (Whiteley *et al.*, 2001), en la que se describe por primera vez genes implicados en la adhesión celular y genes de vida libre, lo que permitió describir los genes implicados en la formación del biofilm.

En *P. aeruginosa* se detectó que el 1% de los genes expresados diferencialmente en biofilm con un 0.5% activado y un 0.5% reprimido. Algunos genes involucrados en la resistencia a antibióticos, motilidad, adhesión, traducción, metabolismo y transporte son los más activados (Whiteley *et al.*, 2001).

En general los datos muestran una expresión diferencial que involucra al metabolismo anaeróbico, la regulación de la permeabilidad de la membrana, la producción de polímeros extracelulares, la motilidad y los genes sin función asignada son los más regulados en biofilm (Beloin *et al.*, 2004). En una comparación de la expresión de genes de *Staphylococcus aureus* entre las fases exponencial y estacionaria contra la de biofilm maduro se encontró que 48 genes se indujeron en biofilm mientras que 84 genes se reprimieron en estado planctónico los cuales están involucrados en la adaptación a cambios de pH y crecimiento en anaerobiosis (Beenken *et al.*, 2004).

Es claro que este tipo de análisis arroja una tremenda cantidad de datos, específicamente de genes relacionados con la formación de biofilm. Análisis previos han sido utilizados para sugerir redes regulatorias involucradas en la formación de biofilm, sin embargo es claro que solo ha observado de manera superficial el proceso de formación del biofilms, es real que se deben realizar mas

análisis a diferentes puntos de este complicado proceso y así poder describir un panorama mas completo en lo que respecta a la agregación celular en bacterias.

1.6 Proteoma de biofilms.

Como observamos, los microarreglos de ADN se han utilizado cada vez más para analizar la formación de biofilm, sin embargo, la complementación de este tipo de herramientas con otras permite definir con mayor certeza la función de cada gene implicado en algún proceso, una de estas herramientas es la proteómica.

Los análisis mediante proteómica sin duda son una de las herramientas complementarias a los análisis de microarreglos. No todos los transcritos analizados mediante microarreglos de ADN, llegan a convertirse en una proteína funcional y por el contrario transcritos de poca abundancia pueden participar de forma importante en el metabolismo del microorganismo analizado. En la actualidad gracias a estas y otras técnicas, es posible analizar desde distintos puntos, la formación de biofilm en diversos microorganismos. Aunado a ésto, el análisis mediante espectrometría de masas permite definir con mayor precisión las características de cada una de las proteínas diferencialmente expresadas en cada condición de estudio.

Análisis previos en proteómica utilizando a *E. coli* S17-1, se ha analizado la expresión diferencial de proteínas en células adheridas a una superficie (sésiles) y en vida libre (planctónicas), mostrando que existen diferencias a nivel de expresión genética entre ambas poblaciones celulares (Collet *et al.*, 2007).

Los biofilms han sido investigados para dilucidar los mecanismos genéticos de su regulación. Por medio de estudios sobre la comparación de la expresión de los genes y patrones de proteínas entre las células planctónicas y durante el desarrollo del biofilm se ha encontrado la represión de genes flagelares, una mayor expresión de genes para la adhesión y de proteínas ribosomales

(Lazazzera, 2005). Dentro del biofilm se generan microambientes y en cada región hay una diferenciación donde se expresa un patrón diferente de genes; esta expresión responde a señales intracelulares o extracelulares. En *E. coli* analizando los cambios en la expresión de genes de células planctónicas a sésiles, se encontró que aumentaron las proteínas involucradas en la adhesión, proteínas de transporte, posibles oxidoreductasas y genes asociados con el aumento a la resistencia a metales pesados (Schembri *et al.*, 2003).

Mediante proteómica se completa el estudio del análisis transcripcional, ya que es posible detectar proteínas después de una regulación postraducciona, lo cual no se logra por medio de los microarreglos. Aunque no son muchos los estudios sobre la expresión de proteínas, en *E. coli* O157:H7 se han identificado algunas de las proteínas responsables del fenotipo de las células en biofilm y a permitido observar el patrón de expresión durante el proceso de formación del biofilm mediante esta técnica, validando datos observados mediante microarreglos de ADN (Tremoulet, *et al.*, 2002).

Varias de las proteínas se expresan diferencialmente durante cada estadio del biofilm en *P. aeruginosa* y *B. cereus* comparando células sésiles con planctónicas, se observan proteínas relacionadas con daño oxidativo, producción de exopolímeros, con el metabolismo aeróbico y anaeróbico y con el transporte membranal expresadas exclusivamente en el biofilm (Sauer *et al.*, 2002; Oosthuizen *et al.*, 2002). Análisis previos de proteómica en nuestro laboratorio en las bacterias utilizadas en este trabajo, permiten proponer diferencias a partir de días tardíos tales como tres días y diez días, las diferencias radican en proteínas involucradas con excreción de polisacáridos y chaperonas principalmente (datos no publicados).

2 Justificación y antecedentes de laboratorio.

Hasta antes de este proyecto no se habían realizado análisis de expresión global durante la formación de biofilm utilizando microarreglos de ADN, en alguna de las dos rizobeaceas utilizadas en éste proyecto, por ello se propone conocer la expresión genética en este tipo de microorganismos específicamente en *S. meliloti* y *R. etli*.

En nuestro laboratorio previamente se han realizado algunos análisis para observar la formación de biofilm en diferentes condiciones de cultivo utilizando placas de PVC como superficie de adhesión,

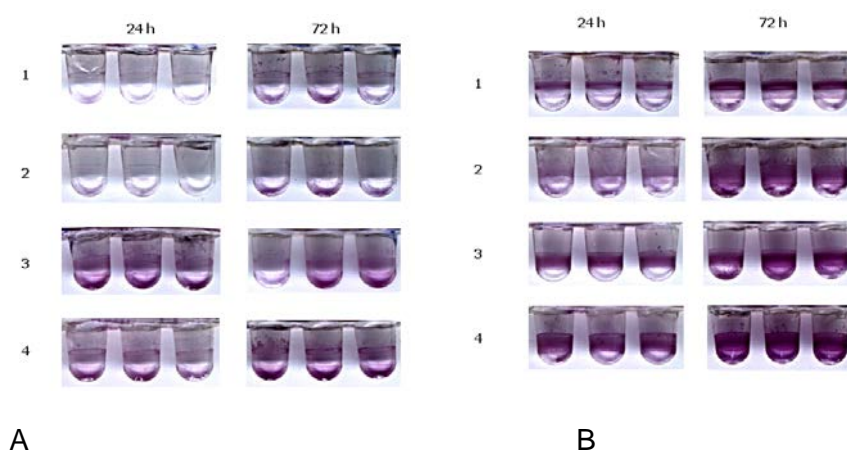


Figura 3.-La figura muestra la formación de biofilms en *R. etli* (A) y *S. meliloti* (B), la superficie de adhesión utilizada es PVC, la densidad óptica inicial es de 0.2, se incuban 24 y 72 hrs. a 29°C. Posteriormente se tiñe con cristal violeta al 1 % por 15 minutos. Las condiciones de cultivo son: 1) medio mínimo (MM) con NH_4Cl y 1.5 mM CaCl_2 . 2) MM con NH_4Cl y 1.5 mM de CaCl_2 , 3) MM con NH_4Cl y 7 mM de CaCl_2 y 4) MM con NH_4Cl y 7 mM de CaCl_2 .

Los resultados obtenidos en este experimento permitieron definir las etapas de desarrollo de las biopelículas en ambos modelos y definir la capacidad de formación de biofilm para cada microorganismo, así mismo, observamos que en medio mínimo las bacterias forman floculados celulares, los cuales han sido definidos por algunos autores también como biopelículas, lo cual no permite diferenciar las dos poblaciones correctamente, por otro lado, la cantidad de muestra obtenida utilizando placas de 96 posos, es insuficiente para realizar una extracción de RNA total. Por lo anterior se utilizó como medio de cultivo medio rico PY en el cual es posible definir claramente las

poblaciones sésiles de las planctónicas, de igual manera sustituimos el PVC como superficie de adhesión por vidrio, utilizando perlas de este material.

Mediante microscopía confocal definimos las etapas de desarrollo de la formación de biofilm, lo cual fue útil para seleccionar los tiempos de muestreo a los cuales realizaríamos el análisis de expresión del genoma utilizando los microarreglos de ADN, esto fue fundamental ya que nos permitió seleccionar los tiempos tempranos de desarrollo de la biopelícula lo cual era nuestro objetivo en esta etapa del proyecto de investigación.

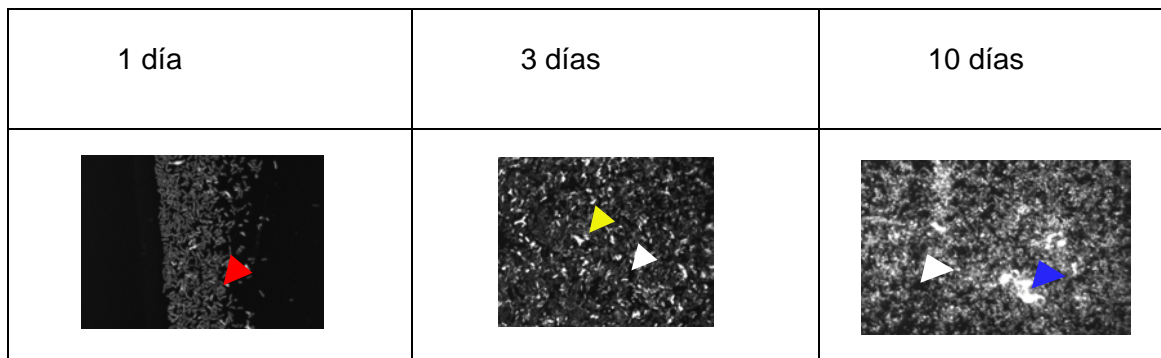


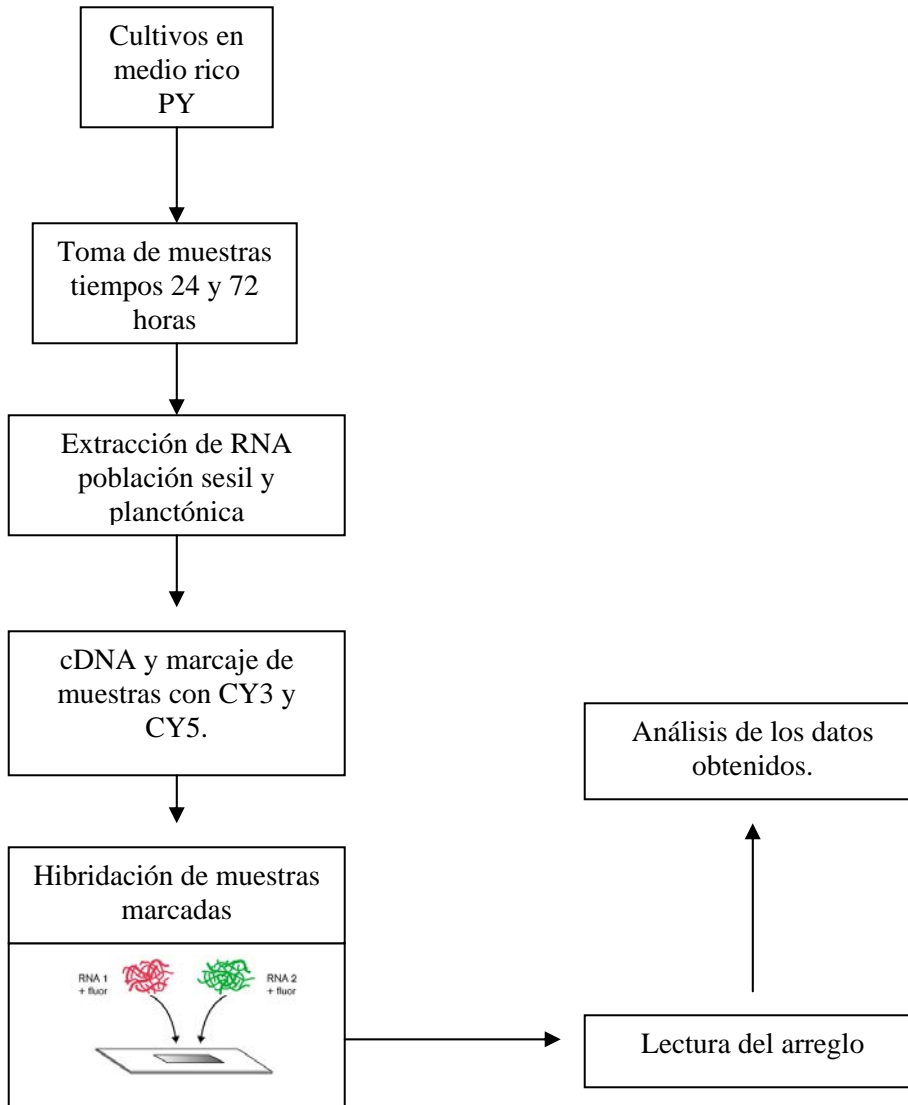
Figura 4.-En la figura se observa las diferentes etapas de la formación del biofilm mediante microscopía confocal en *R. etli* CE3. El cultivo es realizado en medio rico PY y la superficie de adhesión utilizada es vidrio.

3 Objetivo de este proyecto.

Identificar mediante transcriptoma, utilizando microarreglos de ADN, los genes diferencialmente expresados en las etapas tempranas de desarrollo y formación del biofilm en *Rhizobium etli* CE3 y *Sinorhizobium meliloti* 1021, comparando las poblaciones celulares planctónicas contra sésiles.

4 MATERIALES Y MÉTODOS.

ESTRATEGIA EXPERIMENTAL



Cultivos bacterianos.

Ambas bacterias (*Sinorhizobium meliloti* 1021 y *Rhizobium etli* CE3) se cultivaron en medio rico PY (5 g de peptona de caseína y 3 g de extracto de levadura en agua destilada). Los cultivos se dejaron por un periodo de 16 a 18 horas a una temperatura de 30°C y 200 rpm, posteriormente se colectaron las bacterias en botellas de 500 ml por centrifugación a 9632 g durante 10 minutos (rotor JA-14) y se realizó un lavado con agua destilada estéril.

Los paquetes celulares se resuspendieron con agua estéril y se midió la densidad óptica (DO) a 540 nm, se inocularon 500 ml de PY líquido a una DO inicial de 0.2, se tomó 15 ml para ser agregados a matraces que contenían 40 g de perlas de vidrio (3 mm de diámetro), los matraces se incubaron a una temperatura de 30°C, sin agitación y humedad relativa de 60%.

Obtención del material biológico.

Los cultivos estáticos anteriormente descritos, se incubaron por un periodo 24 y 72 horas, tomando muestras en cada uno de estos puntos. La toma de muestra fue realizada de la siguiente manera:

Planctónicas.

Agregar a el cultivo 10 µl de RNA later (cat #7020 Ambion), inmediatamente tomar el sobrenadante con una pipeta de vidrio, filtrar con una membrana Millipore (cat.# AAWP04700), congelar inmediatamente la membrana con nitrógeno líquido y conservar a una temperatura de -80°C.

Sésiles

Tomar cada uno de los matraces ya sin sobrenadante, lavar con 10 ml de agua con DEPC (di-etil pirocarbonato 1:1000), desechar el lavado y nuevamente agregar agua con DEPC para realizar el desprendimiento de las células adheridas

mediante agitación, pasar por un filtro el lavado obtenido, congelar los filtros y conservar a -80°C

Extracción de RNA total.

Las muestras congeladas (-80°C) se resuspendieron en buffer de lisis (SDS 1%, LiCl 100mM, EDTA 10 mM, Tris 100 mM pH 7.0), previamente calentado en proporción 1:1 con fenol en baño María (90°C), se agito la solución hasta obtener emulsión lechosa a 950 rpm en un thermomixer por 30 minutos, posteriormente se centrifugo a 15805 g, 15 minutos a temperatura ambiente (rotor FX301.5), tomar la fase acuosa y agregar buffer de extracción-cloroformo en proporción 1:1 previamente calentado, agitar nuevamente durante 15 minutos, centrifugar 10 minutos a 15805g, Lavar el sobrenadante con un volumen de cloroformo, centrifugar nuevamente a 15805g, tomamos nuevamente la fase acuosa y se agrega 1/3 de Cloruro de Litio 8M, se agita manualmente y se dejo precipitando de 16 - 18 horas a 4°C .

Se tomo el precipitado y se centrifugo a 15805g a 4°C por 15 minutos, la pastilla formada se lavo con una solución de etanol al 80% y cloruro de Litio 2M. Posteriormente se centrifugo la muestra a 11316 g por 10 minutos. Finalmente secar la pastilla al vacío, por 7 minutos.

La pastilla se resuspendio en 30 μl de agua con DEPC y se tomo 1 μl para ser diluido 1:1000 en 1 ml de agua estéril UP y se cuantifico.

Con una celda de cuarzo medir la concentración del RNA a 260-280 nanómetros. La purificación de RNA total para cada microorganismo, se baso en la metodología descrita por Vries y colaboradores datos publicados en 1988.

Síntesis de cDNA

Se tomo 10 μg de RNA total y lo pasamos a un tubo de 500 μl , se le agrego 1 μl de oligos degenerados, aforar con agua libre de RNAsas a un volumen final de 11 μl ., se mezcló e incubo la reacción en un equipo para PCR durante 5 minutos a 70°C , posteriormente se incubo 10 minutos a temperatura ambiente,

centrifugar 30 segundos, colocar en hielo y adicionar 4 μ l de 5xCy Script Buffer, 2 μ l de DTT 0.1M, 1 μ l de dUTP nucleotid mix, 1 μ l dUTP Cy3 o Cy5 (según sea el caso) y finalmente agregar 1 μ l de reverso transcriptasa obteniendo un volumen final de 20 μ l. Mezclar varias veces e incubar la solución durante 90 minutos a 42°C, tomar la reacción y centrifugarla por 30 segundos, el procedimiento de la síntesis de cDNA para cada caso se realizo con el kit “Cyscribe First Strand cDNA Labelling Kit” (distribuido por la compañía Amersham Bioscience cat. # RPN6200).

El cDNA obtenido de la reacción anterior se purifico en columnas de afinidad contenidas en el kit “Cyscribe GFX Purification Kit” (GE Healthcare cat. # 27-9606-01) se coloca en una celda desechable (SIGMA C-5416)., agregar 500 μ l de buffer de captura a una cantidad de 20-100 μ l, mezclar por inversion, medir al DO a 260-280 con la lámpara de luz visible, colocar la solución en una columna de GFX con un tubo colector, centrifugar 30 segundos a 15805g, tomar el sobrante y medirlo nuevamente DO, descartar el eluido del tubo de colecta y adicionar 600 μ l de buffer de lavado directamente a la columna, centrifugar a 15805g por 30 segundos, descartar el contenido del tubo de colecta y repetir este paso hasta hacer un total de tres lavados, al final de este paso dar una centrifugación sin buffer de lavado, únicamente a la columna para drenar, pasar la columna a un tubo eppendorf de 1.5 ml (estéril de preferencia) y adicionar 60 μ l buffer de elusión, incubar la muestra de 1 a 5 minutos a temperatura ambiente, centrifugar a 13,000 rpm por 1 minuto, en algunos casos este paso se puede repetir dependiendo de la cantidad de incorporación calculada.

Proceso de hibridación (Cy3 y Cy5) en la laminilla.

Las muestras después del proceso de purificación de cDNA fueron concentradas utilizando un equipo de vacío (Speed Vac DNA110), durante 30 minutos, posteriormente se resuspendieron en 4 μ l de agua UP estéril y se adiciono 16 μ l de solución de hibridación (SSC 4.2X, Formamida 42%, SDS 0.17%

y espermatozoos de salmón $63 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), ambas soluciones se mezclaron, obteniendo un volumen final de $20 \mu\text{l}$, se desnaturalizaron a una temperatura de 94°C por 5 minutos rápidamente se pasó a una temperatura de 40°C por 30 segundos, se mezclan ambas soluciones (Cy3 y CY5). Se colocó la mezcla sobre la laminilla, se toma un cubreobjetos HybriSlip (BioScience) y se deposita sobre el área donde se colocó la gota, se coloca la laminilla dentro de una cámara húmeda marca Corning e incuba por un periodo no mayor a 17 horas a una temperatura de 45°C .

Lavados

La eliminación del cDNA que no logra hibridar en el microarreglo se realiza mediante la realización de lavado de SSC 1x, SDS 0.5% y dos lavados SSC 0.06X (dos minutos cada lavado), finalmente la laminilla se centrifuga a $136g$ (rotor SX4250) por 10 minutos.

Análisis del microarreglo.

En un scanner para microarreglos “Scan Array Lite de Perking Elmer”, se obtuvieron las imágenes para cada fluoróforo (Cy3 ó CY5), para el análisis de estas imágenes se utilizó un programa computacional llamado Array-Pro Analyzer (versión utilizada 4.0 para Windows de Media Cybernetics), el programa permite detectar la señal de cada gene obtenida en la lectura de DO, los datos se exportan en una tabla de Excel de Microsoft Office para Windows.

Los datos se analizaron con una hoja de Excel de manera manual. Los valores de señal (datos obtenidos a partir del programa de detección de microarreglos Array Pro), fueron obtenidos a partir de la división entre la señal obtenida y el fondo, esto permite determinar el valor de señal, se compara con el cociente de fluorescencia (ver siguiente párrafo), si el valor de la señal es igual o mayor a el promedio de los valores, el valor es utilizado de lo contrario se omite.

El cociente de fluorescencia promedio se calcula dividiendo el promedio de las señales entre el promedio de los valores de fondo de todos los genes, el valor obtenido es utilizado como un parámetro para determinar si los valores de densidad / fondo son significativos.

Los valores de esta relación se calcula el logarítmico base 2 y este resultado se multiplica por 100, con esto podemos observar el cambio de la expresión en cada uno de los genes observados, en nuestro caso utilizamos valores de 1.5 y -1.5 respectivamente para filtrar los valores a utilizar para cada caso.

Los valores utilizados van desde +1.5 hacia arriba y de -1.5 hacia abajo, estos grupos forman los grupos de genes diferencialmente expresados en la condición sésil o planctónica, según sea el caso.

Tomamos las listas obtenidas y juntamos los valores obtenidos en los tiempos 24 horas y 72 horas sésiles (solo se utilizaron los genes que se mantienen a través de los experimentos), con la finalidad de hacer una sola lista, hacemos lo mismo con la condición planctónica, para cada caso se agrupan las listas mediante grupos funcionales por Grupos de Genes Ortólogos (siglas en inglés COGs) de cada gene, observamos los grupos funcionales de cada condición y comparamos sésiles y planctónicas en cada organismo utilizado.

Características del “oligo set” e impresión.

Sinorhizobium meliloti 1021 (Galibert *et al.* 2001) se utilizó el “oligo set” comercial, elaborado por la compañía Qiagen; el cual presenta características específicas, los oligos son setentámeros (70 nucleótidos), que representan a cada uno de los genes reportados en la secuencia del genoma de *Sinorhizobium meliloti*. Estos presentan una TM de $80^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$, las secuencias utilizadas se encuentran a mas de 50 nucleótidos de la región 5´ y no menos de 50 nucleotidos del 3´, el porcentaje de identidad cruzada con otros ORFS´s es menor o igual al 70%, el numero de bases contiguas que puede aparearse con otros ORFs es

menor a veinte nucleótidos. Del total de nucleótidos el 95% cumplen o se consideran dentro de los parámetros anteriormente mencionados y el 5 no cumplen satisfactoriamente alguno de estos parámetros.

Rhizobium etli CE3, el diseño de los oligos fue realizado por nuestro grupo, y los oligos se enviaron a sintetizar con la compañía MWG, y tiene las siguientes características: constituido de 6034 oligonucleótidos, de los cuales 6012 son de 70 bases, 6034 tienen la TM indicada, 5,886 no presentan hibridación cruzada ni sobrelape con otros oligonucleótidos, 6,034 no presentan sobrelape sobre sí mismo y 5,979 se diseñaron 50 bases después del 5' y 50 bases antes del 3' por lo tanto el 95.7% cumple con todos los criterios solicitados, y el 4.3% no cumple con al menos uno de los criterios de selección, por lo tanto este nuevo "oligo set" cumple con los estándares de calidad ofrecidos por la compañía QIAGEN. La impresión de ambos microarreglos se realizó en la Unidad de microarreglos del Instituto de Fisiología Celular UNAM.

Hidratación de la laminilla.

La laminilla ya impresa, se prehidrata por lo menos tres veces por un periodo de 10 segundos con vapor de agua estéril 60°C, entre cada exposición, la laminilla se deja secar unos segundos, posteriormente se fija con dos ciclos de luz ultravioleta (1200 J c/u), y en seguida sumergir la laminilla por un periodo de dos minutos en agua ultra pura (UP) hirviendo previamente esterilizada; sacar la laminilla e inmediatamente introducirla en etanol al 95%, secar por centrifugación por un periodo de 10 minutos y 306g (rotor SX4250). Sacar la laminilla y prehibridizar por un período de una hora a una temperatura de 45°C en una solución de SSC 5X, SDS al 0.1% , BSA al 1%, posteriormente, sacar la laminilla e inmediatamente introducirla en agua UP estéril a temperatura ambiente, por un minuto, secar por centrifugación a 306g 10 minutos, se deja reposar la laminilla por un periodo no mayor a una hora, después de todo este proceso la laminilla podrá ser utilizada para la hibridación.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El análisis consiste en determinar los genes o grupos de genes expresados exclusivamente en las condiciones planctónicas o sésiles. Basados en experimentos realizados previamente en el laboratorio (ver antecedentes), concluimos que lo adecuado es determinar la expresión del genoma en los tiempos 24 (inicio de la formación del biofilm) y 72 horas (biofilm maduro) posteriores al inicio del experimento. De esta manera los resultados que se discutirán son los constituidos por genes o grupos de genes expresados en estos tiempos. Consideramos que los genes expresados en cada una de estas condiciones analizadas (planctónicas o sésiles) son particulares del estado metabólico.

El análisis de los datos obtenidos posterior a la detección de las imágenes fue realizado de acuerdo a lo descrito previamente por Ramírez y colaboradores (Ramírez *et al.*, 2003), los valores de expresión obtenidos de cada condición se tomaron y clasificaron por grupos funcionales mediante COGs (ver tablas de anexos), basándonos en la clasificación de NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/COG/>) para cada microorganismo.

***Sinorhizobium meliloti* 1021**

Los valores de expresión fueron agrupados y comparados, la figura 5 resume los resultados obtenidos en *Sinorhizobium meliloti* 1021.

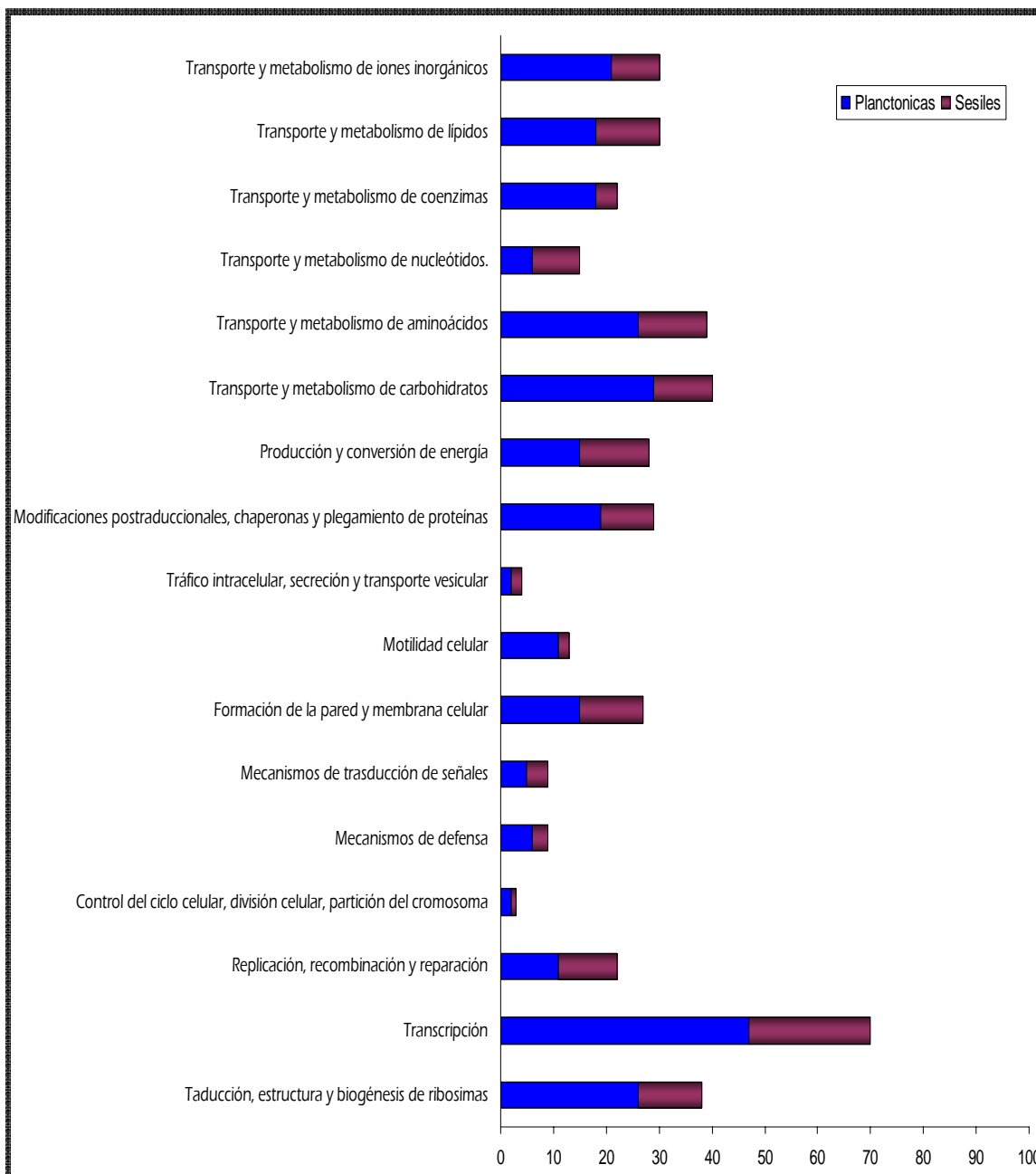


Figura 5.-La gráfica muestra los resultados obtenidos tanto en poblaciones sésiles como planctónicas de *S. meliloti* 1021. El color de las barras se relaciona con el grupo funcional que las describe y representa el número de genes exclusivos a cada uno de estos grupos funcionales expresados específicamente en las condiciones sésiles o planctónicas.

Almacenamiento y procesamiento de información genética.

J: Traducción, estructura y biogénesis de ribosomas.

S. meliloti muestra la expresión de genes relacionados a la estructura de ribosomas, tal es el caso de *rplW*, *rplT*, *rplK*, *rplB* y *rpsA*, expresados exclusivamente en la población celular sesil.

La expresión de genes estructurales de ribosomas en *S. meliloti*, es mayor en la condición planctónica que en la sesil, un ejemplo son los genes *rpmE*, *rpsU1* y *rpsO*. Esto se explica debido a una mayor actividad metabólica presente en la condición planctónica, el mismo patrón de expresión se observa en *R. etli*, donde el número de genes es mayormente expresado en la condición planctónica que en la sésil, de la misma manera podremos observar en los siguientes grupos funcionales, donde el patrón de expresión indica que la actividad metabólica relacionada a la producción de energía y síntesis de proteínas es mayor en esta población, lo cual explica la cantidad de genes relacionados con la estructura de ribosomas.

En las poblaciones planctónicas para ambos tipos bacteriano se observan genes que codifican para proteínas de ribosomas, sin embargo uno de los genes encontrados es común en ambas bacterias *rplB*.

K: Transcripción.

En *S. meliloti*, en la población sesil se observó la expresión de genes que codifican para proteínas de regulación transcripcional, ejemplo de estos son SMc01570 y SMc02596 los cuales han sido propuestos como probables reguladores transcripcionales.

La población planctónica de *S. meliloti* se observó la expresión de reguladores transcripcionales codificados por diversos genes. Un ejemplo es el gene *smoC*, por lo que sugerimos que en ambas poblaciones existe reguladores

transcripcionales específicos de cada población, lo cual tendría sentido biológico, si consideramos las diferentes necesidades metabólicas que cada una de las poblaciones puede tener debido al estado planctónico o sesil.

Otro tipo de genes expresados en la población planctónica de *S. meliloti*, son de adaptación celular, un ejemplo es *cspA5* (posible regulador transcripcional), descrito en *Salmonella entérica*, expresado durante el tratamiento con cloruro de benzalconio en poblaciones sésiles (biofilm). El proceso de adaptación a la presencia de condiciones no letales de cloruro de benzalconio promueve la expresión de este y otros tipos de genes (Mangalappalli-Illathu y Korber, 2006). En *S. meliloti*, es posible que su expresión sea parte de un mecanismo general de protección contra condiciones ambientales a las cuales se sabe que de manera natural son resistentes las células presentes en el biofilm, actualmente no se ha demostrado en *Sinorhizobium meliloti* su implicación en la detoxificación de algún tipo particular de compuestos.

En general los datos obtenidos muestran que en este grupo funcional el comportamiento es similar al grupo anterior, debido a que existen genes mayormente expresados en las condiciones planctónicas que en las sésiles. Lo más probable es que para este grupo funcional esto se deba a una mayor actividad de regulación transcripcional en la condición planctónica (ver figura 7).

L: Replicación recombinación y reparación.

S. meliloti tanto en la condición sesil como en la planctónica se observa la expresión de genes relacionados con reparación de DNA (*recM*) y con la inserción de secuencias. Un ejemplo de genes expresados en la condición sesil son SMc03312 y SMc03246, posible transposasa y posible integrasa respectivamente.

En la condición planctónica de *S. meliloti* se expresan de manera específica genes similares, relacionados con la expresión de este tipo de proteínas, un ejemplo de estos son Yich00032, *xerD* y Ypch00019 probable transposasa, recombinasa sitio específico y posible transposasa respectivamente. Adicionalmente observamos genes relacionados a la reparación del DNA. Para el

caso de la condición planctónica, ejemplo de este tipo de genes son *dnaQ*, *dnaE1,2*, y *recF* expresados exclusivamente en esta condición.

En conclusión con relación a este grupo funcional podemos mencionar que cada población celular (sesiles o planctónicas) presenta genes relacionados a la reparación e inserción de secuencias, sin embargo son específicos para cada condición, posiblemente debido a las diversas necesidades metabólicas o condiciones en que las poblaciones bacterianas se encuentran.

Señalización y procesos celulares.

D: control del ciclo celular, división celular y partición del cromosoma.

Poco se puede mencionar respecto a este grupo funcional, dadas las pocas diferencias observadas entre la expresión de ambas poblaciones. Sin embargo es importante señalar la expresión de genes relacionados con la división celular en ambos tipos bacterianos para el caso de la condición sesil observamos la expresión de *ftsX*, gene de división celular, por otro lado en la población planctónica se observa la expresión del gene *ftsZ2*. El producto de este gene ha sido involucrado en división celular, (Margolin *et al.*, 1994). Lo que sugiere que en ambos tipos bacterianos la división celular se mantiene.

V: Mecanismos de defensa.

Se sabe que las bacterias formadoras de biofilm, incrementan de manera general sus sistemas de protección a condiciones adversas. Uno de los mecanismos utilizados es la exportación de compuestos tóxicos al exterior de la célula a través de la membrana (McLaughlin., 2006), los genes expresados por en la población sesil de *S. meliloti*, están implicados en el transporte de toxinas (SMc02661) otros mas son transportadores de membrana (SMc04351, SMc01211). Probablemente, la detoxificación basada en el control del transporte a través de la membrana sea el mecanismo de defensa más utilizado por esta bacteria en las condiciones sésiles.

La función de la mayoría de los genes de este grupo funcional no ha sido validada experimentalmente y la gran mayoría es de posibles funciones, lo cual hace sin duda necesario el estudio del papel de estos genes en el funcionamiento celular.

Aunque las células sésiles son resistentes a condiciones ambientales adversas, en la condición planctónica también se expresan genes relacionados con la protección celular. Tal es el caso de SMc03168 (gene relacionado al flujo de multidrogas) y SMc04207 (relacionado a la secreción de toxinas). Esto indica que hay mecanismos específicos del estado planctónico para la protección en condiciones naturales adversas.

T: Mecanismos de transducción de señales.

