



NATURALEZA DEL PRODUCTO DE EXPRESIÓN SCO2127, PROPIEDADES Y SU PAPEL EN EL PROCESO DE REPRESIÓN CATABÓLICA POR GLUCOSA EN *STREPTOMYCES COELICOLOR*

Adán Chávez, Beatriz Ruiz, Sergio Sánchez. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología. Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Av. Universidad 3000, C.P. 04510, Tel.: 56229200, Fax.: 56229212, e-mail: nakima28@yahoo.com.mx

Palabras clave: Streptomyces, represión catabólica, SCO2127

Introducción. En el género *Streptomyces* la represión catabólica por carbono (RCC) ha sido relacionada con la actividad de la glucosa cinasa (Glc); ya que mutantes carentes de esta enzima son insensibles a RCC (1) y al ser complementadas con el gen de *glk* se restablece su actividad y parcialmente la sensibilidad a RCC. Sin embargo, la recuperación completa ocurre cuando el gen *SCO2127*, localizado corriente arriba y contiguo al gen de *glk*, se introduce con este último (2). Se cree que *SCO2127* podría codificar una proteína involucrada en el transporte o metabolismo de glucosa. *SCO2127* posiblemente aumenta la transcripción de *glkA* y de la permeasa de glucosa (3) incrementando la concentración de catabolitos de glucosa que pueden estar involucrados en producir la RCC en este género. *SCO2127* no codifica para secuencias de unión a ADN y es probable que su efecto sea el resultado de unión proteína-proteína. En *S. coelicolor* se ha detectado una proteína (aún desconocida) que se une a Glc. Se ha propuesto que Glc interactúa con la permeasa de glucosa (GlcP) en presencia de este carbohidrato (4) pero aún se desconoce cuál es el papel de *SCO2127* en la RCC en *S. coelicolor*. Por tal motivo, el presente trabajo pretende caracterizar el producto de expresión del gen *SCO2127* y su efecto sobre la RCC en *S. coelicolor*.

Metodología. Se amplificó *SCO2127* y se clonó en el vector de expresión pDEST17 para fusionar el producto de expresión a tallos de histidina (*SCO2127*-6xHis) y facilitar su purificación e inmunodetección. El plásmido se transformó en *E. coli* BL-21 y se verificó la expresión de *SCO2127* mediante western blot, usando anticuerpos anti-histidina. Posteriormente se sobreexpresó la proteína de fusión, se purificó y se inoculó en conejos para la producción de anticuerpos anti-*SCO2127*, que permitan la inmunodetección de *SCO2127* en extractos crudos de *S. coelicolor*.

Resultados y discusión. Se logró la sobreexpresión e inmunodetección de *SCO2127*-6xHis en *E. coli* BL-21; así como la producción de anticuerpos anti-*SCO2127* en conejo. Los anticuerpos fueron utilizados para detectar *SCO2127* en extractos crudos de *S. coelicolor* en geles bidimensionales. Una vez que el gel bidimensional fue transferido a una membrana de PVDF y se enfrentó a anti-*SCO2127*, se logró ubicar a *SCO2127* y comigrando con éste, a una proteína de aproximadamente 36 kDa (Fig. 1), cuyo peso molecular es muy cercano al de la Glc (33 kDa).

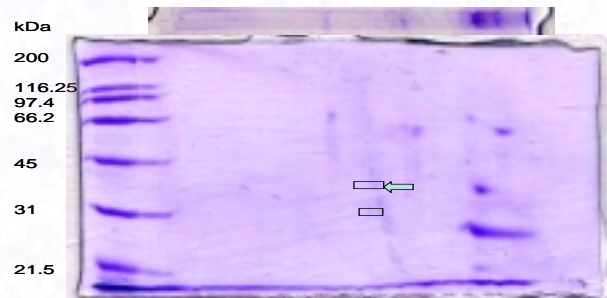


Fig. 1. Gel bidimensional de extractos crudos de *S. coelicolor*, que muestra la localización de *SCO2127* (rectángulo) en base al reconocimiento con anticuerpos anti-*SCO2127*. Nótese que existe una proteína de aproximadamente 36 kDa comigrando con *SCO2127* (flecha).

Conclusiones. Es posible que la proteína de 36 kDa y que *SCO2127* formen un complejo proteico capaz de ejercer un efecto regulatorio en la RCC en *S. coelicolor*; por lo que a esta proteína de identidad aún desconocida será secuenciada y una vez conocida su identidad, estaremos en posibilidades de proponer un modelo de acción de *SCO2127* en el proceso de RCC en *S. coelicolor*.

Agradecimiento. Este proyecto está siendo financiado en parte por el donativo P 46469 Z del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología. Adán Chávez es apoyado por una beca doctoral del mismo Consejo con un complemento de la Dirección General de Estudios de Posgrado, UNAM.

Bibliografía.

- Hodgson, D. (1982). Glucose repression of carbon source uptake and metabolism in *Streptomyces coelicolor* A3(2) and its perturbation in mutants resistant to 2-deoxyglucose. *J. Gen. Microbiol.* 128: 2417-2430.
- Angell S, Lewis CG, Buttner MJ, Bibb MJ. (1994). Glucose repression in *Streptomyces coelicolor* A3(2): a likely regulatory role for glucose kinase. *Mol Gen Genet.* 244:135-43.
- Guzmán S., Carmona A., Escalante L., Imriskova I., López R., Rodríguez-Sanoja R., Servín-González L., Sánchez S., Langley E. (2005). Pleiotropic effect of the *SCO2127* gene on the glucosa uptake, glucosa kinase activity and carbon catabolite repression in *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. *Microbiol.* 151: 1717-1723.
- van Wezel GP, König M, Mahr K, Nothaft H, Thomae AW, Bibb M, Titgemeyer F. (2007). A new piece of an old jigsaw: glucose kinase is activated posttranslationally in a glucose transport-dependent manner in *Streptomyces coelicolor* A3(2). *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 12: 67-74.