

EFFECTO DE LA INTERRUPCIÓN DEL GEN *savB* Y *savC* SOBRE LA MORFOLOGÍA Y PRODUCCIÓN DE AVERMECTINAS Y OLIGOMICINA, EN *Streptomyces avermitilis*

Octavio Godínez, Ricardo del Sol¹, Paul Dyson¹, Javier Barrios, Araceli Tomasini y Armando Mejía*
Dpto. Biotecnología, División de CBS. Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa. AP 55-535, México 09340 D. F. México

*Autor para correspondencia (Tel: +52 55 5804 6453. Fax: +52 55 5804 4712. E-mail: ama@xanum.uam.mx)

¹ School of Biological Sciences, University of Wales Swansea, Singleton Park, Swansea SA2 8PP, UK Fax: 441792 295447

Palabras clave: *Streptomyces avermitilis*, metabolismo secundario, transposón

Introducción. El actinomiceto *Streptomyces avermitilis* es el principal productor de los antiparasitarios (avermectinas) (1). Sin embargo debido a las demandas actuales, ha sido necesario desarrollar nuevas tecnologías que permitan optimizar la producción de estos metabolitos (2). Para ello hemos encontrado un alto grado de similitud con ciertos genes presentes en *Streptomyces coelicolor* y los cuales se ha demostrado tienen efecto sobre la diferenciación y el metabolismo secundario. Por otro lado, los transposones, elementos genéticos cuya función es regular la expresión de genes (3) pueden ser una herramienta de estudio valiosa. En este trabajo se hace uso del transposón pQM5062

El objetivo de este trabajo es: observar los efectos que presenta la interrupción con transposones de los genes *savB* y *savC* sobre la morfología y producción de avermectinas y oligomicina.

Metodología. Se aisló el gen *savB* a partir del cósmido CL-236-G10, se clonó en pME6 para obtener el plásmido pMBSa2L. Se insertó el trasposón Tn5062 (con resistencia a apramicina) obteniéndose el pMBTn2. Para *savC* se aisló por PCR se clonó en pME6, obteniendo el pMCSa1 al cual se le insertó el transposón Tn5062 y se obtuvo el pMCTn1. La introducción del vector se realizó por conjugación entre *E. coli* ET12567 y *S. avermitilis* (cepa tipo). La selección fue en medio SFM-apramicina. Para *savC* se realizó la transformación por biobalística. Las mutantes para *savB* y *savC* se sembraron en SFM-KCl 200mM. La producción de oligomicina fue realizada mediante bioensayo con *A. niger*, en medio con y sin osmolito, con la finalidad de observar el tamaño en el halo de inhibición. La producción de avermectinas se realizó fermentación líquida.

Resultados y discusión. El *Souther blot* realizado para la mutante para *savB*, demostró la inserción del transposón, por lo que se comprobó la interrupción del gen, en tanto que para *savC*, la selección se realizó mediante su capacidad de crecer en medio con apramicina. Para el experimento de osmoadaptación, las mutantes

Δ *savB* y Δ *savC* se crecieron en medio SFM-KCl, observándose la pérdida en su capacidad para formar micelio aéreo (Fig 1). La producción de oligomicina de las mutantes Δ *savB* y Δ *savC*, se observaron halos de inhibición significativamente más grandes con respecto a la cepa tipo.

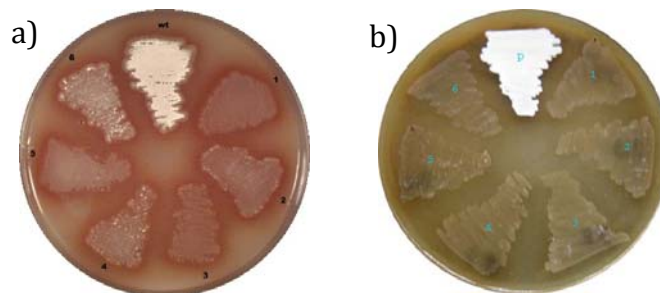


Fig. 1. (a) Δ *savB* no forma micelio aéreo en medio SFM-KCl 200 mM, además de sobreproducir pigmento (b) Δ *savC* tampoco forma micelio aéreo, pero no se observa una sobreproducción de pigmento.

Conclusiones. Se demuestra la importancia e implicación que tienen los genes *savB* y *savC* en la osmoadaptación y diferenciación, así como en la producción de oligomicina. Se propone como método de mejoramiento genético.

Agradecimiento. Dr P. Dyson, Universidad de Gales, U.K. y financiamiento: Unión Europea (Ref. II-0313-FA-FCD)

Bibliografía.

1. Bibb, J. Mervin. 2005. Regulation of secondary metabolism in streptomycetes. *Curr Opin Microbiol.* 8, 208-215.
2. Yong-Soon H. Eung-Soo K, Sándor B y Cha-Yong Ch. 2003. Cloning and analysis of a DNA fragment stimulating avermectin production in various *Streptomyces avermitilis* strains. *Applied and environmental microbiology.* Vol 69, 2. 1263-1269.
3. A. Bishop, S. Fielding, P. Dyson y P. Herron. 2004. Systematic Insertional mutagenesis of a streptomycete genome: A link between osmoadaptation and antibiotic production. *Genome research.* 14. 893-900.