En *S. meliloti* como en otras bacterias, es importante mantener activos los procesos de señalización durante la formación del biofilm, permitiendo una estructura y funcionamiento debidamente regulados, por lo tanto si un proceso de señalización necesario no esta activo, afectaría el desarrollo y formación del biofilm (O'Toole *et al.*, 2000). Una de las señales importantes en este proceso es la concentración de fosfato en el medio. En algunos organismos como *Agrobacterium tumefaciens* ante limitaciones de fosfato incrementa la adhesión celular (Danhorn *et al.*, 2004), la concentración de fosfato para este organismo es regulado por el operón *phoR-phoB*. En *S. meliloti* observamos expresado a *phoR* en células sésiles, ambos genes los encontramos en el genoma de *S. meliloti* de manera monocistrónica, sin embargo *phoB* no se expresa en esta condición, posiblemente la regulación en células sésiles es de manera diferente en este modelo bacteriano, como dato adicional es conveniente mencionar que mutantes en el gene *phoB* en *S. meliloti* no presentan fenotipo simbiótico, lo cual sugiere la participación de otro componente diferente de *phoB* en la regulación a la deficiencia de fósforo, lo que podría estar pasando en la condición sésil (Summers *et al.*, 1998).

Por otro lado, en la condición sesil de *S. meliloti*, se observa la expresión de *cheY* gene que forma parte de un sistema de dos componentes; los cuales regulan la quimiotaxis y particularmente actúa como regulador de respuesta. El gene ha sido previamente descrito en *Vibrio cholerae*, donde la mutación del gene, afecta su capacidad de formación del biofilm (Moorthy 2005). Por lo anterior, sugerimos que en *S. meliloti* tendrá una participación similar en el mecanismo o proceso de formación del biofilm. Si consideramos que la quimiotaxis es una parte fundamental del proceso de formación del biofilm, el papel del producto de este gene puede ser sin duda esencial, lo cual explica su expresión en la condición sésil. Adicionalmente se encontró la expresión de genes que codifican para posibles proteínas intermembranales, un ejemplo es SMc03178, así mismo encontramos expresado a SMc02756, posible histidin quinasa, la cual puede formar parte del sistema bacteriano de dos componentes y que ha sido descrita como parte de un sistema de fosforilación de proteínas. Este tipo de proteínas sugieren que el cambio metabólico observado en células planctónicas en relación con las células sésiles podría estar en un nivel superior de modificaciones postraduccionales como fosforilaciones, lo cual hace necesario un análisis posterior del fosfoproteoma en las condiciones descritas.

La comunicación celular en estas condiciones metabólicas es importante. Para el caso de *S. meliloti* hemos observado que existe un similar número de genes expresados en ambas poblaciones celulares (ver anexo A), sin embargo notamos que los componentes de estos grupos no son los mismos lo que indica la presencia de mecanismos alternos de señalización intra y extracelular para cada población específica.

M: Formación de Pared y membrana celular.

La interacción célula-célula es uno de los procesos iniciales para el correcto establecimiento del biofilm por ello el adecuado mantenimiento de la membrana celular es importante. En la población sesil de *S. meliloti* se observa la expresión de genes relacionados a la síntesis de polisacáridos capsulares (*rkpI*), proteínas integrales de membrana de unión a penicilina como FtsI y genes

relacionados con el metabolismo de azúcares (*lpxC*), anteriormente estos genes no han sido relacionados con la formación del biofilm. Sin embargo se puede sugerir el papel de *rkpI* en la síntesis de polisacáridos capsulares como un mecanismo en el cual la bacteria sintetiza una serie de componentes necesarios en la comunicación celular, así mismo el papel de *ftsL* gene involucrado en la división celular, tendría que ver más en la síntesis de peptidoglicanos, necesarios en la división celular, en este tipo podría estar relacionada con un tipo de división celular de células tipo L, como las que se forman en *E. coli* ante la presencia de antibióticos, como la penicilina (Joseleau-Petit *et al.*, 2007). El significado de estos cambios en las células sésiles debe ser motivo de estudios posteriores.

La expresión genética en la población planctónica muestra la expresión una probable 3 desoxi mano-octulosanato citidil transferasa (*kdsB*), la cual ha sido implicada en la síntesis de glicopolisacáridos. Se observaron también las expresiones de *murA* (acetil glucosamina) y SMc04024 (transglicosilasa), los productos de estos últimos genes forman parte de la vía de síntesis de aminoazúcares. Como se puede observar la expresión de genes relacionados con la formación de la membrana celular es distinta para cada condición celular (sesil o planctónica).

N: Motilidad.

La motilidad celular disminuye en la población sésil. Nuestros datos muestran una mayor expresión de genes relacionados con la motilidad en células planctónicas que en sésiles. Esta tendencia ha sido observada previamente en *E. coli*, donde mediante mutaciones al azar, se obtuvieron mutantes deficientes en la formación de biofilm, las cepas presentaban mutaciones en genes relacionados con la expresión de pili tipo IV y genes relacionados con la síntesis de flagelo (Kolter 2000). En análisis previos en *S. meliloti*, se caracterizaron cuatro mutantes, dos en genes relacionados en la síntesis de exopolisacáridos (*exoY* y *exoS96*) y en dos flagelinas (*slfP* y *fliH*), las mutaciones modificaron la capacidad para formar biofilm y establecer simbiosis efectivas con alfalfa (Fujishige *et al.*, 2006). Mostrando con ello la importancia en nuestro modelo de estudio.

En la condición planctónica encontramos exclusivamente expresados a *fliG*, *flgA* y *cheW3* entre otros, por lo anterior podemos sugerir que los sistemas motiles en esta bacteria son necesarios en las células planctónicas o en las etapas previas al desarrollo del biofilm cuando las bacterias se desplazan para colonizar sus nichos.

Con relación al papel de estos genes durante simbiosis, podemos sugerir que la formación de microcolonias es una de las acciones que realiza este tipo de bacterias previo a la invasión de la planta. Al final de cuentas esto sería un biofilm sobre una superficie orgánica en este caso la raíz, por lo tanto, una mutación en genes implicados en el proceso provocan una mala agregación celular y por ende poca capacidad de invadir la planta, reflejado en una población sin capacidad para realizar simbiosis efectivas.

U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular.

En este grupo funcional se observa la expresión de pocos genes específicos en ambas poblaciones celulares, en la población sesil se expresa *exbD*, su producto es un posible transportador de biopolímeros a través de la membrana celular.

La población planctónica se observa la expresión de *toIQ* el cual codifica para una posible proteína de membrana y *exbB* el producto de este gene esta implicado en el transporte a través de la membrana celular.

O: Modificaciones postraduccionales, plegamiento de proteínas y chaperonas.

La población sesil expresa genes que codifican metaloproteasas (*ftsH*), a este tipo de genes se les ha descrito previamente implicados en la formación de biofilm. En *Porphyromonas gingivalis* y *Streptococcus gordonii* en cultivos mixtos, se demostró que *ftsH* y *ptpA* están relacionados con la regulación de la formación de biofilm; mutantes de *Streptococcus gordonii*, incrementan la formación de biofilm, modificando su capacidad de establecer cultivos mixtos con *P. gingivalis*

(Simionato *et al.*, 2006). Otro de los genes encontrados en la población sesil es *ureE*, un gene que codifica para una metaloproteína, la cual funciona como proteína accesoria en el ensamble de níquel, en el sitio activo de la ureasa, en *Streptococcus salivarius* las células sésiles (biofilm) presentan una incrementada concentración de ureasa en respuesta a gradientes de pH, acumulando grandes cantidades de urea, esto permite a la bacteria existir o mantener el biofilms en pH ácidos (Li Yh *et al.*, 2000).

Adicionalmente en la condición de biofilm encontramos algunas glutatión S-transferasas, *gst7* y *gst11*, este tipo de genes se expresan normalmente en condiciones de estrés, principalmente el de tipo oxidativo, lo cual se explica si consideramos que normalmente las células dentro del biofilm son más resistentes a diversas condiciones de estrés, lo cual significa que se debe a un mecanismo específico de protección entre los cuales para el caso del estrés oxidativo estarían involucrados estos componentes.

Así mismo observamos expresados en las células planctónicas los genes *gst6* y *gst2* que codifican glutatión S-transferasas expresados exclusivamente en esta condición, indicando que ciertos componentes son regulados específicamente, dependiendo de la condición metabólica en la cual se encuentre la célula.

Metabolismo.

C: Producción y conversión de energía

La población sesil expresa genes relacionados con la síntesis de acil-CoA (SMc01640), un gene relacionado con la deshidrogenación del NADH; *nuoA1* y *ctaD* que codifica para un péptido de una proteína transmembranaly un posible citocromo C respectivamente.

Sabemos que *S. meliloti*, no crece en condiciones de anaerobiosis, lo que indica que no deja de respirar durante el metabolismo desarrollado en la condición

sésil, a pesar de la baja concentración de oxígeno que existe normalmente en el biofilm, sin embargo es probable que este proceso de respiración lo realice a una tasa inferior respecto al presente en las células planctónicas. Esto podría ocasionar inhibición en enzimas del metabolismo de carbono por la acumulación de nucleótidos reducidos, los cuales no pueden ser convertidos rápidamente a ATP inhibiendo alostericamente a las enzimas de ciclo de Krebs, por lo cual, la participación en estas condiciones metabólicas (biofilm) de deshidrogenasas de NADH, podría ser la solución metabólica a este problema, permitiendo el funcionamiento adecuado del ciclo de Krebs.

En población planctónica se observan genes del tipo *sucD*, este codifica para una probable cadena alfa de la succinil CoA sintetasa y de *IID2* que codifica para una proteína del tipo citocromo C.

En general en este grupo funcional, nuestros datos muestran una mayor cantidad de genes expresados exclusivamente en la población planctónica que en la sésil, esto sugiere la necesidad de una mayor producción de energía para este tipo de población bacteriana, lo cual explicaría la presencia más abundante de este tipo de componentes en el metabolismo expresado en las células planctónicas.

G: Transporte y metabolismo de carbohidratos.

La matriz del biofilm es un complejo formado principalmente por exopolisacáridos (EPS), secretados por las propias células (Donlan, 2002; Petersen *et al.*, 2005; Sutherland, 2001), dentro de la población sésil, la expresión de genes de este tipo, está relacionado con el metabolismo de carbohidratos, uno de estos genes es *glgC*, el cual forma parte de la vía de sacarosa y almidón, otro gene inducido específicamente en la población sésil es *agl*, gene relacionado con el transporte de alfa glucósidos.

Para el caso de la población planctónica encontramos la expresión de genes relacionados con el metabolismo de azúcares, *zwf* gene que codifica para una glucosa 6 fosfato deshidrogenasa (G6PD), la cual participa en el primer paso

en la ruta del metabolismo de monosacáridos producidos después de la asimilación de sacarosa, maltosa y trealosa, G6PD participa en la vía oxidativa de las pentosas, *eda2* (aldolasa) *deoB* (fosfopentomutasa) genes también implicados en la vía de las pentosas fosfato, otros de los genes expresados en esta condición es *smoG*, que funciona como transportador de sorbitol y manitol, *algG* y *algF* que participan en el transporte de alfa-glucósidos, lo cual indica un transporte y metabolismo de azúcares más activo que en la condición planctónica. Otros de los genes expresados exclusivamente en la condición planctónica codifica para una proteína relacionada con la degradación de glicanos, *manB*. Como dato adicional podemos agregar que los productos de los genes *zwf* y *eda2* forman parte de la vía Entner Deuderoff, esta vía es utilizada por *S. meliloti* para el metabolismo de dextrosa, la bacteria no sigue ruta clásica de Embden-Meyerhof (EM) descrita en *E. coli*, esto se debe a que *S. meliloti* carece de una de las enzimas para la ruta de (EM) la fosfofructoquinasa (Fuhrer *et al.*, 2005), intermediaria de esta vía.

En general en ambas poblaciones observamos metabolismo y transporte de azúcares, sin embargo se observa un incrementado metabolismo en la condición planctónica.

E: Metabolismo y transporte de aminoácidos

El número de genes expresados pertenecientes a los grupos funcionales de producción de energía y transcripción es mayor en células planctónicas respecto a las sésiles. El metabolismo y transporte de aminoácidos así como el de nucleótidos se comporta de manera similar. Lógicamente estos procesos están relacionados. Una tasa de transcripción alta podría requerir de un transporte y metabolismo mayor de aminoácidos y nucleótidos. Como ejemplo de esto, podemos mencionar *aatA* una aspartato aminotransferasa, vínculo de unión entre el metabolismo de carbono y del nitrógeno (Afono y Kahn 1993) y transportadores de aminoácidos como *aapQ*, lo cual indica un transporte y metabolismo de aminoácidos más activo en las condiciones planctónicas que en las sésiles. En general podemos sugerir que existe al menos dos veces más genes

exclusivamente expresados en la condición planctónica que en la sesil, lo cual señala las diferencias metabólicas significativas en la expresión de componentes de este grupo funcional y que podría reflejar las diferencias en la actividad celular que como ya mencionamos.

De los genes expresados en la población planctónica algunos codifican para algunas proteasas. Un ejemplo de estos es *ptrB* implicado en la degradación de proteínas, esto en ocasiones ocurre para la reutilización de aminoácidos para la síntesis de proteínas necesarias.

En contraste uno de los genes expresados en células sésiles es *opuA* cuyo producto se involucra con la producción de glicina betaina. El gene en *Pseudomonas putida* se ha relacionado con la protección contra estrés osmótico (Galvão *et al.*, 2006), en *S. meliloti* únicamente se han descritos tres genes implicados en este proceso (*hutXWV*), encontrados en operón (Boncompagni *et al.*, 2000), en nuestro caso la expresión de *opuA* sugiere participación exclusivamente durante la formación de biofilm.

F: metabolismo y transporte de nucleótidos.

En la población sesil encontramos la expresión de genes relacionados con la síntesis de pirimidina (*ndk*, *cdd* y *pyrG*). Por otro lado se encontró la expresión de *add* y *gpt* formando parte de la vía de síntesis de purinas, por lo que se sugiere la presencia de las vías de síntesis de bases púricas y pirimídicas en la condición sesil.

En la población planctónica se observaron genes relacionados con la vía de síntesis de pirimidinas, por ejemplo SMc02218, *pyrD*, *pyrH*. Finalmente se encontró la expresión del gene *dnaS*, el cual codifica para una proteína implicada en la vía de síntesis de dUTP.

En conclusión en ambas poblaciones se expresan genes relacionados a la síntesis de nucleótidos, sin embargo es posible que la regulación en cada condición sea diferente.

H: transporte y metabolismo de coenzimas.

R. etli y *S. meliloti*, son capaces de sintetizar las vitaminas necesarias para su crecimiento en medio mínimo. La síntesis de estas vitaminas es regulada de manera diferente a como se sabe son reguladas en bacterias entéricas, de esta manera en ciertas condiciones de crecimiento, la síntesis de estas vitaminas es inhibida por procesos regulatorios no definidos. Esto podría estar pasando en condiciones de crecimiento en el estado sesil, donde la baja concentración de oxígeno producida por la abundante concentración de polisacárido que rodea a las células, produce una regulación negativa en la síntesis de algunas vitaminas, al disminuir la concentración de compuestos de carbono necesarios para la síntesis de estas, lo cual no sucede cuando las células nadan libremente y no presentan esta limitación.

Los genes expresados en la condición planctónica de este grupo funcional son *moaB*, gene relacionado con la expresión de *mogA* ó SMc00519 (proteína hipotética), ambos relacionados con la biosíntesis de molibdeno, utilizado como un cofactor esencial en diversos tipos de enzimas redox. También encontramos genes relacionados con la síntesis de piridoxal fosfato (*pdxH*) y síntesis de tiamina (*thiF*).

I: Transporte y metabolismo de lípidos.

S. meliloti es capaz de acumular poly- β -hidroxibutirato (PHB), en la condición sesil, condición en que las bacterias se encuentran embebidas en una matriz de polisacárido, lo cual disminuye la cantidad de oxígeno disponible para las células produciendo una acumulación de poder reductor que no es oxidado mediante la cadena respiratoria, (*S. meliloti* es un aerobio estricto) al no existir una adecuada disponibilidad de oxígeno estos nucleótidos reducidos tienden a acumularse, inhibiendo a las enzimas de ciclo de Krebs y enzimas anapleróticas como piruvato deshidrogenasa, citrato sintasa, isocitrato deshidrogenasa y alfa-ceto glutarato deshidrogenasa, lo cual conduce a un deficiente funcionamiento del ciclo de Krebs tan necesario en la producción de energía y metabolitos

carbonados. La acumulación de PHB al utilizar en su síntesis estos nucleótidos reducidos, funciona como un secuestrador de poder reductor, permitiendo el funcionamiento del ciclo de Krebs en condiciones de bajo oxígeno. Por lo anterior, se explica que en la condición sesil las bacterias expresen componentes de esta vía de síntesis, como la polimerasa del PHB que es codificada por el gene (*phbC*) en cual expresa al último componente de la vía, necesario para la acumulación de este polímero en la condición sesil. Los demás componentes de la vía (*phbA* y *phbB*) no se observan expresados exclusivamente en esta condición, lo cual indica que el monómero β -hidroxibutirato debe estar sintetizándose en esta condición por un ruta alterna y probablemente no por la vía clásica. Sin embargo es conveniente mencionar que para algunos autores el papel del PHB no es completamente comprendido, sin embargo en simbiosis mutaciones en genes relacionados con la síntesis de este polímero, provoca un retraso en la formación del nódulo (Wang *et al.*, 2007).

Además de los genes anteriormente mencionados, se observó la expresión de genes que codifican para proteínas de membrana, como ejemplo podemos mencionar al gene SMc02134, que puede codificar a una fosfatidilglicerofosfato sintasa. Algunos otros ejemplos forman parte de la vía de síntesis de terpenoides (*uppS*) o sioprenoides, lípidos encontrados en la mayoría de los seres vivos y *fadB* gene que codifica para una proteína implicada en el metabolismo ácidos grasos.

El caso de las células planctónicas se encontraron expresados genes que codifican para proteínas presentes en el metabolismo de piruvato (Smc00733, SMc01157). La síntesis de este compuesto podría estar relacionada con la síntesis de ácidos grasos ya que a partir de este se pueden sintetizar precursores de ellos. Una de las proteína producida por este gene produce acetil CoA (*fadA*), utilizada como precursor para la síntesis de ácidos grasos y PHB; también se encontraron genes que codifican para proteínas relacionadas con la modificación de acetil-CoA un ejemplo de estos son: SMc01639, posible codificador de una acetil CoA deshidrogenasa, SMc04399 gene que codifica para una acetil CoA transferasa. Lo anterior sugiere un metabolismo más completo en la síntesis de

moléculas de carbono fundamentales en el metabolismo de la bacteria como acetil-CoA, la cual no sólo puede ser utilizada en el ciclo de Krebs para la producción de energía y esqueletos de carbono, sino también como precursores de ácidos grasos necesarios en la formación de membranas celulares.

P: Transporte y metabolismo de iones inorgánicos.

De acuerdo a los datos obtenidos en el presente proyecto, el transporte de iones es más activo en células planctónicas que en sésiles.

En la población sésil encontramos la expresión de genes que codifican para proteínas de transporte de hierro (SMc01659, SMc02726). Algunos implicados en el transporte de iones inorgánicos (SMc00476) y por último un transportador tipo ABC (SMc01823), relacionado con el transporte de nitrato y sulfonato, así mismo se encontró un gene que codifica para una proteína de un sistema de flujo de cationes tipo sodio e hidrógeno (*phaF2*), lo cual indica un control importante en la osmoregulación.

En la población planctónica encontramos genes del tipo *phaG1*, *phaG2* utilizados para el flujo de potasio, genes de captación de hierro y de zinc (*fur*), este tipo de iones normalmente los encontramos funcionando como cofactores enzimáticos de algunas proteínas importantes en el metabolismo bacteriano.

GENES NO AGRUPADOS MEDIANTE GRUPO DE GENES ORTOLOGOS (COGs por sus siglas en inglés).

CÉLULAS SÉSILES.

Algunos de los genes diferencialmente expresados no están clasificados dentro de algún grupo funcional, sin embargo en otros modelos de estudio se han identificado como específicos de la formación de biofilm. Estos genes son mencionados en los párrafos siguientes.

Uno de los genes no agrupados es *lapA*, en *Pseudomonas fluorescens* WCS365 el producto de este gene se exporta al exterior de la matriz extracelular.

La mutación en este transportador genera cepas deficientes para formar biofilms (Hinsa 2003 *et al.*), en otros casos este tipo de transportadores son utilizados como bombas para expulsar compuestos que puedan afectar a la célula. En un estudio de *Candida albicans*, donde es tratada con fluconazole sólo la población de células sésiles es capaz de adaptarse a dicho compuesto. Las células ya establecidas en una superficie expresan estos tipos de transportadores capaces de detoxificar de este tipo de compuestos, caso contrario a lo que ocurre con la población planctónica (Ramaje *et al.*, 2002).

Así mismo, encontramos genes que codifican proteínas de la familia LysR, un ejemplo es NhaR, proteína que funciona como regulador transcripcional de unión a DNA, la cual regula la expresión del operón *pgaABCD*, requerido para la expresión de poli-beta-1,6-N-acetil-d-glucosamina (PGA) y implicados en la adhesión celular durante la formación de biofilm en *E. coli* (Goller *et al.*, 2006).

Por delección de genes relacionados con el ensamble de Pili tipo I en *E. coli*, junto con algunos genes involucrados en la síntesis de ácido colánico, plegado y biosíntesis de proteínas de membrana celular (Sung *et al.*, 2006) se ha demostrado que son puntos clave para llevar a cabo la formación del biofilm. En nuestro caso encontramos en la población sesil genes de ensamble para pili no agrupados en alguna categoría funcional nos referimos a *cpaA2*.

El producto del gene *aglK* tiene una función de transportador tipo ABC de alfa-glucósidos, previamente se identificó como uno de los transportadores de azúcares en condiciones de biofilm (Willis y Walker 1999). En nuestro caso lo encontramos expresado en condiciones sésiles y no se ha descrito alguna función en este proceso.

Población de células planctónicas.

Se encontraron algunos genes relacionados con la síntesis de biotina, (*bioS*). Este gene se considera como inductor de la fase estacionaria en presencia de biotina y un posible regulador transcripcional tipo LysR (Heinz *et al.*, 1999). Así mismo, se encontraron genes con posibles funciones de los cuales algunos

previamente se ha determinado están regulados por *bioS*; un ejemplo concreto es *gabT* el cual su producto es una 4-aminobutirato aminotransferasa (Hofmann *et al.*, 2000).

En *S. meliloti* por mutagénesis al azar se generaron mutantes en los genes: *ilvB/ilvG* y *ilvC*. Las cepas con mutaciones en *ilvB/ilvG* no lograron infectar a la planta (Hassani *et al.*, 2002). Nuestros datos muestran la expresión de ambos genes, sin embargo solo encontramos agrupado funcionalmente hablando a *ilvG* (transporte y metabolismo de aminoácidos), *ilvB* lo encontramos expresado pero no pertenece a ningún grupo funcional. La participación de los productos de estos genes debe tener una relación directa con la síntesis de isoleucina-valina, lo cual correlaciona con lo que hemos demostrado en relación a una incrementada expresión en los componentes de las vías de síntesis de aminoácidos.

En ambas poblaciones celulares, existen genes que definen claramente a cada condición como es el caso de motilidad, producción de exopolisacáridos, defensa a situaciones ambientales adversas, siendo más expresados en condiciones sésiles y el caso de las planctónicas grupos de genes tales como transcripción, transporte y metabolismo de lípidos, de carbono, de aminoácidos indican una alta actividad metabólica para este tipo de población, los datos obtenidos en *Sinorhizobium meliloti* indican claramente para algunos grupos funcionales, las diferencias entre células sésiles y células planctónicas.

Rhizobium etli CE3.

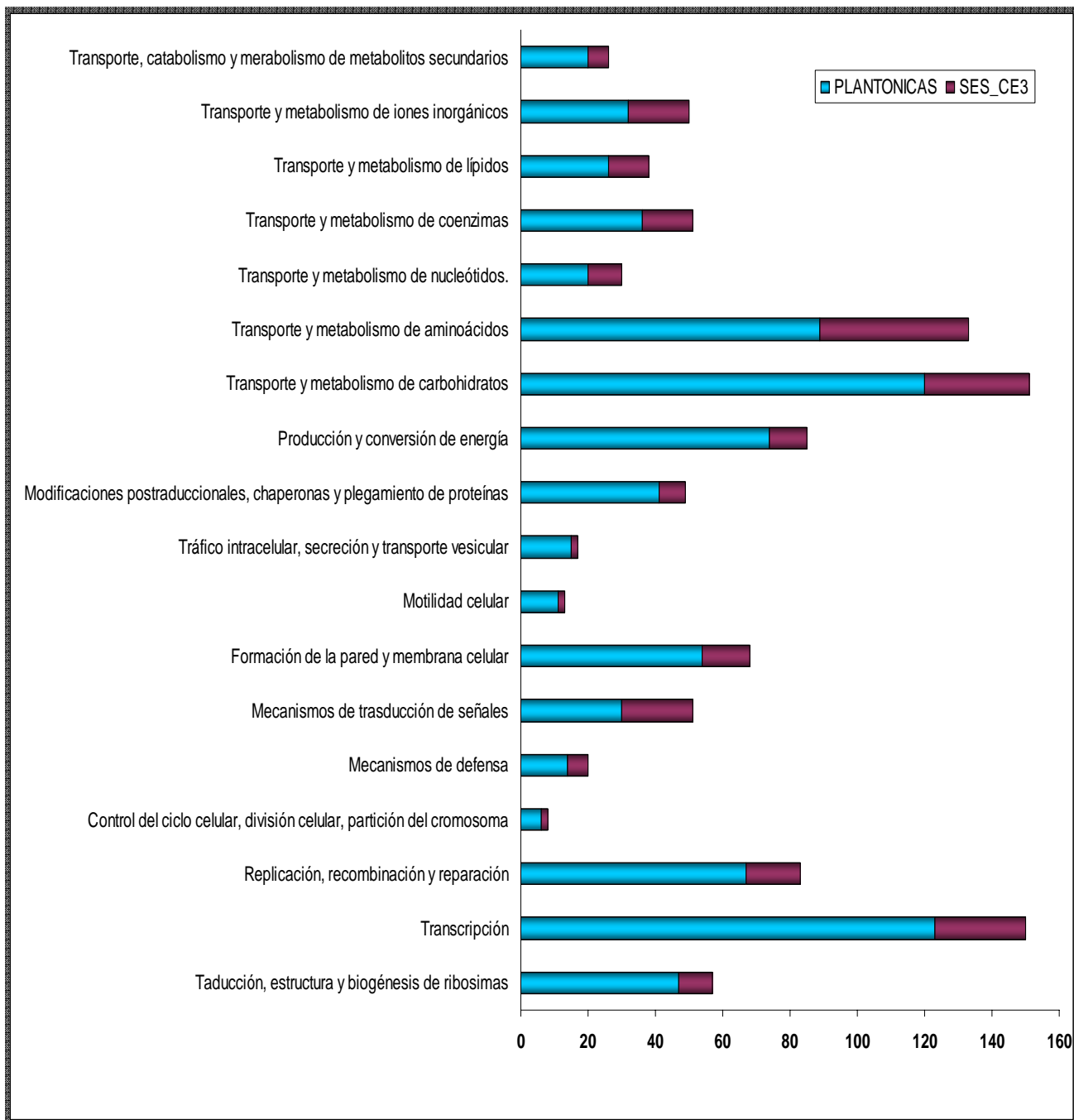


Figura 6.- En la gráfica se muestra el número de genes expresados por grupos funcionales en *R. etli*, la comparación se realiza entre poblaciones sésiles y planctónicas.

Almacenamiento y procesamiento de información genética.

J: Traducción, estructura de ribosomas y biogénesis.

Al igual que *S. meliloti*, se encontraron genes relacionados con proteínas ribosomales, expresados más en la condición planctónica que en la sésil. Por ejemplo, podemos mencionar a *rplJ*, *rpsJ*, *rplB*, *rpsC*, por lo que inferimos que al igual que en *S. meliloti* la actividad a nivel de transcripción-traducción es mayor en la población planctónica que en la sésil (ver figura 8).

K: Transcripción.

En ambas poblaciones se encontró la expresión de posibles reguladores transcripcionales, *ypc00062*, *ypc00114* y *ype00203* (tipo AraC). En *R. etli* al igual que en *S. meliloti* el 70% de los genes de este grupo funcional codifican para posibles reguladores transcripcionales.

La población planctónica expresa genes del tipo LysR, un ejemplo es *gstR*, relacionado con la regulación de glutatión S-transferasa, implicada en la regulación del estado redox bacteriano (Ventura-Lima *et al.*, 2007), reguladores transcripcionales de la familia AsnC como *ypch00124* y tipo MarR como *ypch00102*.

También se encontraron genes relacionados con el flujo intramembranal (*vbsD*), un caso particular es el gene (*pcaQ*) implicado en la degradación de compuestos fenólicos en organismos fijadores de nitrógeno, no se ha descrito previamente algún gene de este tipo durante la formación del biofilm. En estudios de biorremediación en *Methanosarcina* y *Methanosaeta*, estas bacterias son capaces de asimilar compuestos fenólicos, relacionando esta capacidad con su capacidad para formar biofilm, (Saia *et al.*, 2007), suponemos que también en *R. etli* podría existir una relación entre la formación del biofilm y este tipo procesos.

Como hemos podido observar gracias a nuestros resultados la regulación de la transcripción en *S. meliloti* y *R. etli* es distinta entre las poblaciones sésiles y planctónicas. Esto presenta cierta lógica si consideramos que las condiciones metabólicas van a necesitar diferentes componentes, algunos muy particulares del estado planctónico y otros del estado sésil. Un ejemplo es Ypch004525 y Ypch0074 genes que codifican para posibles RNA polimerasas factor sigma 70 y 24 respectivamente expresados únicamente en la población planctónica de *R. etli*.

L: Replicación, recombinación y reparación.

Para el caso de la población sesil de *Rhizobium etli* se observaron genes considerados como secuencias de inserción o de conjugación, en esta condición se expresan varios de estos genes, un ejemplo de ellos es *traAch* posible proteína de conjugación y *via00012* posible proteína de inserción de secuencias. Genes similares a estos se han observado en bacterias no patógenas para el hombre, tales como *Staphylococcus epidermidis*, en donde mediante este tipo de genes la bacteria adquiere secuencias y lo que le permite tener la capacidad de formar biofilm, lo cual hace difícil su remoción en implantes médicos así como el tratamiento de infecciones (Kozitskaya *et al.*, 2004). De la misma manera la población sesil expresa *recN* y *multL*, el producto de *recN*, implicado en la reparación de rupturas del cromosoma bacteriano (Meddows *et al.*, 2005) ambos genes relacionados con la reparación de DNA.

En cuanto a las células planctónicas, encontramos genes de metilación (Ypch00105), reparación de DNA (*alkB*), síntesis de DNA (*dnaN*) y plegamiento del material genético (Ypch00011). Debido a la actividad metabólica que la condición planctónica presenta, posiblemente los mecanismos de reparación de DNA y plegamiento del mismo sean más activos en esta condición.

Señalización y procesos celulares.

D: control de ciclo celular, división celular, partición del cromosoma.

Sugerimos que en ambas poblaciones se observa división celular, sin embargo es probable que sea mayor en el estado planctónico que en el sésil, debido a que existen más genes expresados en la condición planctónica que en la sésil.

V: Mecanismos de defensa.

En la población sésil se muestra la expresión de genes implicados en la detoxificación de drogas (ypch00442) y algunos relacionados con la detoxificación de antibióticos. Ejemplo de estos es ypch01132 relacionado con la resistencia a bleomicina, observado únicamente en bacterias patógenas donde se ha descrito la resistencia de las bacterias a este tipo de compuestos durante la formación del biofilm; incluso en algunos casos se induce la formación del biofilm (Hoffman *et al.*, 2005).

La población planctónica muestra genes relacionados con el transporte para la resistencia a multidroga (ypch00790), algunos relacionados al flujo intermembranal (*vbsD*), los genes son de función similar, ambas poblaciones presentan un sistema de protección acorde al ambiente donde estas se encuentran.

De manera general, podemos decir que este grupo funcional, al igual que en *S. meliloti*, agrupa una serie de componentes expresados para que la población sésil pueda contender de manera más eficiente a las condiciones adversas del ambiente (ver imagen 8), haciéndolo de una manera específica, sintetizando componentes para la resistencia a antibióticos, por mencionar un ejemplo, y no de manera inespecífica, como se sugería originalmente que funcionaba el biofilm sirviendo físicamente como un obstáculo para el flujo eficiente de compuestos nocivos al interior de la población.

T: Mecanismos de transducción de señales.

En la condición sesil observamos la expresión del gene *chvG*, anteriormente considerado como *exoS*. El producto de este gene es miembro del sistema de dos componentes, regulando la síntesis de succinoglicanos, el cual es crucial para el correcto establecimiento de la simbiosis entre *S. meliloti* y alfalfa. La mutación en este gene produce una desregulación de la síntesis de succinoglicanos en la bacteria y por lo tanto una deficiente simbiosis (Cheng y Walter 1998). En *R. etli* al igual que en *S. meliloti*, no se sabe cual es la naturaleza de la matriz de polisacáridos que constituye el biofilm, sin embargo en ambos modelos hemos encontrado evidencias de una incrementada síntesis de polisacáridos en la condición sesil respecto a la condición planctónica. Por lo anterior este regulador podría tener un papel importante en la síntesis de la matriz de polisacáridos de las células que conforman el biofilm.

En la población planctónica se encontraron expresados genes que codifican adenilato ciclasas (*cyaB*, *cyaH*, *cyaA*), las cuales han sido descritas en *R. etli* como proteínas para la síntesis de 3',5'-AMP cíclico, AMPc (Télez-Sosa *et al.*, 2002). Una cepa mutante en el gene *cyaC* de *E. coli* muestra deficiencias para la síntesis de este compuesto, dicha mutante es complementada con el gene *cyaC* de *R. etli*, restaurando la síntesis de AMPc. En *E. coli* los niveles de AMPc se mantienen regulados por la actividad de las adenilato ciclasas, de esta manera, cuando la bacteria es suplementada con glucosa los niveles de AMPc son bajos y CRP no es activo. Cuando los niveles de glucosa en el medio disminuyen, aumenta la concentración de AMPc y este se une a CRP y activando la capacidad de unión a DNA y promoviendo la transcripción de genes relacionados con el metabolismo de fuentes alternas de carbono. En *R. etli* no se ha descrito experimentalmente el homólogo para CRP. En la condición planctónica, se expresa un gene que se sugiere tiene una función similar a CRP (Ypch01027). Lo que nos sugiere que al encontrar genes de adenilato ciclasa expresados en esta condición metabólica y un posible activador tipo CRP, este último podría ser el mecanismo de regulación catabólica en *R. etli* y que explicaría la capacidad para

catabolizar fuentes de carbono tan diversas como las encontradas en el medio rico PY. Es conveniente mencionar que a diferencia de *E. coli* en donde la represión catabólica es llevada a cabo por glucosa, en *S. meliloti* la represión catabólica es producida por succinato. En *R. etli* sabemos por resultados en el laboratorio, que la concentración de AMPc se incrementa ante la presencia de glucosa en el medio y la disminución de succinato. Lo cual indica un mecanismo similar al propuesto para *S. meliloti*.

M: Formación de Pared y membrana celular.

La población sétil en el caso de *R. etli* presenta genes como *murA*, un gene identificado en *Listeria monocytogenes*, un organismo gram-positivo, el cual presenta además una serie de genes tales como *p60*, *p45*, *aml*, y *murA* implicados en procesos celulares importantes, como crecimiento celular, maduración de péptidoglicanos, división celular, formación de flagelos, quimiotaxis y formación de biofilm entre otros (Popowska 2004). De los genes anteriormente mencionados, encontramos a *murA* expresado en esta condición.

Adicionalmente, en la población sesil encontramos la expresión de un grupo de genes relacionados con la síntesis de polisacáridos (*exoF1*, *exoF2*, *pssK*, *pssP*, *pssA2*, *exoY*), de los cuales solo *pssA2* y *exoY* es agrupado mediante COGs, el resto no están agrupados, algunos de ellos sobre todo los *pss* han sido descritos en *Rhizobium leguminosarum*. El análisis se realizó mediante la delección de estos genes, dando como fenotipo una deficiencia en la formación de biofilm (Russo *et al.*, 2006). Con base a estos datos, sugerimos que probablemente la función de este tipo de genes es importante en la formación y desarrollo del biofilm en *R. etli*.

Como observamos, en *S. meliloti* ha sido reportado previamente que los biofilms son estructural celulares embebidas en matrices de polisacáridos, en *R. etli* dicho comportamiento es similar.

La población de células planctónicas presenta genes relacionados con la conversión de azúcares, tal es el caso de una posible azúcar isomerasa

(ype00146 y ypch01085). Ambos genes han sido descritos con mas detalle en plantas, relacionandolos con la membrana celular y la membrana de los cloroplastos (Benning, 1998). Sin duda la asimilación de azúcares es uno de los procesos que ambas bacterias llevan a cabo, sin embargo, es probable que las células en la condición planctónica tengan una mayor demanda de energía. Esto lo basamos en la alta expresión genética de los grupos funcionales de producción de energía, transcripción y traducción.

