

EXPRESIÓN DE LA REGIÓN *sco2127* DE *STREPTOMYCES COELICOLOR* EN PRESENCIA DE DIFERENTES FUENTES DE CARBONO

Yolanda García Huante, Beatriz Ruiz, Adán Chávez, Sergio Sánchez
 Depto. de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, A.P.
 70228, C.P. 04510. Tel. 5622-9200, fax 5622-9212, e-mail sersan@servidor.unam.mx

Palabras clave: *Represión catabólica por carbono; sco2127; Streptomyces.*

Introducción. La síntesis de varios metabolitos secundarios de importancia industrial producidos por el género *Streptomyces* se ve inhibida por la represión catabólica que ejerce la fuente de carbono (RCC). Una mutante de *S. peuceetius* var. *caesius*, insensible a RCC (Dog^R), presenta deficiencias tanto en el transporte de glucosa, como en la actividad de glucosa cinasa (Glc). Éste fenotipo es recuperado al transformar a la mutante con el gen *sco2127* de *S. coelicolor* [2], el cual no codifica para Glc ni para el transportador de glucosa. En virtud de nuestro desconocimiento sobre la síntesis y regulación de *sco2127*, el objetivo de este trabajo es estudiar su dinámica de expresión en *S. coelicolor*, utilizando diversas fuentes de carbono.

Metodología. Se realizaron cinéticas de crecimiento de *S. coelicolor* M145 en medio NMMP (3) utilizando glucosa, manitol y glutamato (100 mM) como fuentes de carbono, respectivamente. Se tomaron muestras a lo largo de la fermentación y se rompieron las células por sonicación. Los extractos intracelulares se analizaron por SDS-PAGE al 10%, para después ser analizados por western blot usando anticuerpos policlonales anti-SCO2127 [1].

Resultados y discusión. Para conocer si existe algún efecto de la fuente de carbono sobre la expresión de *sco2127*, se llevaron a cabo cinéticas de crecimiento empleando: glucosa (represora), manitol y glutamato (no represoras). Se observó que el crecimiento de *S. coelicolor* M145 fue ligeramente mayor en manitol que en glucosa o glutamato. Esto pudo deberse a que el preinóculo se creció en medio NMMP con 50 mM de manitol (Fig.1).

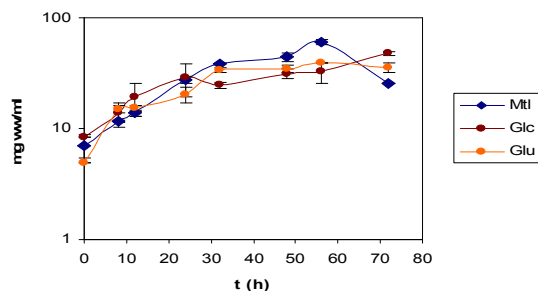


Figura 1. Cinética de crecimiento de *S. coelicolor* M145 con glucosa (Glc) y manitol (Mtl) como fuentes de carbono.

Adicionalmente, la región *sco2127* se expresó durante toda la fermentación en células crecidas en glucosa (Fig. 2A), pero solo en la fase logarítmica de aquellas provenientes de manitol (Fig. 2B). Este comportamiento parece relacionarse con la presencia y concentración de los carbohidratos en el medio de cultivo. Por ejemplo, a las 72 h de crecimiento aún se detectó un 45% de la glucosa original (no mostrado) y *sco2127* estuvo presente. Por otro lado, en las células crecidas en glutamato no se evidenció la expresión de *sco2127* (Fig. 2C), sugiriendo que no existe relación con *sco2127*.

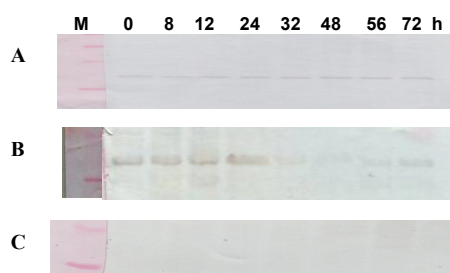


Figura 2. Western blot de los extractos proteicos intracelulares de *S. coelicolor* M145 a diferentes horas de fermentación en (A) 100 mM de glucosa; (B) 100 mM de manitol y (C) 100 mM de glutamato. M: Marcador de peso molecular.

Si bien no está reportado que manitol ejerza represión catabólica en el género *Streptomyces*, no se descarta que posea dicho efecto en éste género. Queda clara la relación entre la glucosa y la expresión de *sco2127* así como su ausencia en el caso de glutamato.

Conclusiones. La expresión de la región *sco2127* de *S. coelicolor* es influenciada por la presencia y concentración de glucosa.

Bibliografía.

1. Chávez A, García-Huante Y, Ruiz B, Langley E, Rodríguez-Sanoja R, Sánchez S. 2009. Cloning and expression of the *sco2127* gene from *Streptomyces coelicolor* M145. *J Ind Microbiol Biotechnol*. Aceptado el 16 de enero de 2009.
2. Guzmán S, Carmona A, Escalante L, Imriskova I, López R, Rodríguez-Sanoja R, Ruiz B, Servín-González L, Sánchez S, Langley E. 2005. Pleiotropic effect of the *sco2127* gene on the glucosa uptake, glucosa kinase activity and carbon catabolite repression in *Streptomyces peuceetius* var. *caesius*. *Microbiol.* 151,1718-1723.
3. Hopwood D, Viv. M, Chater C, Kieser T, Bruton C, Kieser HM, Lydiate D, Smith C y Ward J. 2000. *Genetic manipulation of Streptomyces a laboratory manual*. Ed. The John Innes Foundation, Norwich. Inglaterra. pág. 413.