



EFECTO DEL FOSFATO SOBRE LA PRODUCCIÓN ENZIMÁTICA DE LAS GLUCOSA CINASAS EN *S. peucetius* y *S. peucetius* var. *caesius*.

Monserrat Manzo, Diana Rocha-Mendoza, Beatriz Ruiz, Sergio Sánchez

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, México D. F., A.P. 70228, C.P. 04510; monseb.27@gmail.com

Palabras clave: *Streptomyces*, fosfato, glucosa cinasas.

Introducción. Los estreptomicetos son reconocidos como productores de una gran variedad de metabolitos secundarios, cuya biosíntesis es afectada por los nutrientes del medio, como el fosfato (Pi) [1]. Los *Streptomyces*, entre otros organismos, almacenan el Pi en forma polimérica denominada polifosfato (Pp), su producción depende principalmente de la disponibilidad del Pi y de la fase de crecimiento del microorganismo. El Pp puede sustituir al ATP en diversas reacciones metabólicas, como la catalizada por la glucosa cinasa (Glc) [2], enzima encargada de fosforilar glucosa. La Glc dependiente de ATP (ATP-Glc) es relevante en el género *Streptomyces* dada su participación en la regulación por carbono (RC) [3]. En nuestro grupo de trabajo se observó que la cepa sobreproductora de antraciclinas, *S. peucetius* var. *caesius* (*Spvc*), presenta una actividad de ATP-Glc y otra dependiente de Pp (Pp-Glc). A diferencia de lo que se ha observado en la cepa parental, *S. peucetius* (*Sp*), y en otros estreptomicetos, *Spvc* presenta mayor producción de Pp-Glc respecto a la actividad de ATP-Glc [4].

Debido a que el fosfato es un limitante de la formación del Pp y éste a su vez es sustrato de la Pp-Glc, se piensa que modificando las concentraciones de fosfato en el medio, además de afectar la producción de antraciclinas, también se afectaría la dinámica de las actividades de las Glcs de *Sp* y *Spvc*.

Metodología. Se evaluó el efecto de la concentración de Pi sobre la producción de ATP-Glc y Pp-Glc. Para ello, se inoculó 5×10^3 esporas de *Sp* y *Spvc* en 50 mL de medio mínimo (NDYE) complementado con glucosa 100 mM y fosfato (K_2HPO_4) en concentraciones 0.1, 1 y 20 mM. Se determinó biomasa (peso seco), producción de antraciclinas, de ATP-Glc y Pp-Glc, concentración de proteína, consumo de glucosa [4], consumo de Pi, y concentración de Pi y Pp intracelular [5].

Resultados. Al incrementar la concentración de Pi en los cultivos, la producción de biomasa de ambas cepas aumentó, siendo mayor en la cepa sobreproductora de antraciclinas *Spvc*. En las tres condiciones de Pi, esta cepa presentó mayor consumo de glucosa en comparación con *Sp*, quien a las 120 h no se terminó toda la glucosa disponible en los cultivos complementados con 0.1 y 20 mM de Pi. Ambas cepas consumieron todo el Pi disponible en los cultivos con 0.1 y 1 mM de Pi, pero con 20 mM *Sp* consumió 2.52 mM y

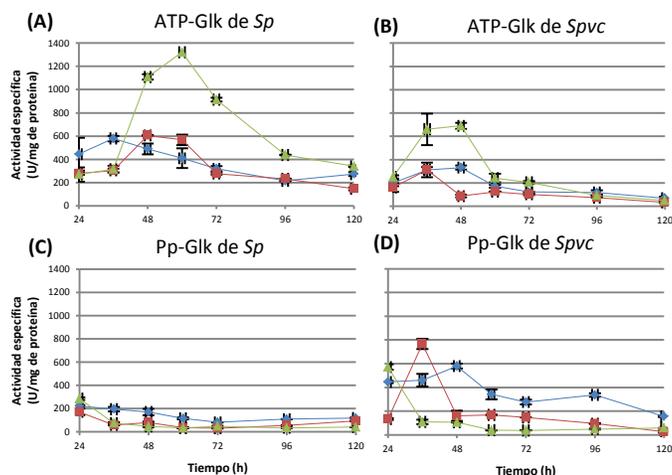


Fig. 1. Efecto de la concentración de fosfato en la producción de las glucosa cinasas de *S. peucetius* (*Sp*) y *S. peucetius* var. *caesius* (*Spvc*). Actividad ATP-Glc de *Sp* (A), y *Spvc* (B), Actividad Pp-Glc de *Sp* (C), y *Spvc* (D). Los cultivos se hicieron en medio mínimo con 0.1 mM, 1 mM y 20 mM de fosfato. Una unidad se definió como nmol de NADPH/min*mg de proteína.

Spvc 4.26 mM del Pi disponible. En 0.1, 1 y 20 mM de Pi, los dos *Streptomyces* presentaron concentraciones de Pp intracelular similares, pero la cepa sobreproductora de antraciclinas presentó una menor concentración de Pi intracelular comparada con *Sp* (Datos no mostrados). A mayor concentración de Pi en el cultivo se obtuvo mayor producción de la ATP-Glc de ambas cepas (Fig 1A, B). Por el contrario, no se observó efecto en la Pp-Glc de *Sp* debido a que su producción es baja (Fig 1C), mientras que la Pp-Glc de *Spvc* presentó un efecto contrario al observado en la ATP-Glc (Fig 1D). De igual forma, el Pi tuvo un efecto negativo en la producción de antraciclinas.

Conclusiones. El fosfato tuvo un efecto positivo sobre el crecimiento y la producción de la ATP-Glc de ambas bacterias. Por el contrario, el fosfato ejerció un efecto negativo en la Pp-Glc de *Spvc*.

Agradecimiento. Este proyecto fue financiado por PAPIIT (IN209210) y CONACyT (100564).

Bibliografía.

- Martin J. (2004). J. Bacteriology. 186 (16):5197-5201.
- Kulaev I, Vagabov V, Kulakovskaya T. (1999). J Biosci Bioeng. 88(2):111-129.
- Hodgson D. (1982). J Gen Microbiol. 128: 2417-2430.
- Ruiz-Villafán B, Rodríguez-Sanoja R, Aguilar-Osorio G, Gosset G, Sánchez S. (2014). Appl Microbiol Biotechnol. 98(13): 6061-6071.
- Ohtomo R. (2004). Anal Biochem. 328:139-146.