N: Motilidad celular.

La motilidad no es común en células sésiles, sin embargo encontramos expresados dos genes de flagelo (*flgC*, *flgLf*) y un hipotético (yhch00402), no se observó expresión específica de genes relacionados con el ensamble de Pili o algún otro de relacionado a la motilidad celular.

Contrariamente en la condición planctónica, un mayor número de genes, involucrados en motilidad fueron expresados, encontrándose un gene para el ensamble del Pili (*cpaD*) y genes relacionados con flagelo (*motA*, *flgF*, *flgC*, *flgI*, *flgH* y *flaCe*). Normalmente la expresión de este tipo de genes es común en esta condición, la motilidad es mayor en la condición libre que en la condición sésil, lo anterior correlaciona con los resultados observados por nosotros en en *S.meliloti* y en otros modelos bacterianos en donde se ha observado que la síntesis de flagelo y Pili son necesarios para el establecimiento del biofilm, permitiendo este tipo de estructuras la colonización de nuevos nichos.

U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular.

En este grupo funcional la cantidad de genes expresados en la condición sésil es menor respecto a la condición planctónica.

Poco se sabe al respecto de los sistemas de secreción en *R. etli*, en *Pseudomonas aeruginosa* se ha descrito un sistema de secreción tipo III, el cual es necesario para la adhesión a superficies celulares eucarióticas, con esto inicia la infección y el daño celular, este sistema es regulado inicialmente en la población

planctónica, previo a la formación del biofilm (Augustin *et al.*, 2007). Es posible que los sistemas de secreción sean mas dinámicos en la población planctónica respecto a la población sésil, la relación entre estas es importante, al menos en bacterias patógenas para el caso de bacterias fijadora de nitrógeno esto no ha sido estudiado.

El caso de la población sésil se observa la expresión de *cpaF*, gene que codifica para una proteína implicada en un sistema de secreción tipo II, este tipo de sistemas no se ha descrito como parte de la formación de biofilm en alguna rhizobeeacea sin duda el análisis en este tipo de sistemas permitirá comprender su importancia en este modelo bacteriano.

La población planctónica muestra una mayor cantidad de genes expresados los relacionan con el sistema de secreción tipo IV. Ejemplo de ello son los genes *ypch00640* (probable proteína CirD4, sistema de secreción IV), *virB9a*, *virD9d*, *vriD10d* y *virB10a* sus productos participan en el sistema de secreción tipo IV.

Como sabemos bacterias secretan un gran número de proteínas al medio entre las que se incluyen toxinas, adhesinas y diversas enzimas hidrolíticas que se requieren en diferentes aspectos del ciclo de vida bacteriano. Como por ejemplo, en la biogénesis de organelos, la adquisición de nutrientes y la expresión de factores de virulencia, todos estos procesos pueden tener una importancia previa a el establecimiento del biofilm, lo que explica que la expresión de genes de este tipo sean mayormente expresados en la condición planctónica.

O: Modificaciones postraduccionales, Chaperonas y plegamiento de proteínas.

En ambas condiciones se encontraron chaperonas de choque térmico, proteínas encargadas del plegamiento correcto de las proteínas y de la protección a diferentes tipos de estrés.

Observamos la expresión del gene *osmC* en la población sesil. Este gene se ha relacionado con la regulación osmótica, su expresión es estimulada por la de proteínas descritas como sensor-quinasas y una proteína auxiliar regulatoria, respectivamente *RcsC*, *RcsB* y *RcsA*, Este tipo de proteínas pertenecen a un complejo sistema de transducción de señales, donde ésta es llevada a cabo por la fosforilación y desfosforilación de cada uno de sus componentes hasta lograr la inducción o represión, de genes como *osm*. Entre otros genes inducidos tenemos genes que codifican para proteínas de membrana, aparentemente este tipo de proteínas participan en el desarrollo del biofilm bacteriano (Majdalani y Gottesman 2005).

Para este grupo funcional de manera general, la expresión genética de la población planctónica presenta ciertas diferencias con la población sésil. El número de genes es mayor en la primera con respecto de la segunda condición, de esta manera nos encontramos con genes codificantes de chaperonas, algunos ejemplos específicos son *hsp33*, y *groESch3*. Los productos de estos genes indican necesidades específicas de plegamiento proteico en la condición planctónica respecto al estado sésil. Lo que podría significar necesidades específicas de respuesta a condiciones ambientales adversas en los cuales las chaperonas tuvieran un papel más importante, a diferencia del estado sesil en donde mecanismos de transporte de sustancias nocivas o degradación de compuestos como antibióticos parece ser la vía de respuesta ante condiciones adversas. Al igual que en *S. meliloti* en las células planctónicas de *R. etli* encontramos expresado *aat*, el cual codifica para una aspartato aminotransferasa enzima fundamental para la síntesis de diversos tipos de aminoácidos, además de ser catalogada como una conexión entre el metabolismo de carbono y el de nitrógeno. Un metabolismo de carbono más balanceado y una eficiente producción de aminoácidos son lógicamente puntos importantes que la bacteria debe mantener y parece ser más necesario en el estado planctónico que en el sesil.

Metabolismo.

C: producción y conversión de energía

En este grupo funcional se encontró la expresión de más genes específicos de la condición planctónica, lo que podría indicar una producción de energía mayor en este estado y por ende una mayor actividad metabólica.

Se encontraron genes que codifican enzimas del metabolismo central como específicas de la condición planctónica entre ellas *pdhB* y *lpdAch1* componentes de la piruvato deshidrogenasa, una enzima clave en el metabolismo aeróbico, la cual provee de acetil CoA al ciclo de Krebs. Así mismo, *sucC* y *sdhB* que codifican para la succinil-Coa sintetasa, subunidad beta y succinato deshidrogenasa subunidad beta respectivamente, lo cual sugiere que en la condición planctónica el carbono es oxidado vía el ciclo de Krebs, Esta observación sugiere que el metabolismo de carbono en esta condición, a diferencia de la condición sesil, opera de una manera más activa, generando los intermediarios para la síntesis de aminoácidos y poder reductor para ser convertido a ATP en la cadena respiratoria, mediante la participación de componentes específicos como *atpG*, *atpF1* y *atpF2* los cuales son sólo expresados en esta condición. Lo anterior correlaciona con lo observado en *S.meliloti* en donde *sucD*, *icd* y *atpB*, genes codificantes de la succinil-CoA sintetasa, isocitrato deshidrogenasa y una probable ATP sintasa cadena A, se expresan exclusivamente en la condición planctónica.

G: Metabolismo y transporte de carbohidratos.

Las poblaciones sésiles muestran la expresión de genes tales como *ypch00904*, *ypch0039*, (posibles transportadores de azúcares, tipo ABC), la expresión de genes relacionados con el transporte y metabolismo de azúcares es menor en relación a la población planctónica.

Para ninguno de los genes mencionados anteriormente se ha reportado un papel durante la formación del biofilm, por ello es importante abundar en algún tipo de análisis que permitirá definir la participación de este tipo de genes.

Los componentes del transporte de azúcares se encuentran más expresados en la condición planctónica, de esta forma podemos observar la inducción específica de *rbsAch2*, *rbsBch2*, *rbsBch3* y *aglK* por mencionar algunos genes codificantes de proteínas participantes en el transporte de azúcares como ribosa y en el transporte de glucósidos. Así mismo, en esta misma condición observamos específicamente la expresión de genes *gpmA*, *frk*, *gntK*, *ppdK*, *pfk* y *noeK* por mencionar algunos; los cuales codifican para fosfoglicerato mutasa, ribosa quinasa, fructoquinasa, gluconoquinasa, piruvato fosfato diquinasa, pirofosfato-fructosa 6 fosfato 1 fosfotransferasa y fosfomanomutasa respectivamente, los cuales muestran claramente que el metabolismo de azúcares se encuentra mucho más activo en las células planctónicas.

Así mismo, observamos que en la condición planctónica se expresan exclusivamente los genes *glgP*, *glgBch* y *glgC* cuyos productos participan en la acumulación y degradación de glucógeno, compuesto de reserva de ATP y carbono que este tipo de bacterias tiende a acumular en condiciones de crecimiento aeróbico, principalmente cuando utiliza fuentes de carbono glucolíticas. Definitivamente este grupo funcional establece claramente las diferencias metabólicas entre el metabolismo observado en la condición planctónica con la condición sesil.

E: Metabolismo y transporte de aminoácidos.

En la condición planctónica se observó de manera general, al igual que en *S. meliloti*, una mayor expresión de genes relacionados con el transporte y síntesis de aminoácidos, sin embargo algunas rutas de síntesis de aminoácidos pueden ser indispensables en la formación del biofilm como es el caso de la síntesis de cisteína.

Se observo, la expresión del gene *cisk2* en la condición sesil, de la misma manera análisis previos relacionan este gene con el desarrollo y la formación del biofilm en *E. coli*. Esto lo demuestran tratando con ácido ursólico (compuesto proveniente de plantas) al cultivo celular, este compuesto reprime la expresión de los genes *cysK* y *cysD*, genes relacionados con el metabolismo de azufre, disminuyendo la capacidad de formación del biofilm para esta bacteria (Ren *et al.*, 2005), Por lo anterior al encontrar expresado a *cysK2* sugerimos una función similar en *S. meliloti*.

Así mismo, en la condición sesil se observa la importancia de sintetizar algunos otros aminoácidos como glutamina aunque esta síntesis pareciera ser realizado con la participación de diferentes componentes enzimaticos a los de la condición planctónica. Para ilustrar lo anterior mencionaremos que en la condición sesil se expresan exclusivamente los genes *glnA3* gene y *ypch00450* ambos codifican para glutamino sintetasas, otro ejemplo es la expresión de *dapE2*, el cual su producto es parte de la vía de síntesis para leucina.

De manera contraria en la condición planctónica, la síntesis de glutamina parece estar siendo llevada a cabo principalmente por el producto de *glnII* (glutamino sintetasa tipo II).

De manera general podemos concluir que el transporte y metabolismo de aminoácidos es más activo en la condición planctónica, sin embargo las células en la condición sesil requieren la síntesis de algún tipo particular de aminoácidos, los cuales son aparentemente necesarios en el tipo de metabolismo que desarrollan.

F: Transporte y metabolismo de nucleótidos.

Actualmente se ha descrito muy poco acerca del metabolismo de nucleótidos durante la formación del biofilm, nuestra contribución puede ser en el sentido de que en la condición planctónica se expresan más este tipo de vías, que en la condición sesil Esto lo sugerimos dado que observamos exclusivamente

expresados a genes como *purF*, *pyrG* y *nrdF* (glutamina fosforibosilpirofosfato amidotransferasa, CTP sintasa por mencionar sólo algunos, un análisis previo mostró similares conclusiones a las nuestras. Al comparar cultivos de fase estacionaria (cultivos con agitación) contra cultivos sésiles en *E. coli* (Schembri *et al.*, 2003).

H: Transporte y metabolismo de coenzimas.

Al igual que en *S.melliloti*, en *R. etli* la síntesis de cofactores se encuentra más expresada en la condición planctónica que en la sesil y el mecanismo de regulación que puede estarse llevando a cabo para la síntesis de ciertas vitaminas, pueden ser compartidos en ambos modelos bacterianos. En *R. etli* al igual que en *S.melliloti*, la expresión de genes como *thiG*, *thiD* *thiE*, *thiM* (síntesis de tiamina), *cobV*, *cobA*, *cobB* y *cobT* (síntesis de cobalamina) entre muchos otros, sugieren que la síntesis de estas vitaminas podría ser más eficiente en la condición planctónica, ya que en la condición sesil la baja concentración de oxígeno podría conducir a una regulación negativa de la síntesis de estas vitaminas, por la falta de componentes carbonados necesarios para la síntesis de ciertos precursores.

Con relación a lo anterior es conveniente recordar que las células están siendo cultivadas en un medio rico lo cual sugiere la presencia de componentes vitamínicos, lo cual se contrapone con la expresión de genes que codifican para proteínas necesarias en su síntesis, sin embargo, tampoco hemos medido o conocemos la concentración de estas en el medio lo cual deja abierta la posibilidad de estas vitaminas se encuentren agotadas y que estas sean sintetizadas por las células planctónicas y no por las sesiles en los tiempos en los cuales hicimos la determinación de expresión genética.

I: Transporte y metabolismo de lípidos.

La población sesil se expresan genes relacionados con el metabolismo de ácidos grasos un ejemplo concreto es *fadA*. El producto de este gene forma parte de la vía del metabolismo de ácidos grasos.

En ambas poblaciones se encontraron genes relacionados con la síntesis de ácidos grasos, sin embargo al igual que en *S.melloti*, en *R.etli* en las células planctónicas encontramos expresados un mayor número de genes de este grupo funcional. Como ejemplo podemos mencionar a *fabA* y *fadB1*. No sabemos exactamente cuales sean los requerimientos necesarios en cuanto a composición de la membrana celular por parte de las células planctónicas, sin embargo si podemos asegurar que este grupo funcional es uno de los más contrastantes entre los dos tipos de poblaciones analizadas.

Como sabemos la matriz de exopolisacáridos que conforman el soporte del biofilm, está constituida principalmente de glicoproteínas, azúcares (glucosa, fructuosa, N-acetilglucosamina) y esta malla puede contener proteínas libres, fosfolípidos y algunos ácidos nucleicos (Chmielewski y Frank 2003), componentes importantes para la protección y adhesión de las bacterias.

P: Transporte y metabolismo de iones.

En la condición sésil encontramos expresado el gene *sodC*, el cual codifica para una superóxido dismutasa de unión a cobre, azufre y zinc. El producto de este tipo de genes detoxifican de radicales tóxicos producto de la respiración, convirtiendo los radicales superóxido en oxígeno molecular. Esto muestra una correlación con la expresión de otros componentes de protección contra el estrés oxidativo como glutation-S-transferasas lo cual nos reafirma la alta capacidad de las células sésiles para contender con condiciones ambientales adversas, adicionalmente al igual que en *S.melloti* también encontramos genes que codifican proteínas de membrana, que funcionan como bombas de cationes (*fixHf*) y algunos antiportadores de iones como sodio e Hidrógeno (*ypch01243*).

Las células planctónicas expresan algunos genes para proteínas transportadoras de hierro (*irr*), genes relacionados con el transporte de fosfatos

(ypch00055, *pstA*, *phoU*), el caso del operon *pst* en *Pseudomonas aureofaciens* se describe como un transportador de fosfato específico y una mutación en este operon provoca pérdida de la capacidad para formar biofilm. Este efecto también se ha encontrado en *E. coli* y en *P. aeruginosa*, pero aun se desconoce el mecanismo que regula este proceso (Monds et al., 2001), lo anterior sugiere que aunque un cierto grupo de genes son expresados en la condición planctónica, podrían ser necesarios en las etapas tempranas del desarrollo del biofilm, lo cual hace necesario un análisis más específico de expresión del genoma en etapas tempranas.

Q: Biosíntesis, transporte y catabolismo de metabolitos secundarios.

El gene *pbp* se expresan normalmente en bacterias patógenas tales como *Staphylococcus aureus*. Utilizado para la protección ante la presencia de antibióticos. Lo interesante es que *R. etli* no esta expuesta en condiciones sésiles ante ningún antibiótico, sin embargo este gene se encuentra expresado, esta seria la primera evidencia de la expresión de este gene al igual que muchos otros que hemos observado, en alguna condición metabólica en *R.etli*.

La población planctónica muestra genes relacionados con la solubilización del fierro (ype00050), mejor conocidos como sideroforos, este tipo de genes permite la asimilación de fierro en condiciones limitantes de este ión, el cual puede tener múltiples beneficios en el metabolismo celular, sobre todo en proteínas de metabolismo central.

Genes no agrupados por COGs.

Población de células sésiles.

Se encontraron transportadores del tipo ABC (*dppDch2*, *dppFch3*, *dppDf*), el transporte a través de la membrana es importante durante el establecimiento y desarrollo del biofilm. La expresión de este tipo de genes permite la regulación de compuestos que puedan dañar la célula, exportar compuestos para mantener la

comunicación con el resto de la población bacteriana y para importar compuestos necesarios en el metabolismo de la bacteria.

Durante la formación de biofilm en *R. etli* observamos la expresión de genes de autoagregación (*rapB1*, *rapB2*). En *E. coli* se describió la mutante en un gen similar *rapA*, dicha mutante expresa presente una deficiencia para la formación de polisacaridos y sensibilidad ante la presencia de algunos antibióticos (Lynch *et al.*, 2007). Otro ejemplo de la función de este gene es a la adaptación ante las limitaciones de fosfato, proceso relacionado con la formación de biofilm en *Pseudomonas fluorescens* (Monds *et al.*, 2007), por lo anterior se sugiere que en *R. etli* los genes expresados podrían estar implicados en alguno de los procesos de la formación del biofilm.

Población Planctónica.

Observamos en esta condición la expresión de genes relacionados con el ensamble de pili (*cpaE*), el pili normalmente en algunas bacterias únicamente es expresado en la condición planctónica (Lazazzera 2005). Genes relacionados con la quimiotaxis y la motilidad de la bacteria (*cheW4*, *motC*), son exclusivamente expresados en la población planctónica.

Gráficas de los grupos funcionales de *S. meliloti* 1021

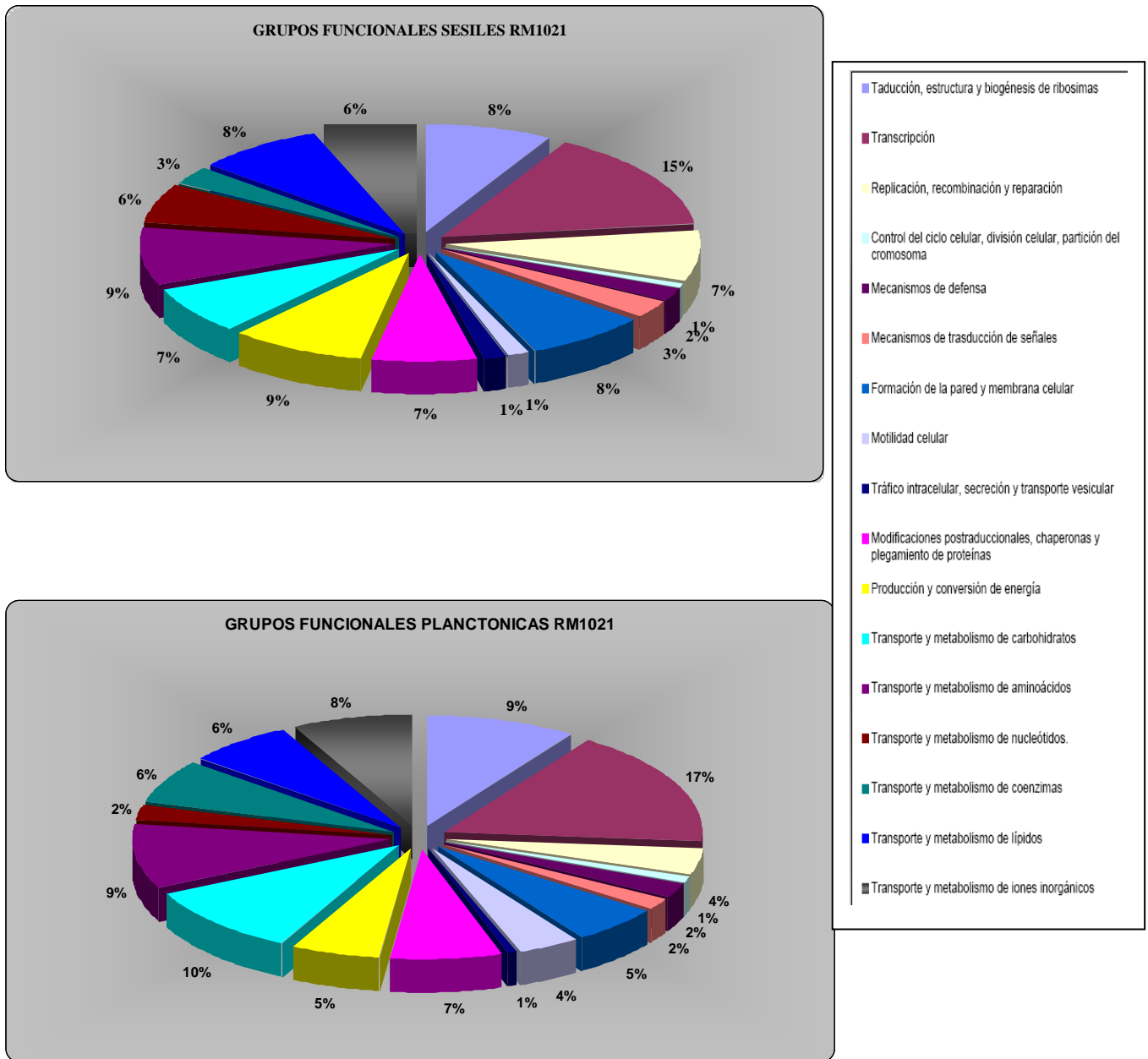


Figura 7.-La figura muestra la comparación de los grupos funcionales encontrados en la población sesil y planctónica, los grupos están expresados en porcentaje. La tabla mostrada a la derecha muestra los nombres de cada uno de los grupos funcionales, representado por sus colores.

Gráficas de los grupos funcionales de *R. etli* CE3.

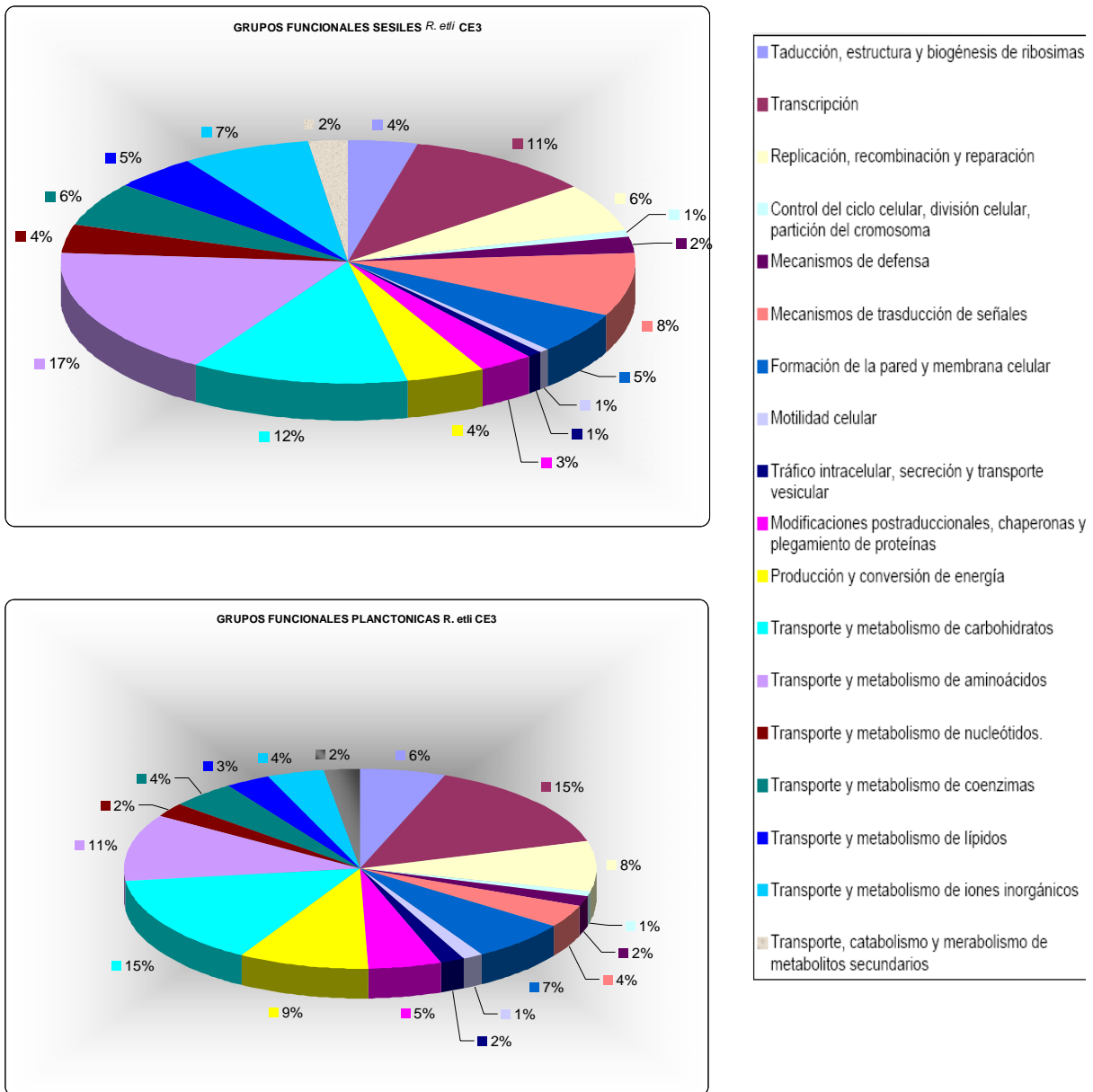


Figura 8.-En las gráficas se muestran los grupos funcionales de las poblaciones analizadas (sésiles y planctónicas), los grupos mas representados son transcripción, transporte y metabolismo de iones inorgánicos, traducción estructura y biogénesis de ribosomas, transporte y metabolismo de aminoácidos y finalmente el grupo de modificaciones postraduccionales, chaperonas y plegamiento de proteínas. La lista de la derecha muestra el nombre de cada grupo funcional, por código de color.

6 CONCLUSIONES.

Encontramos que en ambos modelos bacterianos las diferencias más importantes en el metabolismo expresado por las células en la condición planctónica con respecto de la sesil se observa en los grupos funcionales de transporte y metabolismo carbohidratos; transporte y síntesis de aminoácidos, transporte y metabolismo de lípidos, producción y conversión de energía, replicación, recombinación y reparación, transcripción, síntesis de pared y membrana celular, biogénesis de la matriz extracelular.

La mayoría de los genes relacionados con motilidad únicamente se expresan en la condición planctónica. Lo anterior es observado en ambos tipos bacterianos. La síntesis de polisacáridos se encuentra más altamente expresada en la condición sesil, lo cual metabolitamente parece lógico, si consideramos que el biofilm se encuentra embebido en una matriz de polisacárido.

Observamos que en nuestros modelos bacterianos en la condición sesil se incrementa la resistencia a condiciones adversas como antibióticas, adaptaciones a pH extremo, estrés oxidativo etc., por mencionar algunos. Podemos concluir por nuestros resultados que esta resistencia incrementada se puede deber a la expresión de componentes con funciones específicas de detoxificación y no a condiciones inespecíficas como se había propuesto anteriormente en otros modelos bacterianos.

De los datos obtenidos el 60% de los genes expresados específicamente en una u otra condición representa a genes de función desconocida entre los que podemos mencionar a hipotéticos y probables, por lo cual una aportación de este trabajo es el poder ahora sugerir que este grupo de genes son expresados en una condición fisiológica ya sea en las células planctónicas o en las sésiles.

Una de las contribuciones importantes de este trabajo es la generación de nuevos proyectos de investigación, por lo cual para poder definir el papel de este nuevo grupo de genes con expresión conocida pero sin función metabólica

definida este trabajo puede ser la base para la búsqueda de mutantes que permita definirles una función específica en el metabolismo celular.

Los únicos datos relacionados con la formación de biopelículas bacterianas que se conocían hasta antes del presente trabajo, habían sido obtenidos en *Sinorhizobium meliloti* y *Rhizobium etli* (cepa analizada CNPAF512) basándose en la obtención de mutantes en genes relacionados con la motilidad celular y en la producción de polisacáridos, (Braeken et al., 2007; Fujishige et al., 2006). Lo cual fue un antecedente importante para describir el papel de algunos componentes durante el desarrollo y formación del biofilm. Sin embargo, nuestro análisis mediante la utilización de microarreglos de ADN, que representan la totalidad de genes de estos genomas bacterianos, permite tener un panorama más general respecto a los diferentes tipos de genes y grupos funcionales implicados en el proceso del desarrollo y formación de biofilm.

7 PERSPECTIVAS DEL TRABAJO.

Mediante la metodología de microarreglos de ADN se lograron establecer las diferencias en expresión, sin embargo debemos considerar que se está haciendo un análisis de expresión de genes a nivel de mensajeros, lo cual sin duda nos permite tener una idea de los cambios en el metabolismo y exclusividades metabólicas entre los dos estados estudiados, sin embargo para tener una idea más precisa es necesario complementar el análisis con un estudio proteómico, lo cual nos permitiría conocer las funciones que son expresadas en cada una de las condiciones estudiadas, inclusive un estudio fosfoproteómico nos ubicaría de manera más concreta en las diferencias metabólicas.

El tipo de análisis de los resultados que utilizamos nos permitió establecer con certeza el grupo de genes que se expresan en la condición sesil o planctónica, ya que al considerar dos tiempos del desarrollo del biofilm, uno de una etapa de inicio de su formación y otro al inicio de la maduración del biofilm, sin embargo, es claro que solo observamos una parte del proceso para ello se propone analizar tiempos posteriores (cinco y diez días posteriores al inicio de la formación de las biopelículas bacterianas) tratando de observar con detalle procesos tardíos de desarrollo, formación y disgregación del biofilm.

Como comentamos en las conclusiones la búsqueda de mutantes en genes expresados específicamente en uno u otro de los estados metabólicos (biofilm o planctónicas) permitirá conocer de manera más específica el papel de estos componentes o sus productos e incluso de rutas metabólicas fundamentales en cada uno de ellos.

Así mismo, acompañar el estudio de expresión del genoma con análisis mediante microscopia confocal permitirá conocer de manera integral la estructura de estos biofilms durante las diferentes etapas de su formación desarrollo, maduración y disgregación.

8 ANEXOS.

ANEXO A

Sinorhizobium meliloti 1021

En las tablas se muestra los valores de cada uno de los genes, expresados en las condiciones analizadas.

Grupos funcionales en poblaciones sésiles

Almacenamiento y procesamiento de información genética.

J: Traducción, estructura y biogénesis de ribosomas.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc00984	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0009	-1.6
SMc00475	<i>AlaS</i>	ALANYL-TRNA LIGASE PROTEIN	COG0013	-1.8
SMc01287	<i>RpsM</i>	PROBABLE 30S RIBOSOMAL PROTEIN S13	COG0099	-2.0
SMc03990	<i>RpmE</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L31	COG0254	-1.5
SMc00364	<i>RplT</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L20	COG0292	-1.5
SMc03855	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0621	-1.5
SMc00855	<i>GlyQ</i>	PROBABLE GLYCYL-TRNA SYNTHETASE ALPHA CHAIN PROTEIN	COG0752	-1.5
SMc01336	<i>Rne</i>	PROBABLE RIBONUCLEASE E PROTEIN	COG1530	-1.5
SMc03226	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2264	-1.5
SMc00356	<i>GenX</i>	PUTATIVE LYSYL-TRNA SYNTHETASE PROTEIN	COG2269	-1.9
SMc01756	<i>AspS</i>	PROBABLE ASPARTYL-TRNA SYNTHETASE PROTEIN	COG0173	-1.5
SMc00335	<i>RpsA</i>	30S RIBOSOMAL PROTEIN S1	COG0539	-2.1

K: Transcripción.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc01570	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0583	-2.8
SMc02596	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0583	-2.0
SMc00347	<i>Rnk</i>	PUTATIVE REGULATOR OF NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE KINASE PROTEIN	COG0782	-2.5
SMc02069	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1386	-2.7
SMc04143	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2186	-2.0
SMc02639	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0640	-1.5
SMc03843	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0640	-1.5
SMc00182	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0789	-1.9
SMc01260	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0789	-2.5
SMc02261	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1309	-1.5
SMc04348	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1309	-1.5
SMc04387	-	PUTATIVE ALDEHYDE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1396	-1.8
SMc01493	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1733	-1.5
SMc01908	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1846	-1.5

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc02826	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1846	-2.4
SMc04264	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2207	-1.5
SMc00878	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2771	-2.4
SMc00490	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1167	-2.3
SMc02521	<i>glpR</i>	PUTATIVE GLYCEROL-3-PHOSPHATE REGULON REPRESSOR TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1349	-1.5
SMc01615	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1349	-1.5
SMc03816	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1940	-1.5
SMc02865	-	PUTATIVE ACETYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0454	-2.5
SMc01183	<i>lexA</i>	PUTATIVE LEXA REPRESSOR TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1974	-1.5

L: Replicación recombinación y reparación.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc01567	<i>dnaG</i>	PROBABLE DNA PRIMASE PROTEIN	COG0358	-2.4
SMc03966	<i>ruvA</i>	PROBABLE HOLLIDAY JUNCTION DNA HELICASE PROTEIN	COG0632	-2.6
SMc00932	<i>mutL</i>	PROBABLE DNA MISMATCH REPAIR PROTEIN	COG0323	-1.5
SMc03789	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0389	-1.5
SMc01877	<i>recN</i>	PROBABLE DNA REPAIR PROTEIN	COG0497	-1.5
SMc03247	-	PUTATIVE INTEGRASE/RECOMBINASE PROTEIN	COG0582	-2.1
SMc03246	-	PUTATIVE INTEGRASE DNA PROTEIN	COG0582	-1.5
SMc01134	<i>ihfB</i>	PROBABLE INTEGRATION HOST FACTOR BETA-SUBUNIT PROTEIN	COG0776	-1.5
SMc03281	<i>TRm27.2</i>	PUTATIVE TRANSPOSASE NUMBER 2 FOR INSERTION SEQUENCE ISRM27	COG1484	-1.5
SMc03965	<i>ruvB</i>	PROBABLE HOLLIDAY JUNCTION DNA HELICASE PROTEIN	COG2255	-2.2
SMc03312	<i>TRm11b</i> <i>TRm2011-2b</i>	TRANSPOSASE FOR INSERTION SEQUENCE ELEMENT SRM11/ISRM2011-2	COG3335	-1.5

Señalización y procesos celulares.

D: control de ciclo celular, división celular, partición del cromosoma.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01579	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1192	-2.3

V: Mecanismos de defensa.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01211	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0534	-1.5
SMc04351	-	PROBABLE TRANSMEMBRANE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0577	-1.5
SMc02661	-	PUTATIVE TOXIN SECRETION ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG2274	-2.0

T: Mecanismos trasducción de señales.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc02147	<i>phoR</i>	PROBABLE PHOSPHATE REGULON SENSOR HISTIDINE KINASE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0642	-2.7
SMc01507	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0642	-1.6
SMc03006	<i>cheY1</i>	CHEMOTAXIS REGULATOR PROTEIN	COG0784	-2.6
SMc01267	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2766	-1.5

M: Formación de Pared y membrana celular.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc01858	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0275	-2.6
SMc01860	<i>ftsI</i>	PROBABLE PENICILLIN-BINDING TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0768	-1.9
SMc00989	-	HYPOTHETICAL SIGNAL PEPTIDE PROTEIN	COG3713	-2.5
SMc01846	-	PUTATIVE HYDROLASE GLYCOSIDASE PROTEIN	COG3757	-2.5
SMc01790	-	PUTATIVE GLYCOSYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0438	-1.5
SMc03097	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0729	-1.8
SMc01867	<i>murC</i>	PROBABLE UDP-N-ACETYLMURAMATE—ALANINE LIGASE PROTEIN	COG0773	-2.3
SMc01875	<i>lpxC</i>	PROBABLE UDP-3-O-3-HYDROXYMYRISTOYL N-ACETYLGLUCOSAMINE DEACETYLASE PROTEIN	COG0774	-2.2
SMc00557	<i>alr</i>	PUTATIVE ALANINE RACEMASE PROTEIN	COG0787	-2.4
SMc02270	<i>rkpI</i>	CAPSULAR POLYSACCHARIDE BIOSYNTHESIS\EXPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1368	-2.1
SMc01027	<i>kdsA</i>	PROBABLE 2-DEHYDRO-3-DEOXYPHOSPHOCTONATE ALDOLASE PROTEIN	COG2877	-1.5
SMc00430	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0451	-1.5

N: Motilidad celular.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc03034	<i>flgH</i>	FLAGELLAR L-RING PROTEIN PRECURSOR (BASAL BODY L-RING PROTEIN)	COG2063	-1.9
SMc00765	<i>mcpZ</i>	PROBABLE METHYL-ACCEPTING CHEMOTAXIS PROTEIN	COG0840	-1.5

U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03035	<i>fliL</i>	BASAL BODY FLAGELLAR TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1987	-1.5
SMc02084	<i>exbD</i>	PROBABLE BIOPOLYMER TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0848	-1.5

O: Modificaciones postraduccionales, Chaperonas y plegamiento de proteínas.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc04020	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0330	-1.5
SMc04459	<i>ftsH</i>	PROBABLE METALLOPROTEASE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0465	-1.5

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc01905	<i>lon</i>	PROBABLE ATP-DEPENDENT PROTEASE LA PROTEIN	COG0466	-1.5
SMc02109	<i>clpA</i>	PROBABLE ATP-DEPENDENT CLP PROTEASE ATP-BINDING SUBUNIT PROTEIN	COG0542	-1.5
SMc02390	<i>gst7</i>	PUTATIVE GLUTATHIONE S-TRANSFERASE PROTEIN	COG0625	-1.6
SMc00916	<i>gst11</i>	PUTATIVE GLUTATHIONE S-TRANSFERASE PROTEIN	COG0625	-1.5
SMc00517	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1975	-1.5
SMc01346	<i>aat</i>	PROBABLE LEUCYL/PHENYLALANYL-TRNA-- PROTEIN TRANSFERASE	COG2360	-1.5
SMc01832	<i>ureE</i>	PUTATIVE UREASE ACCESSORY PROTEIN	COG2371	-2.5
SMc02083	-	PUTATIVE METHYLTRANSFERASE (PCM-LIKE) TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG2518	-1.5

Metabolismo.

