

## CLONACIÓN Y SECUENCIACIÓN DEL GEN HOMÓLOGO A *SCO2127* EN *Streptomyces peucetius* var. *caesius*: UN POSIBLE POTENCIADOR DE LA ACTIVIDAD DE GLK

Fabián Mauricio Sánchez, Beatriz Ruiz y Sergio Sánchez

Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM.  
A.P. 70228, C.P. 04510 D.F., fax 5622-9212, email [sersan@servidor.unam.mx](mailto:sersan@servidor.unam.mx)

Palabras clave: Represión Catabólica, *Streptomyces*, *SCO2127*.

**Introducción.** *Streptomyces peucetius* var. *caesius* produce doxorubicina (DXR), este es un metabolito secundario de importancia médica por su uso en terapias antitumorales. Como en muchos otros microorganismos, la síntesis de metabolitos secundarios como la DXR están sujetos a represión catabólica por fuente de carbono (RCC). Aunque existen amplios estudios sobre RCC en microorganismos modelo como *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, no se sabe el funcionamiento de la RCC en el género *Streptomyces* (1). Existen evidencias de que en el mecanismo de RCC se encuentra involucrada la glucosa cinasa (Glc) sin embargo aún no se conoce como lleva a cabo su función reguladora (2). En nuestro grupo de trabajo, se ha observado que el gen *SCO2127*, contiguo y corriente arriba de *glk* ejerce un efecto positivo sobre la actividad de Glc y sobre el transporte de glucosa en *S. peucetius* var. *caesius*(3).

Debido a la importancia que parece tener este gen sobre Glc y por tanto sobre la RCC, el actual trabajo tiene como objetivo aislar, clonar y secuenciar el gen homólogo a *SCO2127* en *Streptomyces peucetius* var. *caesius*.

**Metodología.** Con base en las secuencias de *Streptomyces avermitilis* y *Streptomyces coelicolor* se diseñaron oligos para amplificar por PCR el fragmento homólogo a *SCO2127* y *glk* en el genoma de *S. peucetius* var. *caesius* (Forward 5'ATG AGC GAA GAG CGC CCC ACG TCCGA 3', Reverse 5'GTC GCT CGA GGA TCC TCA CAT GAT CGG GTC GGG TTC 3'). Una vez amplificados se clonaron ambos fragmentos en el plásmido pGEM-T Easy (*Promega*) y se secuenciaron los vectores para un posterior análisis de secuencias.

**Resultados y discusión.** En un principio se diseñaron varios pares de oligos para amplificar la región correspondiente al gen homólogo *SCO2127*, sin embargo no se obtuvo ninguna amplificación. Debido a lo anterior se decidió usar otra estrategia, probando oligos que se alinearon en *glk* y *SAV6073*, homólogo de *SCO2127* en *S. avermitilis* (Figura 1). Los fragmentos amplificados por PCR tenían un tamaño de 1500 pares de bases lo cual corresponde al tamaño esperado (Figura 2). Las secuencias obtenidas se analizaron por alineamiento en el programa BLAST de la página <http://www.ncbi.nlm.nih.gov> y en la página <http://avermitilis.ls.kitasato-u.ac.jp/>. Los resultados arrojaron una identidad del 92% con el gen *SAV6073* y del 82% con *SCO2127* en su extremo amino y una identidad del 98% con el extremo carboxilo del gen *glk* de *S. peucetius* var. *caesius*. Es importante señalar que se tiene parcialmente secuenciados los extremos amino de *SCO2127* y carboxilo de *Glk*.

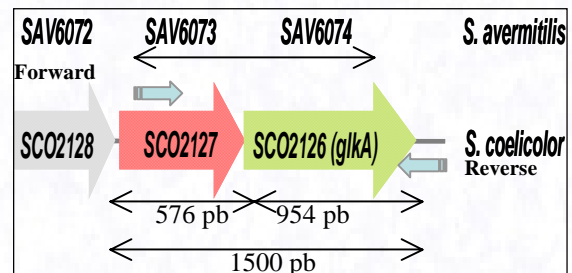


Fig. 1 Esquema de la ubicación del gen *SAV6073* y *SCO2127* en los genomas de *S. avermitilis* y *S. coelicolor*. Las flechas en color azul indican la región donde se alinean los oligos. Las flechas en negro indican el tamaño de cada gen y de ambos respectivamente.

**Conclusiones.** De acuerdo con los resultados el fragmento clonado de 1500 pb contiene las regiones objetivo (*SCO2127* y *glk*) lo cual en posteriores secuenciaciones nos permitirá obtener la secuencia completa del gen homólogo a *SCO2127* en *S. peucetius* var. *caesius*.

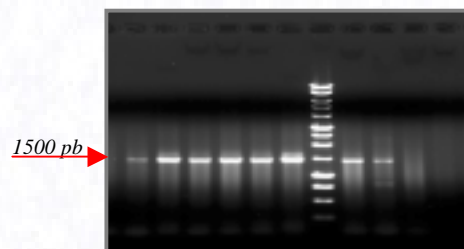


Fig. 2. Fragmento amplificado por PCR de gradiente con un peso de 1500 pb. La  $T_m$  va de 65° a 72°C

**Agradecimiento.** Los autores agradecen el apoyo al desarrollo de este trabajo al proyecto DGPA 202903-3.

### Bibliografía.

1. Titgemeyer F.; Hillen W. (2002) Global control of sugar metabolism: a Gram-positive solution. *Anton. van Leeuw.* 82:59-71.
2. Angell S.; Lewis G. C.; Buttner J. M.; and J. M. Bibb (1994) Glucose repression in *Streptomyces coelicolor* A3(2) a likely regulatory role for glucose kinase. *Mol. Gen. Genet.* 244:135-143
3. Guzmán S.; Carmona A.; Escalante L.; Imriskova I.; López R.; Rodríguez-Sanoja R.; Ruiz B.; Servín-González L.; Sánchez S. and Langley E. (2005). Pleiotropic effect of the *SCO2127* gene on the glucose uptake, glucose kinase activity and carbon catabolite repression in *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. *Microbiol.* 151:1717-1723