

FUSIONES LacZ-PROMOTOR Cr1A PARA ESTUDIAR EL EFECTO DE LAS CONDICIONES DE PROCESO SOBRE LA EXPRESION DE LOS GENES Cry 1A

Víctor Eric López y López, Mayra de la Torre Martínez
 Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del CINVESTAV-IPN
 Av. Instituto Politécnico Nacional 2508, San Pedro Zacatenco, C.P. 07300, México D.F.
 Tel: 57473800 ext. 4360 Fax: 57473800 ext. 4305, mmdelato@mail.cinvestav.mx

Palabras clave: *Bacillus thuringiensis*, Cry, esporas

Introducción. *Bacillus thuringiensis* (Bt) es el bioinsecticida más importante ya que representa el mayor volumen de los producidos a nivel mundial. Numerosos genes que codifican a las proteínas Cry están localizados en plásmidos. Diversos estudios se han realizado acerca de la regulación y expresión de estos genes Cry utilizando plásmidos que contienen la fusión de las regiones reguladoras de Cry con *LacZ*. Desde un punto de vista de proceso, estas herramientas pueden ser utilizadas para facilitar la cuantificación de las proteínas de interés. En este trabajo se utilizó una cepa acristalifera de Bt construida con el gen reportero de *LacZ*, con el fin de observar su comportamiento en las condiciones utilizadas por Farrera² et al. en cultivos en lote y comparándolo con los datos reportados por él, determinando si este gen es capaz de responder a condiciones de proceso con medios industriales tal como la cepa nativa de Bt HD73.

Metodología. Se utilizó una cepa recombinante de Bt Cry(-) pHT304-18Z, el plásmido contiene un fragmento de 362 pares de bases que contiene la región promotora de cry1Aa. Se utilizaron tres concentraciones de sólidos totales iniciales (C_{ST}) en el medio de 40, 90 y 150 g·L⁻¹ en el medio propuesto por Farrera et al.² en un reactor Chemap Ag de 7 L.

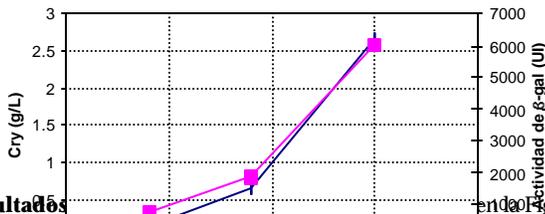
una idea clara de cómo se comportaría el gen de Cry a lo largo de la fermentación, de una manera más rápida y sencilla, de la que normalmente se utilizaría en la cuantificación de Cry, por lo que es una herramienta útil para evaluar el efecto de las condiciones de proceso sobre la expresión de los genes Cry.

Agradecimientos. Personal PPF (CINVESTAV). Conacyt, proyecto Z-001 y beca de Eric López. D. Lereclus por el plásmido y B. Xocostle por la cepa.

Bibliografía.

1. Bravo, A., Salameitou, S. Agaisse, H. Lereclus, D. (1996). Analysis of Cry1Aa expressions in sigE and sigK mutants of *Bacillus thuringiensis*. *Mol. Gen. Genet.* 250:734-741.
2. Farrera R. R., Pérez-Guevara, de la Torre M. (1998). Carbon:nitrogen ratio with initial concentration of total solids on insecticidal crystal protein and spore production in *Bacillus thuringiensis* HD-73. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 49: 758-765.

Resultados



sugieren que el perfil de actividad de β -gal en función de la C_{ST} es muy semejante al que presenta Cry en la cepa nativa² ya que si esta presentando un cambio en función de las condiciones probadas. Sin embargo no es el caso de las curvas de esporas de la cepa

Figura 1. Concentración de Cry y actividad de β -galactosidasa en función de la C_{ST} . Δ Cry, ∇ β -gal.

para poder tener una idea más clara del comportamiento del gen reportero, se compararon la relación específica de actividad de β -gal con la relación específica de Cry, tomando como la unidad las cinéticas de 40 g·L⁻¹ y considerando la máxima concentración de esporas en ambos casos. Esto nos da las veces en que esta relación aumentó (Tabla 2).

Tabla 1. Comparación de la actividad específica de β -gal y la producción específica de Cry.

C_{ST}	Actividad Específica de β -gal	Veces más con respecto a 40 g·L ⁻¹	Producción específica de Cry	Veces más con respecto a 40 g·L ⁻¹
40	3256	1	0.71	1
90	5332	1.7	0.90	1.3
150	7904	2.4	2.53	3.6

Esta información hace evidente que el gen tiene un comportamiento que refleja que el aumento no es directamente proporcional al incremento de esporas, al igual que al gen de Cry 1Ac en la cepa nativa².

Conclusiones. Para fines prácticos el uso la cepa de Bt Cry(-) pHT304-18Z con *LacZ* como gen reportero de la proteína Cry nos da