C: Producción y conversión de energía

ID	nombre	Función	COG	Log
SMc01620	<i>eryB</i>	PUTATIVE ERYTHRITOL PHOSPHATE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG0578	-1.5
SMc01912	<i>nuoA1</i>	NADH DEHYDROGENASE I CHAIN A PROTEIN	COG0838	-2.2
SMc01588	-	PUTATIVE ALDEHYDE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1012	-2.7
SMc01640	-	PUTATIVE ACYL-COA SYNTHETASE PROTEIN	COG1042	-1.9
SMc02349	<i>asfA</i>	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG1053	-1.8
SMc01740	<i>lldD1</i>	PUTATIVE L-LACTATE DEHYDROGENASE (CYTOCHROME) PROTEIN	COG1304	-2.2
SMc00480	<i>icd</i>	PROBABLE ISOCITRATE DEHYDROGENASE [NADP] PROTEIN	COG0538	-1.5
SMc04252	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0667	-1.5
SMc00010	<i>ctaD</i>	PUTATIVE CYTOCHROME C OXIDASE POLYPEPTIDE I TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0843	-2.4
SMc04385	-	PUTATIVE ALDEHYDE DEHYDROGENASE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1012	-1.5
SMc03846	<i>acnA</i>	PROBABLE ACONITATE HYDRATASE PROTEIN	COG1048	-1.5
SMc04048	-	PUTATIVE CYTOCHROME C PROTEIN	COG2010	-1.5
SMc02380	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0604	-1.6

G: Transporte y metabolismo de carbohidratos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01496	<i>smoE</i>	PROBABLE SORBITOL-BINDING PERIPLASMIC PROTEIN	COG1653	-2.6
SMc01628	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1653	-2.3
SMc03237	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0477	-1.9
SMc03063	<i>aglG</i>	ALPHA-GLUCOSIDES TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0395	-1.5
SMc03923	<i>glgC</i>	PROBABLE GLUCOSE-1-PHOSPHATE ADENYLYLTRANSFERASE (ADP-GLUCOSE SYNTHASE)(ADP-GLUCOSE PYROPHOSPHORYLASE)	COG0448	-1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
		PROTEIN		
SMc02846	-	PUTATIVE SUGAR KINASE PROTEIN	COG0524	-1.5
SMc02043	<i>eda1</i>	PROBABLE KHG/KDPG ALDOLASE (INCLUDES: 4-HYDROXY-2-OXOGLUTARATE ALDOLASE, 2-DEHYDRO-3-DEOXYPHOSPHOGLUCONATE ALDOLASE) PROTEIN	COG0800	-2.3
SMc04119	<i>deoB</i>	PROBABLE PHOSPHOPENTOMUTASE PROTEIN	COG1015	-1.8
SMc02472	-	PUTATIVE TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1175	-1.5
SMc02033	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING PROTEIN	COG1879	-2.2
SMc04255	<i>manB</i>	PUTATIVE BETA-MANNOSIDASE PROTEIN	COG3250	-2.6

E: Transporte y metabolismo de aminoácidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03856	<i>dapF</i>	PROBABLE DIAMINOPIMELATE EPIMERASE PROTEIN	COG0253	-2.1
SMc01856	-	PUTATIVE SARCOSINE OXIDASE PROTEIN	COG0665	-1.7
SMc02404	<i>dapA1</i>	PUTATIVE DIHYDRODIPICOLINATE SYNTHASE PROTEIN	COG0329	-2.1
SMc02831	-	PUTATIVE PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0601	-2.1

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01948	<i>livF</i>	PROBABLE HIGH-AFFINITY BRANCHED-CHAIN AMINO ACID TRANSPORT ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0410	-1.5
SMc01642	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING PROTEIN	COG0747	-1.5
SMc02739	<i>opuA</i>	PUTATIVE GLYCINE BETAINE TRANSPORT ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1125	-2.2
SMc02484	-	PUTATIVE AMINO ACID EFFLUX TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1280	-1.5
SMc03887	-	PUTATIVE AMINO ACID EFFLUX PROTEIN	COG1280	-1.5
SMc00387	<i>tatA</i>	TYROSINE AMINOTRANSFERASE PROTEIN	COG1448	-1.5
SMc04144	<i>ilvD3</i>	PUTATIVE DIHYDROXY-ACID DEHYDRATASE PROTEIN	COG0129	-1.5
SMc04455	<i>ilvG</i>	PUTATIVE ACETOLACTATE SYNTHASE ISOZYME II LARGE SUBUNIT PROTEIN	COG0028	-1.5
SMc00042	<i>ilvE2</i>	PUTATIVE AMINOTRANSFERASE PROTEIN	COG0115	-1.5

F: Metabolismo y Transporte de nucleótidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc04001	<i>purE</i>	PROBABLE PHOSPHORIBOSYLAMINOIMIDAZOLE CARBOXYLASE CATALYTIC SUBUNIT PROTEIN	COG0041	-1.5
SMc00488	<i>purL</i>	PROBABLE PHOSPHORIBOSYLFORMYL GLYCINAMIDINE SYNTHETASE II PROTEIN	COG0046	-1.5
SMc00595	<i>ndk</i>	PROBABLE NUCLEOSIDE DIPHOSPHATE KINASE PROTEIN	COG0105	-1.5
SMc04124	<i>cdd</i>	PUTATIVE CYTIDINE DEAMINASE PROTEIN	COG0295	-1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00945	<i>gpt</i>	PROBABLE XANTHINE-GUANINE PHOSPHORIBOSYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0503	-2.2
SMc01025	<i>pyrG</i>	PROBABLE CTP SYNTHASE PROTEIN	COG0504	-1.5
SMc01360	<i>pyrB</i>	PROBABLE ASPARTATE CARBAMOYLTRANSFERASE CATALYTIC CHAIN PROTEIN	COG0540	-1.5
SMc04120	<i>add</i>	PUTATIVE ADENOSINE DEAMINASE PROTEIN	COG1816	-1.7
SMc00905	-	PUTATIVE DEAMINASE PROTEIN	COG0590	-2.2

H: Transporte y metabolismo de coenzimas.

ID	Nombre	Función	COG	Log.
SMc01268	<i>lipB</i>	PROBABLE LIPOATE-PROTEIN LIGASE B	COG0321	-2.1
SMc04173	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0262	-1.5
SMc04019	<i>hemH</i>	PROBABLE FERROCHELATASE PROTEIN	COG0276	-1.5
SMc01622	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0111	-2.7

I: Transporte y metabolismo de lípidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc04093	<i>acsA1</i>	PROBABLE ACETYL-COENZYME A SYNTHETASE PROTEIN	COG0365	-4.4
SMc02134	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0558	-2.2
SMc01329	<i>acpD</i>	PROBABLE ACYL CARRIER PROTEIN PHOSPHODIESTERASE	COG1182	-2.4
SMc04399	-	PUTATIVE ACYL-COA TRANSFERASE PROTEIN	COG1788	-2.1
SMc00296	<i>phbC</i>	POLY3-HYDROXYBUTYRATE POLYMERASE PROTEIN	COG3243	-2.3
SMc02097	<i>uppS</i>	PUTATIVE UNDECAPRENYL PYROPHOSPHATE SYNTHETASE PROTEIN	COG0020	-1.5
SMc00966	-	PUTATIVE ACETYL-COA ACYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0183	-1.5
SMc02092	<i>fabZ</i>	PROBABLE 3R-HYDROXYMYRISTOYL-ACYL CARRIER PROTEIN DEHYDRATASE	COG0764	-2.2
SMc03888	<i>gcpE</i>	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0821	-1.5
SMc02227	<i>fadB</i>	PUTATIVE FATTY OXIDATION COMPLEX ALPHA SUBUNIT INCLUDES: ENOYL-COA HYDRATASE, 3-HYDROXYACYL-COA DEHYDROGENASE, 3-HYDROXYBUTYRYL-COA EPIMERASE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1024	-1.5
SMc01639	-	PUTATIVE ACYL-COA DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1960	-1.6
SMc02697	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2030	-1.8

P: Transporte y metabolismo de iones inorgánicos.

ID	Nombre	Funcion	COG	Log
SMc01659	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0614	-2.0
SMc01823	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1116	-1.5
SMc02726	-	PUTATIVE IRON TRANSPORT PROTEIN	COG1629	-1.9

SMc00476	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0659	-2.3
SMc01823	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1116	-1.5
SMc02346	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1116	-2.0
SMc00962	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1122	-2.1
SMc00056	<i>phaF2</i>	PUTATIVE CATION EFFLUX SYSTEM PROTEIN	COG2212	-1.5
SMc00090	<i>cysN</i>	PUTATIVE SULFATE ADENYLATE TRANSFERASE CYSTEINE BIOSYNTHESIS PROTEIN	COG2895	-1.5

Población de células planctónicas.

Grupos de genes agrupados mediante funciones,

Almacenamiento y procesamiento de información genética.

J: Traducción, estructura ribosomal y biogénesis.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01010	<i>thrS</i>	PROBABLE THREONYL-TRNA SYNTHETASE PROTEIN	COG0441	1.5
SMc04320	<i>rpsU1</i>	30S RIBOSOMAL PROTEIN S21	COG0828	1.5
SMc00323	<i>rpsO</i>	PROBABLE 30S RIBOSOMAL PROTEIN S15	COG0184	1.5
SMc01314	<i>rpsL</i>	PROBABLE 30S RIBOSOMAL PROTEIN S12	COG0048	1.5
SMc01286	<i>rpsK</i>	PROBABLE 30S RIBOSOMAL PROTEIN S11	COG0100	1.5
SMc01292	<i>rpsE</i>	PROBABLE 30S RIBOSOMAL PROTEIN S5	COG0098	1.5
SMc03990	<i>rpmE</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L31	COG0254	1.5
SMc01307	<i>rplW</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L23	COG0089	1.5
SMc00364	<i>rplT</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L20	COG0292	1.5
SMc01302	<i>rplP</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L16	COG0197	1.5
SMc01321	<i>rplK</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L11	COG0080	1.5
SMc00811	<i>ftsJ</i>	PROBABLE CELL DIVISION PROTEIN	COG0293	1.5
SMc00475	<i>alaS</i>	ALANYL-TRNA LIGASE PROTEIN	COG0013	1.6
SMc03226	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2264	1.6
SMc00662	-	HYPOTHETICAL/UNKNOWN PROTEIN	COG0162	1.5
SMc02563	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1186	1.5
SMc00342	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0349	1.5
SMc03773	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1670	1.5
SMc02576	-	HYPOTHETICAL ACETYLTRANSFERASE PROTEIN	COG1670	1.5
SMc01041	-	PUTATIVE NIFR3-LIKE PROTEIN	COG0042	1.5
SMc03151	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1670	1.5
SMc03855	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0621	1.5
SMc02722	-	PUTATIVE AMINOGLYCOSIDE 3'-PHOSPHOTRANSFERASE PROTEIN	COG3231	1.5
SMc01306	<i>rplB</i>	PROBABLE 50S RIBOSOMAL PROTEIN L2	COG0090	1.7
SMc01714	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0251	1.5
SMc02700	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0617	1.7

K: Transcripción.

ID	Nombre	Función	COG	Log
----	--------	---------	-----	-----

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00019	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1678	1.5
SMc00098	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1846	1.5
SMc00170	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR HSL-DEPENDENT PROTEIN	COG2771	1.5
SMc00182	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0789	1.5
SMc00289	<i>cspA5</i>	PUTATIVE COLD SHOCK TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1278	1.5
SMc00351	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1396	1.5
SMc00658	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2771	1.5
SMc00674	<i>hutC</i>	PUTATIVE HISTIDINE UTILIZATION REPRESSOR TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2188	1.5
SMc00878	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2771	1.7
SMc01092	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0583	1.5
SMc01117	<i>rimI</i>	PUTATIVE ACETYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0454	3.2
SMc01160	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1959	1.5
SMc01260	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0789	1.5
SMc01317	<i>rpoB</i>	PROBABLE DNA-DIRECTED RNA POLYMERASE BETA CHAIN PROTEIN	COG0085	1.5
SMc01419	<i>rpoE1</i>	PROBABLE RNA POLYMERASE SIGMA FACTOR PROTEIN	COG1595	1.5
SMc01493	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1733	1.5
SMc01495	<i>smoC</i>	PROBABLE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2390	1.5
SMc01522	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1309	1.5
SMc01563	<i>sigA, rpoD</i>	RNA POLYMERASE SIGMA FACTOR TRANSCRIPTION REGULATION PROTEIN	COG0568	1.5
SMc01615	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1349	1.5
SMc01646	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1396	1.5
SMc01771	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1327	1.5
SMc01908	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1846	1.5
SMc02069	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1386	1.5
SMc02172	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1940	1.5
SMc02223	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2932	1.5
SMc02225	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1733	1.5
SMc02261	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1309	1.5
SMc02340	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2188	1.5
SMc02521	<i>glpR</i>	PUTATIVE GLYCEROL-3-PHOSPHATE REGULON REPRESSOR TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1349	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc02523	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0583	1.5
SMc02639	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0640	1.5
SMc02647	-	HYPOTHETICAL TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0640	1.5
SMc02652	<i>rnc</i>	PROBABLE RIBONUCLEASE III PROTEIN	COG0571	1.5
SMc02826	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1846	1.5
SMc02865	-	PUTATIVE ACETYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0454	1.5
SMc03109	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1940	1.5
SMc03816	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1940	1.5
SMc03843	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0640	1.5
SMc03890	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1349	1.5
SMc04032	-	HYPOTHETICAL TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2771	1.5
SMc04051	<i>rpoE4</i>	PUTATIVE RNA POLYMERASE SIGMA-E FACTOR (SIGMA-24) PROTEIN	COG1595	1.5
SMc04143	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2186	1.5
SMc04162	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG0640	1.5
SMc04198	-	PUTATIVE PHAGE REPRESSOR PROTEIN	COG2932	1.5
SMc04348	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG1309	1.5
SMc04387	-	PUTATIVE ALDEHYDE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1396	1.5

L: Replicación, recombinación y reparación.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00691	<i>xerD</i>	PROBABLE INTEGRASE/RECOMBINASE DNA RECOMBINATION PROTEIN	COG0582	1.7
SMc00602	<i>uvrC</i>	PROBABLE EXCINUCLEASE ABC SUBUNIT C PROTEIN	COG0322	1.6
SMc02839	<i>TRm3</i>	TRANSPOSASE FOR INSERTION SEQUENCE ELEMENT ISRM3	COG3328	1.8
SMc02731	<i>TRm22</i>	PUTATIVE TRANSPOSASE PROTEIN	COG3385	1.8
SMc02863	<i>recF</i>	DNA REPAIR PROTEIN	COG1195	1.9
SMc00760	<i>recA</i>	DNA STRAND EXCHANGE AND RECOMBINATION PROTEIN	COG0468	1.7
SMc02789	<i>dnaQ</i>	PROBABLE DNA POLYMERASE III, EPSILON CHAIN PROTEIN	COG0847	1.8
SMc03788	<i>dnaE2</i>	PUTATIVE DNA POLYMERASE III ALPHA CHAIN PROTEIN	COG0587	1.5
SMc01375	<i>dnaE1</i>	PROBABLE DNA POLYMERASE III, ALPHA CHAIN PROTEIN	COG0587	1.7
SMc02375	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1573	1.7
SMc01367	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0494	1.5

Procesos celulares y señalización.

D: Control del ciclo celular, división celular, partición cromosómica.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc04296	<i>ftsZ2</i>	CELL DIVISION PROTEIN FTSZ	COG0206	1.5
SMc00534	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0037	1.7

V: Mecanismos de defensa.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00564	-	PUTATIVE TRANSPORT PROTEIN TRANSMEMBRANE	COG1566	1.9
SMc03168	-	PUTATIVE MULTIDRUG EFFLUX SYSTEM PROTEIN	COG1566	3.0
SMc00550	-	PROBABLE ABC TRANSPORTER ATP-BINDING TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1132	1.5
SMc01457	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0841	2.7
SMc04207	-	PUTATIVE TOXIN SECRETION ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1132	4.0
SMc03991	-	PROBABLE ABC TRANSPORTER ATP-BINDING TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1132	4.0

T: Mecanismos de señales de traducción.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00887	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2199	1.9
SMc03178	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG2199	1.5
SMc02756	-	PUTATIVE SENSOR HISTIDINE KINASE PROTEIN	COG0642	1.5
SMc03822	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2062	1.5
SMc02248	-	PUTATIVE TRANSCRIPTION REGULATOR PROTEIN	COG2197	1.5

M: Formación de Pared y membrana celular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc02305	<i>murA</i>	PROBABLE UDP-N-ACETYLGLUCOSAMINE 1-CARBOXYVINYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0766	1.5
SMc02681	<i>lgt</i>	PROBABLE PROLIPOPROTEIN DIACYLGLYCERYL TRANSFERASE	COG0682	1.5
SMc02898	<i>kdsB</i>	PROBABLE 3-DEOXY-MANNO-OCTULOSONATE CYTIDYLYLTRANSFERASE (CMP-KDO SYNTHETASE) PROTEIN	COG1212	1.5
SMc01871	<i>ddlB</i>	PROBABLE D-ALANINE--D-ALANINE LIGASE B PROTEIN	COG1181	1.7
SMc03783	<i>ctpA</i>	PUTATIVE CARBOXY-TERMINAL PROCESSING PROTEASE PRECURSOR SIGNAL PEPTIDE PROTEIN	COG0793	1.5
SMc01850	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0741	2.0
SMc01828	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0845	1.5
SMc03045	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0741	1.5
SMc04024	-	PUTATIVE MEMBRANE-BOUND LYTIC MUREIN TRANSGLYCOSYLASE PROTEIN	COG2951	1.5
SMc02827	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0791	1.5
SMc00404	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0797	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00683	-	PUTATIVE PENICILLIN-BINDING PROTEIN	COG1686	1.5
SMc04176	-	PUTATIVE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0668	1.5
SMc03139	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0449	1.5
SMc02406	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG3468	1.5

N: Motilidad celular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03019	<i>fliG</i>	FLAGELLAR MOTOR SWITCH PROTEIN	COG1536	1.5
SMc03031	<i>flgA</i>	FLAGELLAR PRECURSOR TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1261	1.5
SMc00339	<i>cyaA</i>	ADENYLATE CYCLASE 1 PROTEIN	COG0840	1.5
SMc03090	<i>cheW3</i>	PUTATIVE CHEMOTAXIS PROTEIN	COG0835	1.5
SMc03010	<i>cheB</i>	PROTEIN-GLUTAMATE METHYLESTERASE	COG2201	1.5
SMc03007	<i>cheA</i>	CHEMOTAXIS PROTEIN (SENSORY TRANSDUCTION HISTIDINE KINASE)	COG0643	1.5
SMc02230	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0840	1.5
SMc03053	<i>fliQ</i>	PUTATIVE FLAGELLAR BIOSYNTHETIC TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1987	1.5
SMc03025	<i>fliI</i>	FLAGELLUM-SPECIFIC ATP SYNTHASE PROTEIN	COG1157	1.5
SMc03014	<i>fliF</i>	FLAGELLAR M-RING TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1766	1.5
SMc04115	-	HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1450	1.7

U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03958	<i>tolQ</i>	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0811	1.5
SMc02085	<i>exbB</i>	PROBABLE BIOPOLYMER TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0811	1.8

O: Modificaciones postraduccionales, plegamiento de proteínas y chaperonas.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01942	<i>ureD</i>	PROBABLE UREASE ACCESSORY PROTEIN	COG0829	1.5
SMc01224	<i>trxB</i>	PROBABLE THIOREDOXIN REDUCTASE PROTEIN	COG0492	1.5
SMc00556	<i>radA</i>	PUTATIVE DNA REPAIR PROTEIN	COG1066	1.5
SMc03206	<i>maiA</i>	MALEYLACETOACETATE ISOMERASE (GLUTATHIONE TRANSFERASE ZETA 1) PROTEIN	COG0625	1.5
SMc04040	<i>ibpA</i>	PROBABLE HEAT SHOCK PROTEIN	COG0071	1.8
SMc01443	<i>gst6</i>	PUTATIVE GLUTATHIONE S-TRANSFERASE PROTEIN	COG0625	1.5
SMc00097	<i>gst2</i>	PUTATIVE GLUTATHIONE S-TRANSFERASE PROTEIN	COG0625	1.5
SMc01142	<i>grpE</i>	PROBABLE HEAT SHOCK PROTEIN	COG0576	1.5
SMc00912	<i>groES1</i>	10 KD CHAPERONIN A PROTEIN	COG0234	1.5
SMc02857	<i>dnaK</i>	HEAT SHOCK PROTEIN 70 (HSP70) CHAPERONE	COG0443	1.7
SMc01280	<i>degP3</i>	PROBABLE PROTEASE PROTEIN	COG0265	1.5
SMc04233	-	HYPOTHETICAL DNAJ DOMAIN PROTEIN	COG0484	2.7
SMc00040	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1764	1.7

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc01106	-	PROBABLE SMALL HEAT SHOCK PROTEIN	COG0071	1.5
SMc00605	-	HYPOTHETICAL ZINC FINGER DOMAIN C2H2 TYPE PROTEIN	COG0625	1.5
SMc00532	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0719	1.5
SMc02136	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1281	1.5
SMc00345	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG3526	1.5
SMc00527	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2377	1.5

Metabolismo.

C: Producción y conversión de energía.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc02481	<i>sucD</i>	PROBABLE SUCCINYL-COA SYNTHETASE ALPHA CHAIN PROTEIN	COG0074	2.0
SMc01915	<i>nuoD1</i>	PROBABLE NADH DEHYDROGENASE I CHAIN D PROTEIN	COG0649	1.5
SMc01712	<i>lldD2</i>	PUTATIVE L-LACTATE DEHYDROGENASE (CYTOCHROME) PROTEIN	COG1304	1.5
SMc00832	<i>glcD</i>	PROBABLE GLYCOLATE OXIDASE SUBUNIT PROTEIN	COG0277	1.5
SMc02524	<i>fdsG</i>	PUTATIVE NAD-DEPENDENT FORMATE DEHYDROGENASE GAMMA SUBUNIT PROTEIN	COG1905	1.5
SMc03085	<i>fdsC</i>	PUTATIVE FORMATE DEHYDROGENASE ASSOCIATED PROTEIN	COG1526	1.5
SMc00094	<i>betB</i>	BETAINE ALDEHYDE DEHYDROGENASE BADH OXIDOREDUCTASE NAD PROTEIN	COG1012	1.5
SMc00871	<i>atpB</i>	PROBABLE ATP SYNTHASE A CHAIN TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0356	1.5
SMc02347	<i>asfB</i>	PUTATIVE FERREDOXIN ASFB IRON-SULFUR PROTEIN	COG1146	1.5
SMc04151	-	PUTATIVE FERREDOXIN PROTEIN	COG1018	1.5
SMc01656	-	PUTATIVE ALDEHYDE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1012	1.5
SMc00801	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1048	1.5
SMc00985	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0277	1.5
SMc01006	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0822	1.5
SMc01740	<i>lldD1</i>	PUTATIVE L-LACTATE DEHYDROGENASE (CYTOCHROME) PROTEIN	COG1304	1.7

G: Transporte y metabolismo de carbohidratos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03070	<i>zwf</i>	GLUCOSE-6-PHOSPHATE 1-DEHYDROGENASE PROTEIN	COG0364	1.5
SMc03164	<i>xylB</i>	PUTATIVE XYLULOSE KINASE PROTEIN	COG1070	1.5
SMc01498	<i>smoG</i>	PROBABLE SORBITOL/MANNITOL TRANSPORT INNER MEMBRANE PROTEIN	COG0395	1.5
SMc02834	<i>mgsA</i>	PROBABLE METHYLGLYOXAL SYNTHASE PROTEIN	COG1803	1.5
SMc04255	<i>manB</i>	PUTATIVE BETA-MANNOSIDASE PROTEIN	COG3250	1.5
SMc03926	<i>glgX1</i>	PROBABLE GLYCOSYL HYDROLASE PROTEIN	COG1523	1.5
SMc01623	<i>eriA</i>	PUTATIVE ERYTHRITOL KINASE PROTEIN	COG1070	1.5
SMc03153	<i>eda2</i>	PROBABLE KHG/KDPG ALDOLASE (INCLUDES: 4-	COG0800	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
		HYDROXY-2-OXOGLUTARATE ALDOLASE, 2-DEHYDRO-3-DEOXYPHOSPHOGLUCONATE ALDOLASE) PROTEIN		
SMc04119	<i>deoB</i>	PROBABLE PHOSPHOPENTOMUTASE PROTEIN	COG1015	1.5
SMc03063	<i>aglG</i>	ALPHA-GLUCOSIDES TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0395	1.5
SMc03062	<i>aglF</i>	ALPHA-GLUCOSIDES TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1175	1.5
SMc00006	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0406	1.5
SMc01626	-	PUTATIVE PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0395	1.5
SMc00896	-	PUTATIVE SULFITE BIOSYNTHESIS PROTEIN	COG0483	1.5
SMc00882	-	PUTATIVE KHG/KDPG ALDOLASE PROTEIN	COG0800	1.5
SMc01727	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2513	1.5
SMc02033	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING PROTEIN	COG1879	1.5
SMc03815	-	PUTATIVE ATP BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1129	1.5
SMc02471	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1653	1.5
SMc04130	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1082	1.5
SMc04283	-	PUTATIVE TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1593	1.5
SMc02776	-	PUTATIVE ALTRONATE HYDROLASE PROTEIN	COG2721	1.5
SMc04251	-	PUTATIVE MANNITOL-BINDING PERIPLASMIC SIGNAL PEPTIDE PROTEIN	COG1638	1.5
SMc00563	-	PUTATIVE TRANSPORT PROTEIN TRANSMEMBRANE	COG0477	1.5
SMc00813	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0477	1.5
SMc03237	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0477	1.5
SMc01584	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0697	1.5
SMc01729	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0697	1.5
SMc01807	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0697	1.5

E: Transporte y metabolismo de aminoácidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc00114	<i>ptrB</i>	PROBABLE PROTEASE II OLIGOPEPTIDASE B HYDROLASE SERINE PROTEASE PROTEIN	COG1770	1.5
SMc00773	<i>potI</i>	PROBABLE PUTRESCINE TRANSPORT SYSTEM PERMEASE PROTEIN	COG1177	1.5
SMc02738	<i>opuB</i>	PUTATIVE GLYCINE BETAINE TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1174	1.5
SMc02570	<i>hisA</i>	PROBABLE PHOSPHORIBOSYLFORMIMINO-5-AMINOIMIDAZOLE CARBOXAMIDE RIBOTIDE ISOMERASE PROTEIN	COG0106	1.5
SMc02612	<i>glxD</i>	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0069	1.5
SMc02113	<i>cysE</i>	PROBABLE SERINE ACETYLTRANSFERASE PROTEIN	COG1045	1.5
SMc01578	<i>aatA</i>	ASPARTATE AMINOTRANSFERASE A (TRANSAMINASE) PROTEIN	COG0436	1.5
SMc02119	<i>aapQ</i>	PROBABLE GENERAL L-AMINO ACID TRANSPORT PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0765	1.5
SMc03265	-	PUTATIVE AMINO ACID DEHYDROGENASE	COG0665	1.7

ID	Nombre	Función	COG	Log
		TRANSMEMBRANE PROTEIN		
SMc00044	-	PUTATIVE AMINO ACID EFFLUX PROTEIN	COG1280	1.5
SMc01576	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0665	1.5
SMc02852	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0624	1.5
SMc01632	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0687	1.5
SMc02251	-	PUTATIVE AMINOTRANSFERASE PROTEIN	COG0436	1.5
SMc00277	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0520	1.5
SMc02262	-	PUTATIVE AMINOTRANSFERASE PROTEIN	COG0436	1.5
SMc02428	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG0665	1.5
SMc01033	-	PROBABLE ARYLESTERASE PROTEIN	COG2755	1.5
SMc03093	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0346	1.5
SMc03893	-	PUTATIVE AMINO-ACID TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0765	1.5
SMc04153	-	PUTATIVE AMINOMETHYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0404	1.5
SMc03120	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0411	1.5
SMc01732	<i>dapD</i>	PROBABLE 2,3,4,5-TETRAHYDROPYRIDINE-2-CARBOXYLATE N-SUCCINYLTRANSFERASE PROTEIN	COG2171	1.5
SMc04013	<i>pabB</i>	PUTATIVE PARA-AMINOBENZOATE SYNTHASE COMPONENT I PROTEIN	COG0147	1.7
SMc03259	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0329	1.5
SMc04034	-	PUTATIVE DIPEPTIDE TRANSPORT SYSTEM PERMEASE ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG0601	1.5

F: Metabolismo y transporte de nucleotidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc02099	<i>pyrH</i>	PROBABLE URIDYLATE KINASE PROTEIN	COG0528	1.5
SMc02245	<i>pyrD</i>	PROBABLE DIHYDROOROTATE DEHYDROGENASE (DIHYDROOROTATE OXIDASE) PROTEIN	COG0167	1.5
SMc04123	<i>deoD</i>	PUTATIVE PURINE NUCLEOSIDE PHOSPHORYLASE PROTEIN	COG0005	1.7
SMc00334	<i>cmk</i>	PUTATIVE CYTIDYLATE KINASE (CMP KINASE) PROTEIN	COG0283	1.5
SMc02218	-	PUTATIVE DEOXYCYTIDINE TRIPHOSPHATE DEAMINASE PROTEIN	COG0717	1.5
SMc00461	<i>dnaS</i>	PROBABLE DEOXYURIDINE 5'-TRIPHOSPHATE NUCLEOTIDOHYDROLASE DUTPASE PROTEIN	COG0756	1.7

H: Transporte y metabolismo de coenzimas.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc02864	<i>thiF</i>	PUTATIVE THIAMINE BIOSYNTHESIS TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0476	1.5
SMc01777	<i>ribH1</i>	PROBABLE 6,7-DIMETHYL-8-RIBITYLLUMAZINE SYNTHASE PROTEIN	COG0054	1.5
SMc00069	<i>pdxH</i>	PROBABLE PYRIDOXAMINE 5'-PHOSPHATE OXIDASE (PNP/PMP OXIDASE) PROTEIN	COG0259	1.5
SMc00580	<i>pdxA1</i>	PROBABLE PYRIDOXAL PHOSPHATE BIOSYNTHETIC PROTEIN	COG1995	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc02598	<i>nadC</i>	PROBABLE NICOTINATE-NUCLEOTIDE PYROPHOSPHORYLASE CARBOXYLATING PROTEIN	COG0157	1.7
SMc00863	<i>moaB</i>	PROBABLE MOLYBDENUM COFACTOR BIOSYNTHESIS PROTEIN B	COG0521	1.5
SMc03231	<i>hemC</i>	PROBABLE PORPHOBILINOGEN DEAMINASE PROTEIN	COG0181	1.5
SMc01766	<i>hemB</i>	PROBABLE DELTA-AMINOLEVULINIC ACID DEHYDRATASE PROTEIN	COG0113	1.5
SMc00465	<i>folK</i>	PROBABLE 7,8-DIHYDRO-6-HYDROXYMETHYLPTERIN-PYROPHOSPHOKINASE PROTEIN	COG0801	1.5
SMc04303	<i>cobN</i>	PROBABLE COBALAMIN BIOSYNTHESIS PROTEIN	COG1429	1.5
SMc03192	<i>cobH</i>	PROBABLE PRECORRIN-8X METHYLMUTASE PROTEIN	COG2082	1.5
SMc02567	<i>coaA</i>	PROBABLE PANTOTHENATE KINASE PROTEIN	COG1072	1.5
SMc02439	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0262	1.6
SMc02594	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0212	1.5
SMc04305	<i>cobP</i>	PROBABLE BIFUNCTIONAL COBALAMIN BIOSYNTHESIS PROTEIN (INCLUDES: COBINAMIDE KINASE AND COBINAMIDE PHOSPHATE GUANYLYLTRANSFERASE)	COG2087	1.5
SMc00641	<i>serA</i>	PUTATIVE D-3-PHOSPHOGLYCERATE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG0111	1.5

I: Transporte y metabolismo de lípidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03888	<i>gcpE</i>	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0821	1.5
SMc02228	<i>fadA</i>	PUTATIVE ACETYL-COA ACYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0183	1.5
SMc02818	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2267	1.6
SMc02697	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG2030	1.5
SMc01639	-	PUTATIVE ACYL-COA DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1960	1.5
SMc04399	-	PUTATIVE ACYL-COA TRANSFERASE PROTEIN	COG1788	1.5
SMc00966	-	PUTATIVE ACETYL-COA ACYLTRANSFERASE PROTEIN	COG0183	1.5
SMc04093	<i>acsA1</i>	PROBABLE ACETYL-COENZYME A SYNTHETASE PROTEIN	COG0365	1.5
SMc02157	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0575	1.5
SMc02134	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0558	1.5
SMc00016	<i>lytB</i>	PROBABLE LYT B PROTEIN	COG0761	1.5
SMc02271	<i>rkpH</i>	RIBITOL TYPE DEHYDROGENASE PROTEIN	COG1028	1.5
SMc00733	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG1028	1.5
SMc01157	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG1028	1.5
SMc02486	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG1028	1.5
SMc02040	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG1028	1.5
SMc02034	-	PUTATIVE OXIDOREDUCTASE PROTEIN	COG1028	1.5
SMc02382	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG1597	1.5

P: Transporte y metabolismo de iones inorgánicos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
SMc03184	<i>phaG1</i>	PH ADAPTATION POTASSIUM EFFLUX SYSTEM G TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG1320	1.5
SMc00056	<i>phaF2</i>	PUTATIVE CATION EFFLUX SYSTEM PROTEIN	COG2212	1.5
SMc03183	<i>phaF1</i>	PH ADAPTATION POTASSIUM EFFLUX SYSTEM F TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG2212	2.5
SMc00055	<i>phaE2</i>	PUTATIVE CATION EFFLUX SYSTEM PROTEIN	COG1863	1.5
SMc03198	<i>modC</i>	PUTATIVE MOLYBDENUM TRANSPORT ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1118	1.5
SMc02510	<i>fur</i>	PROBABLE FERRIC UPTAKE REGULATION PROTEIN	COG0735	1.5
SMc01611	<i>fhuA1</i>	PUTATIVE FERRICHROME-IRON RECEPTOR PRECURSOR PROTEIN	COG1629	1.5
SMc00090	<i>cysN</i>	PUTATIVE SULFATE ADENYLATE TRANSFERASE CYSTEINE BIOSYNTHESIS PROTEIN	COG2895	2.4
SMc02649	<i>arsC</i>	HYPOTHETICAL ARSENATE REDUCTASE PROTEIN	COG1393	1.5
SMc01823	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1116	1.5
SMc00962	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1122	1.5
SMc02890	-	PUTATIVE OUTER MEMBRANE RECEPTOR PROTEIN	COG1629	1.5
SMc00476	-	PUTATIVE TRANSPORT TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0659	1.5
SMc02146	-	PUTATIVE PHOSPHATE-BINDING PERIPLASMIC PROTEIN	COG0226	1.5
SMc02156	-	CONSERVED HYPOTHETICAL PROTEIN	COG0725	1.5
SMc02346	-	PUTATIVE ATP-BINDING ABC TRANSPORTER PROTEIN	COG1116	1.5
SMc02344	-	PUTATIVE PERIPLASMIC BINDING PROTEIN	COG0715	1.5
SMc04242	<i>zur</i>	PUTATIVE ZINC UPTAKE REGULATION PROTEIN	COG0735	1.5
SMc02726	-	PUTATIVE IRON TRANSPORT PROTEIN	COG1629	1.5
SMc03171	-	HYPOTHETICAL TRANSMEMBRANE PROTEIN	COG0861	1.5
SMc00982	-	PUTATIVE DIOXYGENASE PROTEIN	COG2146	1.5

ANEXO B

Rhizobium etli CE3.

Población Sésiles.

Almacenamiento y procesamiento de información genética.

