

CONTROL DE LA PRODUCCIÓN DE AVERMECTINAS Y LA DIFERENCIACIÓN POR EL GEN SAV2511 INDUCIDA POR ESTRÉS OSMÓTICO, EN *Streptomyces avermitilis*.

Octavio Godínez^a, Paul Dyson[§], Javier Barrios^a, Araceli Tomasini^a y Armando Mejía^{a*}

^aAv. Sn Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, CP 09340, Iztapalapa, México DF, fax: 5804-4712,

[§]University of Wales Swansea, Singleton Park, Swansea SA2 8PP, U.K.

*e-mail: ama@xanum.uam.mx.

Palabras clave: *Streptomyces*, avermectina, estrés osmótico.

Introducción. El metabolismo secundario ha sido fuente de explotación de productos como los antibióticos (rifamicina y estreptomicina), antiparasitarios (avermectinas) (3). Sin embargo debido a las demandas actuales, ha sido necesario desarrollar nuevas tecnologías que permitan optimizar la producción de estos metabolitos.

En general, las especies de *Streptomyces* exhiben un complejo ciclo de vida, el cual involucra la formación de un micelio terrestre y un micelio aéreo, con la posterior formación de grupos de esporas; estos procesos están altamente regulados e involucran vías metabólicas específicas, como la de los metabolitos secundarios (1). La iniciación de la biosíntesis de dichos metabolitos ocurre cuando la tasa de crecimiento disminuye y es acompañada por la transición morfológica del micelio vegetativo hacia la formación de la hifa aérea. El estudio de diversos genes involucrados en este complejo proceso, se ha llevado a cabo, particularmente en *S. coelicolor*, sin embargo, es importante aprovechar estos conocimientos en actinomicetos de interés industrial, tal es el caso de *S. avermitilis*, productor de la familia de antiparasíticos conocidos como avermectinas, cuya demanda cada día es mayor a nivel mundial.

Así pues, el objetivo del presente trabajo es observar el efecto de la interrupción del gen SAV2511 sobre la diferenciación y morfología, en condiciones normales y de estrés osmótico. Y posteriormente evaluar su efecto sobre la producción de avermectinas.

Metodología. Se clonó el gen SAV2511 en pME6 para obtener el plásmido pMBSa1, se realizó una subclonación y se obtuvo el plásmido pMBSa2L. Posteriormente se le insertó el trasposon Tn5062 (con resistencia a Apramicina) dentro del gen, dando lugar al plásmido pMBTn2. Con este plásmido se transformó *E. coli* ET, y por conjugación se transformó a *S. avermitilis*. Se aisló DNAt de las transformantes para realizar un Southern Blot y confirmar la presencia del gen con el transposón. Las transformantes obtenidas con el gen SAV2511 interrumpido se estudiaron en el medio SFM en presencia de KCl 200mM como osmolito.

Resultados y discusión. Se observó una temprana esporulación en los mutantes 3 y 5 con respecto a la progenitora (fig 1A y 1B). Además bajo condiciones de estrés osmótico, las 6 mutantes seleccionadas son incapaces de formar micelio aéreo (fig 2A y 2B).



Fig.1. Fenotipo de los mutantes en SAV2511; medio SFM, 3 días (A), y 5 días (B).



Fig.2. Fenotipo de los mutantes en SAV2511. Medio SFM-KCl 200mM 3 días (A) y 5 días (B).

Lo observado es consistente con Bishop y col. (3), quienes observaron el mismo efecto del osmolito sobre el crecimiento, esto en *S. coelicolor*. Con esto se demuestra que el gen SAV2511 en *S. avermitilis* tiene una función similar a la del gen *osaB* en *S. coelicolor*. Actualmente estamos investigando el papel de este gen en la biosíntesis de avermectinas.

Conclusiones. El gen SAV2511 está involucrado en el proceso de diferenciación inducido por estrés osmótico.

Agradecimientos. Este trabajo está financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT, México.) (SEP-2003-C02-44911).

Bibliografía

1. Lamb, C. David., Ikeda, Haruo., Nelson, R. David., Ishikawa, Jun., Skaung, Tove., Jackson, Colin., Omura, Satoshi., Waterman, R. Michael y Kelly, L. Steven. 2003. Cytochrome P450 complement (CYPome) of the avermectin-producer *S. avermitilis* and comparison to that of *S. coelicolor*. *Biochem Bioph Res Comm* 307. 610-619.
2. Pitman, A., Herron, P y Dyson, Paul. (2002) Cointegrate resolution transposition of Tn 1792 in *Streptomyces avermitilis* facilitates analysis of transposon-tagged genes. *J. Microbiol Methods* 49, 89-96
3. Amy Bishop., Sue Fielding., Paul Dyson y Paul Herron. 2004. Systematic Insertional mutagenesis of a streptomycete genome: A link between osmoadaptation and antibiotic production. *Genome Res* 14: 893-900.