

¿CUÁL ES EL PAPEL DEL GEN SC6E10.21C DENTRO DEL FENÓMENO DE REPRESIÓN CATABÓLICA POR FUENTE DE CARBONO EN EL GÉNERO *Streptomyces*?

Silvia Guzmán, Beatriz Ruiz, Laura Escalante, Alonso Carmona y Sergio Sánchez
Depto. Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, U.N.A.M., Ciudad Universitaria
C.P. 04510, Apto. Postal 70228. México, D.F. Tel. 5622-3867, Fax 5622-3855, email: sersan@servidor.unam.mx

Palabras clave: Represión catabólica por carbono, *Streptomyces*, SC6E10.21c

Introducción. La represión catabólica por fuente de carbono (RCC) es un mecanismo por el cual los microorganismos utilizan las fuentes de carbono de una manera estrictamente jerárquica. Este proceso de regulación para las bacterias G(+) con alto contenido de GC, es distinto de los descritos para bacterias G(-) como *Escherichia coli*, y para bacterias G(+) de bajo contenido de GC como *Bacillus subtilis* (1). El proceso regulatorio de estos últimos grupos, implica al sistema de fosfotransferasa dependiente de fosfoenolpiruvato (PTS). En el género *Streptomyces* se sabe que el sistema PTS existe sólo para fructosa, pero que éste no participa en la RCC (2). En estudios con *Streptomyces coelicolor*, se ha observado que mutantes con fenotipo *glk*⁻ (sin glucosa cinasa) son insensibles a RCC y que, al complementarlas con el gen *glkA*, se restaura la actividad enzimática y sólo parcialmente la sensibilidad a RCC. El completo restablecimiento de la sensibilidad se obtiene al introducir dos genes: *glkA* y SC6E10.21c que se localiza corriente arriba del primero (3). A pesar de estas observaciones, aún no se conoce el papel de este último gen dentro de la RCC.

Este trabajo tiene por objeto determinar el efecto del gen SC6E10.21c sobre el mecanismo de RCC por glucosa en el género *Streptomyces*, utilizando a *S. peucetius* var. *caesius* (microorganismo productor de antraciclinas) y a *S. coelicolor* (organismo modelo) como sujetos de estudio.

Metodología. Cepas mutantes de *S. peucetius* var. *caesius* con baja actividad de Glk y afectadas en su transporte de glucosa (2-dog^R-21, 2-dog^S-2 y 2-dog^S-11), fueron transformadas con los genes SC6E10.20c (*glkA*) y SC6E10.21c de *S. coelicolor* utilizando a pIJ486 como vector. Se midió actividad de Glk, transporte de glucosa y sensibilidad a RCC en las cepas transformadas (4). Se hicieron ensayos tipo Northern y Southern blot de los ácidos nucleicos provenientes de *S. coelicolor* y *S. peucetius* var. *caesius* (cepa silvestre), usando como sonda los genes SC6E10.21c y SC6E10.20c generados por PCR, a partir del ADN de *S. coelicolor*.

Resultados y discusión. Se verificó que *glk* y SC6E10.21c estuvieran organizados genéticamente de modo similar en *S. coelicolor* y *S. peucetius* var. *caesius* por Southern blot. Posteriormente, con el fin de elucidar un posible papel del gen SC6E10.21c dentro del mecanismo de RCC, las tres cepas mutantes de *S. peucetius* var. *caesius* fueron transformadas con los genes SC6E10.21c y *glkA* de *S. coelicolor* ya sea juntos o por separado. Al transformarlas con el gen *glkA* se recupera la actividad de Glk de las cepas mutantes, la sensibilidad a RCC y no hay ningún efecto

sobre el transporte de glucosa. Sin embargo, al introducir solamente el gen SC6E10.21c se recupera la actividad de Glk, la sensibilidad a RCC y el transporte de glucosa. El mismo resultado se observa en las cepas mutantes transformadas con ambos genes. Adicionalmente, se había probado que la enzima Glk de estas cepas mutantes presenta un patrón electroforético en zimograma semejante al de la cepa silvestre. Esto nos indica que probablemente las diferencias en actividad de Glk que se observan en las mutantes, no se deban a mutaciones en la enzima. De este modo, el hecho de que al introducir el gen SC6E10.21c se haya recobrado tanto actividad de Glk como el transporte de la glucosa en las cepas mutantes, podría indicar que este gen se encuentra coordinando ambas actividades. Angell y colaboradores (3) especulaban que este gen podría codificar para una proteína de transporte o del metabolismo de la glucosa, sin embargo, no encontraron un transcrito. En el laboratorio, para buscar dicho mRNA, se hicieron ensayos tipo Northern blot de *S. coelicolor* y de *S. peucetius* var. *caesius*. Los resultados muestran un transcrito con el tamaño esperado para el gen SC6E10.21c, en ambas cepas de *Streptomyces*. Lo anterior nos indicaría que es probable se genere una proteína a partir de este gen, sin embargo, aún faltan otros estudios para confirmarlo.

Conclusiones. Los resultados obtenidos hasta ahora, sugieren que el gen SC6E10.21c es un modulador de la actividad de la Glk y del transporte de glucosa y en consecuencia puede estar relacionado con la RCC en *Streptomyces*.

Agradecimientos. Trabajo financiado en parte por los proyectos de CONACYT 33830-B y DGAPA-UNAM IN208000.

Bibliografía

1. Titgemeyer, F., Hillen, W. (2002) Global control of sugar metabolism: a Gram-positive solution. *Antonie van Leeuwenhoek* 82:59-71.
2. Nothaft, H., Parche, S., Kamionka, A. y Titgemeyer, F. (2003) In vivo analysis of HPr reveals a fructose-specific phosphotransferase system that confers high-affinity uptake in *Streptomyces coelicolor*. *J. Bac.* 185(3): 929-937.
3. Angell, S., Schwarz, E. and Bibb, J. (1992) The glucose kinase of *Streptomyces coelicolor* A3(2): its nucleotide sequence, transcriptional analysis and role in glucose repression. *Mol. Microbiol.* 6(19): 2833-2844.
4. Escalante, L., Ramos, I., Imriskova, I., Langley y Sánchez S. (1999) Glucose repression of anthracycline formation in *Streptomyces peucetius* var. *caesius*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 52: 572-578.