J: Traducción, estructura de ribosomas y biogénesis.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000251	<i>InfC</i>	translation initiation factor IF-3 protein	COG0290	-1.5
RE1CH0000374	<i>TrpS</i>	tryptophanyl-tRNA synthetase protein	COG0180	-1.5
RE1CH0000773	<i>FtsJ</i>	cell division protein	COG0293	-1.5
RE1CH0000805	<i>HisS</i>	histidyl-tRNA synthetase protein	COG0124	-1.8
RE1CH0001476	<i>rnd2</i>	ribonuclease D protein	COG0349	-1.8
RE1CH0001625	<i>PrfB</i>	peptide chain release factor 2 protein	COG1186	-1.5
RE1CH0001670	<i>ypd00003</i>	putative universal stress UspA protein	COG0099	-1.5

RE1CH0002081	<i>Tgt</i>	queuine tRNA-ribosyltransferase (tRNA-guanine transglycosylase) protein	COG0343	-1.5
RE1CH0002988	<i>Pth</i>	peptidyl-tRNA hydrolase protein	COG0193	-2.0
RE1PC0000208	<i>rpsUc</i>	30S ribosomal protein S21	COG0828	-2.0

K: Transcripción.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000420	<i>SigK</i>	RNA polymerase sigma factor protein, ECF family	COG1595	-1.5
RE1CH0000596	Ypch00219	probable transcriptional regulator protein	COG2186	-1.7
RE1CH0000780	Ypch00266	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	-1.8
RE1CH0000976	Ypch00332	probable transcriptional regulator protein, ArsR family	COG0640	-1.5
RE1CH0001151	Yhch00216	hypothetical conserved protein	COG1278	-1.5
RE1CH0001793	Ypch00610	putative transcriptional regulator protein	COG1386	-1.9
RE1CH0002411	Ypch00826	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	-1.5
RE1CH0002503	Ypch00862	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	-1.5
RE1CH0002516	Ypch00867	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	-1.5
RE1CH0002544	Ypch00878	probable transcriptional regulator protein	COG1309	-2.0
RE1CH0002659	Ypch00930	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	-1.5
RE1CH0003040	Yhch00944	hypothetical protein	COG2771	-1.5
RE1CH0003087	Ypch01094	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	-1.5
RE1CH0003367	Ypch01210	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	-1.5
RE1CH0003574	Ypch01285	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	-1.5
RE1CH0003598	<i>VbsD</i>	efflux transporter inner membrane protein	COG1609	-1.5
RE1PC0000100	ypc00050	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	-1.5
RE1PC0000124	ypc00062	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG4977	-1.5
RE1PC0000210	ypc00114	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	-1.5
RE1PE0000060	<i>PcaQ</i>	transcriptional activator of the <i>pca</i> operon (catabolism of phenolic compounds), LysR family protein	COG0583	-1.8
RE1PE0000088	ype00033	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	-1.5
RE1PE0000301	yhe00101	hypothetical conserved protein	COG5631	
RE1PE0000390	ype00203	putative transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	-1.7
RE1PE0000422	ype00218	probable transcriptional regulator protein, MerR family	COG1396	-3.0
RE1PF0000189	ypf00088	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	-1.5
RE1PF0000288	ypf00139	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	-1.7

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1PF0000306	ypf00152	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	

L: Replicación, recombinación y reparación.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000119	<i>DnaX</i>	DNA polymerase III, tau subunit protein	COG2812	-1.5
RE1CH0000711	<i>traAch</i>	conjugal transfer protein	COG0507	-1.5
RE1CH0000762	Yhch00894	hypothetical conserved protein	COG3436	-1.5
RE1CH0001460	<i>UvrC</i>	excinuclease ABC subunit C protein	COG0322	-1.5
RE1CH0001514	<i>HimA</i>	integration host factor alpha-subunit protein	COG0776	-1.6
RE1CH0001606	<i>DinP</i>	DNA damage inducible P protein	COG0389	-1.5
RE1CH0001786	<i>XthA2</i>	exodeoxyribonuclease III protein	COG0708	-1.6
RE1CH0002402	Ypch00823	putative succinoglycan biosynthesis protein	COG1525	-1.7
RE1CH0003622	<i>Nth</i>	endonuclease III protein	COG0177	-1.8
RE1CH0004059	<i>RpsM</i>	30S ribosomal protein S13	COG1466	-1.5
RE1PA0000002	Yhch00376	hypothetical conserved protein	COG0582	-1.5
RE1PA0000071	yia00012	probable insertion sequence transposase protein, IS4 family	COG3385	-1.9
RE1PF0000110	ypf00053	probable DNA mismatch endonuclease protein	COG3727	-1.5
RE1SP0000100	<i>NuoH2</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain H protein	COG3436	-1.5
RE1SP0000124	yi14a-III00020	probable insertion sequence transposase protein	COG3436	-1.7
RE1SP0000321	yi23-II00046	probable insertion sequence transposase protein	COG3293	-1.7

Señalización y procesos celulares.

D: control de ciclo celular, división celular, partición del cromosoma.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0003747	<i>ftsX</i>	cell division protein	COG2177	-2.0
RE1PA0000180	<i>repAa1</i>	plasmid partitioning protein RepAa1	COG1192	-1.5

V: Mecanismos de defensa.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0001286	ypch00442	probable multidrug efflux transporter protein, AcrB/AcrD/AcrF family	COG0841	-1.5
RE1CH0002039	ypch00681	putative ABC transporter, ATP-binding protein	COG1136	-1.5
RE1CH0002821	ypch00987	probable N-acetylmuramoyl-L-alanine amidase protein	COG3023	-1.5
RE1CH0003158	ypch01121	putative surface saccharide exporting ABC transporter, ATP-binding and permease protein	COG1132	-1.7
RE1CH0003210	ypch01132	probable ABC transporter, ATP-binding protein (consisting of 2 fused ATP-binding domains)	COG1131	-1.9
RE1PF0000460	yhf00126	hypothetical conserved protein	COG0534	-1.5

T: Mecanismos transducción de señales.

ID	Nombre	Función	COG	Log.
RE1CH0000035	<i>ChvG</i>	two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	-1.5
RE1CH0000497	<i>PhoR</i>	phosphate regulon, two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	-1.5
RE1CH0000570	Ypch00212	putative arsenate reductase (phosphatase) protein	COG0394	-1.5
RE1CH0000616	Ypch00233	putative two-component sensor histidine kinase protein	COG4251	-1.5
RE1CH0001269	<i>FeuQ</i>	two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	-1.5
RE1CH0001734	Ypch00598	putative sensory box/GGDEF family protein	COG2199	-1.8
RE1CH0001917	<i>NtrX</i>	nitrogen regulation (two-component response regulator) protein	COG2204	-1.5
RE1CH0001989	<i>CyaH</i>	adenylate/guanylate cyclase protein	COG2114	-1.5
RE1CH0002348	Ypch00792	putative sensory box/GGDEF family protein	COG2199	-1.7
RE1CH0002374	Ypch00805	Probable two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	-1.7
RE1CH0002455	Ypch00842	Probable adenylate cyclase protein	COG2114	-1.5
RE1CH0002522	Ypch00869	Probable adenylate cyclase protein	COG2114	-1.7
RE1CH0002919	Ypch01032	Probable adenylate cyclase protein	COG2114	-1.5
RE1CH0003294	Ypch01170	Probable two-component response regulator protein	COG0784	-1.9
RE1CH0003387	Ypch01218	Probable two-component sensor histidine kinase protein	COG4191	-1.7
RE1CH0003767	Ypch01366	putative transcriptional regulator protein	COG0271	-1.6
RE1PF0000079	ypf00034	putative sensor histidine kinase protein	COG3920	-1.7
RE1PF0000310	ypf00156	Probable two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	-1.7
RE1PF0000547	ypf00268	putative two-component response regulator protein	COG0784	-1.5
RE1SP0000016	Ypch00174	Probable proline/glycine betaine ABC transporter, ATP-binding protein	COG0589	-2.0
RE1SP0000288	ypd00050	Probable transcriptional regulator protein, fnr-like family	COG0664	-1.5

M: Formación de Pared y membrana celular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000566	<i>MurA</i>	UDP-N-acetylglucosamine 1-carboxyvinyltransferase protein	COG0766	-1.5
RE1CH0001301	ypch00451	probable glycosyltransferase protein	COG0463	-1.5
RE1CH0001493	ypch00523	probable glucose-1-phosphate thymidyltransferase protein	COG1209	-1.5
RE1CH0001495	<i>rffB</i>	dTDP-glucose-4,6-dehydratase protein	COG1088	-1.6
RE1CH0001539	ypch00541	probable glycosyltransferase protein	COG2148	-1.5
RE1CH0002435	<i>MsbB</i>	lipid A lauroyl acyltransferase protein	COG1560	-1.7
RE1CH0002812	<i>murF</i>	UDP-N-acetylmuramoylalanyl-D-glutamyl-2,6-diaminopimelate-D-alanyl-D-alanyl ligase protein	COG0770	-1.7
RE1CH0002814	<i>FtsI</i>	cell division penicillin-binding protein	COG0768	-1.6
RE1CH0002829	<i>Lyc</i>	Glycoside hydrolase protein	COG3757	-1.5
RE1CH0003287	<i>pssA2</i>	exopolysaccharide production protein	COG2148	-1.5

RE1CH0003344	<i>exoY</i>	exopolysaccharide production protein	COG2148	-1.6
RE1CH0003421	<i>SqdD</i>	glycosyltransferase (sulfolipid biosynthesis) protein	COG5597	-2.6
RE1PE0000009	<i>ype00003</i>	probable penicillin-binding protein	COG4953	-1.5
RE1PF0000294	<i>ypf00145</i>	probable polygalactouranase protein	COG5434	-1.5

N: Motilidad celular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000645	<i>FlgC</i>	flagellar basal-body rod protein	COG1558	-1.5
RE1PF0000173	<i>FlgLf</i>	flagellar hook-associated protein	COG1344	-1.5

U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000200	<i>cpaF</i>	pilus assembly secretion ATP-binding protein	COG4962	-1.6
RE1PE0000314	<i>ype00159</i>	putative tadB pilus assembly protein	COG4965	-1.7

O: Modificaciones postraduccionales, Chaperonas y plegamiento de proteínas.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000507	<i>hsp33</i>	33K chaperonin (heat shock protein 33) protein	COG1281	-1.6
RE1CH0001272	<i>cycJ</i>	cytochrome-c biosynthesis heme-carrier protein	COG2332	-1.6
RE1CH0001285	<i>ypch00441</i>	probable molecular chaperone heat shock protein, Hsp70 family	COG0443	-1.6
RE1CH0001452	<i>ligE</i>	beta-aryl ether cleaving enzyme, lignin degradation protein	COG0625	-1.5
RE1CH0001721	<i>maiA</i>	maleylacetoacetate isomerase (glutathione transferase zeta 1) protein	COG0625	-1.5
RE1CH0001812	<i>tig</i>	trigger factor protein	COG0544	-1.5
RE1CH0003641	<i>osmC</i>	osmotically inducible protein	COG1764	-1.5
RE1PF0000491	<i>yhd00035</i>	hypothetical conserved protein	COG1138	-1.5

Metabolismo.

C: producción y conversión de energía

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000439	<i>ypch00164</i>	probable oxidoreductase protein	COG0667	-1.6
RE1CH0000968	<i>ypch00327</i>	probable cytochrome c oxidase protein	COG2010	-1.6
RE1CH0001589	<i>nuoH1</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain H protein	COG1005	-1.5
RE1CH0002300	<i>ypc00022</i>	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG0633	-1.7
RE1CH0003121	<i>ypch01107</i>	probable aldehyde dehydrogenase protein	COG1012	-1.5
RE1CH0003686	<i>nuoN2</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain N protein	COG1007	-2.2
RE1PC0000004	<i>ypc00002</i>	putative nitrilotriacetate monooxygenase protein component A	COG2141	-1.6
RE1PE0000413	<i>ype00216</i>	probable ferredoxin protein	COG1018	-1.6
RE1PF0000515	<i>ocs</i>	opine synthase protein, vitopine dehydrogenase family	COG2010	-1.5
RE1SP0000126	<i>ypd00032</i>	probable aryl-alcohol dehydrogenase protein	COG1062	-1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1SP0000319	ypch01454	putative DNA polymerase III, delta subunit protein	COG2141	-1.5

G: Metabolismo y transporte de carbohidratos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000466	<i>acpP</i>	acyl-carrier protein	COG0380	-1.5
RE1CH0001767	<i>ttuD</i>	hydroxypyruvate reductase protein	COG2379	-1.6
RE1CH0002018	ypch00669	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG1175	-1.6
RE1CH0002022	<i>uxuAch</i>	mannonate dehydratase protein	COG1312	-1.9
RE1CH0002035	ypch00679	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	-1.6
RE1CH0002051	ypch00690	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG1172	-1.5
RE1CH0002222	ypch00739	putative trehalose synthase (glycosyl hydrolase) protein	COG0366	-1.7
RE1CH0002619	ypch00904	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	-1.5
RE1CH0002696	ypch00947	putative L-sorbose dehydrogenase protein	COG2133	-1.5
RE1CH0002701	ypch00950	putative phosphoglycerate mutase protein	COG0406	-1.5
RE1CH0002941	ypch01043	putative transcriptional regulator protein, LacI family	COG1879	-1.9
RE1CH0003062	<i>kdgK</i>	2-dehydro-3-deoxygluconokinase protein	COG0524	-1.6
RE1CH0003102	ypch01098	putative chitooligosaccharide deacetylase protein	COG0726	-1.6
RE1CH0003134	<i>xylG</i>	xylose ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	-1.5
RE1CH0003171	<i>pssT1</i>	glycosyl hydrolase (beta-1,4-xylanase) protein	COG3693	-1.6
RE1CH0003652	Ypch01331	putative transcriptional regulator protein. Related to sugar ABC transporter, periplasmic sugar-binding protein TM0114 [Thermotoga maritima]	COG1879	-1.5
RE1CH0003656	<i>lacZ2</i>	beta-D-galactosidase protein	COG3250	-2.2
RE1CH0004029	<i>citEch</i>	citrate lyase, beta subunit protein	COG2301	-1.8
RE1PA0000024	yha00016	hypothetical conserved protein	COG1653	-2.0
RE1PB0000006	<i>uxuAb</i>	mannonate dehydratase protein	COG1312	-1.6
RE1PB0000020	yph00007	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	-1.8
RE1PB0000112	yph00066	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	-1.5
RE1PC0000102	ypc00052	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG1175	-2.0
RE1PC0000103	ypc00053	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	-1.5
RE1PC0000149	ypc00081	putative sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	-1.9
RE1PC0000171	ypc00096	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	-1.7
RE1PC0000198	ypc00107	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	-2.2
RE1PE0000097	yph00039	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	-1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1PE0000100	ype00042	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	-1.5
RE1PE0000356	ype00180	probable sugar ABC transporter, ATP binding protein	COG3839	-1.5
RE1PE0000371	ype00192	probable sugar uptake ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	-2.2

E: Transporte y metabolismo de aminoácidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000123	yhch00031	hypothetical conserved protein	COG0346	-1.5
RE1CH0000316	<i>cysK1</i>	cysteine synthase protein	COG0031	-1.6
RE1CH0000353	ypch00141	probable lactoylglutathione lyase protein	COG0346	-1.8
RE1CH0000408	<i>dapE2</i>	succinyl-diaminopimelate desuccinylase protein	COG0624	-1.5
RE1CH0000442	ypch00166	probable proline racemase protein	COG3938	-1.5
RE1CH0000473	<i>gshB</i>	glutathione synthetase protein	COG1125	-1.5
RE1CH0000590	<i>appF</i>	oligopeptide ABC transporter, ATP-binding protein	COG4608	-1.5
RE1CH0001208	<i>ptrB</i>	protease II (oligopeptidase B hydrolase serine protease) protein	COG1770	-1.8
RE1CH0001297	ypch00450	probable glutamine synthetase protein	COG0174	-1.5
RE1CH0001443	ypch00505	probable amino acid ABC transporter, ATP-binding protein	COG1126	-1.6
RE1CH0001456	ypch00512	probable branched-chain amino acid ABC transporter, permease protein	COG0559	-2.0
RE1CH0001548	<i>speB1</i>	agmatinase protein	COG0010	-2.0
RE1CH0001715	ypf00255	putative cytochrome c-type synthesis protein	COG3186	-1.5
RE1CH0001743	<i>aldA</i>	alanine dehydrogenase protein	COG0686	-2.2
RE1CH0001841	<i>aroQ1</i>	3-dehydroquinate dehydratase protein	COG0757	-1.5
RE1CH0001847	<i>aatCch</i>	aspartate/tyrosine/aromatic aminotransferase protein	COG0436	-1.5
RE1CH0002138	<i>trpC</i>	indole-3-glycerol phosphate synthase protein	COG0134	-1.5
RE1CH0002273	<i>glsA</i>	thermolabile glutaminase A protein	COG2066	-1.7
RE1CH0002676	ypch00937	putative glyoxalase/bleomycin resistance-like protein	COG0346	-1.5
RE1CH0002847	<i>glnA3</i>	glutamine synthetase protein	COG0174	-1.6
RE1CH0003045	<i>proX</i>	proline/glycine betaine ABC transporter, substrate-binding protein	COG2113	-1.5
RE1CH0003118	ypch01106	putative transglutaminase-like protein	COG1305	-1.5
RE1CH0003249	<i>amaB</i>	N-carbamoyl-beta-alanine amidohydrolase protein	COG0624	-1.6
RE1CH0003276	ypch01165	probable urea or short-chain amide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0683	-1.7
RE1CH0003285	<i>braD</i>	amino acid ABC transporter, permease protein	COG0559	-1.5
RE1PB0000094	ypb00054	probable peptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	-1.5
RE1PC0000028	ypc00015	probable polyamine ABC transporter, substrate-binding protein	COG0687	-1.5
RE1PC0000202	ypc00111	putative oxidoreductase protein	COG2303	-1.6
RE1PE0000041	ype00021	probable oligopeptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	-1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1PE0000080	<i>occPe</i>	octopine ABC transporter, ATP-binding protein	COG4598	-1.9
RE1PE0000194	<i>ype00095</i>	probable oligopeptide ABC transporter, ATP-binding protein	COG0747	-1.5
RE1PE0000254	<i>pepT</i>	aminopeptidase T protein	COG2195	-1.7
RE1PE0000275	<i>ype00132</i>	probable branched-chain amino acid ABC transporter, amino acid binding protein	COG0683	-1.5
RE1PE0000276	<i>ype00133</i>	probable branched-chain amino acid ABC transporter, ATP binding protein	COG0411	-1.5
RE1PE0000381	<i>ype00197</i>	putative amino acid processing enzyme-related protein	COG3616	-1.6
RE1PF0000166	<i>ypf00077</i>	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG0765	-1.6
RE1PF0000184	<i>ypf00083</i>	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG0765	-1.8
RE1PF0000185	<i>ypf00084</i>	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG0765	-1.8
RE1PF0000187	<i>ypf00086</i>	probable amino acid ABC transporter, ATP-binding protein	COG1126	-1.7
RE1PF0000410	Yhch00240	hypothetical conserved protein	COG2113	-1.5
RE1PF0000411	<i>ypf00220</i>	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG4176	-1.9
RE1PF0000412	<i>ypf00221</i>	probable amino acid ABC transporter, ATP-binding protein	COG4175	-
RE1PF0000430	<i>ypf00229</i>	probable pyrroline-5-carboxylate reductase protein	COG0345	-1.5
RE1SP0000118	<i>aatCd</i>	aspartate/tyrosine/aromatic aminotransferase protein	COG0436	-

F: Transporte y metabolismo de nucleótidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000183	<i>rpsM</i>	30S ribosomal protein S13	COG0295	-1.9
RE1CH0000188	<i>rinQ</i>	DNA resolvase protein	COG0035	-1.5
RE1CH0000357	<i>iunH1</i>	inosine-uridine preferring nucleoside hydrolase protein	COG1957	-1.8
RE1CH0001619	yhch00283	hypothetical conserved protein	COG0540	-1.5
RE1CH0001739	<i>cpdB</i>	2',3'-cyclic-nucleotide 2'-phosphodiesterase protein	COG0737	-1.5
RE1CH0002124	<i>tmk</i>	thymidylate kinase protein	COG0125	-1.6
RE1CH0002235	<i>purB</i>	adenylosuccinate lyase protein	COG0015	-1.7
RE1CH0003099	<i>allA</i>	ureidoglycolate hydrolase protein	COG3194	-1.5
RE1CH0003373	<i>adeC2</i>	adenine deaminase protein	COG1001	-1.5
RE1CH0003507	<i>ypch01261</i>	probable 5'-nucleotidase protein	COG0737	-1.8

H: Transporte y metabolismo de coenzimas.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000286	<i>ypch00112</i>	putative reductase protein	COG0262	-1.5
RE1CH0000345	<i>ubiE</i>	ubiquinone/menaquinone biosynthesis methyltransferase protein	COG2226	-1.5
RE1CH0000680	<i>folDch</i>	function="1.2.14"	COG0190	-1.6
RE1CH0000879	<i>ubiA</i>	4-hydroxybenzoate octaprenyltransferase	COG0382	-1.7

ID	Nombre	Función	COG	Log
		protein		
RE1CH0001431	<i>pdxAch</i>	pyridoxal phosphate biosynthetic protein, 4-hydroxythreonine-4-phosphate dehydrogenase protein	COG1995	-1.7
RE1CH0001485	<i>hemB</i>	delta-aminolevulinic acid dehydratase protein	COG0113	-1.6
RE1CH0001683	<i>ypch00570</i>	probable 2-dehydropantoate 2-reductase (ketopantoate reductase) protein	COG1893	-1.8
RE1CH0002443	<i>cobD</i>	cobalamin biosynthesis protein	COG1270	-1.8
RE1CH0003423	<i>ypch01233</i>	probable 5-formyltetrahydrofolate cyclo-ligase protein	COG0212	-2.0
RE1CH0003479	<i>thiEch</i>	thiamine-phosphate pyrophosphorylase protein	COG0352	-1.8
RE1CH0003789	<i>hemAch</i>	5-aminolevulinic acid synthase protein	COG0156	-1.5
RE1CH0003848	<i>hemD</i>	uroporphyrinogen-III synthase protein	COG1587	-1.7
RE1PE0000443	<i>ype00224</i>	probable ketopantoate hydroxymethyltransferase protein	COG0413	-1.7
RE1PE0000451	<i>cobK</i>	precorrin 6x reductase protein	COG2099	-1.6
RE1PE0000456	<i>cobF</i>	methyltransferase protein	COG2243	-1.9

I: Transporte y metabolismo de lípidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000368	<i>olsA</i>	1-acyl-sn-glycerol-3-phosphate acyltransferase (phospholipid/glycerol acyltransferase) protein	COG0204	-1.7
RE1CH0000546	<i>fadA</i>	acyl-CoA thiolase protein	COG0183	-1.5
RE1CH0001459	<i>pgsA</i>	CDP-diacylglycerol-glycerol-3-phosphate 3-phosphatidyltransferase protein	COG0558	-2.0
RE1CH0001512	<i>plsX</i>	fatty acid/phospholipid synthesis protein	COG0416	-1.5
RE1CH0001693	<i>Ypch00578</i>	probable acyl-CoA transferase protein	COG4670	-1.7
RE1CH0001783	<i>Ypch00608</i>	probable outer membrane protein	COG2067	-1.5
RE1CH0001839	<i>accCch</i>	acetyl-CoA carboxylase, biotin carboxylase protein	COG0439	-1.5
RE1CH0001840	<i>accBch</i>	acetyl-CoA carboxylase, biotin carboxyl carrier protein	COG0511	-1.8
RE1CH0001908	<i>yhch00564</i>	hypothetical conserved protein	COG2867	-1.7
RE1CH0003738	<i>hbdA</i>	3-hydroxybutyryl-CoA dehydrogenase protein	COG1250	-1.5
RE1CH0003772	<i>accA</i>	acetyl-CoA carboxylase carboxyl transferase, alpha subunit protein	COG0825	-1.5
RE1PE0000203	<i>pcaF</i>	beta-ketoadipyl CoA thiolase protein	COG0183	-1.5

P: Transporte y metabolismo de de iones.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000913	<i>ypch00308</i>	probable cobalt ABC transporter, permease protein	COG0619	-1.7
RE1CH0000930	<i>pit</i>	phosphate transporter protein	COG0306	-1.5
RE1CH0001381	<i>sodC</i>	Cu-Zn superoxide dismutase precursor protein	COG2032	-1.7
RE1CH0002010	<i>ypch00663</i>	probable nitrate/sulfonate/bicarbonate ABC transporter, substrate-binding protein	COG0715	-1.5
RE1CH0003004	<i>ypch01069</i>	probable sodium-dependent phosphate transporter protein	COG1283	-1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0003216	ypch01135	probable methyl viologen/ethidium resistance transmembrane protein	COG2076	-1.7
RE1CH0003256	ypch01153	probable nitrate/sulfonate ABC transporter, substrate-binding protein	COG0715	-1.7
RE1CH0003286	<i>pssB</i>	exopolysaccharide production protein	COG1218	-2.0
RE1CH0003450	ypch01243	probable Na ⁺ /H ⁺ antiporter protein	COG3263	-1.5
RE1CH0003670	ypch01339	probable heavy metal-transporting ATPase protein	COG2217	-1.5
RE1CH0004044	<i>cynT</i>	carbonic anhydrase protein	COG0288	-1.5
RE1PC0000016	yhc00006	hypothetical conserved protein	COG3703	-1.5
RE1PC0000018	<i>tauB</i>	probable taurine uptake ABC transporter, permease protein	COG4525	-1.5
RE1PE0000264	<i>kdpC</i>	potassium-transporting ATPase C chain protein	COG2156	-1.5
RE1PE0000265	<i>kdpB</i>	potassium-transporting ATPase B chain protein	COG2216	-1.5
RE1PF0000502	<i>fixHf</i>	cation pump membrane protein	COG5456	-3.0
RE1PF0000516	<i>norB</i>	nitric oxide reductase protein	COG3256	-1.5
RE1SP0000290	<i>fixId</i>	cation transport ATPase protein	COG2217	-1.5

Q: Transporte, catabolismo y metabolismo de metabolitos secundarios.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0001720	<i>pbp</i>	cell wall biosynthesis penicillin-binding protein, 1A family	COG0179	-1.5
RE1CH0002566	ypch00886	probable ring-cleaving dioxygenase protein	COG3485	-1.5
RE1PC0000051	ypc00029	probable polyketide synthase protein	COG2761	-1.6
RE1PE0000167	ype00075	probable Arylamine N-acetyltransferase protein	COG2162	-1.5
RE1PE0000352	ype00176	putative taurine dioxygenase protein	COG2175	-1.5
RE1PE0000366	ype00187	probable dienolactone hydrolase protein	COG0412	-1.5

Población plantónicas.

Almacenamiento y procesamiento de información genética.

J: Traducción, estructura de ribosomas y biogénesis.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000038	ypch00016	probable peptide chain release factor protein (peptidyl-tRNA hydrolase protein)	COG1186	1.5
RE1CH0000103	ypch00038	probable ribosomal RNA small subunit methyltransferase protein	COG2813	1.5
RE1CH0000277	ypch00104	putative RNA ligase protein	COG1514	1.5
RE1CH0000322	<i>prfC</i>	peptide chain release factor 3 protein	COG4108	1.5
RE1CH0000367	ypch00145	putative 2-methylthioadenine synthetase (miaB-like) protein	COG0621	1.5
RE1CH0000384	<i>spoU</i>	rRNA methylase protein, TrmH family	COG0566	1.5
RE1CH0000403	<i>def1</i>	formylmethionine deformylase protein	COG0242	1.5
RE1CH0000406	<i>truA</i>	tRNA pseudouridine synthase A protein	COG0101	1.5
RE1CH0000816	<i>ileS</i>	isoleucyl-tRNA synthetase protein	COG0060	1.5
RE1CH0000819	<i>rluB</i>	ribosomal large subunit B pseudouridine synthase protein	COG1187	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000883	ypch00292	probable translation factor sua5 protein	COG0009	1.5
RE1CH0000894	ypch00299	probable RNA-methyltransferase protein	COG2265	1.5
RE1CH0001048	<i>fusA1</i>	elongation factor G protein	COG0480	1.5
RE1CH0001145	ypch00384	putative exonuclease protein involved in mRNA processing	COG1236	1.5
RE1CH0001421	<i>rpsF</i>	30S ribosomal protein S6	COG0360	1.5
RE1CH0001430	<i>ksgA</i>	dimethyladenosine transferase (16S rRNA dimethylase) protein	COG0030	1.5
RE1CH0001503	ypch00530	putative acetyltransferase protein	COG1670	1.5
RE1CH0001600	<i>proS</i>	prolyl-tRNA synthetase protein	COG0442	1.5
RE1CH0001638	<i>rplJ</i>	50S ribosomal protein L10	COG0244	1.5
RE1CH0001647	<i>rpsJ</i>	30S ribosomal protein S10	COG0051	1.5
RE1CH0001651	<i>rplB</i>	50S ribosomal protein L2	COG0090	1.5
RE1CH0001654	<i>rpsC</i>	30S ribosomal protein S3	COG0092	1.5
RE1CH0001659	<i>rplX</i>	50S ribosomal protein L24	COG0198	1.5
RE1CH0001663	<i>rplF</i>	50S ribosomal protein L6	COG0097	1.5
RE1CH0001797	<i>serS</i>	seryl-tRNA synthetase (serine-tRNA ligase) protein	COG0172	1.5
RE1CH0001911	<i>nifR</i>	nitrogen regulation protein	COG0042	1.5
RE1CH0002004	ypch00658	putative translation initiation inhibitor protein	COG0251	1.5
RE1CH0002080	<i>queA</i>	S-adenosylmethionine: tRNA ribosyltransferase-isomerase (Queuosine biosynthesis) protein	COG0809	1.5
RE1CH0002159	<i>thrS</i>	threonyl-tRNA synthetase protein	COG0441	1.5
RE1CH0002182	<i>def2</i>	formylmethionine deformylase protein	COG0242	1.5
RE1CH0002242	<i>kptA</i>	RNA 2'-phosphotransferase protein	COG1859	1.5
RE1CH0002284	<i>alaS2</i>	alanine-tRNA synthetase protein	COG0013	1.5
RE1CH0002531	ypch00871	putative tRNA-dihydrouridine synthase (nifR3-like) protein	COG0042	1.5
RE1CH0002720	ypch00956	probable tetracycline resistance protein (belongs to the GTP-binding elongation factor family, TetM/TetO subfamily)	COG0480	1.5
RE1CH0002754	<i>miaA</i>	tRNA delta(2)-isopentenylpyrophosphate transferase protein	COG0324	1.5
RE1CH0002835	ypch00996	probable ribonuclease protein	COG3719	1.5
RE1CH0002991	ypch01063	putative GTP-binding protein	COG0012	1.5
RE1CH0003298	ypch01171	probable RNA methylase protein	COG0566	1.5
RE1CH0003300	<i>rldD</i>	ribosomal large subunit D pseudouridine synthase protein	COG0564	1.5
RE1CH0003584	ypch01292	probable acetyltransferase protein	COG1670	1.5
RE1CH0003904	<i>trmD</i>	tRNA guanine-N-1-methyltransferase protein	COG0336	1.5
RE1CH0003983	<i>genX</i>	lysyl-tRNA synthetase protein	COG2269	1.5
RE1CH0004005	ypch01440	putative acetyltransferase protein	COG1670	1.5
RE1CH0004057	<i>leuS</i>	leucyl-tRNA synthetase protein	COG0495	1.5
RE1PE0000117	ype00055	putative amidase protein	COG0154	1.5
RE1PE0000384	ype00198	probable translation initiation inhibitor protein, yigF family	COG0251	1.5
RE1SP0000315	ypd00051	probable methionyl-tRNA synthetase protein	COG0143	1.5

K: Transcripción.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000011	ypch00005	putative transcriptional regulator protein	COG1396	1.5
RE1CH0000208	ypch00076	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	1.5
RE1CH0000258	ypch00093	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0000269	ypch00099	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	1.5
RE1CH0000273	ypch00102	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	1.5
RE1CH0000319	ypch00124	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1CH0000331	ypch00131	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	1.5
RE1CH0000355	<i>hrcA</i>	heat-inducible transcriptional repressor protein	COG1420	4.0
RE1CH0000587	ypch00216	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1CH0000596	ypch00219	probable transcriptional regulator protein	COG2186	1.9
RE1CH0000634	ypch00237	probable transcriptional regulator protein, LuxR family	COG2771	1.5
RE1CH0000714	ypch00247	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0000720	<i>rirA</i>	rhizobial iron regulator protein	COG1959	1.5
RE1CH0000784	Ypch00269	Probable transcriptional regulador protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0000972	ypch00331	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RECH0000784	Ypch00269	Probable transcriptional regulador protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0001136	ypch00379	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.8
RE1CH0001155	ypch00387	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	2.1
RE1CH0001187	ypch00405	putative transcriptional regulator-repressor protein	COG2378	1.5
RE1CH0001245	ypch00430	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1CH0001259	<i>gstR</i>	transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0001304	Ypch00452	putative RNA polymerase sigma factor protein (sigma-70)	COG4941	1.5
RE1CH0001327	Ypch00457	putative transcriptional regulator protein	COG1737	1.5
RE1CH0001371	<i>Rnc</i>	ribonuclease III protein	COG0571	1.5
RE1CH0001447	Ypch00509	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1CH0001490	Yhch00444	hypothetical conserved protein	COG1327	1.5
RE1CH0001507	<i>nusB</i>	transcription antitermination protein B	COG0781	1.5
RE1CH0001552	Ypch00546	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0001635	<i>nusG</i>	transcription antitermination protein	COG0250	1.5
RE1CH0001716	Ypch00592	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1CH0001717	Ypch00593	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0001742	<i>aldR</i>	leucine-responsive regulator protein	COG1522	1.5
RE1CH0001759	<i>gntR</i>	transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.7
RE1CH0001793	Ypch00610	putative transcriptional regulator protein	COG1386	2.5
RE1CH0001999	ypch00655	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	1.5
RE1CH0002023	ypch00673	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	1.5
RE1CH0002030	ypch00675	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1CH0002128	ypch00717	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1CH0002180	ypch00729	probable transcriptional regulator protein, MerR family	COG0789	1.5
RE1CH0002324	ypch00785	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1CH0002398	ypch00820	putative transcriptional regulator protein	COG0583	1.5
RE1CH0002400	ypch00821	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1CH0002411	ypch00826	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0002431	ypch00836	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1CH0002460	ypch00844	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0002493	ypch00856	probable transcriptional regulator protein, ArsR family	COG0640	1.5
RE1CH0002503	ypch00862	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	1.5
RE1CH0002516	ypch00867	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0002544	ypch00878	probable transcriptional regulator protein	COG1309	1.5
RE1CH0002548	ypch00880	putative transcriptional regulator protein	COG1733	1.5
RE1CH0002559	ypch00883	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1CH0002589	ypch00894	putative transcriptional regulator protein	COG1396	1.5
RE1CH0002638	ypch00916	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0002659	ypch00930	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1CH0002715	ypch00953	putative transcriptional regulator protein, DeoR family	COG2390	1.5
RE1CH0002723	ypch00957	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1CH0002769	ypch00974	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1CH0002934	<i>Lrp</i>	leucine-responsive transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1CH0002950	ypch01049	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1CH0002965	<i>cspA5</i>	cold shock protein	COG1278	1.5
RE1CH0002968	ypch01054	putative transcriptional regulator protein	COG1733	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0003026	yhch00925	hypothetical conserved protein	COG5662	1.5
RE1CH0003049	<i>nolRch</i>	transcriptional regulator protein (repressor of nodulation genes), ArsR family	COG0640	1.5
RE1CH0003074	ypch01090	putative transcriptional regulator protein, PadR family	COG1695	1.5
RE1CH0003619	ypch01312	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG2390	1.5
RE1CH0003626	ypch01316	putative transcriptional regulator protein	COG1737	1.5
RE1CH0003647	ypch01329	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	1.5
RE1CH0003943	ypch01420	probable transcriptional regulator protein, LuxR family	COG2771	1.5
RE1PA0000165	ypa00014	putative transcriptional regulator protein	COG1396	1.5
RE1PA0000168	<i>cinRa</i>	autoinducer transcriptional regulator protein	COG2771	1.5
RE1PB0000016	ypb00006	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1PB0000075	ypb00043	putative transcriptional regulator protein, ASnC/Crp family	COG2390	1.5
RE1PB0000118	ypb00071	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PB0000134	ypb00085	putative transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PB0000164	<i>repBb</i>	plasmid partitioning protein RepBb	COG1475	1.5
RE1PC0000041	ypc00024	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PC0000053	ypc00031	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1PC0000066	ypc00038	probable transcriptional regulator protein, Arac family	COG2207	1.5
RE1PC0000100	ypc00050	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PC0000138	ypc00074	probable RNA polymerase sigma-E factor (sigma-24) protein, ECF subfamily	COG1595	1.5
RE1PC0000164	ypc00089	probable transcriptional regulator protein, MarR family	COG1846	1.5
RE1PC0000205	ypc00113	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1PC0000210	ypc00114	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1PC0000216	ypc00119	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PE0000006	<i>hmrR</i>	copper efflux transcriptional regulator protein, MerR family	COG0789	1.5
RE1PE0000060	<i>pcaQ</i>	transcriptional activator of the <i>pca</i> operon (catabolism of phenolic compounds), LysR family protein	COG0583	2.0
RE1PE0000076	<i>hutC</i>	histidine utilization transcriptional repressor protein	COG2188	1.5
RE1PE0000087	yhe00029	hypothetical conserved protein	COG1396	1.5
RE1PE0000159	ype00073	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1PE0000200	ype00101	probable transcriptional regulator protein, lclR family	COG1414	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1PE0000303	ype00154	putative transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1PE0000347	ype00175	putative L-asparagine operon repressor protein, GntR family	COG2186	1.5
RE1PE0000360	ype00184	putative transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PE0000372	yhe00123	hypothetical conserved protein	COG1396	1.5
RE1PE0000390	ype00203	putative transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1PE0000422	ype00218	probable transcriptional regulator protein, MerR family	COG1396	1.5
RE1PF0000009	ypf00002	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1PF0000043	ypf00016	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	1.5
RE1PF0000056	ypf00022	putative RNA polymerase sigma factor protein, ECF family	COG1595	1.5
RE1PF0000189	ypf00088	probable transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1PF0000287	ypf00138	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1PF0000288	ypf00139	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PF0000305	ypf00151	putative transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PF0000306	ypf00152	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	1.5
RE1PF0000332	ypf00167	probable transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	3.0
RE1PF0000344	ypf00174	probable transcriptional regulator protein, LacI family	COG1609	1.5
RE1PF0000360	ypf00186	probable transcriptional regulator protein (leucine-responsive), AsnC family	COG1522	1.9
RE1PF0000380	ypf00200	probable transcriptional regulator protein, GntR family	COG2186	2.9
RE1PF0000385	<i>putR</i>	proline dehydrogenase transcriptional regulator protein, AsnC family	COG1522	1.5
RE1PF0000387	ypf00204	putative transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.7
RE1PF0000390	ypf00207	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG4977	1.5
RE1PF0000408	ypf00217	probable transcriptional regulator protein, TetR family	COG1309	1.5
RE1PF0000467	ypf00240	probable transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1PF0000476	ypf00245	probable transcriptional regulator protein	COG0583	1.5
RE1PF0000572	<i>repBf1</i>	plasmid partitioning protein RepBf1	COG1475	1.5
RE1SP0000067	ypd00016	putative transcriptional regulator protein	COG1396	1.5
RE1SP0000098	ypd00020	putative transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1SP0000173	ypd00038	putative transcriptional regulator protein, AraC family	COG2207	1.5
RE1SP0000176	ypd00040	putative transcriptional regulator protein	COG1396	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1SP0000181	<i>nocR</i>	nopaline catabolism transcriptional regulator protein, LysR family	COG0583	1.5
RE1SP0000218	<i>rpoNd</i>	RNA polymerase sigma factor protein (sigma-54)	COG1508	1.5
RE1SP0000316	<i>nodD2</i>	nod transcriptional regulator protein	COG0583	1.5
RE1SP0000353	<i>repBd</i>	plasmid partitioning protein RepBd	COG1475	1.5

