



REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MALATO DESHIDROGENASA EN DOS ACTINOMICETOS PRODUCTORES DE ANTIBIÓTICOS, *Streptomyces coelicolor* Y *Saccharopolyspora erythraea*

Ana Paulina Mendoza, María Elena Flores. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. A.P. 70228 México, D.F. 04510, México. Fax: 56 22 92 12;

paulinamendoza16@hotmail.com

Palabras clave: malato deshidrogenasa, actinomicetos, ciclo de Krebs.

Introducción. Los actinomicetos son bacterias de gran importancia biotecnológica debido a que de ellos se obtiene el 70% de los antibióticos usados en la clínica para combatir enfermedades, así como muchas enzimas hidrolíticas usadas en la industria (1). Muchos de estos antibióticos se producen a partir de intermediarios del ciclo de Krebs, a pesar de esto, a la fecha, se conoce muy poco sobre la regulación y propiedades de las enzimas que lo integran. La malato deshidrogenasa (MDH) es la última enzima de este ciclo y cataliza la interconversión de malato a oxaloacetato utilizando NADH como cofactor.

El objetivo de este trabajo es determinar cómo se regula la síntesis de la malato deshidrogenasa en dos actinomicetos (*Streptomyces coelicolor* y *Saccharopolyspora erythraea*) al crecerlos en diferentes fuentes de carbono y a lo largo del tiempo de cultivo para diseñar estrategias para su mejoramiento.

Metodología. Ambas bacterias se precrecieron en medio completo, a partir de ahí se inoculó en el medio mínimo correspondiente en presencia de diferentes fuentes de carbono, se tomaron muestras a las diferentes horas de cultivo para obtener el extracto libre de células y para medir crecimiento como cantidad de proteína por el método de Lowry en el caso de *Sac. erythraea* y como A_{450} para *S. coelicolor*. Posteriormente se cuantificó la actividad volumétrica y específica por disminución de A_{340} .

Resultados y discusión. La MDH de *S. coelicolor* mostró valores de K_m aparentes de 0.014 y 0.013mM para oxaloacetato y NADH respectivamente; mostró inhibición por oxaloacetato a concentraciones mayores a 0.3 mM y su temperatura óptima fue de 75°C aunque fue poco estable a esta temperatura. La MDH de *Sac. erythraea* presentó valores de K_m aparentes de 0.015 y 0.056 mM, respectivamente y también mostró inhibición por oxaloacetato a concentraciones mayores a 0.3 mM.

A lo largo del tiempo de cultivo de *Sac. erythraea* se observó que la síntesis de la enzima es constitutiva, ya que los perfiles de actividad específica, al crecer a la bacteria en glucosa, galactosa, sacarosa y lactosa como fuentes de carbono muestran que se mantuvo constante dentro de cierto rango a lo largo del tiempo de cultivo; en cambio, al utilizar fructosa como única fuente de carbono la actividad aumenta a lo largo del tiempo de crecimiento mostrando un máximo a las 96 h (Fig.1), la diferencia observada en fructosa se debió a un aumento en la síntesis de la enzima y no a una disminución en su degradación, esto se demostró al comparar los perfiles de actividad en glucosa y fructosa en presencia del cloranfenicol, un inhibidor de síntesis de proteínas. Estos resultados se corroboraron por medio de zimogramas en geles de acrilamida ND.

En *S. coelicolor* se observó un perfil de actividad asociado a crecimiento. En presencia de glucosa, fructosa, maltosa,

acetato y malato, la síntesis de la enzima se indujo durante la fase de crecimiento exponencial (Fig.2).

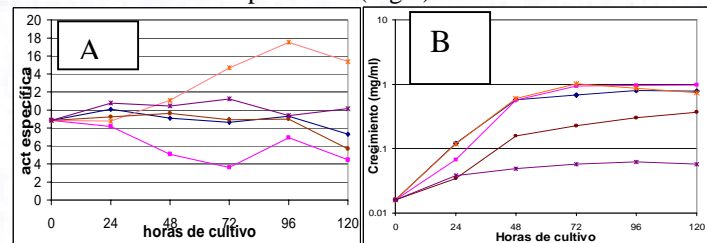


Fig.1. Perfiles de actividad (A) y crecimiento (B) de *Sac. erythraea* a lo largo del tiempo de cultivo en diferentes fuentes de carbono. Naranja: fructosa, azul: glucosa, rosa: sacarosa, café: galactosa, morado: lactosa.

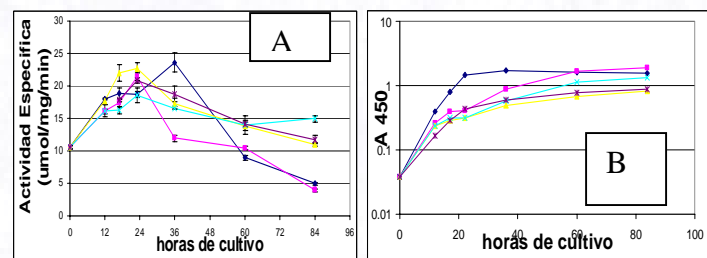


Fig.2. Perfiles de actividad (A) y crecimiento (B) de *S. coelicolor* a lo largo del tiempo de cultivo en diferentes fuentes de carbono. Azul fuerte: glucosa, rosa: fructosa, amarillo: maltosa, azul claro: acetato, morado: málico.

Estos perfiles son diferentes a los reportados para otros organismos como *E. coli*, *T. thermophilus* y *C. glutamicum* (2) donde se observó que la expresión del gen *mdh* se regula por la fuente de carbono mostrando menor expresión al crecer en azúcares fácilmente asimilables como la glucosa; en *T. emersonii* la expresión fue mayor al crecer en monosacáridos y disacáridos que en polisacáridos (3).

Conclusiones. La síntesis de MDH de *Sac. erythraea* es constitutiva a lo largo del tiempo de cultivo en presencia de glucosa, sacarosa, galactosa y lactosa como fuentes de carbono. En presencia de fructosa la síntesis se induce mostrando un pico de actividad a las 96 horas de crecimiento.

La síntesis de MDH de *S. coelicolor* se induce durante el crecimiento exponencial en presencia de las diferentes fuentes de carbono (glucosa, fructosa, maltosa, acetato y málico).

Bibliografía:

- Morosoli, R, Shareck, F, Kleupfel, D. (1997). *FEMS Microbiol. Lett.* 146, 167-174.
- Molenaar, D, Rest van der, M, Petrovic, S. (2000). *J. Bact.* 182, 6884-6891.
- Maloney, A, Callan, S, Murray, P, Tuohy, M. (2004). *Eur. J. Biochem.* 271, 3115-3126.