

ESTUDIO DE POSIBLE ACTIVIDAD DE LECTINA DEL GEN *lecsI* DE *Streptomyces sp* MG1.

Omar E. Peralta, Javier Barrios, Francisco Fierro y Armando Mejía*, Universidad Autónoma Metropolitana – Iztapalapa. Av. San Rafael Atlixco No.186 Col. Vicentina C.P.09340 Del. Iztapalapa, DF México. Edificio S laboratorio 153. Tel 58046453, fax 58044712, ama@xanum.uam.mx*

Palabras clave: *lectina*, *actinomicetos*, *Streptomyces*.

Introducción. Las lectinas son un grupo de proteínas o glicoproteínas que reconocen de manera específica carbohidratos de la superficie celular y/o en suspensión⁽¹⁾. Están ampliamente distribuidas en la naturaleza, en plantas, animales y organismos inferiores. La función de las lectinas las hace potenciales herramientas en el análisis de la estructura de las membranas, detección de tumores y purificación de glicoconjugados. Por otro lado, los actinomicetos son un grupo de bacterias filamentosas productoras de metabolitos con diferentes actividades biológicas. Particularmente, hemos identificado una proteína inactivadora de ribosomas (RIP) de *S. coelicolor* con una elevada toxicidad; tanto para células eucariontes como procariontes. A esta proteína se le pretende fusionar una lectina preferentemente de *Streptomyces*, con la finalidad de dirigir su toxicidad sobre un blanco específico. Una secuencia (*lecsI*) proveniente de *Streptomyces sp* MG1 tiene una posible actividad de lectina con afinidad por arabinosa o manosa. Por su parte, las membranas de tejidos tumorales tienen composiciones únicas en residuos de carbohidratos, particularmente de arabinosa. También en las membranas de actinomicetos patógenos tales como *Mycobacterium* y *Nocardia*⁽²⁾. La manosa se encuentra en algunos tipos de células tumorales. Por esto, antes de obtener la proteína de fusión (RIP-Lectina), es necesario determinar si el gen *lecsI* codifica para una proteína con actividad de lectina y es capaz de unirse a la pared de ciertos microorganismos patógenos como *Mycobacterium* y *Nocardia*.

Metodología. Los genes *lecsI* y *egfp* se amplificaron por PCR. Digestiones y ligaciones de acuerdo con fabricante (Promega®). Corte del plásmido pBSDK0.6sma con *Drill*, relleno de extremos cohesivos con T4pol, inserción dirigida del gen recombinante con extremo cohesivo en *EcoRI* y ligación de extremos romos. Expresión de proteína heteróloga en *S. lividans* TK24 con plásmido pIJ486 según técnicas de Vrancken K. 2007⁽³⁾. La proteína de fusión obtenida; Lectina-proteína verde fluorescente, se utilizará para identificación de la posible unión a membranas de *Mycobacterium*.

Resultados y discusión. Para comprobar la afinidad por residuos de arabinosa o manosa de la supuesta lectina se decidió fusionarla con una proteína verde fluorescente que funcione como proteína reportera. Para ello se fusionaron los dos genes. El gen *lecsI* de la supuesta lectina a partir del genoma de *Streptomyces sp* MG1 y el

gen *egfp* del plásmido pQM5062. Esta fusión fue insertada en el plásmido pBSDK0.6sma. El inserto nos permitió generar un casete de expresión conformado por péptido señal-*lecsI-egfp*. Dicho casete de expresión se insertó en el plásmido pIJ486, con el cual se expresa en *S. lividans* TK24 (Fig. 1). La quimera lectina-proteína verde fluorescente se pondrá en contacto con posibles células diana (*Mycobacterium*, *Nocardia* y/o células tumorales) para analizarse por micrografías de fluorescencia. Identificadas la actividad de la supuesta lectina, se construirá la fusión lectina-proteína inhibidora de ribosomas, para dirigir la toxicidad.

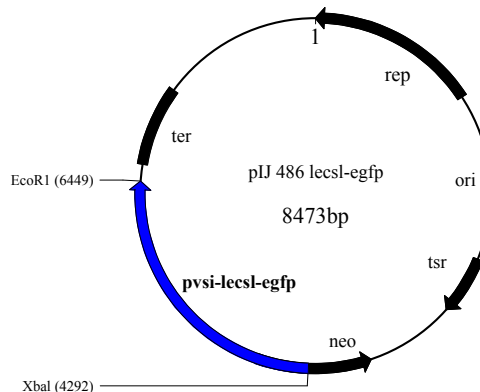


Fig. 1. Mapa del plásmido construido

Conclusiones. Se ha logrado fusionar el gen *lecsI* que codifica para una supuesta lectina con el gen *egfp* que codifica para una proteína verde fluorescente, con la finalidad de determinar su unión a arabinosa y/o manosa.

Agradecimiento. Dr. Paul Straight. Biochemistry and Biophysics. Texas A&M University. The Broad Institute of MIT. Genome Sequencing Platform.

Bibliografía.

- Hernández P, Pérez E, Martínez I, Martínez G. (2005). Las lectinas vegetales como modelo de estudio de las interacciones proteína-carbohidrato. *REB*. vol (24(1)): 24-27.
- Serrano J y Sandoval A. (2005). Actinomicetales. En: *Identificación y diagnóstico de Actinomicetales patógenos*. Serrano J. Publicaciones de vicerrectorado académico colección ciencias de la salud, Venezuela. 40-97.
- Vrancker K, Keersmaeker S, Geukens N. (2007). *pspA* overexpression in *Streptomyces lividans* improves both Sec and Tat-dependent protein secretion. *Appl Microbiol Biotechnol* vol 73. 1150-1157.