L: Replicación, recombinación y reparación.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000012	<i>gyrB</i>	DNA gyrase subunit B protein	COG0187	1.5
RE1CH0000026	Ypch00011	probable nuclease/helicase protein, ATP dependent	COG1074	1.6
RE1CH0000039	<i>alkB</i>	alkylated DNA repair protein	COG3145	1.8
RE1CH0000134	<i>recF</i>	DNA replication and repair protein	COG1195	1.6
RE1CH0000278	Ypch00105	probable methylated-DNA-protein-cysteine methyltransferase protein	COG0350	1.5
RE1CH0000309	<i>dnaN</i>	DNA polymerase III, beta chain protein	COG0592	1.7
RE1CH0000311	Ypch00120	putative endonuclease protein	COG0792	1.5
RE1CH0000491	Yich00008	probable integrase DNA protein	COG0582	1.5
RE1CH0000523	Yhch00126	hypothetical conserved protein	COG1525	1.9
RE1CH0000544	Ypch00204	probable DNA glycosylase protein	COG2818	2.1
RE1CH0000561	<i>uvrD1</i>	ATP-dependent DNA helicase protein	COG0210	2.9
RE1CH0000767	Yich00019	probable insertion sequence transposase protein, IS1111A/IS1328/IS1533 family	COG3547	1.4
RE1CH0000799	<i>Tag</i>	DNA-3-methyladenine glycosylase I protein	COG2818	1.6
RE1CH0000832	<i>mutL</i>	DNA mismatch repair protein	COG0323	1.5
RE1CH0000853	Yhch00209	hypothetical conserved protein	COG1533	1.6
RE1CH0000979	<i>ccrM</i>	adenine DNA methyltransferase protein	COG0863	1.5
RE1CH0001146	Ypch00385	probable ATP-dependent DNA ligase protein	COG1793	1.8
RE1CH0001375	<i>recO</i>	DNA repair protein	COG1381	1.5
RE1CH0001471	Ypch00518	putative DNA replication initiation ATPase protein	COG0593	1.5
RE1CH0001480	<i>parC</i>	DNA topoisomerase IV subunit A protein	COG0188	1.5
RE1CH0001514	<i>himA</i>	integration host factor alpha-subunit protein	COG0776	1.9
RE1CH0001604	<i>dnaEch1</i>	DNA polymerase III alpha subunit protein	COG0587	2.0
RE1CH0001704	<i>xthA1</i>	exodeoxyribonuclease III protein	COG0708	1.5
RE1CH0001957	Ypch00646	probable resolvase protein	COG1961	1.6
RE1CH0002113	Yich00031	probable insertion sequence transposase protein, IS30 family	COG2826	1.7
RE1CH0002123	<i>hola</i>	DNA polymerase III delta prime subunit protein	COG0470	2.4
RE1CH0002151	<i>parE</i>	DNA topoisomerase IV subunit B protein	COG0187	1.5
RE1CH0002214	Ypch00736	putative endonuclease protein	COG2827	2.2
RE1CH0002285	<i>recA</i>	recombinase A protein	COG0468	2.5
RE1CH0002325	Ypch00786	probable ribonuclease H protein	COG0328	1.5
RE1CH0002401	Ypch00822	probable uracil-DNA glycosylase protein	COG1573	2.0
RE1CH0002525	<i>uvrB</i>	excinuclease ABC subunit B protein	COG0556	1.8

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0002617	Yich00032	putative insertion sequence transposase protein	COG3547	1.5
RE1CH0002732	<i>recD</i>	exodeoxyribonuclease V alpha subunit protein	COG0507	1.7
RE1CH0002780	<i>uvrD2</i>	DNA helicase II protein	COG0210	1.5
RE1CH0002914	<i>dnaG</i>	DNA primase protein	COG0358	1.5
RE1CH0002927	Ypch01038	putative uracil DNA glycosylase protein	COG1573	1.8
RE1CH0003314	Ypch01178	probable 3-methyladenine DNA glycosylase protein	COG2094	1.5
RE1CH0003430	<i>ruvC</i>	crossover junction endodeoxyribonuclease (holliday junction nuclease) protein	COG0817	2.8
RE1CH0003433	<i>ruvA</i>	holliday junction DNA helicase protein	COG0632	1.5
RE1CH0003771	<i>xerD</i>	tyrosine site-specific integrase/recombinase protein	COG4974	1.8
RE1CH0003818	<i>priA</i>	primosomal protein N' (replication factor Y)	COG1198	1.8
RE1CH0003822	<i>xerC</i>	tyrosine site-specific integrase/recombinase protein	COG0582	1.5
RE1CH0003913	<i>xthA3</i>	exodeoxyribonuclease III protein	COG0708	1.5
RE1CH0003924	Yich00036	putative insertion sequence transposase protein	COG2801	1.5
RE1CH0004024	<i>dnaEch2</i>	DNA polymerase III alpha subunit protein	COG0587	1.5
RE1PA0000019	ypa00001	putative nucleotidyltransferase protein	COG0389	1.5
RE1PA0000058	ya00007	putative insertion sequence transposase protein	COG3344	1.9
RE1PA0000065	ya00010	putative insertion sequence transposase protein, IS 100 family	COG4584	1.6
RE1PA0000071	ya00012	probable insertion sequence transposase protein, IS4 family	COG3385	2.4
RE1PA0000072	ya00013	probable insertion sequence ATP-binding protein	COG4584	1.5
RE1PA0000127	ya00047	putative insertion sequence transposase protein	COG4584	1.5
RE1PC0000097	yic00001	probable insertion sequence transposase protein	COG2826	1.5
RE1PE0000251	ype00122	putative ATP-dependent DNA ligase protein	COG1793	2.6
RE1PF0000108	ypf00052	probable cytosine specific DNA methylase protein	COG0270	2.0
RE1PF0000149	<i>dinB</i>	DNA polymerase IV 2, DNA damage-inducible protein	COG0389	2.0
RE1SP0000003	yi20-II00002	putative insertion sequence transposase truncated protein	COG2801	4.0
RE1SP0000004	yi20-I00003	putative insertion sequence transposase protein	COG2801	2.0
RE1SP0000099	yi14b-I00014	putative insertion sequence transposase protein	COG2963	2.3
RE1SP0000123	yi14a-II00019	probable insertion sequence transposase protein	COG3436	1.8
RE1SP0000184	yid00021	putative insertion sequence ATP-binding protein	COG1961	1.9
RE1SP0000195	yi03b-II00024	probable insertion sequence transposase protein	COG3293	2.0
RE1SP0000209	ypd00043	putative reverse transcriptase/maturase protein	COG3344	3.0

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1SP0000243	yi06-l00035	probable insertion sequence transposase protein	COG2963	1.9

Señalización y procesos celulares.

D: control de ciclo celular, división celular, partición del cromosoma.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000984	smc	chromosome partition protein	COG1196	2.4
RE1CH0002272	yhch00682	hypothetical conserved protein	COG0037	1.5
RE1CH0004018	ypch01444	putative metalloendopeptidase protein	COG4942	2.0
RE1PB0000163	repAb	plasmid partitioning protein RepAb	COG1192	1.7
RE1PF0000214	repAf2	plasmid partitioning protein RepAf2	COG1192	1.6
RE1SP0000352	repAd	plasmid partitioning protein RepAd	COG1192	1.8

V: Mecanismos de defensa.

Nombre	Funcion	COG	Log
<i>aacC1</i>	aminoglycoside 3'-N-acetyltransferase protein	COG2746	1.9
ypch00396	probable multidrug resistance efflux system protein	COG1566	1.9
ypch00475	probable toxin secretion ABC transporter, ATP-binding protein	COG2274	1.9
ypch00790	putative multidrug resistance ABC transporter, ATP-binding and permease protein	COG1132	1.5
<i>hndI</i>	multidrug ABC transporter, ATP-binding protein	COG1131	1.5
ypch01066	probable ABC transporter, ATP-binding protein	COG1132	1.8
ypch01245	probable multidrug ABC transporter, ATP-binding protein	COG1132	1.5
yhch01180	hypothetical conserved protein	COG0577	1.5
ypc00033	probable efflux cation transporter protein	COG0841	1.5
ype00009	putative multidrug ABC transporter, ATP-binding transmembrane protein	COG1132	1.7
ype00010	putative multidrug ABC-transporter, ATP-binding transmembrane protein	COG1132	1.7
ypf00017	probable sucrose ABC transporter, ATP binding protein	COG1132	
ypf00135	probable efflux transporter protein, acriflavin resistance protein family	COG0841	1.8
<i>vbsD</i>	efflux transporter inner membrane protein	COG0534	2.8

T: Mecanismos de señales de traducción.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000034	yhch00007	hypothetical conserved protein	COG1493	2.0
RE1CH0000366	<i>phoH</i>	Phosphate starvation inducible protein	COG1702	1.5
RE1CH0001024	Ypch00346	probable two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	2.0
RE1CH0001176	Ypch00398	probable adenylate cyclase protein	COG2114	2.3
RE1CH0001374	Ypch00480	putative two-component response regulator protein	COG0784	1.5
RE1CH0001475	<i>cyaB</i>	adenylate cyclase protein	COG2114	2.4
RE1CH0001708	Ypch00590	probable two-component sensor histidine kinase protein	COG4585	2.0
RE1CH0001725	Ypch00596	putative phosphohistidine phosphatase protein	COG2062	2.1

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0001989	<i>cyaH</i>	adenylate/guanylate cyclase protein	COG2114	2.9
RE1CH0002292	Ypch00768	putative phosphohistidine phosphatase protein	COG2062	1.9
RE1CH0002371	Ypch00802	putative bacterial DNA recombination protein	COG0467	1.8
RE1CH0002489	<i>rrpX</i>	two-component response regulator protein	COG0784	1.8
RE1CH0002538	Ypch00874	probable two-component sensor histidine kinase protein	COG0642	1.5
RE1CH0002646	Ypch00924	probable adenylate cyclase protein	COG2114	2.0
RE1CH0002900	Ypch01027	probable transcriptional regulator protein, Crp/Fnr family	COG0664	1.5
RE1CH0003321	Ypch01183	probable serine/threonine protein phosphatase protein	COG0639	1.5
RE1CH0003560	Ypch01277	putative two-component sensor histidine kinase protein	COG3920	3.0
RE1PC0000095	<i>nodW</i>	two-component nodulation response regulator protein	COG4566	2.3
RE1PC0000109	yhc00028	hypothetical conserved protein	COG0589	2.3
RE1PC0000113	ypc00057	putative universal stress protein UspA protein	COG0589	1.5
RE1PE0000043	<i>cyaA</i>	adenylate cyclase protein	COG2114	2.2
RE1PF0000065	ypf00023	putative two-component sensor histidine kinase protein	COG3920	1.8
RE1PF0000066	yhf00031	hypothetical protein	COG0664	1.5
RE1PF0000072	ypf00029	probable two-component response regulator protein	COG0664	1.8
RE1PF0000074	ypf00031	putative two-component response regulator protein	COG0784	1.6
RE1PF0000480	ypf00247	probable two-component sensor histidine kinase protein	COG4585	3.7
RE1PF0000527	<i>nnrR</i>	denitrification regulator protein	COG0664	1.7
RE1PF0000548	ypf00269	probable two-component response regulator protein	COG4566	2.9
RE1SP0000016	ypd00003	putative universal stress UspA protein	COG0589	1.7
RE1SP0000216	<i>fnrNd</i>	oxygen-dependent transcriptional regulator protein	COG0664	1.5

M: Formación de Pared y membrana celular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000081	Ypch00035	putative choline kinase protein	COG0510	2.0
RE1CH0000239	<i>lepA</i>	GTP-binding elongation factor protein	COG0481	1.6
RE1CH0000265	Ypch00097	probable glycosyltransferase protein	COG0463	2.0
RE1CH0000475	Ypch00176	probable glycine betaine ABC transporter, substrate binding protein	COG1732	1.5
RE1CH0000557	<i>galE1</i>	UDP-glucose-4-epimerase protein	COG1087	1.6
RE1CH0000741	Ypch00257	probable alpha-glycosyltransferase protein	COG0438	1.5
RE1CH0000774	Yhch00187	hypothetical conserved protein	COG3307	2.0
RE1CH0000830	<i>lpxK</i>	tetraacyldisaccharide 4'-kinase (Lipid A 4'-kinase) protein	COG1663	1.5
RE1CH0000854	Ypch00287	putative glycosyltransferase protein	COG0463	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000878	Yhch00219	hypothetical conserved membrane protein	COG3713	1.7
RE1CH0001217	Ypch00423	probable phosphinothricin acetyltransferase (antibiotic resistance) protein	COG1247	2.0
RE1CH0001223	Ypch00424	putative glycosyltransferase protein	COG0438	1.5
RE1CH0001235	ypch00428	putative peptidoglycan-binding protein (cell wall degradation activity)	COG3409	2.0
RE1CH0001287	Ypch00443	probable protein secretion protein, HlyD family	COG0845	2.1
RE1CH0001299	Yhch00390	hypothetical conserved membrane protein	COG1807	1.7
RE1CH0001333	Ypch00461	probable glycosyltransferase protein	COG0438	2.4
RE1CH0001335	Ypch00463	probable glycosyltransferase protein	COG0463	1.5
RE1CH0001346	Ypch00470	probable pleiotropic regulator protein involved in regulation of cell wall biogenesis	COG0399	3.0
RE1CH0001413	<i>alr</i>	alanine racemase protein	COG0787	2.0
RE1CH0001496	Ypch00524	probable dTDP-rhamnose-3,5-epimerase protein	COG1898	1.5
RE1CH0001539	Ypch00541	probable glycosyltransferase protein	COG2148	3.0
RE1CH0001624	<i>mrcA</i>	penicillin-binding peptidoglycan synthetase protein	COG5009	1.5
RE1CH0001886	<i>lpxD</i>	UDP-3-O-[3-hydroxymyristoyl] glucosamine N-acyltransferase protein	COG1044	2.0
RE1CH0002038	Ypch00680	putative protein secretion protein, HylD family	COG0845	1.5
RE1CH0002055	<i>glmS1</i>	glucosamine--fructose-6-phosphate aminotransferase protein	COG0449	2.2
RE1CH0002115	Ypch00713	putative mechanosensitive ion channel protein	COG0668	2.0
RE1CH0002125	<i>dac</i>	D-alanyl-D-alanine carboxypeptidase penicillin-binding protein	COG1686	1.9
RE1CH0002126	<i>rlpA</i>	rare lipoprotein A precursor protein	COG0797	2.2
RE1CH0002206	<i>lysM</i>	cell-wall lytic enzyme, similar to muramidase (lysozyme) protein	COG3757	1.7
RE1CH0002404	<i>dgkA</i>	diacylglycerol kinase protein	COG0818	1.5
RE1CH0002426	<i>ddlA</i>	D-alanine-D-alanine ligase protein	COG1181	1.5
RE1CH0002435	<i>msbB</i>	lipid A lauroyl acyltransferase protein	COG1560	1.9
RE1CH0002717	Ypch00954	probable glycosyltransferase protein	COG0463	1.7
RE1CH0002800	<i>lpxC</i>	UDP-3-O-(3-hydroxymyristoyl) N-acetylglucosamine deacetylase protein	COG0774	1.7
RE1CH0002804	<i>ddlB</i>	D-alanine-D-alanine ligase protein	COG1181	1.5
RE1CH0002807	<i>murC</i>	UDP-N-acetylmuramate--L-alanine ligase protein	COG0773	2.0
RE1CH0002808	<i>murG</i>	UDP-N-acetylglucosamine--N-acetylmuramyl-(pentapeptide) pyrophosphoryl-undecaprenol N-acetylglucosamine transferase protein	COG0707	1.5
RE1CH0002813	<i>murE</i>	UDP-N-acetylmuramoylalanyl-D-glutamate-2,6-diaminopimelate ligase protein	COG0769	1.6
RE1CH0002956	<i>lpcA</i>	galactosyltransferase protein	COG1442	2.4
RE1CH0003065	Ypch01085	probable glycosyltransferase protein	COG0438	2.4
RE1CH0003157	Ypch01120	probable glycosyltransferase protein	COG0463	2.0
RE1CH0003224	Ypch01139	putative membrane protein, transduces energy to outer membrane receptors	COG0810	1.9

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0003257	Ypch01154	putative protein secretion protein, HlyD family	COG0845	1.8
RE1CH0003341	Ypch01195	probable glycosyltransferase protein	COG0438	1.9
RE1CH0003408	Ypch01228	probable heat resistant agglutinin 1 protein	COG3637	1.5
RE1CH0003413	<i>Omp2</i>	outer membrane lipoprotein	COG2885	1.5
RE1CH0003421	<i>sqdD</i>	glycosyltransferase (sulfolipid biosynthesis) protein	COG5597	2.9
RE1CH0003884	ypch01406	putative phosphinothricin N-acetyltransferase (antibiotic resistance) protein	COG1247	1.5
RE1PB0000003	ypb00001	putative 0-antigen polymerase	COG3307	1.5
RE1PB0000153	ypb00099	putative N-acetyltransferase protein	COG1247	1.5
RE1PE0000037	<i>redB</i>	glycosyltransferase protein	COG0438	1.9
RE1PE0000292	ype00146	putative sugar isomerase protein	COG4952	1.5
RE1PF0000285	ypf00136	probable efflux transporter protein, HlyD family	COG0845	2.2
RE1PF0000471	ypf00241	probable outer membrane lipoprotein	COG2885	1.5

N: Motilidad celular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000198	<i>cpaD</i>	pilus assembly protein	COG5461	1.5
RE1CH0000640	<i>motA</i>	chemotaxis motility protein	COG1291	1.5
RE1CH0000641	<i>flgF</i>	flagellar basal-body rod protein	COG4786	2.5
RE1CH0000645	<i>flgC</i>	flagellar basal-body rod protein	COG1558	2.0
RE1CH0000649	<i>flgI</i>	flagellar basal-body P-ring protein	COG1706	1.5
RE1CH0000651	<i>flgH</i>	flagellar L-ring protein	COG2063	1.5
RE1CH0000665	<i>flgEch</i>	flagellar hook protein	COG1749	2.0
RE1CH0000667	<i>flgLch</i>	flagellar hook-associated protein	COG1344	1.5
RE1CH0002772	<i>flaCch5</i>	flagellin C protein	COG1344	2.4
RE1CH0003464	ypch01247	probable outer membrane protein (OmpA protein similar to flagellar motor protein MotB)	COG1360	2.0
RE1PE0000392	<i>flaCe</i>	flagellin C protein	COG1344	1.5

U: Tráfico intracelular, secreción y transporte vesicular.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0001370	<i>lepB</i>	signal serine peptidase protein	COG0681	1.5
RE1CH0001795	<i>tatB</i>	SEC-independent protein translocase protein	COG1826	1.5
RE1CH0001939	Ypch00640	probable transport secretion system IV, VirD4 protein	COG3505	2.0
RE1PA0000050	virB9a	transport secretion system IV, VirB9 protein	COG3504	1.6
RE1PA0000051	virB10a	transport secretion system IV, VirB10 protein	COG2948	1.5
RE1PA0000169	trbI	conjugal transfer protein I	COG2948	1.8
RE1PA0000172	trbF	conjugal transfer protein F	COG3701	1.6
RE1PA0000173	trbL	conjugal transfer protein L	COG3846	1.9
RE1PE0000149	yhe00050	hypothetical conserved protein	COG4965	2.0
RE1PE0000310	yhe00106	hypothetical conserved protein	COG4961	1.5
RE1PE0000313	ype00158	probable cpaF pilus assembly protein, ATPase CpaF	COG4962	1.5

RE1PF0000425	yhf00130	hypothetical conserved protein	COG4961	2.1
RE1SP0000145	virB3d	transport secretion system IV, VirB3 protein	COG3702	2.0
RE1SP0000151	virB9d	transport secretion system IV, VirB9 protein	COG3504	1.5
RE1SP0000152	virB10d	transport secretion system IV, VirB10 protein	COG2948	1.5

O: Modificaciones postraduccionales, Chaperonas y plegamiento de proteínas.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000235	yhch00056	hypothetical conserved protein	COG3526	1.6
RE1CH0000300	<i>gstch2</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	1.5
RE1CH0000356	<i>grpE</i>	molecular chaperone heat shock protein (hsp-70)	COG0576	2.0
RE1CH0000507	<i>hsp33</i>	33K chaperonin (heat shock protein 33) protein	COG1281	1.7
RE1CH0001056	<i>gstch5</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	1.6
RE1CH0001129	<i>gstch6</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	2.0
RE1CH0001137	<i>ypch00380</i>	probable glutathione S-transferase protein	COG0625	1.5
RE1CH0001156	<i>ypch00388</i>	probable organic hydroperoxide resistance (osmotically inducible) protein	COG1764	2.0
RE1CH0001252	<i>groESch3</i>	10 KDa chaperonin, heat shock protein	COG0234	1.5
RE1CH0001255	<i>ypch00433</i>	probable serine protease protein	COG0265	2.0
RE1CH0001271	<i>cycH</i>	cytochrome c-type biogenesis protein	COG4235	1.5
RE1CH0001274	<i>cycL</i>	cytochrome c-type biogenesis protein	COG3088	1.5
RE1CH0001363	<i>smpB</i>	ssrA-binding (tmRNA-binding) protein	COG0691	1.5
RE1CH0001463	<i>Gstch7</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	1.5
RE1CH0001799	<i>Pcm2</i>	protein-L-isoaspartate O-methyltransferase protein	COG2518	2.0
RE1CH0001838	<i>aat</i>	leucyl/phenylalanyl-tRNA-protein transferase protein	COG2360	1.6
RE1CH0002060	<i>ypch00693</i>	putative redox protein	COG1764	1.7
RE1CH0002136	<i>ppiD1</i>	peptidyl prolyl cis-trans isomerase D signal peptide protein	COG0760	1.9
RE1CH0002215	<i>SufB</i>	ABC transporter involved in Fe-S cluster assembly, permease protein	COG0719	1.5
RE1CH0002219	Yhch00667	hypothetical conserved protein	COG2377	1.5
RE1CH0002224	<i>bcp</i>	bacterioferritin comigratory protein	COG1225	2.1
RE1CH0002282	<i>gstch8</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	2.0
RE1CH0002372	<i>ypch00803</i>	probable glutathione-S-transferase protein	COG0625	1.8
RE1CH0002386	<i>gstch9</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	1.5
RE1CH0002935	<i>trxBch</i>	FAD-dependent thioredoxin reductase protein	COG0492	2.3
RE1CH0003086	<i>xdhC</i>	xanthine dehydrogenase protein	COG1975	2.0
RE1CH0003261	<i>ureE</i>	urease accessory protein	COG2371	1.7
RE1CH0003270	<i>ureD</i>	urease accessory protein	COG0829	1.5
RE1CH0003774	yhch01116	hypothetical conserved protein	COG0425	1.5
RE1CH0003888	<i>ccmA</i>	heme ABC transporter, ATP-binding protein (involved in cytochrome C biogenesis)	COG4133	1.5
RE1PB0000095	<i>yph00055</i>	probable glutathione S-transferase protein	COG0625	1.6
RE1PC0000052	<i>ypc00030</i>	probable thioredoxin reductase protein	COG0492	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1PC0000075	ypc00042	probable stomatin-like protein	COG0330	1.5
RE1PC0000090	<i>Gstc</i>	glutathione S-transferase protein	COG0625	1.7
RE1PE0000011	<i>msrAe</i>	peptide methionine sulfoxide reductase protein	COG0225	1.5
RE1PE0000131	ype00060	putative serine protease, trypsin protein	COG5640	1.8
RE1PF0000330	<i>groELf</i>	60 kDa chaperonin, heat shock protein	COG0459	1.5
RE1PF0000472	ypf00242	probable small heat shock protein	COG0071	1.5
RE1PF0000491	ypf00255	putative cytochrome c-type synthesis protein	COG1138	2.8
RE1PF0000496	<i>ccmF</i>	cytochrome c-type biogenesis protein	COG1138	1.5
RE1SP0000268	<i>nolO</i>	carbamoyltransferase protein	COG2192	1.9

Metabolismo.

C: producción y conversión de energía

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000416	<i>lldD1</i>	L-lactate dehydrogenase (cytochrome) protein	COG1304	2.0
RE1CH0000439	Ypch00164	probable oxidoreductase protein	COG0667	1.9
RE1CH0000484	ypch00183	probable L-fucose dehydrogenase protein	COG0667	1.7
RE1CH0000698	<i>aceA</i>	isocitrate lyase protein	COG2224	1.5
RE1CH0000793	<i>glcE</i>	glycolate oxidase subunit E protein	COG0277	1.8
RE1CH0000802	ypch00274	probable oxidoreductase protein	COG0667	1.5
RE1CH0000850	<i>atpF1</i>	ATP synthase subunit B' protein	COG0711	1.5
RE1CH0000851	<i>atpF2</i>	ATP synthase subunit B protein	COG0711	1.5
RE1CH0000937	<i>ctaD</i>	cytochrome C oxidase subunit I protein	COG0843	1.5
RE1CH0001196	<i>cycF</i>	cytochrome C-556 signal peptide protein	COG3909	1.7
RE1CH0001376	Ypch00481	putative oxidoreductase protein	COG0667	1.5
RE1CH0001422	Ypch00496	putative oxidoreductase protein	COG0667	1.5
RE1CH0001465	Ypch00515	probable anaerobic dehydrogenase protein	COG0243	1.9
RE1CH0001588	<i>nuoG1</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain G protein	COG1034	1.7
RE1CH0001590	<i>nuoI</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain I protein	COG1143	1.5
RE1CH0001816	ypch00611	probable oxidoreductase protein	COG1249	1.5
RE1CH0001900	<i>pdhB</i>	dihydrolipoamide acetyltransferase protein	COG0508	1.7
RE1CH0001903	<i>lpdAch1</i>	Dihydrolipoamide dehydrogenase protein, E3 component of pyruvate dehydrogenase complex	COG1249	2.0
RE1CH0002146	ypch00722	probable citrate synthase protein	COG0372	2.1
RE1CH0002189	<i>adhCch</i>	glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase + alcohol dehydrogenase class III protein	COG1062	1.5
RE1CH0002316	ypch00779	probable FAD-dependent oxidoreductase protein	COG0277	1.5
RE1CH0002330	ypch00788	probable nitroreductase protein	COG0778	1.5
RE1CH0002358	<i>glpKch1</i>	glycerol kinase protein	COG0554	1.5
RE1CH0002416	ypch00828	probable oxidoreductase protein	COG0667	2.3
RE1CH0002580	ypch00889	probable cytochrome c protein	COG3474	1.5
RE1CH0002703	yhch00829	hypothetical conserved protein	COG1035	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0002766	Ypch00971	probable oxidoreductase protein	COG0667	2.0
RE1CH0002845	Ypch01001	probable iron-containing alcohol dehydrogenase protein	COG1454	1.7
RE1CH0003615	Ypch01311	probable aldehyde dehydrogenase protein	COG1012	1.8
RE1CH0003690	<i>nuoD2</i>	NADH-ubiquinone oxidoreductase chain D protein	COG0649	1.5
RE1CH0003736	<i>etfBch</i>	electron transport flavoprotein, beta subunit	COG2086	1.5
RE1CH0003737	<i>etfAch</i>	electron-transport flavoprotein, alpha-subunit	COG2025	1.7
RE1CH0003814	<i>atpG</i>	F0F1-type ATP synthase gamma subunit protein	COG0224	1.5
RE1CH0003833	<i>sucC</i>	succinyl-CoA synthetase beta subunit protein	COG0045	1.8
RE1CH0003837	<i>sdhB</i>	succinate dehydrogenase subunit B, iron-sulfur protein	COG0479	2.0
RE1PA0000029	<i>ypa00009</i>	putative glycerol-3-phosphate dehydrogenase protein	COG0578	1.5
RE1PB0000026	<i>glpKb</i>	glycerol kinase protein	COG0554	2.4
RE1PB0000060	<i>ypb00032</i>	putative diheme cytochrome C-type signal-peptide protein	COG2010	1.7
RE1PB0000073	<i>ypb00041</i>	probable glycerol-3-phosphate dehydrogenase protein	COG0578	1.6
RE1PB0000074	<i>ypb00042</i>	probable aldoketo reductase protein	COG0667	1.5
RE1PB0000087	<i>ypb00049</i>	Probable acetamidase/formamidase protein	COG2421	2.0
RE1PC0000003	<i>ypc00001</i>	putative oxidoreductase protein	COG2141	1.5
RE1PC0000004	<i>ypc00002</i>	putative nitrilotriacetate monooxygenase protein component A	COG2141	3.0
RE1PC0000010	<i>ypc00008</i>	probable oxidoreductase protein	COG2141	1.7
RE1PC0000026	<i>dhaS</i>	aldehyde dehydrogenase protein	COG1012	1.5
RE1PC0000032	<i>gabDc</i>	succinate-semialdehyde dehydrogenase protein	COG1012	2.0
RE1PC0000128	<i>ypc00065</i>	probable acyl-CoA synthetase protein	COG1042	2.0
RE1PC0000204	<i>ypc00112</i>	probable oxidoreductase protein, aldo-keto aldolase family	COG0667	1.5
RE1PE0000027	<i>cyoD</i>	cytochrome C or ubiquinol oxidase subunit IV protein	COG3125	1.5
RE1PE0000171	<i>yhe00066</i>	hypothetical conserved protein	COG2010	3.0
RE1PE0000404	<i>ype00211</i>	probable oxidoreductase protein	COG0667	1.5
RE1PF0000195	<i>ypf00093</i>	putative oxidoreductase protein	COG2141	1.7
RE1PF0000201	<i>ypf00097</i>	probable succinate-semialdehyde dehydrogenase protein	COG1012	3.0
RE1PF0000359	<i>ypf00185</i>	probable aldehyde dehydrogenase protein	COG1012	1.5
RE1PF0000365	<i>ypf00189</i>	putative alcohol dehydrogenase protein	COG1454	1.5
RE1PF0000397	<i>dhaL</i>	aldehyde dehydrogenase protein	COG1012	1.8
RE1PF0000416	<i>ypf00223</i>	probable formate dehydrogenase alpha chain protein	COG0243	1.5
RE1PF0000428	<i>ypf00227</i>	putative malate dehydrogenase protein	COG2055	1.5
RE1PF0000504	<i>fixPf</i>	di-heme cytochrome C protein	COG2010	1.5
RE1PF0000506	<i>fixOf</i>	mono-heme cytochrome C protein	COG2993	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1PF0000510	<i>azuPf</i>	pseudoazurin blue-copper protein	COG3794	1.5
RE1PF0000534	<i>ypf00261</i>	probable aldehyde dehydrogenase protein	COG1012	1.5
RE1SP0000091	<i>gabDd</i>	succinate-semialdehyde dehydrogenase protein	COG1012	2.0
RE1SP0000107	<i>adhE</i>	Zn-dependent alcohol dehydrogenase protein	COG1062	1.5
RE1SP0000116	<i>ypd00029</i>	putative monooxygenase protein	COG2141	1.5
RE1SP0000191	<i>yhd00076</i>	hypothetical conserved protein	COG1038	1.8
RE1SP0000198	<i>nifN</i>	nitrogenase reductase iron-molibdenum cofactor synthesis protein	COG2710	1.7
RE1SP0000199	<i>nifE2</i>	nitrogenase reductase iron-molibdenum cofactor synthesis protein	COG2710	2.0
RE1SP0000200	<i>nifK2</i>	nitrogenase molybdenum-iron protein beta chain	COG2710	1.6
RE1SP0000226	<i>fixC</i>	electron transfer flavoprotein-quinone oxidoreductase protein	COG0644	1.5
RE1SP0000230	<i>fdxN</i>	ferredoxin protein	COG1145	1.5
RE1SP0000295	<i>fixOd</i>	cytochrome-c terminal oxidase(cbb3) subunit II protein	COG2993	1.5
RE1SP0000302	<i>fdxB</i>	electron transfer ferredoxin B protein	COG1145	1.5
RE1SP0000306	<i>nifK1</i>	nitrogenase component I, iron-molibdenum beta subunit protein	COG2710	1.8

G: Metabolismo y transporte de carbohidratos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000066	<i>ypch00022</i>	putative cellulase H precursor protein	COG4124	2.3
RE1CH0000078	<i>ypch00032</i>	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG0395	1.7
RE1CH0000128	<i>ypch00046</i>	probable sugar kinase protein	COG0524	1.5
RE1CH0000162	<i>gpmA</i>	Phosphoglycerate mutase protein	COG0588	1.5
RE1CH0000400	<i>rbsK</i>	ribose kinase protein	COG0524	2.0
RE1CH0000465	<i>Frk</i>	fructokinase protein	COG0524	2.0
RE1CH0000481	<i>ypch00180</i>	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	1.6
RE1CH0000483	<i>ypch00182</i>	Probable fucose operon protein	COG4154	1.5
RE1CH0000686	<i>aglK</i>	alpha-glucoside ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1CH0000726	<i>gntK</i>	Gluconokinase protein	COG3265	2.0
RE1CH0000837	<i>kdgA</i>	KHG/KDPG aldolase (2-dehydro-3-deoxyphosphogluconate aldolase) protein	COG0800	2.0
RE1CH0000987	<i>ppdK</i>	pyruvate phosphate dikinase protein	COG0574	1.5
RE1CH0001190	<i>yhch00355</i>	hypothetical conserved protein	COG1082	1.5
RE1CH0001192	<i>ypch00408</i>	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.5
RE1CH0001194	<i>ypch00410</i>	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	2.0
RE1CH0001204	<i>gcd</i>	glucose dehydrogenase (pyrroloquinoline-quinone) protein	COG4993	2.0
RE1CH0001324	<i>iolE</i>	myo-inositol catabolism protein	COG1082	1.6
RE1CH0001525	<i>celC</i>	endoglucanase (glycoside hydrolase) protein	COG3405	2.0

