

¿QUÉ POSICIONES EN LA SECUENCIA DEL PEPTIDO DE SEÑALIZACIÓN SKPDT SON INDISPENSABLES PARA SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN *BACILLUS THURINGIENSIS*?

¹Karla Ramírez, ²Javier García, ¹Mayra de la Torre, ³Gabriel Guarneros. ¹Ciencia de los Alimentos CIAD A.C. Apdo. Postal 83000 Hermosillo, Sonora. Depto. ²Depto. de Química, CINVESTAV-D.F. ³Depto. de Genética y Biología Molecular. CINVESTAV-D.F. Apdo. Postal 14-740, 07000 México DF.
mdelatorre@ciad.mx

Palabra clave: *Bacillus thuringiensis*, péptidos de señalización, *Cry1Aa*

Introducción. *Bacillus thuringiensis* (Bt) durante la esporulación sintetiza protoxinas de naturaleza proteica, que son tóxicas para las larvas de varios insectos plaga, entre ellas la proteína *Cry1Aa*. Puesto que la esporulación es una respuesta de quórum sensing, la expresión de los genes *cry1Aa* está ligada a la regulación de dicho proceso de diferenciación celular. Nuestro grupo encontró en el sobrenadante de fase de transición de BtpHT*cry1A2* el péptido SKPDT y demostró que la adición del péptido sintético estimula esporulación y la expresión de *cry1Aa* (1).

La actividad biológica de los péptidos de señalización depende de su secuencia, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar que posiciones en SKPDT son indispensables para su función biológica.

Metodología Cada una de las posiciones del péptido SKPDT fueron sustituidas por α o β Alaninas, los péptidos sintéticos fueron adicionados a cultivos de baja densidad celular de la Cepa BtpHT*cry1A2* y la actividad específica de β -Galactosidasa fue determinada por varias horas. Además se hicieron sustituciones químicas en el extremo amino terminal.

Resultados y discusión. Las sustituciones por α -Alanina en cualquier posición del pentapéptido disminuyen la estimulación de la expresión de *cry1Aa*, pero la segunda y la última posición son indispensables para que sea funcional en la célula (Fig 1). Resultados similares se obtuvieron cuando los aminoácidos fueron sustituidos por β Alanina. El péptido biotinilado o con Metionina en el extremo amino terminal fue inactivo, pero la secuencia biotina-GGGSKPDT fue activa. Para péptidos implicados en cascadas de transducción de señales en *B. subtilis*, en el caso de ERGMT (PhrC) las posiciones críticas dependen si el efecto depende de la inhibición de Rap B o de RapC (3), mientras que en ARNQT (PhrA) sustituciones en 1, 3 y 4 disminuyen la esporulación. Por lo anterior, podemos sugerir que no hay una regla en cuanto a que posiciones dentro de la secuencia de un péptido de señalización son críticas para su actividad biológica.

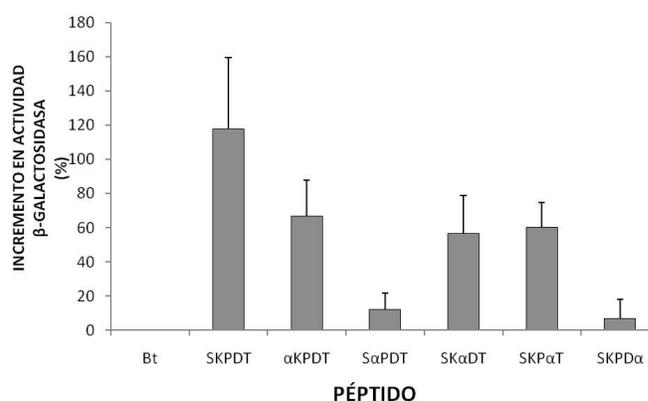


Figura 1. Efecto de sustituciones con α -Alaninas en la secuencia de SKPDT sobre la expresión de *cry1Aa*

Conclusiones. En SKPDT las posiciones 2 y 5 son críticas para su actividad biológica. Una bisagra de tres Glicinas permite que el péptido biotinilado en el amino terminal sea funcional. El péptido con Metionina como aminoácido inicial no es eficaz.

Agradecimientos. SEP-CONACYT 60767. SEP-CONACYT 60366. A los doctores Eusebio Juaristi, Serafín Vivanco y María Islas por su valiosa contribución.

Bibliografía.

- 1). Aceves Diez A., Robles Burgueño R. & De la Torre M. (2007). SKPDT is a signaling peptide that stimulates sporulation and *cry1Aa* expression in *Bacillus thuringiensis* but not in *Bacillus subtilis*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **76**, 203-209.
- 2). Lazazzera B.A., Solomon J. & Grossman A.D. (1997). An Exported Peptide Functions Intracellularly to Contribute to Cell Density Signaling in *B. subtilis*. *Cell* **89**, 917-925.
- 3). Perego M. (1997). A peptide export-import control circuit modulating bacterial development regulates protein phosphatases of the phosphorelay. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **94**, 8612-8617