

CLONACIÓN DEL GEN QUE CODIFICA PARA UNA METILTRANSFERASA DE *MICROMONOSPORA ECHINOSPORA* PARA LA SÍNTESIS DE UN LANTIPÉPTIDO.

Yvette Ximena González López, Sergio Sánchez.

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México. 04510. ximegon299@gmail.com

Palabras clave: RIPPs, lantipéptidos, actividad antimicrobiana

Introducción. Con la finalidad de combatir microorganismos resistentes a los antibióticos conocidos, se han buscado nuevos compuestos con actividad antimicrobiana. Entre ellos se encuentran los lantipéptidos de clase I, los cuales son péptidos que tienen en su estructura lantioninas y metilantioninas (1). Estos compuestos son sintetizados a partir de la modificación postraduccional de LanA (péptido precursor) por las enzimas LanB (deshidratasa) y LanC (ciclasa) (2). Estudios recientes han detectado la participación de una enzima metiltransferasa, la cual tiene la capacidad de generar arreglos en la estructura del péptido (3). De acuerdo con Grigoreva (2021), la participación de enzimas metiltransferasa genera un drástico aumento en la actividad antimicrobiana del lantipéptido (4).

El objetivo de este proyecto es llevar a cabo la clonación del gen *metiltransferasa* presente en un clúster que codifica la síntesis de un lantipéptido de clase I en el genoma de *Micromonospora echinospora*.

Metodología. Se amplificó el gen *metiltransferasa* a partir del DNA genómico de *M. echinospora* utilizando la técnica PCR. Paso seguido se realizó una clonación tradicional (5) utilizando las enzimas de restricción *EcoRI* y *HindIII*, además de una ligasa T4 para unir al gen con el vector pRSFC.S. La construcción previamente hecha fue transformada en células competentes de *E. coli* Top10 y posteriormente se buscaron colonias candidatas.

Resultados. Análisis bioinformático. Utilizando la herramienta antiSMASH 6.0 fue posible identificar la presencia de un clúster que codifica las enzimas y el

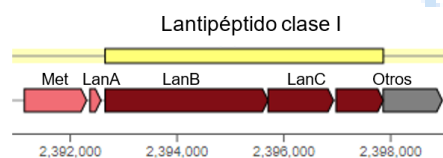


Fig. 1. Organización de los genes en el clúster biosintético 1.7 asociado a la producción de un lantipéptido de clase I identificado en el genoma de *M. echinospora*.

péptido precursor necesario para llevar a cabo la síntesis de un lantipéptido de clase I.

Clonación del gen *metiltransferasa*. Para confirmar la clonación, se extrajo plásmido de 2 colonias candidatas y posteriormente se realizó una digestión utilizando enzimas de restricción.

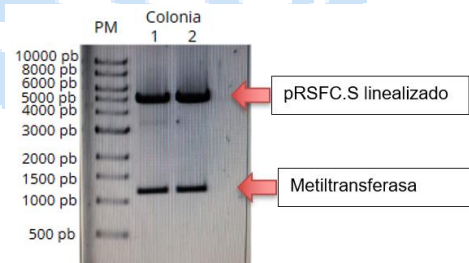


Fig. 2. Digestión de pRSFC.S-Met. El análisis se llevó a cabo en gel de agarosa 0.8%. Carril 1: marcador de peso molecular; Carril 2: digestión del plásmido extraído de la colonia 1; Carril 3: digestión del plásmido extraído de la colonia 2. Ambos plásmidos fueron digeridos con las enzimas de restricción *EcoRI* y *HindIII*.

Los resultados de la secuenciación mostraron que la construcción de la colonia 1 no tiene mutaciones. La colonia 2 tiene un intercambio de una citosina por una timina en la posición 1021 del gen.

Conclusiones. *M. echinospora* es una bacteria con capacidad potencial para la producción de lantipéptidos. A partir de su DNA genómico se logró la construcción pRSFC.S-Met, en donde se clonó el gen que codifica la síntesis de una enzima metiltransferasa sin mutación alguna.

Bibliografía.

1. Repka, L.M., Chekan, J.R., Nair, S.K., & Van Der Donk, W. A. (2017) *Chemical reviews*. 117(8): 5457-5520.
2. Nagao, J.I., Harada, Y., Shioya, K., Aso, Y., Zendo, T., Nakayama, J., & Sonomoto, K. (2005) *BBRC*. 336(2): 507-513.
3. Acedo, J.Z., Bothwell, I.R., An, L., Trouth, A., Frazier, C., & Van Der Donk, W.A. (2019) *JACS*. 141 (42):16790-16801
4. Grigoreva, A., Andreeva, J., Bikmetov, D., Rusanova, A., Serebryakova, M., Garcia, A.H. & Dubiley, S. (2021) *IScience*. 24(5), 102480
5. Pacheco, C., Ferrer, E., & Herrera, F. (2019) *Rev Saber UDO*. 31, 363-371