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0001760	<i>rbsBch2</i>	ribose ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	2.0
RE1CH0001761	<i>rbsAch2</i>	ribose ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	2.0
RE1CH0002020	ypch00671	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1CH0002032	ypch00676	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.7
RE1CH0002049	ypch00688	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.5
RE1CH0002050	ypch00689	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	1.5
RE1CH0002270	ypch00761	putative inositol monophosphatase protein	COG0483	1.5
RE1CH0002315	ypch00778	putative phosphoglycerate mutase protein	COG0406	1.6
RE1CH0002323	ypch00784	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.9
RE1CH0002362	<i>rbsBch3</i>	ribose ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	2.0
RE1CH0002420	ypch00830	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1CH0002423	ypch00833	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.5
RE1CH0002618	<i>lacZ1</i>	beta-D-galactosidase protein	COG1874	1.5
RE1CH0002622	ypch00907	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.5
RE1CH0002684	<i>afuC2</i>	iron(III) ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1CH0002701	ypch00950	putative phosphoglycerate mutase protein	COG0406	1.5
RE1CH0002712	<i>ugpAch1</i>	sn-glycerol-3-phosphate ABC transporter, permease protein	COG1175	1.5
RE1CH0002713	<i>ugpBch1</i>	sn-glycerol-3-phosphate ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.7
RE1CH0002823	<i>pfk</i>	pyrophosphate--fructose-6-phosphate 1-phosphotransferase protein	COG0205	1.7
RE1CH0002855	ypch01010	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.6
RE1CH0002857	ypch01012	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG0395	1.9
RE1CH0002863	yhch00862	hypothetical conserved protein	COG2942	1.7
RE1CH0002941	ypch01043	putative transcriptional regulator protein, Lacl family	COG1879	1.5
RE1CH0002942	ypch01044	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.5
RE1CH0002948	<i>dak</i>	dihydroxyacetone kinase protein	COG2376	1.5
RE1CH0002962	ypch01051	putative glucose dehydrogenase B protein	COG2133	1.5
RE1CH0003102	Ypch01098	putative chitooligosaccharide deacetylase protein	COG0726	2.0
RE1CH0003114	Ypch01105	probable transporter, permease protein	COG2814	1.5
RE1CH0003151	ypch01116	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.5
RE1CH0003202	<i>noeK</i>	phosphomannomutase protein (nodulation protein)	COG1109	1.5
RE1CH0003325	ypch01186	putative glycoxylate-induced	COG3622	1.8

ID	Nombre	Función	COG	Log
		hydroxypyruvate isomerase protein		
RE1CH0003395	ypch01222	probable phosphoketolase protein	COG3957	1.8
RE1CH0003452	fbaB	fructose-bisphosphate aldolase protein	COG3588	1.5
RE1CH0003466	suhBch	inositol-1-monophosphatase protein	COG0483	2.7
RE1CH0003494	pykA	pyruvate kinase II protein	COG0469	2.0
RE1CH0003525	ypch01267	probable monophosphatase protein	COG0483	1.5
RE1CH0003544	glgP	glycogen phosphorylase protein	COG0058	1.5
RE1CH0003545	glgBch	1,4-alpha-D-glucan 6-glucosyl-transferase protein	COG0296	1.5
RE1CH0003546	glgC	glucose-1-phosphate adenyltransferase (ADP-glucose synthase) protein	COG0448	1.5
RE1CH0003586	eda	KHG-KDPG aldolase protein includes: 4-hydroxy-2-oxoglutarate aldolase and 2-dehydro-3-deoxyphosphogluconate aldolase	COG0800	1.5
RE1CH0003627	ypch01317	probable sugar kinase protein	COG1070	2.0
RE1CH0003633	smoEch	sorbitol/mannitol ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.9
RE1CH0003637	hexA	glycosylhydrolase, similar to beta-N-acetylhexosaminidases protein	COG3525	1.5
RE1CH0003645	ypch01327	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	1.8
RE1PB0000021	yph00008	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	2.5
RE1PB0000078	yph00046	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.5
RE1PB0000111	suhBb	inositol-1-monophosphatase protein	COG0483	1.5
RE1PB0000147	yph00093	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1PB0000150	yph00096	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.5
RE1PC0000140	ypc00075	probable gluconolactonase protein	COG3386	1.5
RE1PC0000172	ypc00097	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	1.5
RE1PC0000201	ypc00110	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.7
RE1PC0000212	ypc00116	probable C4-dicarboxylate transport system, permease protein	COG1593	1.5
RE1PC0000219	smoEc	sorbitol/mannitol ABC transporter, substrate binding protein	COG1653	1.7
RE1PE0000100	ype00042	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1653	1.5
RE1PE0000180	ype00083	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	2.0
RE1PE0000245	ype00118	probable sugar ABC transporter, sugar-binding protein	COG1653	2.5
RE1PE0000248	ype00121	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	2.0
RE1PE0000284	ype00139	putative carbohydrate kinase protein	COG1070	1.5
RE1PE0000288	ype00142	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG1129	1.5
RE1PE0000289	ype00143	probable sugar ABC transporter, sugar-	COG1879	2.2

ID	Nombre	Función	COG	Log
		binding protein		
RE1PE0000356	ype00180	probable sugar ABC transporter, ATP binding protein	COG3839	2.2
RE1PE0000359	ype00183	probable sugar ABC transporter, sugar binding protein	COG1653	1.5
RE1PE0000370	ype00191	probable sugar uptake ABC transporter, solute-binding protein	COG1653	1.8
RE1PE0000371	ype00192	probable sugar uptake ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	2.0
RE1PE0000391	ype00204	probable glycosyl hydrolase protein	COG3525	1.9
RE1PE0000396	yhe00132	hypothetical conserved protein	COG3459	1.6
RE1PE0000400	ype00208	probable 4-deoxy-L-threo-5-hexulose-uronate ketol-isomerase protein	COG3717	1.6
RE1PE0000448	ype00226	putative sugar epimerase protein	COG4130	2.7
RE1PF0000030	ypf00010	probable dihydroxyacetone kinase protein, phosphatase domain	COG2376	1.5
RE1PF0000035	ypf00014	probable ribose ABC transporter, ATP binding protein	COG1129	1.5
RE1PF0000037	ypf00015	probable ribose ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	2.2
RE1PF0000040	<i>tpiAf</i>	triosephosphate isomerase protein	COG0149	1.5
RE1PF0000047	ypf00018	probable sucrose ABC transporter, solute-binding protein	COG1653	1.5
RE1PF0000070	ypf00027	probable C4-dicarboxylate ABC transporter, permease protein	COG1593	1.6
RE1PF0000090	ypf00041	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1PF0000092	ypf00043	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG1175	1.5
RE1PF0000096	ypf00046	probable sugar ABC transporter, solute-binding protein	COG1653	1.5
RE1PF0000209	<i>thuF</i>	trehalosemaltose ABC transporter, permease protein	COG1175	3.0
RE1PF0000237	ypf00116	probable calcium-binding protein, regucalcin	COG3386	1.5
RE1PF0000263	ypf00122	probable alpha-amylase (1,4-alpha-glucan branching enzyme) protein	COG0296	1.9
RE1PF0000277	ypf00132	putative alpha amylase protein	COG0366	1.6
RE1PF0000291	ypf00142	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG0395	16
RE1PF0000293	ypf00144	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	3.0
RE1PF0000297	ypf00146	probable sugar ABC transporter, sugar binding protein	COG1653	1.8
RE1PF0000303	ypf00149	putative sugar ABC transporter, sugar binding protein	COG1653	1.5
RE1PF0000317	ypf00161	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG0395	1.5
RE1PF0000321	ypf00164	putative sugar ABC transporter, sugar-binding protein	COG1653	2.2
RE1PF0000346	ypf00176	putative hydroxypyruvate isomerase protein	COG3622	1.5
RE1PF0000376	ypf00196	probable sugar ABC transporter, permease	COG0395	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
		protein		
RE1PF0000377	ypf00197	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1PF0000378	ypf00198	probable sugar ABC transporter, ATP-binding protein	COG3839	1.5
RE1PF0000382	ypf00202	putative epimerase protein	COG1082	1.5
RE1PF0000383	ypf00203	putative epimerase protein	COG1082	1.5
RE1PF0000481	ypf00248	probable sugar ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.6
RE1PF0000482	ypf00249	probable sugar ABC transporter, ATP binding protein	COG1129	1.5
RE1PF0000484	ypf00251	probable sugar ABC transporter, permease protein	COG1172	1.5
RE1PF0000566	ypf00279	putative sugar ABC transporter, permease protein	COG1175	1.5
RE1PF0000569	yhf00171	hypothetical conserved protein	COG1082	2.0
RE1SP0000087	<i>rbsBd</i>	ribose ABC transporter, substrate-binding protein	COG1879	1.5
RE1SP0000127	<i>pgmY</i>	phosphoglycerate mutase protein	COG0588	1.5
RE1SP0000282	<i>nodB</i>	chitooligosaccharide deacetylase protein	COG0726	1.8

E: Transporte y metabolismo de aminoácidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000043	<i>hisA</i>	phosphoribosylformino-5-aminoimidazole carboxamide ribotide isomerase protein	COG0106	1.5
RE1CH0000124	<i>pheA</i>	Prephenate dehydratase protein	COG0077	1.5
RE1CH0000163	<i>dapB1</i>	dihydrodipicolinate reductase protein	COG0289	1.5
RE1CH0000168	ypch00062	probable peptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG4166	2.0
RE1CH0000213	ypch00080	probable dipeptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	2.0
RE1CH0000216	ypch00082	probable aminotransferase protein	COG0160	1.7
RE1CH0000338	hutUch	urocanate hydratase protein	COG2987	1.5
RE1CH0000441	ypch00165	probable D-amino acid dehydrogenase protein	COG0665	1.5
RE1CH0000473	ypch00174	probable proline/glycine betaine ABC transporter, ATP-binding protein	COG1125	1.5
RE1CH0001312	ypch00453	probable glyoxalase protein	COG0346	1.5
RE1CH0001325	<i>iolD</i>	myo-inositol catabolism, acetolactate synthase protein	COG3962	2.0
RE1CH0001437	<i>pepA</i>	leucine aminopeptidase protein	COG0260	1.5
RE1CH0001444	ypch00506	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG0765	1.9
RE1CH0001547	<i>argC</i>	N-acetyl-gamma-glutamyl-phosphate reductase protein	COG0002	1.5
RE1CH0001732	<i>ilvA</i>	threonine dehydratase biosynthetic protein	COG1171	2.0
RE1CH0001748	<i>cysK2</i>	cysteine synthase o-acetylserine (thiol)-lyase protein	COG0031	1.6
RE1CH0001843	<i>aspB2</i>	aspartate transaminase protein	COG0436	1.7
RE1CH0001848	<i>thrA</i>	homoserine dehydrogenase protein	COG0460	1.5
RE1CH0001851	<i>gloA</i>	lactoylglutathione lyase methylglyoxalase	COG0346	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
		protein		
RE1CH0001862	<i>aapQ</i>	general L-amino acid ABC transporter, permease protein	COG4597	1.9
RE1CH0001901	<i>ypch00630</i>	probable arylesterase protein	COG2755	1.5
RE1CH0001991	<i>ypch00651</i>	probable threonine dehydratase protein	COG1171	1.6
RE1CH0002088	<i>afuC1</i>	iron(III) ABC transporter, ATP-binding protein	COG3842	1.5
RE1CH0002105	<i>occQch</i>	octopine ABC transporter, permease protein	COG4215	2.0
RE1CH0002110	<i>ggt1</i>	gamma-glutamyltranspeptidase protein	COG0405	1.9
RE1CH0002177	<i>sda</i>	L-serine dehydratase protein	COG1760	1.7
RE1CH0002211	<i>ypch00735</i>	putative pyridoxal-phosphate-dependent aminotransferase protein	COG0520	1.7
RE1CH0002231	<i>ypch00744</i>	putative amino acid ABC transporter, substrate-binding protein	COG0683	1.5
RE1CH0002251	<i>aroQ2</i>	3-dehydroquinate dehydratase protein	COG0757	1.9
RE1CH0002252	<i>ypch00749</i>	putative 5-carboxymethyl-2-hydroxymuconate delta isomerase protein	COG3232	1.5
RE1CH0002561	<i>ypch00884</i>	probable pyridoxal-dependent amino acid decarboxylase protein	COG0076	1.5
RE1CH0002585	<i>ypch00892</i>	probable lactoylglutathione lyase protein	COG0346	1.5
RE1CH0002755	<i>serB</i>	phosphoserine phosphatase protein	COG0560	1.5
RE1CH0002848	<i>ypch01003</i>	probable amino acid transporter protein	COG0531	1.6
RE1CH0002867	<i>ypch01019</i>	probable spermidine/putrescine ABC transporter, permease protein	COG1177	1.5
RE1CH0002869	<i>ypch01021</i>	probable spermidine/putrescine ABC transporter, substrate-binding protein	COG0687	2.0
RE1CH0003047	<i>proV</i>	proline/glycine betaine ABC transporter, ATP-binding protein	COG4175	1.5
RE1CH0003064	<i>glnI</i>	glutamine synthetase II protein	COG0174	1.5
RE1CH0003200	<i>ypch01128</i>	probable dioxygenase protein	COG0346	1.5
RE1CH0003271	<i>ypch01161</i>	probable urea or short-chain amide ABC transporter, ATP-binding protein	COG0410	1.5
RE1CH0003275	<i>ypch01164</i>	probable urea or short-chain amide ABC transporter, permease protein	COG0559	2.0
RE1CH0003280	<i>braC2</i>	amino acid ABC transporter, substrate-binding protein	COG0683	2.0
RE1CH0003368	<i>potD</i>	spermidine/putrescine ABC transporter, substrate-binding protein	COG0687	1.5
RE1CH0003371	<i>potA</i>	spermidine/putrescine ABC transporter, ATP-binding protein	COG3842	2.3
RE1CH0003488	<i>ggt2</i>	gamma-glutamyltranspeptidase protein	COG0405	1.5
RE1CH0003489	<i>ypch01256</i>	probable threonine dehydratase protein	COG1171	1.5
RE1CH0003713	<i>argJ</i>	glutamate N-acetyltransferase-ornithine protein	COG1364	1.7
RE1CH0003741	<i>lysA</i>	diaminopimelate decarboxylase protein	COG0019	1.5
RE1CH0003770	<i>aroK</i>	shikimate kinase protein	COG0703	1.5
RE1CH0003826	<i>ypch01388</i>	putative amino acid efflux protein, LysE family	COG1280	1.5
RE1CH0003917	<i>glnK</i>	nitrogen regulatory protein P-II	COG0347	1.7
RE1CH0003946	<i>ypch01422</i>	probable amino acid ABC transporter, ATP-binding protein	COG1126	1.5
RE1CH0003984	<i>kamA</i>	L-lysine 2,3-aminomutase protein	COG1509	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0004009	<i>proB</i>	glutamate 5-kinase protein	COG0263	2.0
RE1PB0000126	<i>ypb00078</i>	probable oligopeptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	1.5
RE1PB0000131	<i>ypb00083</i>	probable aspartate aminotransferase protein	COG0075	2.0
RE1PC0000030	<i>ypc00017</i>	probable polyamine ABC transporter, permease protein	COG1177	1.5
RE1PC0000130	<i>ypc00067</i>	probable peptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	1.5
RE1PC0000181	<i>ypc00100</i>	probable amino acid ABC transporter, ATP-binding protein	COG1126	1.5
RE1PC0000186	<i>aatAc</i>	aspartate aminotransferase protein	COG0436	1.5
RE1PC0000188	<i>yhc00048</i>	hypothetical conserved protein	COG1984	1.5
RE1PC0000202	<i>ypc00111</i>	putative oxidoreductase protein	COG2303	1.5
RE1PE0000041	<i>ype00021</i>	probable oligopeptide ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	2.5
RE1PE0000070	<i>hutUe</i>	urocanate hydratase protein	COG2987	2.5
RE1PE0000072	<i>hutHe1</i>	histidine ammonia-lyase protein	COG2986	2.0
RE1PE0000090	<i>agpA</i>	alpha-galactoside ABC transporter, substrate-binding protein	COG0747	1.5
RE1PE0000221	<i>yhe00080</i>	hypothetical conserved protein	COG0520	1.5
RE1PE0000229	<i>ype00112</i>	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG0765	1.5
RE1PE0000340	<i>ype00170</i>	probable peptide ABC transporter, peptide binding protein	COG0747	1.5
RE1PE0000351	<i>ansB</i>	L-aspartase (aspartate ammonia-lyase) protein	COG1027	1.5
RE1PE0000415	<i>ype00217</i>	probable aminomethyltransferase protein	COG0404	1.5
RE1PE0000421	<i>glxB</i>	glutamate amidotransferase domain 1 protein	COG0067	1.5
RE1PE0000424	<i>soxBe</i>	sarcosine oxidase beta subunit protein	COG0665	1.5
RE1PF0000165	<i>ypf00076</i>	probable amino acid ABC transporter, permease protein	COG0765	1.5
RE1PF0000181	<i>ocdf</i>	ornithine cyclodeaminase protein	COG2423	2.0
RE1PF0000254	<i>glnP/glnQ</i>	glutamine ABC transporter, ATP-binding protein	COG1126	2.0
RE1PF0000351	<i>ypf00180</i>	probable oligopeptide ABC transporter, substrate binding protein	COG0747	1.5
RE1PF0000356	<i>ypf00184</i>	putative D-amino acid oxidase protein	COG0665	1.5
RE1PF0000361	<i>ypf00187</i>	probable deaminase protein	COG0665	1.5
RE1PF0000369	<i>ypf00192</i>	probable proline dipeptidase protein, M24 family	COG0006	1.5
RE1PF0000392	<i>ypf00209</i>	probable glycine betaine/L-proline ABC transporter, permease protein	COG4176	1.5
RE1PF0000394	<i>ypf00211</i>	probable glycine betaine/L-proline ABC transporter, ATP-binding protein	COG4175	1.5
RE1PF0000395	<i>ypf00212</i>	probable glycine betaine/L-proline ABC transporter, substrate binding protein	COG2113	2.0
RE1PF0000396	<i>ypf00213</i>	putative oxidoreductase protein	COG0665	1.5
RE1PF0000409	<i>ypf00218</i>	putative pyrroline-5-carboxylate reductase protein	COG0345	1.5
RE1PF0000461	<i>vbsL</i>	methionine gamma lyase protein	COG0626	1.5
RE1PF0000488	<i>yhf00142</i>	hypothetical conserved protein	COG1280	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1SP0000179	<i>nocM</i>	nopaline ABC transporter, permease protein	COG4160	2.0
RE1SP0000222	<i>nifSd</i>	pyridoxal-phosphate-dependent aminotransferase nitrogen fixation protein	COG1104	1.8

F: Transporte y metabolismo de nucleotidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000185	<i>deoC</i>	2-deoxyribose-5-phosphate aldolase protein	COG0274	1.8
RE1CH0000189	<i>add</i>	adenosine deaminase protein	COG1816	1.5
RE1CH0000289	<i>pfs</i>	mta/sah nucleosidase (P46) bifunctional protein includes: 5'-methylthioadenosine nucleosidase and S-adenosylhomocysteine nucleosidase	COG0775	1.5
RE1CH0000321	<i>dut</i>	deoxyuridine 5'triphosphate nucleotidohydrolase protein	COG0756	1.5
RE1CH0000459	<i>pyrC</i>	dihydroorotase protein	COG0418	1.5
RE1CH0000464	<i>pyrE</i>	orotate phosphoribosyltransferase protein	COG0461	1.5
RE1CH0000513	<i>dcd</i>	2'-deoxycytidine 5'-triphosphate deaminase protein	COG0717	1.5
RE1CH0001409	<i>purF</i>	glutamine phosphoribosylpyrophosphate amidotransferase protein	COG0034	1.8
RE1CH0001429	<i>gmk2</i>	guanylate kinase (GMP kinase) protein	COG0194	1.5
RE1CH0001619	<i>pyrB</i>	aspartate carbamoyltransferase protein	COG0540	1.5
RE1CH0001669	<i>adk</i>	adenylate kinase (ATP-AMP transphosphorylase) protein	COG0563	1.5
RE1CH0001727	<i>gpt</i>	xanthine-guanine phosphoribosyltransferase protein	COG0503	1.5
RE1CH0002147	<i>pyrG</i>	CTP synthase protein	COG0504	1.5
RE1CH0003038	<i>fhs</i>	formate-tetrahydrofolate ligase protein	COG2759	1.5
RE1CH0003084	<i>xdhA</i>	xanthine dehydrogenase protein	COG4630	1.5
RE1CH0003507	ypch01261	probable 5'-nucleotidase protein	COG0737	1.5
RE1CH0003666	<i>nrdF</i>	ribonucleoside-diphosphate reductase, beta subunit protein	COG0208	1.5
RE1CH0003852	<i>guaA2</i>	GMP synthase - glutamine amidotransferase protein	COG0518	1.5
RE1CH0004048	<i>purH</i>	bifunctional purine biosynthesis protein includes: phosphoribosylaminoimidazolecarboxamide formyltransferase and IMP cyclohydrolase	COG0138	1.5
RE1PE0000417	<i>purUe</i>	formyltetrahydrofolate deformylase protein	COG0788	2.0

H: Transporte y metabolismo de coenzimas.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000004	<i>coaE</i>	dephospho-CoA kinase protein	COG0237	1.8
RE1CH0000040	<i>coaA</i>	pantothenate kinase protein	COG1072	1.5
RE1CH0000174	<i>pncB</i>	nicotinate phosphoribosyltransferase protein	COG1488	1.7
RE1CH0000351	<i>hemNch</i>	oxygen-independent coproporphyrinogen III oxidase protein	COG0635	1.8
RE1CH0000361	<i>metK</i>	S-adenosylmethionine synthetase protein	COG0192	1.8

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000540	ypch00201	putative pyrimidine reductase protein (dihydrofolate reductase family)	COG0262	1.8
RE1CH0000787	<i>Gsh</i>	glutamate-cysteine ligase protein	COG3572	1.5
RE1CH0001529	ypch00535	probable 3-demethylubiquinone-9 3-methyltransferase protein	COG2227	2.0
RE1CH0001906	<i>lipA</i>	lipoic acid synthetase protein	COG0320	1.5
RE1CH0002109	ypch00710	probable aminotransferase protein	COG0161	2.2
RE1CH0002297	<i>folB</i>	dihydroneopterin aldolase protein	COG1539	2.9
RE1CH0002368	<i>mobA</i>	molybdopterin-guanine dinucleotide biosynthesis protein	COG0746	2.0
RE1CH0002406	<i>cobV</i>	cobalamin (5'-phosphate) synthase protein	COG0368	1.5
RE1CH0002443	<i>coba</i>	cobalamin biosynthesis protein	COG1270	2.0
RE1CH0002456	<i>cobB</i>	cobyrinic acid synthase protein	COG1492	1.5
RE1CH0002650	<i>ribH2</i>	riboflavin synthase, beta chain protein	COG0054	1.5
RE1CH0002730	<i>pdxJ</i>	pyridoxal phosphate biosynthetic protein, PNP (pyridoxine 5'-phosphate) synthase protein	COG0854	1.5
RE1CH0003006	<i>heme</i>	coproporphyrinogen III oxidase, aerobic protein	COG0408	1.6
RE1CH0003050	ypch01082	probable omega-amino acid--pyruvate aminotransferase protein	COG0161	1.9
RE1CH0003168	ypch01124	putative methyltransferase protein	COG2227	2.1
RE1CH0003508	<i>hemH</i>	ferrochelataze (protoheme ferro-lyase) protein	COG0276	1.9
RE1CH0003663	<i>exsC</i>	6-pyruvoyl tetrahydropterin synthase protein	COG0720	1.9
RE1CH0003764	<i>cobT</i>	cobalamin biosynthesis protein	COG4547	1.7
RE1PB0000080	<i>thiG</i>	thiazole biosynthesis protein	COG2022	1.7
RE1PC0000179	<i>menG</i>	S-adenosylmethionine: 2-demethylmenaquinone methyltransferase protein	COG0684	2.4
RE1PE0000095	Ype00037	putative dimethylmenaquinone methyltransferase protein	COG0684	1.5
RE1PE0000335	<i>thiD</i>	phosphomethylpyrimidine kinase protein	COG0351	1.5
RE1PE0000336	<i>thiEe</i>	thiamine-phosphate pyrophosphorylase protein	COG0352	2.0
RE1PE0000337	<i>thiM</i>	hydroxyethylthiazole kinase protein	COG2145	1.5
RE1PE0000416	<i>folDe</i>	function="1.2.14"	COG0190	1.9
RE1PE0000439	<i>nadC</i>	nicotinate-mononucleotide pyrophosphorylase protein	COG0157	1.5
RE1PE0000440	<i>nadB</i>	L-aspartate oxidase protein	COG0029	1.5
RE1PE0000452	<i>cobJ</i>	precorrin-3B C17-methyltransferase protein	COG1010	1.7
RE1PF0000202	Ypf00098	probable aminotransferase protein, class III	COG0161	1.6
RE1PF0000349	Ypf00178	probable aminotransferase protein	COG0161	1.5
RE1SP0000262	<i>hemNd2</i>	coproporphyrinogen III oxidase protein	COG0635	1.5

I: Transporte y metabolismo de lípidos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000023	<i>accD</i>	acetyl-CoA carboxylase carboxil transferase beta subunit protein	COG0777	1.5
RE1CH0000100	<i>fabA</i>	3-hydroxydecanoyl-(acyl-carrier-protein) dehydratase protein	COG0764	1.7
RE1CH0000102	<i>fabI1</i>	enoyl-(acyl-carrier-protein) NADH reductase protein	COG0623	1.7
RE1CH0000307	ypch00118	probable phospholipid N-methyltransferase protein	COG3963	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000347	<i>fadB1</i>	enoyl-CoA hydratase protein	COG1024	1.5
RE1CH0000545	<i>acd1</i>	acyl-CoA dehydrogenase protein	COG1960	2.0
RE1CH0000803	yhch00197	hypothetical conserved protein	COG1502	1.5
RE1CH0000857	<i>ispE</i>	4-diphosphocytidyl-2-C-methyl-D-erythritol kinase protein	COG1947	1.5
RE1CH0000890	Ypch00296	probable enoyl-CoA hydratase/isomerase protein	COG1024	1.5
RE1CH0001369	<i>acpS</i>	holo-[acyl-carrier] synthase (Holo-ACP synthase) protein	COG0736	1.7
RE1CH0001620	<i>aidB</i>	acyl-CoA dehydrogenase protein	COG1960	1.5
RE1CH0001805	<i>crtB</i>	phytoene synthase protein	COG1562	1.5
RE1CH0002188	<i>pccA</i>	propionyl-CoA carboxylase alpha chain protein	COG4770	2.0
RE1CH0002700	ypch00949	probable myo-inositol-1-phosphate synthase protein	COG1260	1.5
RE1CH0002827	yhch00858	hypothetical conserved protein	COG5379	1.5
RE1CH0002836	ypch00997	putative lysophospholipase protein	COG2267	1.5
RE1CH0003066	ypch01086	putative lipase protein	COG0657	2.3
RE1CH0003960	<i>phbAch</i>	acetyl-CoA acetyltransferase (beta-ketothiolase) protein	COG0183	1.5
RE1CH0003986	<i>acd2</i>	acyl-CoA dehydrogenase protein	COG1960	1.5
RE1CH0004035	ypch01446	putative phosphatase protein	COG0671	1.5
RE1PB0000100	ypb00058	putative acyltransferase protein	COG0204	1.7
RE1PC0000191	<i>accCc</i>	acetyl-CoA carboxylase biotin carboxylase protein	COG0439	2.8
RE1PE0000233	<i>cIS</i>	cardiolipin synthetase transmembrane protein	COG1502	2.0
RE1PE0000272	<i>gcdH</i>	glutaryl-CoA dehydrogenase protein	COG1960	1.5
RE1PE0000446	<i>moco</i>	hydrocarbon oxygenase protein	COG3239	1.5
RE1PF0000492	yhf00144	hypothetical conserved protein	COG3000	2.0

P: Metabolismo y transporte de iones inorgánicos.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000099	<i>irr</i>	iron transcriptional regulator protein	COG0735	1.5
RE1CH0000147	<i>gmk1</i>	guanylate kinase (GMP kinase) protein	COG3709	1.5
RE1CH0000152	ypch00055	probable phosphonate ABC transporter, substrate-binding protein	COG3221	1.5
RE1CH0000157	<i>phnJ</i>	C-P (carbon-phosphorus) lyase component protein	COG3627	1.5
RE1CH0000369	<i>fur</i>	ferric uptake regulation protein	COG0735	1.5
RE1CH0000500	<i>pstA</i>	phosphate ABC transporter, permease protein	COG0581	1.5
RE1CH0000502	<i>phoU</i>	phosphate uptake transcriptional regulator protein	COG0704	1.5
RE1CH0000575	<i>nhaA</i>	Na ⁺ /H ⁺ antiporter protein	COG3004	1.5
RE1CH0000953	ypch00318	probable zinc ABC transporter, ATP binding protein	COG1121	1.5
RE1CH0000954	ypch00319	probable zinc ABC transporter, permease protein	COG1108	1.5
RE1CH0001467	<i>phnM2</i>	phosphonate metabolism protein	COG3454	1.5
RE1CH0002009	ypch00662	probable nitrate/sulfonate/bicarbonate ABC transporter, ATP-binding protein	COG1116	2.0
RE1CH0002090	<i>afuA1</i>	iron(III) ABC transporter, substrate-binding protein	COG1840	1.7
RE1CH0002181	ypch00730	probable magnesium transport protein	COG2239	2.8
RE1CH0002482	ypch00852	putative copper-containing oxidase protein	COG4454	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0002673	<i>znuC</i>	zinc uptake ABC transporter, ATP-binding protein	COG1121	2.3
RE1CH0002686	<i>afuA3</i>	iron(III) ABC transporter, substrate-binding protein	COG1840	1.5
RE1CH0002953	<i>chaA</i>	LPS-associated cation exporter (Ca ²⁺ /H ⁺ antiporter) protein	COG0387	1.5
RE1CH0003228	<i>hmuT</i>	hemin transport system, hemin-binding protein	COG4558	1.5
RE1CH0003253	ypch01150	probable nitrate/sulfonate ABC transporter, ATP-binding protein	COG1116	1.5
RE1CH0003381	ypch01215	probable Di- and tricarboxylate transporter protein	COG0471	1.5
RE1CH0003808	ypch01381	putative nitrate/sulfonate/bicarbonate ABC transporter, ATP-binding protein	COG1116	1.5
RE1CH0004012	<i>modA</i>	molybdenum ABC transporter, substrate-binding protein	COG0725	1.5
RE1CH0004013	<i>modB</i>	molybdenum ABC transporter, permease protein	COG4149	1.5
RE1PC0000017	<i>tauC</i>	probable taurine uptake ABC transporter, permease protein	COG0600	1.5
RE1PE0000256	<i>ype00125</i>	probable sulfate uptake ABC transporter, ATP-binding protein	COG1118	2.0
RE1PE0000455	<i>cobG</i>	sulfite reductase, beta subunit (hemoprotein) protein	COG0155	1.5
RE1PF0000281	<i>corA</i>	probable magnesium/cobalt transporter protein	COG0598	1.5
RE1PF0000307	ypf00153	probable amino acid ABC transporter, substrate binding protein	COG0715	1.5
RE1PF0000452	<i>nrtA</i>	nitrate ABC transporter, substrate binding protein	COG0715	1.5
RE1PF0000454	<i>nrtCf</i>	nitrate ABC transporter, ATP-binding protein	COG1116	1.7
RE1SP0000202	<i>nifH3</i>	nitrogenase reductase component II, iron protein	COG1348	1.5

Q: Transporte, catabolismo y metabolismo de metabolitos secundarios.

ID	Nombre	Función	COG	Log
RE1CH0000709	<i>rzcA</i>	rhizobiocin/RTX toxin and hemolysin-type calcium binding protein	COG2931	1.5
RE1CH0001857	ypch00623	putative RTX toxin hemolysin-type calcium-binding protein	COG2931	1.5
RE1CH0002287	yhch00686	hypothetical conserved protein	COG2313	1.5
RE1CH0002309	ypch00772	putative ABC transporter protein	COG1463	1.5
RE1CH0002310	ypch00773	probable ABC transporter, ATP-binding protein	COG1127	1.5
RE1CH0002311	ypch00774	probable ABC transporter, permease protein	COG0767	2.0
RE1CH0002481	ypch00851	putative copper-containing oxidase protein	COG2132	1.9
RE1CH0002566	ypch00886	probable ring-cleaving dioxygenase protein	COG3485	1.7
RE1CH0003505	<i>hss</i>	homospermidine synthase protein	COG5310	1.5
RE1PE0000056	<i>pcaG</i>	protocatechuate 3,4-dioxygenase alpha	COG3485	1.5

ID	Nombre	Función	COG	Log
		chain protein		
RE1PE0000112	ype00050	putative isochorismatase protein	COG1335	1.5
RE1PE0000167	ype00075	probable Arylamine N-acetyltransferase protein	COG2162	1.7
RE1PE0000352	ype00176	putative taurine dioxygenase protein	COG2175	3.0
RE1PE0000366	ype00187	probable dienolactone hydrolase protein	COG0412	1.5
RE1PF0000183	ypf00082	putative arylmalonate decarboxylase protein	COG3473	1.5
RE1PF0000456	<i>vbsO</i>	vicibactin biosynthesis hydroxylase protein	COG3486	1.5
RE1PF0000525	<i>nirK</i>	copper-containing nitrite reductase precursor protein	COG2132	2.0
RE1PF0000544	ypf00266	probable isochorismatase protein	COG1335	1.5
RE1SP0000035	ypd00010	probable copper-binding oxidase protein	COG2132	1.5
RE1SP0000249	<i>cpxP4</i>	cytochrome P450 protein	COG2124	1.5

9 BIBLIOGRAFÍA.

- 1.- Adams, J. L., and R. J. C. McLean. 1999. Impact of *rpoS* deletion on *Escherichia coli* biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 4258-4287.
- 2.- Alfano JR, Kahn ML. 1993. Isolation and characterization of a gene coding for a novel aspartate aminotransferase from *Rhizobium meliloti*. *J Bacteriol.* 175:4186-96.
- 3.- Augustin DK, Song Y, Baek MS, Sawa Y, Singh G, Taylor B, Rubio-Mills A, Flanagan JL, Wiener-Kronish JP, Lynch SV. 2007. Presence or absence of lipopolysaccharide O antigens affects type III secretion by *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol.* 2007 189:2203-9.
- 4.- Austin, J. W., G. Sanders, W. W. Kay, and S. K. Collinson. 1998. Thin aggregative fimbriae enhance *Salmonella enteritidis* biofilm formation. *FEMS Microbiol. Lett.* 162: 295-301.
- 5.- Balzer, G. L., and R. J. C. McLean. 2002. The stringent response genes *relA* and *spoT* are important for *Escherichia coli* biofilms under slow-growth conditions. *Can. J. Microbiol.* 48: 675-680.
- 6.- Banin, E., M. L. Vasil, and P. Greenberg. 2005. Iron and *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102: 11076-11081.
- 7.- Banning, N., S. Toze, and B. J. Mee. 2003. Persistence of biofilm-associated *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* in groundwater and treated effluent in a laboratory model system. *Microbiol.* 149: 47-55.
- 8.- Barrios, A. F. G., R. Zuo, D. Ren, and T. K. Word. 2005. Hha, YbaJ, and OmpA regulate *Escherichia coli* K-12 biofilm formation and conjugation plasmids abolish motility. *Biotechnol. Bioeng.*
- 9.- Bassler, B. L. 1999. How bacteria talk to each other: regulation of gene expression by quorum sensing. *Curr. Opin. Microbiol.* 2: 582-587.
- 10.- Beenken, K. E., P. M. Dunman, F. McAleese, D. Macapagal, E. Murphy, S. J. Projan, J. S. Blevins, and M. S. Smeltzer. 2004. Global gene expression in *Staphylococcus aureus* biofilms. *J. Bacteriol.* 186: 4665-4684.
- 11.- Beloin, C., J. Valle, P. Latour-Lambert, P. Faure, M. Kzreminski, D. Balestrino, J. A. J. Haagensen, S. Molin, G. Prensier, B. Arbeille, and J.-M. Ghigo. 2004. Global impact of mature biofilm lifestyle on *Escherichia coli* K-12 gene expression. *Mol. Microbiol.* 51: 659-674.

