



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## IMPLICACIONES EVOLUTIVAS Y FUNDAMENTOS MECANÍSTICOS DE LA PROMISCUIDAD ENZIMÁTICA USANDO COMO MODELO ACTIVIDADES REDUCTASAS EN *Streptomyces*

Verdel-Aranda Karina & Barona-Gómez Francisco

Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional-Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad Km. 9.6 Libramiento Norte Carr. Irapuato-León 36821 Irapuato, Gto. kverdel@ira.cinvestav.mx

**Palabras clave:** promiscuidad catalítica, adecuación, *Streptomyces coelicolor*

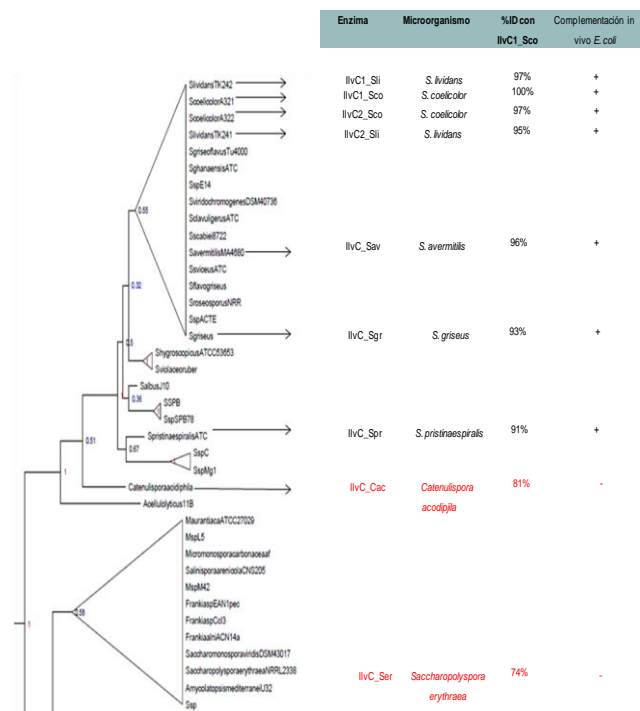
**Introducción.** La promiscuidad enzimática se puede concebir de dos maneras, la misma reacción química en el mismo sitio activo con diferentes sustratos (ambigüedad de sustratos) o con una química de reacción diferente (promiscuidad catalítica)<sup>1</sup>. En nuestro laboratorio, estamos interesados en el entendimiento de la evolución y diversidad del metabolismo teniendo como modelo al actinomiceto más estudiado *Streptomyces coelicolor*, que presenta una gran plasticidad en su metabolismo. En este microorganismo se han encontrado algunos ejemplos de enzimas que podrían ser consideradas como catalíticamente promiscuas; tal es el caso de la acetohidroxi isómero reductasa (AHIR, IlvC, EC 1.1.1.86), la cual tiene actividad (promiscua) pirrolina-5-carboxilato reductasa (P5CR, ProC, EC 1.5.1.2)<sup>2</sup>.

El objetivo de este trabajo es estudiar el impacto de la promiscuidad de homólogos de la enzima AHIR en la adecuación de *S. coelicolor*, teniendo como marco conceptual la "síntesis funcional" que tiene como objeto ligar cambios en la función molecular con fenotipo y adecuación organismal<sup>3</sup>.

**Metodología.** Con ayuda de una delimitación filogenética y genómica comparativa ligada a acercamientos de biología molecular y bioquímica, se escogerán algunos homólogos de AHIR que serán analizados por complementación *in vivo* de la actividad P5CR primero en *Escherichia.coli*, luego en *S. coelicolor* para lo cual se deberán construir las mutantes con deleciones en los genes de interés (SCO3337, SCO5514 y SCO7154). Se cuantificará la promiscuidad enzimática con un set de sustratos mediante un índice de promiscuidad<sup>4</sup> y posteriormente se determinará una condición en el laboratorio para medir el impacto de estas enzimas promiscuas en la adecuación de *S. coelicolor*.

**Resultados.** Hasta el momento se han analizado 9 homólogos de AHIR, 7 de ellos pertenecientes al grupo de los streptomycetos y los otros dos a bacterias más alejadas filogenéticamente mostrando que al menos en la complementación *in vivo* en *E. coli* solo las de streptomycetos son promiscuas. Se tienen al menos otros 5 homólogos más para ser analizados por sus características y relación filogenética con la enzima de *S.coelicolor*. Asimismo, se tiene ya un set de sustratos

con los cuales se determinará el índice de promiscuidad de las enzimas analizadas *in vivo*.



**Fig. 1** Der. árbol filogenético (MrBayes 3.1.2) de homólogos de AHIR presentes en actinobacterias, el clado superior agrupa a los streptomycetos que son parte esencial de este trabajo y algunos otros (*C. acidiphila* y *S. erythraea* en rojo) que han sido analizados en términos de la promiscuidad enzimática de dicha enzima. Izq. Resultados de la complementación *in vivo* en *E. coli* de las proteínas AHIR con actividad promiscua de P5CR.

**Conclusiones.** Con los resultados que se tienen hasta el momento se ha podido observar que la promiscuidad de AHIR para la actividad de P5CR está restringida al género *Streptomyces*, sin embargo se tiene contemplado analizar estos homólogos en el contexto genómico de *S.coelicolor* para lograr asociar esta propiedad con la adecuación.

### Bibliografía.

1. Khersonsky O., Tawfik DS. (2010) *Annu. Rev. Biochem.* 79
2. Barona-Gómez F, Hodgson DA.(2010). *J Mol Microbiol Biotechnol.* 354
3. Dean MA, Thornton JW. (2007)*Nat. Rev. Genet.* 8 675-688.
4. Nath A, Atkins WM (2008) *Biochemistry* 47 157–66