



## EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA MUTACIÓN DE UN REGULADOR TRANSCRIPCIONAL EN LA PRODUCCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN *Streptomyces coelicolor*.

Ivonne Robledo, Alba Romero, Sergio Sánchez. Instituto de Investigaciones Biomédicas, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología. Ciudad Universitaria, C.P. 04510. ivonnerobcas@gmail.com.

*Streptomyces*, antibiótico, regulador transcripcional.

**Introducción.** *Streptomyces* y otras actinobacterias son reconocidos como una fuente rica de productos naturales para aplicaciones en la clínica, biotecnología y con valor agrícola. La secuenciación del genoma de *Streptomyces coelicolor* A3 destacó que 400 Kb (más de 20 clusters) están relacionados con la producción de metabolitos secundarios. Y también ha resaltado la gran diversidad de moléculas reguladoras en este microorganismo (alrededor del 12% del genoma)(1). No obstante, de estos muy pocos han sido caracterizados o se desconoce su función. Hay una gran cantidad de evidencia que indica que la regulación de la producción de metabolitos secundarios comparte componentes con el proceso de esporulación y la utilización de carbono (2). El análisis mutacional de un factor de transcripción novedoso que se encuentre involucrado en la regulación de metabolitos secundarios proporcionará una base para la comprensión de la función del mismo. Con base en análisis bioinformáticos de las diferentes familias de factores de transcripción (TF) y de las implicaciones biológicas de los mismos, se seleccionó un gen que codifica para una proteína de la familia MarR.

**Metodología.** Para realizar el análisis mutacional se siguió la metodología desarrollada por Gust, *et al.* (2003) (3). La técnica consiste en el reemplazo del gen de interés en el genoma de *S. coelicolor* por un marcador de resistencia a un antibiótico, el fragmento es generado por PCR donde los extremos son homólogos a la región que se desea. Posteriormente se comprobó el intercambio por reacciones de PCR y se caracterizó el fenotipo; llevando a cabo cinéticas de crecimiento donde se evaluó biomasa, pH, consumo de la fuente de carbono y producción de antibióticos: undecilprodigiosina (RED) y actinorrodina (ACT).

**Resultados.** Se llevaron a cabo reacciones de PCR para comprobar la mutación en el gen (Fig. 1). Se realizó con tres diferentes cebadores; en los carriles 2 y 3 (cepa silvestre, WT) se observa una banda a 750 pb que corresponde al gen objetivo, pero no en el carril 4 ( $\Delta$ TF). Los carriles 5, 6 y 7 corresponden al control positivo para el gen

16s y por último, los carriles 9, 10 y 11 corresponden a las reacciones realizadas con oligonucleótidos específicos para una región de 221 pb del cassette de resistencia a apramicina, la banda en el carril 11 comprueba que la cepa  $\Delta$ TF contiene el gen de resistencia, además de no amplificar el producto que corresponde al gen de interés.

Se realizaron cinéticas de crecimiento con la cepa WT y la  $\Delta$ TF. Los rendimientos de antibióticos respecto a biomasa obtenidos a lo largo de la cinética se muestran en las Fig. 2 y 3.

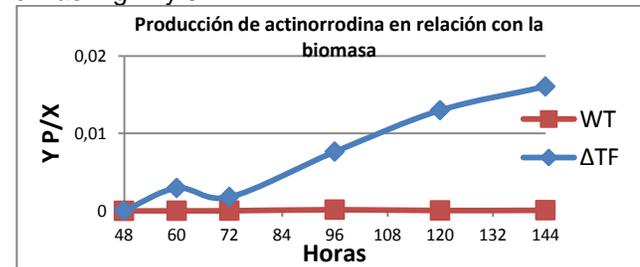


Figura 2. Producción de ACT en medio NMMP con 100 mM de glucosa.

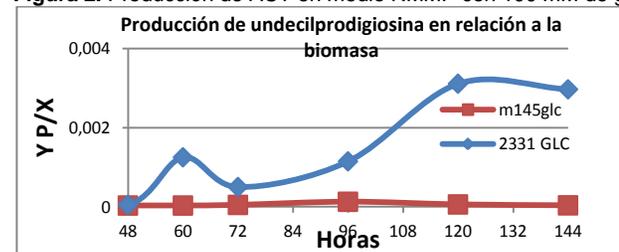


Figura 3. Producción de RED en medio NMMP con 100 mM de glucosa.

**Conclusiones.** Se confirmó el intercambio del regulador transcripcional mediante PCR. Se estudió el fenotipo en el medio NMMP suplementado con 100 mM de glucosa y se observó un incremento significativo en la producción de metabolitos secundarios.

**Agradecimiento.**

DGAPA, PAPIIT, UNAM IN201413,

**Bibliografía.**

- Bentley, S. D., Chater, K. F., Cerdano-Tarraga, A. M., Challis, G. L., Thomson, N. R., James, K. D., ... & Hopwood, D. A. (2002). *Nature*, 417(6885), 141-147.
- van Wezel, G. P., & McDowall, K. J. (2011). *Natural product reports*, 28(7), 1311-1333.
- Gust, B., Challis, G. L., Fowler, K., Kieser, T., & Chater, K. F. (2003). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(4), 1541-1546.

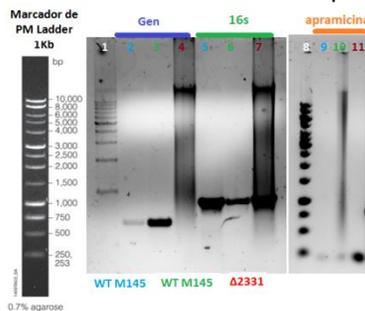


Fig. 1. Gel de agarosa con las diferentes reacciones de PCR.