- 12.- Beloin, C., K. Michaelis, K. Linder, P. Landini, J. Hacker, J.-M. Ghigo, and U. Dobrindt. 2006. The transcriptional antiterminator RfaH represses biofilm formation in *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 188: 1316-1331.
- 13.- Benning C. 1998. Biosynthesis and function of the sulfolipid sulfoquinovosyl diacylglycerol. *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol.* 49:53-75.
- 14.- Bishop, R. E. 2000. The bacterial lipocalins. *Bioch. Bioph. Ac.* 1482: 73-83.
- 15.- Biswas, S. K., and W. L. Chaffin. 2005. Anaerobic growth of *Candida albicans* does not support biofilm formation under similar conditions used for aerobic biofilm. *Cur. Microbiol.* 51: 100-104.
- 16.- Boles, B. R., M. Thoendel, and P. K. Singh. 2005. Rhamnolipids mediate detachment of *Pseudomonas aeruginosa* from biofilms. *Mol. Microbiol.* 57: 1210-1223.
- 17.- Bomchil, N., P. Watnick, and R. Kolter. 2003. Identification and characterization of a *Vibrio cholerae* gene, *mbaA*, involved in maintenance of biofilm architecture. *J. Bacteriol.* 185: 1384-1390.
- 18.- Boncompagni E, Dupont L, Mignot T, Osteräs M, Lambert A, Poggi MC, Le Rudulier D. 2000. Characterization of a *Snorhizobium meliloti* ATP-binding cassette histidine transporter also involved in betaine and proline uptake. *J Bacteriol.* 182:3717-25.
- 19.- Borriello, G., E. Werner, F. Roe, A. M. Kim, G. D. Ehrlich, and P. S. Stewart. 2004. Oxygen limitation contributes to antibiotic tolerance of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. 48: 2659-2664.
- 20.- Boyd, A., and A. M. Chakrabarty. 1994. Role of alginate lyase in cell detachment of *Pseudomonas aeruginosa*. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 2355-2359.
- 21.- Braeken K, Daniels R, Vos K, Fauvart M, Bachaspatimayum D, Vanderleyden J, Michiels J. 2007. Genetic Determinants of Swarming in *Rhizobium etli*. *Microb Ecol.* Enviado a impression.
- 22.- Branda, S. S., A. Vik, L. Friedman, and R. Kolter. 2005. Biofilms: the matrix revisited. *TRENDS in Microbiology.* 13: 20-26.
- 23.- Brown, T. A., Jr. S. –J. Ahn, R. N. Frank, Y.-Y. M. Chen, J. A. Lemos, and R. A. Burne. 2005. A hypothetical protein of *Streptococcus mutans* is critical for biofilm formation. *Infect. Immun.* 73: 3147-3151.
- 24.- Carlén, A., S. G. Rüdiger, I. Loggner, and J. Olsson. 2003. Bacteria-binding plasma proteins in pellicles formed on hydroxyapatite *in vitro* and on teeth *in vivo*. *Oral Microbiol. Inmu.* 18: 203-207.

- 25.- Cheng HP, Walker GC. 1998. Succinoglycan production by *Rhizobium meliloti* is regulated through the ExoS-ChvI two-component regulatory system. *J Bacteriol.* 180:20-6.
- 26.- Chmielewski RAN y Frank J.F. 2003. Biofilm formation and control in food processing facilities. *Comp. Rev. Food Sci. Food Saf.* 2:22-32
- 27.- Collet A, Vilain S, Cosette P, Junter GA, Jouenne T, Phillips RS, Di Martino P. 2007. Protein expression in *Escherichia coli* S17-1 biofilms: impact of indole. *Antonie Van Leeuwenhoek.* 91:71-85. Epub 2006 Oct 5.
- 28.- Corona-Izquierdo, F. P. and J. Membrillo-Hernández. 2002a. A mutation in *rpoS* enhances biofilm formation in *Escherichia coli* during exponential phase of growth. *FEMS Microbiol. Lett.* 211: 105-110.
- 29.- Costerton J. W., Gessey G.G., Cheng K-J. 1978. How bacteria stick. *Sci. Am* 238:86-95.
- 30.- Costerton, J. W., P. S. Stewart, and E. P. Greenberg. 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. 284: 1318-1322.
- 31.- Czekzulín, J. R., S. Balepur, S. Hicks, A. Phillips, R. Hall, M. H. Kothary, F. Navarro- Garcia, and J. P. Nataro. 1997. Aggregative adherence fimbria II, a second fimbrial antigen mediating aggregative adherence in enteroaggregative *Escherichia coli*. *Infect. Immun.* 65: 4135-4145.
- 32.- Danese, P. N., L. A. Pratt, and R. Kolter. 2000b. Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture. *J. Bacteriol.* 182: 3593-3596.
- 33.- Danese, P. N., L. A. Pratt, S. L. Dove, and R. Kolter. 2000a. The outer membrane protein, Antigen 43, mediates cell-to-cell interactions within *Escherichia coli* biofilms. *Mol. Microbiol.* 37: 424-432.
- 34.- Danhorn T, Hentzer M, Givskov M, Parsek MR, Fuqua C. 2004. Phosphorus limitation enhances biofilm formation of the plant pathogen *Agrobacterium tumefaciens* through the PhoR-PhoB regulatory system. 186:4492-501.
- 35.- Davies, D. G., M. R. Parsek, J. P. Pearson, B. H. Iglewski, J. W. Costerton, and E. P. Greenberg. 1998. The involvement of cell-to-cell signals in the development of bacterial biofilm. *Science.* 280: 295-298.
- 36.- De los Ríos, A., J. Wierchos, L. G. Sancho and C. Ascaso. 2003. Acid microenvironments in microbial biofilms of antarctic endolithic microecosystems. *Environmental Microbiology.* 5: 231–237.

- 37.- Di Martino, P., A. Merieau, R. Phillips, N. Orange, and C. Hulen. 2002. Isolation of an *Escherichia coli* strain mutant unable to form biofilm on polystyrene and to adhere to human pneumocyte cells: involvement of tryptophanase. *Can. J. Microbiol.* 48: 132-137.
- 38.- Doggett, M. S. 2000. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. *Appl. Environ. Microbiol.* 66: 1249-1251.
- 39.- Donlan M. Rodney. 2002. Biofilms: Microbial life on surfaces. *Emerg Infect Dis.* 8:881-90.
- 40.- Elkins, J. G., D. J. Hassett, P. S. Stewart, H. P. Schewizer, and T. R. McDermott. 1999. Protective role of catalase in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm resistance to hydrogen peroxide. 65: 4594-4600.
- 41.- Esteves, C. L. C., B. D. Jones, and S. Clegg. 2005. Biofilm formation by *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium and *Escherichia coli* on epithelial cells following mixed inoculations. *Infect. Immun.* 73: 5198-5203.
- 42.- Federle, M. J., and B. L. Bassler. 2003. Interspecies communication in bacteria. *J. Clin. Inves.* 112: 1291-1299.
- 43.- Filoche, S. K., S. A. Anderson, and C. H. Sissons. 2004. Biofilms growth of *Lactobacillus* species is promoted by *Actinomyces* species and *Streptococcus mutans*. *Oral Microbiol. Immun.* 19: 322-326.
- 44.- Friedman, L., and R. Kolter. 2004. Genes involved in matrix formation in *Pseudomonas aeruginosa* PA14 biofilms. *Mol. Microbiol.* 51: 675-690.
- 45.- Froeliger, E. H., and P. Fives-Taylor. 2001. *Streptococcus parasanguis* fimbria-associated adhesin Fap1 is required for biofilm formation. *Infect. Immun.* 69: 2512-2519.
- 46.- Fuhrer T, Fischer E, Sauer U. 2005. Experimental identification and quantification of glucose metabolism in seven bacterial species. *J Bacteriol.* 187:1581-90.
- 47.- Fujishige NA, Kapadia NN, De Hoff PL, Hirsch AM. 2006. Investigations of *Rhizobium* biofilm formation. *FEMS Microbiol Ecol.* 56:195-206.
- 48.- Fux, C. A., J. W. Costerton, P. S. Stewart, and P. Stoodley. 2005. Survival strategies of infectious biofilms. *TRENDS in Microbiol.* 13: 34-40.
- 49.- Galibert F, Finan TM, Long SR, Puhler A, Abola P, Ampe F, Barloy-Hubler F, Barnett MJ, Becker A, Boistard P, Bothe G, Boutry M, Bowser L, Buhrmester J, Cadieu E, Capela D, Chain P, Cowie A, Davis RW, Dreano S, Federspiel NA, Fisher RF, Gloux S, Godrie T, Goffeau A, Golding B, Gouzy J, Gurjal M, Hernandez-Lucas I, Hong A, Huizar L, Hyman RW, Jones T, Kahn D, Kahn ML, Kalman S, Keating DH, Kiss E, Komp C, Lelaure V, Masuy D, Palm C, Peck MC, Pohl TM, Portetelle D, Purnelle B,

- Ramsperger U, Surzycki R, Thebault P, Vandebol M, Vorholter FJ, Weidner S, Wells DH, Wong K, Yeh KC, Batut J. The composite genome of the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*. 2001. *Science*. Jul 27;293(5530):668-72.
- 50.- Galvão TC, de Lorenzo V, Cánovas D. 2006. Uncoupling of choline-O-sulphate utilization from osmoprotection in *Pseudomonas putida*. *Mol Microbiol*. 62:1643-54.
- 51.- García, B., C. Latasa, C. Solano, F. García-del Portillo, C. Gamazo, and I. Lasa. 2004. Role of the GGDEF protein family in *Salmonella* cellulose biosynthesis and biofilm formation. *Mol. Microbiol*. 54: 264-277.
- 52.- Genevoux, P., P. Bauda, M. S. DuBow, and B. Oudega, B. 1999a. Identification of Tn10 insertions in the *dsbA* gene affecting *Escherichia coli* biofilm formation. *FEMS Microbiol. Lett*. 173: 403-409.
- 53.- Genevoux, P., P. Bauda, M. S. DuBow, and B. Oudega. 1999b. Identification of Tn10 insertions in the *rfaG*, *rfaP*, and *galU* genes involved in lipopolysaccharide core biosynthesis that affect *Escherichia coli* adhesion. *Arch. Microbiol*. 172: 1-8.
- 54.- Ghigo, J.-M. 2001. Natural conjugative plasmids induce bacterial biofilm development. *Nature*. 412: 442-445.
- 55.- Goller C, Wang X, Itoh Y, Romeo T. 2006. The cation-responsive protein NhaR of *Escherichia coli* activates *pgaABCD* transcription, required for production of the biofilm adhesin poly-beta-1,6-N-acetyl-D-glucosamine. 188:8022-32.
- 56.- Hall-Stoodley, L., and P. Stoodley. 2005. Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. *TRENDS in Microbiol*. 13: 7-10.
- 57.- Hassani R, Prasad CK, Vineetha KE, Vij N, Singh P, Sud R, Yadav S, Randhawa GS. 2002. Symbiotic characterization of isoleucine+valine and leucine auxotrophs of *Sinorhizobium meliloti*. *Indian J Exp Biol*. 40:1110-20.
- 58.- Heinz EB, Phillips DA, Streit WR. 1999. BioS, a biotin-induced, stationary-phase, and possible LysR-type regulator in *Sinorhizobium meliloti*. *Mol Plant Microbe Interact*. 12:803-12.
- 59.- Hentzer, M., G. M. Teitzel, G. J. Balzer, A. Heydorn, S. Molin, M. Givskov, and M. R. Parsek. 2001. Alginate overproduction affects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm structure and function. *J. Bacteriol*. 183: 5395-5401.
- 60.- Hentzer, M., K. Riedel, T. B. Rasmussen, A. Heydorn, J. B. Andersen, M. R. Parsek, S. A. Rice, L. Eberl, S. Molin, N. Hoiby, S. Kjelleberg, and M. Givskov. 2002. Inhibition of quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria by a halogenated furanone compound. *Microbiol*. 148: 87-102.

- 61.- Hickman, J. W., D. F. Tifrea, and C. S. Harwood. 2005. A chemosensory system that regulates biofilm formation through modulation of cyclic diguanylate levels. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102:14422-14427.
- 62.- Hinsa, S. M., M. Espinosa-Urgel, J. L. Ramos, and G. A. O'Toole. 2003. Transition from reversible to irreversible attachment during biofilm formation by *Pseudomonas fluorescens* WCS365 requires an ABC transporter and a large secreted protein. *Mol. Microbiol.* 49: 905-918.
- 63.- Hoffman, L. R., D. A. D'Argenio, M. J. MacCoss, Z. Zhang, R. A. Jones, and S. I. Miller. 2005. Aminoglycoside antibiotics induce bacterial biofilm formation. *Nature.* 436: 1171-1175.
- 64.- Hofmann K, Heinz EB, Charles TC, Hoppert M, Liebl W, Streit WR. 2000. *Sinorhizobium meliloti* strain 1021 bioS and bdhA gene transcriptions are both affected by biotin available in defined medium. *FEMS Microbiol Lett.* 182:41-4.
- 65.- Hope, C. K., D. Clements, and M. Wilson. 2002. Determining the spatial distribution of viable and nonviable bacteria in hydrated microcosm dental plaques by viability profiling. *J. Appl. Microbiol.* 93: 448–455.
- 66.- Irie, Y., G. A. O'Toole, and M. H. Yuk. 2005. *Pseudomonas aeruginosa* rhamnolipids disperse *Bordetella bronchiseptica* biofilms. *FEMS Microbiol. Lett.*
- 67.- Jackson, D. W., J. W. Simecka, and T. Romeo. 2002. Catabolite repression of *Escherichia coli* biofilm formation. *J. Bacteriol.* 184: 3406-3410.
- 68.- Jefferson, K. K. 2004. What drives bacteria to produce a biofilm? *FEMS Microbiol. Lett.* 236: 163-173.
- 69.- Joseleau-Petit D, Liébart JC, Ayala JA, D'Ari R. 2007. Unstable *Escherichia coli* L-forms revisited: growth requires peptidoglycan synthesis. *J Bacteriol.* Enviado a publicación.
- 70.- Kaplan, J. B., C. Rangunath, N. Ramasubbu, and D. H. Fine. 2003a. Detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* biofilm cell by an endogenous β -hexosaminidase activity. *J. Bacteriol.* 185: 4693-4698.
- 71.- Kaplan, J. B., K. Velliyagounder, C, Rangunath, H. Rohde, D. Mack, J. K.-M. Knobloch, and N. Ramasubbu. 2004. Genes involved in the synthesis and degradation of matrix polysaccharide in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* y *Actinobacillus pleuropneumoniae* biofilms. *J. Bacteriol.* 186: 8213-8220.
- 72.- Kaplan, J. B., M. F. Meyenhofer, and D. H. Fine. 2003b. Biofilm growth and detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Bacteriol.* 185: 1399-1404.

- 73.- Karaolis, D. K. R., M. H. Rashid, R. Chythanya, W. Luo, M. Hyodo, and Y. Hayakawa. 2005. c-di-GMP (3' -5' -cyclic diguanylic acid) inhibits *Staphylococcus aureus* cell-cell interactions and biofilm formation. 2005. *Ant. Agen. Chem.* 49:1029-1038.
- 74.- Kearns, D. B., F. Chu, S. S. Branda, R. Kolter, and R. Losick. 2005. A master regulator for biofilm formation by *Bacillus subtilis*. *Mol. Microbiol.* 55: 739-749.
- 75.- Kievit, T. R., R. Gillis, S. Marx, C. Brown, and B. H. Iglewski. 2001. Quorum-sensing genes in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: their role and expression patterns. 67: 1865-1873.
- 76.- Kjelleberg, S., and S. Molin. 2002. Is there a role for quorum sensing signals in bacterial biofilms? *Curr. Op. Microbiol.* 5: 254-258.
- 77.- Kolenbrander, P. E. 2000. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu. Rev. Microbiol.* 54: 413-437.
- 78.- Kolenbrander, P. E., R. N. Andersen, D. S. Blehert, P. G. Egland, J. S. Foster, and R. J. Palmer Jr. 2002. Communication among oral bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66: 486–505.
- 79.- Kolenbrander, P. E., R. N. Andersen, D. S. Blehert, P. G. Egland, J. S. Foster, and R. J. Palmer Jr. 2002. Communication among oral bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 66:486-505.
- 80.- Koutsoudis, M. D., D. Tsaltas, T. D. Minogue, and S. B. von Bodman. 2006. Quorum-sensing regulation governs bacterial adhesion, biofilm development, and host colonization in *Pantoea stewartii* subspecies *stewartii*. *PNAS.* 103: 5983-5988.
- 81.- Kozitskaya S, Cho SH, Dietrich K, Marre R, Naber K, Ziebuhr W. 2004. The bacterial insertion sequence element IS256 occurs preferentially in nosocomial *Staphylococcus epidermidis* isolates: association with biofilm formation and resistance to aminoglycosides. *Infect Immun.* 72:1210-5.
- 82.- Labbate, M. 2004. Quorum sensing-controlled biofilm development in *Serratia liquefaciens* MG1. *J. Bacteriol.* 186: 692-698.
- 83.- Lawrence, J. R., M. R. Chenier, R. Roy, D. Beaumier, N. Fortin, G. D. W. Swerhone, T. R. Neu, and C. W. Greer. 2004. Microscale and molecular assessment of impacts of nickel, nutrients, and oxygen level on structure and function of river biofilm communities. *Appl. Environ. Microbiol.* 70: 4326–4339.
- 84.- Lazazzera BA. 2005. Lessons from DNA microarray analysis: the gene expression profile of biofilms. *Curr Opin Microbiol.* 8:222-7.

- 85.- Lee, S. F., Y. H. Li, and G. H. Bowden. 1996. Detachment of *Streptococcus mutans* biofilm cell by an endogenous enzymatic activity. *Infect. Immun.* 64: 1035-1038.
- 86.- Li YH, Chen YY, Burne RA. 2000. Regulation of urease gene expression by *Streptococcus salivarius* growing in biofilms. *Environ Microbiol.* 2:169-177.
- 87.- Lim, Y. L., M. Jana, T. T. Luong, and C. Y. Lee. 2004. Control of glucose- and NaCl-induced biofilm formation by *rbf* in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.* 186: 722-729.
- 88.- Lynch SV, Dixon L, Benoit MR, Brodie EL, Keyhan M, Hu P, Ackerley DF, Andersen GL, Matin A. 2007. Role of the *rapA* Gene in Controlling Antibiotic Resistance of *Escherichia coli* Biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* (enviado a publicación).
- 89.- Macedo, A. J., U. Kuhlicke, T. R. Neu, K. N. Timmis, and W-R. Abraham. 2005. Three stages of a biofilm community developing at the liquid-liquid interface between polychlorinated biphenyls and water. *Appl. Environ. Microbiol.* 71: 7301–7309.
- 90.- Majdalani N, Gottesman S. 2005. The Rcs phosphorelay: a complex signal transduction system. *Annu Rev Microbiol.* 59:379-405.
- 91.- Mangalappalli-Illathu AK, Korber DR. 2006. Adaptive resistance and differential protein expression of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis biofilms exposed to benzalkonium chloride. *Antimicrob Agents Chemother.* 50:3588-96.
- 92.- Margolin W, Long SR. 1994. *Rhizobium meliloti* contains a novel second homolog of the cell division gene *ftsZ*. *J Bacteriol.* 176:2033-43.
- 93.- McLaughlin RA, Hoogewerf AJ. 2006. Interleukin-1beta-induced growth enhancement of *Staphylococcus aureus* occurs in biofilm but not planktonic cultures. *Microb Pathog.* 41:67-79.
- 94.- Meddows TR, Savory AP, Grove JI, Moore T, Lloyd RG. 2005. RecN protein and transcription factor DksA combine to promote faithful recombinational repair of DNA double-strand breaks. *Mol Microbiol.* 57:97-110.
- 95.- Méndez-Ortiz, M.M., M. Hyodo, Y. Hayakawa, and J. Membrillo-Hernández. 2006. Genome-wide transcriptional profile of *Escherichia coli* in response to high levels of the second Messenger 3',5'-cyclic diguanylic acid. *J. Biol. Chem.* 281: 8090-8099.
- 96.- Mey, A. R., S. A. Craig, and S. M. Payne. 2005. Characterization of *Vibrio cholerae* RyhB: the RyhB regulon and role of *ryhB* in biofilm formation. *Infect. Immun.* 73: 5706-5719.

- 97.- Mey, A. R., S. A. Craig, and S. M. Payne. 2005. Characterization of *Vibrio cholerae* RyhB: the RyhB regulon and role of *ryhB* in biofilm formation. *Infect. Immun.* 73: 5706-5719.
- 98.- Mishra, M., G. Parise, K. D. Jackson, D. J. Wozniak, and R. Deora. 2005. The BvgAS signal transduction system regulates biofilm development in *Bordetella*. *J. Bacteriol.* 187: 1474-1484.
- 99.- Monds RD, Newell PD, Gross RH, O'Toole GA.2007. Phosphate-dependent modulation of c-di-GMP levels regulates *Pseudomonas fluorescens* Pf0-1 biofilm formation by controlling secretion of the adhesin LapA. *Mol Microbiol.* 63:656-679.
- 100.- Monds RD, Silby MW, Mahanty HK. 2001. Expression of the Pho regulon negatively regulates biofilm formation by *Pseudomonas aureofaciens* PA147-2. *Mol Microbiol.* 42:415-26.
- 101.- Moorthy S, Watnick PI. 2005. Identification of novel stage-specific genetic requirements through whole genome transcription profiling of *Vibrio cholerae* biofilm development. *Mol Microbiol.* 57:1623-35.
- 102.- Morris, C. E., J-M. Monier, and M.-A. Jacques. 1997. Methods for observing microbial biofilms directly on leaf surfaces and recovering them for isolation of culturable microorganisms. *Appl. Environ. Microbiol.* 63: 1570–1576.
- 103.- O'Toole, G. A., and R. Kolter. 1998. Flagellar and twitching motility are necessary for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. *Mol. Microbiol.* 30: 295-304.
- 104.- Oosthuizen, M. C., B. Steyn, J. Theron, P. Cosette, D. Lindsay, A. Von Holy, and V. S. Brozel. 2002. Proteomic analysis reveals differential protein expression by *Bacillus cereus* during biofilm formation. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 2770-2780.
- 105.- O'Toole, G. A., H. B. Kaplan, and R. Kolter. 2000. Biofilm formation as microbial development. *Annu. Rev. Microbiol.* 54: 49-79.
- 106.- Otto, K., and T. J. Silhavy. 2002. Surface sensing and adhesion of *Escherichia coli* controlled by the Cpx-signaling pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 99: 2287-2292.
- 107.- Parsek, M. R. and C. Fuqua. 2004. Biofilms 2003: Emerging themes and challenges in studies of surface-associated microbial life. *J. Bacteriol.* 186:4427
- 108.- Parsek, M. R., and E. P. Greenberg. 2005. Sociomicrobiology: the connections between quorum sensing and biofilms. *TRENDS in Microbiol.* 13: 27-32.
- 109.- Peacock, A. D., Y.-J. Chang, J. D. Istok, L. Krumholz, R. Geyer, B. Kinsall, D. Watson, K. L. Sublette, and D. C. White. 2004. Utilization of microbial biofilms as monitors of bioremediation. *Microbial Ecol.* 47: 284-292.

- 110.- Petersen, F. C., L. Tao, and A. A. Scheie. 2005. DNA binding-uptake system: a link between cell-to-cell communication and biofilm formation. *J. Bacteriol.* 187: 4392-4400.
- 111.- Peyton BM, Characklis WG. 1995. Microbial biofilms and biofilm reactors. *Bioprocess Technol.* 20:187-231.
- 112.- Popowska M. 2004. Analysis of the peptidoglycan hydrolases of *Listeria monocytogenes*: multiple enzymes with multiple functions. *Pol J Microbiol.* 53 Suppl:29-34.
- 113.- Pratt, L. A., and R. Kolter. 1998. Genetic analysis of *Escherichia coli* biofilms formation: Roles of flagella, motility, chemotaxis and type I pili. *Mol. Microbiol.* 30: 285-293.
- 114.- Prigent-Combaret, C., E. Brombacher, O. Vidal, A. Ambert, P. Lejeune, P. Landini, and C. Dorel. 2001. Complex regulatory network controls initial adhesion and biofilm formation in *Escherichia coli* via regulation of the *csgD* gene. *J. Bacteriol* 183: 7213-7223.
- 115.- Prigent-Combaret, C., G. Prensier, T. T. L. Thi, O. Vidal, P. Lejeune, and C. Dorel. 2000. Developmental pathway for biofilm formation in curli-producing *Escherichia coli* strains: Roles of flagella, curli and colonic acid. *Environ. Microbiol.* 2: 450-464.
- 116.- Rachid, S., K. Ohlsen, U. Wallner, J. Hacker, M. Hecker, and W. Ziebuhr. 2000. Alternative transcription factor σ^B is involved in regulation of biofilm expression in a *Staphylococcus aureus* mucosal isolate. *J. Bacteriol.*
- 117.- Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. 2002. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. 49:973-80.
- 118.- Ramírez Jorge, Chávez Lorena, Santillan José y Simón Guzman. 2003. Microarreglos de DNA. Mensaje bioquímico, Vol XXVII.
- 119.- Reisner, A. 2003. Development and maturation of *Escherichia coli* K-12 biofilms. *Mol. Microbiol.* 48: 933-946.
- 120.- Ren D, Zuo R, González Barrios AF, Bedzyk LA, Eldridge GR, Pasmore ME, Wood TK. 2005. Differential gene expression for investigation of *Escherichia coli* biofilm inhibition by plant extract ursolic acid. *Appl Environ Microbiol.* 2005 71:4022-34.
- 121.- Rickard, A. H., S. A. Leach, L. S. Hall, C. M. Buswell, N. J. High, and P. S. Handley. 2002. Phylogenetic relationships and coaggregation ability of freshwater biofilm bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 3644–3650.

- 122.- Riedel, K., M. Hentzer, O. Geisenberger, B. Huber, A. Steidle, H. Wu, N. Hoiby, M. Givskov, S. Molin, and L. Eberl. 2001. *N*-acylhomoserine-lactone-mediated communication between *Pseudomonas aeruginosa* and *Burkholderia cepacia* in mixed biofilms. *Microbiol.* 147: 3249-3262.
- 123.- Rivas M, Seeger M, Jedlicki E, Holmes DS. 2007. Second acyl homoserine lactone production system in the extreme acidophile *Acidithiobacillus ferrooxidans*. *Appl Environ Microbiol.* 73:3225-31.
- 124.- Römling, U., and D. Amikam. 2006. Cyclic di-GMP as a second messenger. *Cur. Op. Microbiol.* 9: 218-228.
- 125.- Römling, U., M. Gomelsky, and M. Y. Galperin. 2005. C-di-GMP: the dawning of a novel bacterial signaling system. *Mol. Microbiol.* 57: 629-639.
- 126.- Russo DM, Williams A, Edwards A, Posadas DM, Finnie C, Dankert M, Downie JA, Zorreguieta A. 2006. Proteins exported via the PrsD-PrsE type I secretion system and the acidic exopolysaccharide are involved in biofilm formation by *Rhizobium leguminosarum*. *J Bacteriol.* 188:4474-86.
- 127.- Saia FT, Damianovic MH, Cattony EB, Brucha G, Foresti E, Vazoller RF. 2007. Anaerobic biodegradation of pentachlorophenol in a fixed-film reactor inoculated with polluted sediment from Santos-São Vicente Estuary, Brazil. *Appl Microbiol Biotechnol.* 75:665-72.
- 128.- Saint, S, and C. E. Chenoweth. 2003. Biofilms and catheter-associated urinary tract infections. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 17: 411–432.
- 129.- Sauer, K., A. K. Camper, G. D. Ehrlich, J. W. Costerton, and D. G. Davies. 2002. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm. *J. Bacteriol.* 184: 1140-1154.
- 130.- Sauer, K., M. C. Cullen, A. H. Rickard, L. A. H. Zeef, D. G. Davies, and P. Gilbert. 2004. Characterization of nutrient-induced dispersion in *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 biofilm. *J. Bacteriol.* 186: 7312-7326.
- 131.- Schaber JA, Triffo WJ, Suh SJ, Oliver JW, Hastert MC, Griswold JA, Auer M, Hamood AN, Rumbaugh KP. 2007. *Pseudomonas aeruginosa* Forms Biofilms in Acute Infection Independent of Cell-to-Cell Signaling. *Infect Immun.* Enviado para publicación.
- 132.- Schembri, M. A., K. Kjaergaard and P. Klemm. 2003. Global gene expression in *Escherichia coli* biofilms. *Mol. Microbiol.* 48: 253-267.

- 133.- Seib KL, Wu HJ, Srikhanta YN, Edwards JL, Falsetta ML, Hamilton AJ, Maguire TL, Grimmond SM, Apicella MA, McEwan AG, Jennings MP. 2007. Characterization of the OxyR regulon of *Neisseria gonorrhoeae*. *Mol Microbiol.* 63:54-68.
- 134.- Selinger, D. W., K. J. Cheung, R. Mei, E. M. Johansson, C. S. Richmond, F. R. Blattner, D. J. Lockhart, and G. M. Church. 2000. RNA expression analysis using a 30 base pair resolution *Escherichia coli* genome array. *Nat. Biotechnol.* 18: 1262-1268.
- 135.- Sheikh, J., S. Hicks, M. Dall'Agnol, A. D. Phillips, and J. P. Nataro. 2001. Roles for Fis and Yafk in biofilm formation by enteroaggregative *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.* 41: 983-997.
- 136.- Simionato MR, Tucker CM, Kuboniwa M, Lamont G, Demuth DR, Tribble GD, Lamont RJ. 2006. *Porphyromonas gingivalis* genes involved in community development with *Streptococcus gordonii*. *Infect Immun.* 2006 74:6419-28.
- 137.- Simm, R., M. Morr, A. Kader, M. Nimtz, and U. Römling. 2004. GGDEF and EAL domains inversely regulate cyclic di-GMP levels and transition from sessility to motility. *Mol. Microbiol.* 53: 1123-1134.
- 138.- Singh, P. K., A. L. Schaefer, M. R. Parsek, T. O. Moninger, M. J. Welsh, and E. P. Greenberg. 2000. Quorum-sensing signals indicate that cystic fibrosis lung are infected with bacterial biofilms. *Nature.* 407: 762-764.
- 139.- Singh, R., D. Paul, and R. K. Jain. 2006. Biofilms: implications in bioremediation. *TRENDS in Microbiol.*
- 140.- Spiers, A. J., and P. B. Rainey. 2005. The *Pseudomonas fluorescens* SBW25 wrinkly spreader biofilm requires attachment factor, cellulose fibre and LPS interactions to maintain strength and integrity. *Microbiol.* 151: 2829-2839.
- 141.- Spoering, A. L., and M. S. Gilmore. 2006. Quorum sensing and DNA release in bacterial biofilms. *Curr. Op. Microbiol.* 9: 133-137.
- 142.- Stoodley, P., D. DeBeer, and H. M. Lappin-Scott. 1997. Influence of electric fields and pH on biofilm structure as related to the bioelectric effect. *Anti. Agen. Chem.* 41: 1876-1879.
- 143.- Stoodley, P., S. Wilson, L. Hall-Stoodley, J. D. Boyle, H. M. Lappin-Scott, and J. W. Costerton. 2001. Growth and Detachment of cell clusters from mature mixed-species biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.* 67: 5608-5613.
- 144.- Sturgill, G., C. M. Toutain, J. Komperda, G. A. O'Toole, and P. N. Rather. 2004. Role of CysE in production of an extracellular signaling molecule in *Providencia stuartii*

- and *Escherichia coli*: loss of *cysE* enhances biofilm formation in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 186: 7610-7617.
- 145.- Sung BH, Lee CH, Yu BJ, Lee JH, Lee JY, Kim MS, Blattner FR, Kim SC. 2006. Development of a biofilm production-deficient *Escherichia coli* strain as a host for biotechnological applications. 72:3336-42.
- 146.- Sutherland, I. W. 2001. The biofilm matrix – an immobilized but dynamic microbial environment. Trends Microbiol. 9: 222-227.
- 147.- Sutherland, I. W., K. A. Hughes, L. C. Skillman, K. Tait. 2004. The interaction of phage and biofilms. FEMS Microbiol. Lett. 232: 1-6.
- 148.- Tellez-Sosa J, Soberon N, Vega-Segura A, Torres-Marquez ME, Cevallos MA. 2002. J Bacteriol. The *Rhizobium etli* *cyaC* product: characterization of a novel adenylate cyclase class. 184:3560-8.
- 149.- Thormann, K. M., S. Duttler, R. M. Saville, M. Hyodo, S. Shukla, Y. Hayakawa, and A. M. Spormann. 2006. Control of formation and cellular detachment from *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms by cyclic di-GMP. J. Bacteriol. 188: 2681-2691.
- 150.- Tormo, M. A., M. Martí, J. Valle, A. C. Manna, A. L. Cheung, I. Lasa, and J. R. Penadés. 2005. SarA is an essential positive regulator of *Staphylococcus epidermidis* biofilm development. J. Bacteriol. 187: 2348-2356.
- 151.- Tremoulet, F., O. Duche, A. Namane, B. Martinie, and J. C Labadie. 2002. A proteomic study of *Escherichia coli* O157:H7 NCTC 12900 cultivated in biofilm or in planktonic growth mode. FEMS Microbiol. Lett. 215: 7-14.
- 152.- Valle, J., A. Toledo-Arana, C. Berasain, J. –M. Ghigo, B. Amorena, J. R. Penadés, and I. Lasa. 2003. SarA and not σ^B is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. Mol. Microbiol. 48: 1075-1087.
- 153.- Van Houdt R, Givskov M, Michiels CW .Quorum sensing in *Serratia*. 2007. FEMS Microbiol Rev. 31:407-24.
- 154.- Van Houdt, R., and C. W. Michiels. 2005. Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation. Research in Microbiol. 156: 626-633.
- 155.- Ventura-Lima J, Sandrini JZ, Cravo MF, Piedras FR, Moraes TB, Fattorini D, Notti A, Regoli F, Geracitano LA, Marins LF, Monserrat JM. 2007. Toxicological responses in *Laeonereis acuta* (annelida, polychaeta) after arsenic exposure. 33:559-64.
- 156.- Vieira, H. L. A., P. Freire, and C. M. Arraiano. 2004. Effect of *Escherichia coli* morphogene *bolA* on biofilms. Appl. Environ. Microbiol. 70: 5682-5684.

- 157.- Vries S. Hoge H. & Bisseling (1998). Isolation of total and polysomal ARN from plants tissues. Plant Molecular Biology Manual. B6:1-13.
- 158.- Wang C, Saldanha M, Sheng X, Shelswell KJ, Walsh KT, Sobral BW, Charles TC. 2007. Roles of poly-3-hydroxybutyrate (PHB) and glycogen in symbiosis of *Sinorhizobium meliloti* with *Medicago* sp. 153:388-98.
- 159.- Wang, X 2004. The *pgaABCD* locus of *Escherichia coli* promotes the synthesis of a polysaccharide adhesion required for biofilm formation. J. Bacteriol. 186: 2724-2734.
- 160.- Watnick, P. I., C. M. Lauriano, K. E. Klose, L. Croal, and R. Kolter. 2001. The absence of a flagellum leads to altered colony morphology, biofilm development and virulence in *Vibrio cholerae* O139. Mol Microbiol. 39: 223-235.
- 161.- Webb, J. S., L. S. Thompson, S. James, T. Charlton, T. Tolker-Nielsen, B. Koch, M. Givskov, and S. Kjelleberg. 2003. Cell death in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development. J. Bacteriol. 185: 4585-4592.
- 162.- White, A. P., D. L. Gibson, S. K. Collinson, P. A. Banser, and W. W. Kay. 2003. Extracellular polysaccharides associated with thin aggregative fimbriae of *Salmonella enterica* serovar *enteritidis*. J. Bacteriol. 185: 5398-5407.
- 163.- Whiteley, M., M. G. Banger, R. E. Bumgarner, M. R. Parsek, G. M. Teitzel, S. Lory, and E. P. Greenberg. 2001. Gene expression in *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. Nature. 413: 860-864.
- 164.- Willis L.B., Walker G.C. 1999. A novel *Sinorhizobium meliloti* operon encodes an alpha-glucosidase and a periplasmic-binding-protein-dependent transport system for alpha-glucosides. J Bacteriol. 181:4176-84.
- 165.- Willis LB, Walker GC. 1999. A novel *Sinorhizobium meliloti* operon encodes an alpha-glucosidase and a periplasmic-binding-protein-dependent transport system for alpha-glucosides. J Bacteriol. 1999 181:4176-84.
- 166.- Wimpenny, J. 2000. Heterogeneity in biofilms. FEMS Microbiol. Rev. 24: 661-667.
- 167.- Wolfe, A. J., D.-E. Chang, J. D. Walter, J. E. Seitz-Partridge, M. D. Vidaurri, C. F. Lange, B. M. Prüb, M. C. Henk, J. C. Larkin, and T. Conway. 2003. Evidence that acetyl phosphate functions as a global signal during biofilm development. Mol. Microbiol. 48: 977-988.