XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería
21 al 26 de Junio de 2015 Guadalajara, Jalisco, México.
Guadalajara

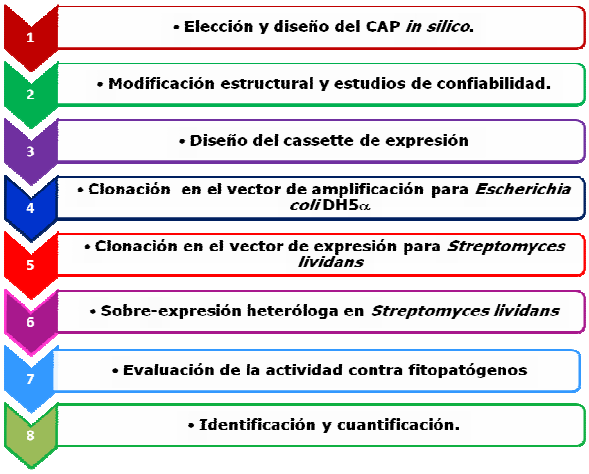
Vector de replicación autónoma para sobreexpresión de moléculas bioactivas.

[1]Marisol Roldán, [2]Ana Gisela Reyes, [1]Javier Barrios, [3]Jozef Anné y [1]Armando Mejía; [1]Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, [1]Depto. Biotecnología. Av. San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina. México DF. C.P 09340 [2] Instituto Politécnico Nacional 195, Playa Palo de Santa Rita Sur; La Paz, B.C.S. México; C.P. 23096. [3]Rega Institute, Katholieke Universiteit Luven, Laboratory of Bacteriology, Minderbroederrtraat 10,B-3000 Luven, Belgium.
ama@xanum.uam.mx

Palabras clave: Sobreexpresión, vector de clonación, Streptomyces, actinomicetos.

Introducción. En la actualidad se han desarrollado una amplia variedad de sistemas de expresión de fragmentos proteicos de interés agrícola, en su mayoría para *Escherichia coli,* presentando limitaciones, como bajos rendimientos, proteólisis del producto expresado o su acumulación en el citoplasma formando cuerpos de inclusión, lo que dificulta su purificación e inhibe su actividad, y en consecuencia provoca bajos rendimientos (1). Esto se podría resolver con un hospedero insensible a sus efectos, y con el desarrollo de un sistema de producción que minimice sus efectos sobre ellos.
Con el objeto de dar solución a estas dificultades en la expresión de proteínas o fragmentos proteicos bioactivos, se propone el uso de una cepa de *Streptomyces lividans* como modelo de expresión presentando una estrategia basada en la construcción de un vector de replicación autónoma.

Metodología.



Resultados. Con el vector desarrollado, se logro la expresión de un fragmento proteico con actividad sobre diferentes fitopatógenos. Los principales elementos incluidos son el promotor y péptido señal de *Streptomyces venezuelae,* permitiendo la secreción del fragmento proteico al medio, facilitando su recuperación y disminuyendo su toxicidad sobre el organismo productor. Los resultados obtenidos muestran la eficiencia del sistema, con un incremento de por lo menos diez veces, sobre las estrategias existentes (2).

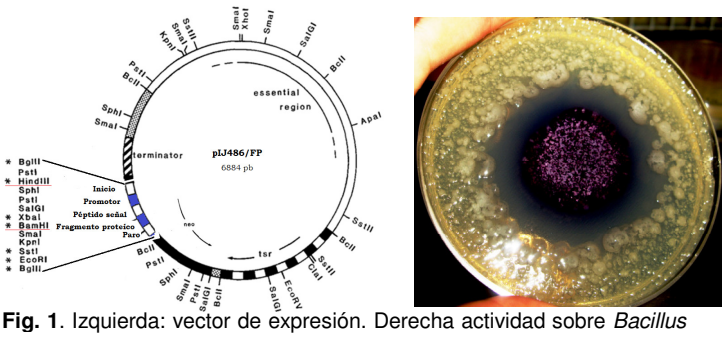


Fig. 1. Izquierda: vector de expresión. Derecha actividad sobre *Bacillus subtilis* del fragmento proteico expresado.

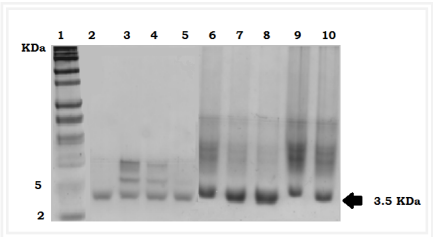


Fig. 2 Tricina SDS-PAGE: Línea 1 marcador de peso molecular; líneas 2- 5 péptido sintético; líneas 6-10 péptido en medio de cultivo.

Conclusiones. La sustitución de un Glu por Ala en posición 14 potenció la actividad del fragmento producido. El vector, potencia la expresión del fragmento en forma activa, logrando la producción de un fragmento tóxico para la célula hospedera de forma rápida, y a menor costo que otros sistemas de expresión previamente reportados (3,4). El nuevo sistema de producción minimiza los efectos sobre la cepa hospedera y esta a su vez la degradación por proteasas intracelulares.

Agradecimiento. A CONACYT por el apoyo económico a través de la beca N°332832, a la Dra. Alejandra Serratos Díaz en el Laboratorio Divisional de Biología Molecular de la UAM Iztapalapa y al convenio UAM/Química Agronómica de México S.A. de C.V. (COVIA 0445-2010).

Bibliografía.

1. Anné J, M. B., Van Impe J,Van Mellaert L. (2012). Journal of Biotechnology **158**(4): 159-167.
2. Parachin, N. S., Mulder, K. C., Viana, A. A. B., Dias, S. C., & Franco, O. L. (2012). *Peptides*, **38**(2), 446-456.
3. Callaway JE, Lai J, Haselbeck B, Baltaian M, Bonnesen SP, Weickmann J, Wilcox G, Lei SP (1993). *Antimicrob Agents Chemother* **37**(8):1614–1619.
4. Hara S, Yamakawa M (1996). *Biochem Biophys Res Commun* **220**(3):664–669