



## LAS GLUCOSA CINASAS DE *Streptomyces peucetius* var. *caesius*.

Beatriz Ruiz, Romina Rodríguez y Sergio Sánchez.

Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. A.P. 70228, C.P. 04510 D.F., fax 5622-9212, email sersan@servidor.unam.mx.

*Glucosa cinasa, Streptomyces, represión catabólica.*

**Introducción.** La glucosa cinasa (Glc) es la enzima que cataliza la fosforilación de la glucosa, para que ésta pueda ingresar a la glucólisis. Se ha reportado que esta enzima es clave en el mecanismo de represión catabólica por fuente de carbono (RCC), en el género *Streptomyces* (1). A pesar de ello, no se sabe cuántas Glcs se producen o si existe una expresión diferencial de ellas dada por la fuente de carbono, por la etapa del crecimiento, o por algún otro factor.

Es así que en este trabajo se planteó como objetivo estudiar el patrón de expresión de Glc de *Streptomyces peucetius* var. *caesius*.

**Metodología.** *S. peucetius* var. *caesius* se creció en medio mínimo NDYE (2) con 100 mM de glucosa, manosa o glutamato. Se separaron las células del medio y a éste se le determinó pH y carbohidratos residuales. Las células se rompieron por sonicación y al extracto obtenido, se le determinó concentración de proteína (por el método de Bradford) y actividad de glucosa cinasa, por espectrofotómetro y zimograma (3).

**Resultados y discusión.** *S. peucetius* var. *caesius*, mostró crecimiento logarítmico desde las 0 hasta las 12 h de incubación, momento en el que se alcanza la fase estacionaria e inicia la producción de metabolitos secundarios, en este caso las antraciclinas (datos no mostrados). Como era de esperarse, la producción de Glc es mayor en presencia de glucosa que con glutamato o manosa (fig.1). La actividad se incrementa hasta alcanzar un máximo a las 12 h. Para verificar si dicha actividad era dada por una o más enzimas se realizaron zimogramas en geles nativos.

En glucosa se observó una banda de actividad a los 124 kDa, que al ser secuenciada presentó dos Glcs. La primera era una ATP-Glc, ya reportada (3), y la otra era aparentemente una Glc dependiente de polifosfato. Con el fin de confirmar la presencia de ambas Glcs, se realizaron ensayos de actividad usando ATP o polifosfato como sustratos de fosforilación. Ambas actividades se encontraron en los extractos crudos de *S. peucetius* var. *caesius*, pero con máximos de producción a diferentes tiempos. La presencia de dos actividades de Glc, modificaría el modelo de represión aceptado hasta ahora

para *Streptomyces*, en el cual la ATP-Glc tiene un papel central. Faltaría demostrar cuál es el papel que juega cada una de estas Glcs en el metabolismo de glucosa, y si alguna de ellas o ambas tienen un papel en el mecanismo de RCC de este estreptomiceto.

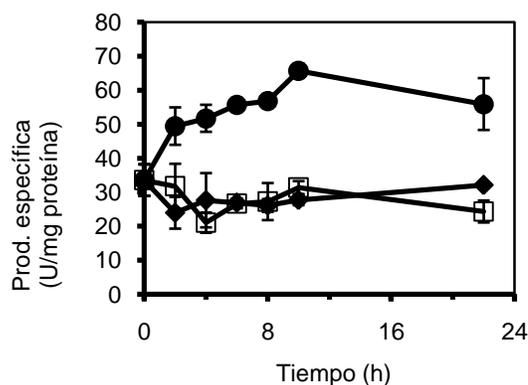


Fig. 1. Cinética de producción de Glc de *S. peucetius* var. *caesius* cultivado en medio mínimo más 100 mM de (●) D-glucosa, (□) D-manosa y (◆) L-glutamato.

**Conclusiones.** El hallazgo de una nueva Glc indica que el mecanismo de represión catabólica en *S. peucetius* var. *caesius* podría ser distinto al modelo planteado hasta ahora para los estreptomicetos.

**Agradecimiento.** Los autores agradecen el apoyo al desarrollo de este trabajo al proyecto (P46469Z CONACYT).

### Bibliografía.

- Angell, S.; Lewis, C.G.; Buttner, M. J. and Bibb, M. J.,(1994) Glucose repression in *Streptomyces coelicolor* A3(2) a likely regulatory role for glucose kinase. *Mol. Gen. Genet.* 244:135-43.
- Dekleva, M.L., Titus, J. A. and Strohl, W. R. (1985) Nutrient effects on antracycline production by *Streptomyces peucetius* in a defined medium. *Can. J. Microbiol.* 31: 287-294
- Imriskova, I., Langley, E., Arreguín-Espinosa, R., Aguilar, G., Pardo, J.P. and Sánchez, S. (2001) Rapid purification and biochemical characterization of glucose kinase from *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. *Arch. Biochem. Biophys.* 394 (2): 137-144.