

## EXPRESIÓN DEL GEN DE LA BEAUVERICINA SINTETASA EN UN CULTIVO EN MEDIO SÓLIDO.

José Norberto Vásquez Bonilla<sup>1</sup>; Juan Esteban Barranco Florido<sup>2</sup>; Edith Ponce Alquicira<sup>3</sup>; Octavio Loera Corral<sup>4</sup>; <sup>1</sup>Doctorado en Biotecnología, <sup>2</sup>Departamento de Sistemas Biológicos. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Ciudad de México C.P.09340. Correo electrónico del responsable del trabajo: norberto.vasquez.bonilla@gmail.com  
*Palabras clave:* Cultivo en medio sólido, Beauvericina, Beauvericina sintetasa.

**Introducción.** La beauvericina (BEA) es una micotoxina de interés industrial y farmacéutico que posee una gran variedad de actividades biológicas como: insecticida, antimicrobiana, antifúngica, antiviral y antitumoral, así como interesantes mecanismos de acción<sup>1</sup>. Algunos hongos como *Beauveria bassiana* (*B. bassiana*) y *Fusarium sp.* producen BEA mediante una vía no ribosomal por la enzima beauvericina sintetasa codificada por el gen *bbBeas*.<sup>2</sup> El cultivo en medio sólido (CMS) se caracteriza por su bajo costo, alta productividad de compuestos bioactivos y como alternativa frente al cultivo líquido o sumergido. El CMS provee al microorganismo de tres fases para su desarrollo; una fase líquida, una sólida y una gaseosa que se asemejan al ambiente natural del microorganismo lo que contribuye a la producción de componentes activos como metabolitos secundarios.<sup>3</sup> Debido a que no se han explorado las ventajas que puede tener el CMS en la producción de BEA, el objetivo de este trabajo fue determinar los patrones de expresión del gen *bbBeas* en un CMS.

**Metodología.** El microorganismo utilizado fue *B. bassiana* cepa 882.5. El medio de cultivo contenía (g·L<sup>-1</sup>): (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 6; MgSO<sub>4</sub>, 1.2; NaCl, 1; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 15; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0.1; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.028; MnSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O, 0.032; sacarosa, 10; como inductor para la expresión de *bbBeas* se utilizó caparazón de camarón (60 g·L<sup>-1</sup>) y bagazo de caña como soporte sólido.<sup>4</sup> Los niveles de expresión se compararon a los 6, 9 y 12 días de cultivo mediante la técnica de densitometría de banda en gel de agarosa, a partir de los productos de RT-PCR con los oligonucleótidos: Foward: 5'-ATT GGA TGA TGG CTA CAC CG-3' y Reverse: 5'-CTT TCC GGT GGC AGT GCG-3' diseñados basándose en las secuencias conservadas del alineamiento del gen de la beauvericina sintetasa en diferentes cepas de *B. bassiana* y *Fusarium sp.* utilizando el programa de Mega 7, como control positivo se utilizó el gen ribosomal 18S.

**Resultados.** El producto de RT-PCR obtenido tuvo una longitud de 778 pb; según la base de datos de GenBank de nucleótidos, es 97% idéntico al gen de la beauvericina sintetasa. Los niveles de expresión mostraron que el gen se expresó en todos los tiempos de cultivo, sin embargo, la mayor expresión se alcanza a los 9 días de cultivo (Fig.1) lo que se relaciona con lo encontrado por Jiang *et al.*,<sup>5</sup> que determinan que la mayor concentración de BEA en un modelo de infección *in vivo* de *B. bassiana* se encuentra alrededor de los 9 días (Fig. 2).

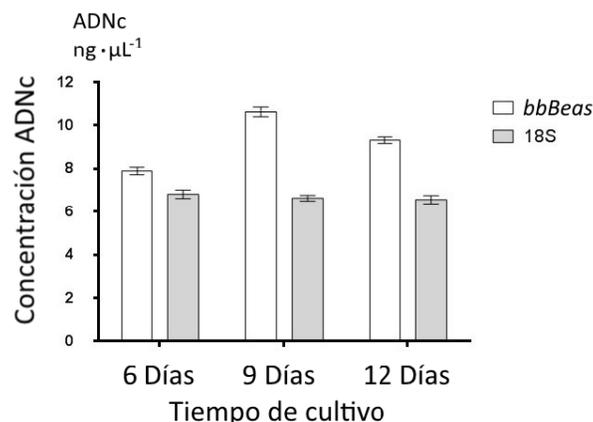


Fig. 1. Cuantificación de la expresión del gen *bbBeas* por densitometría.

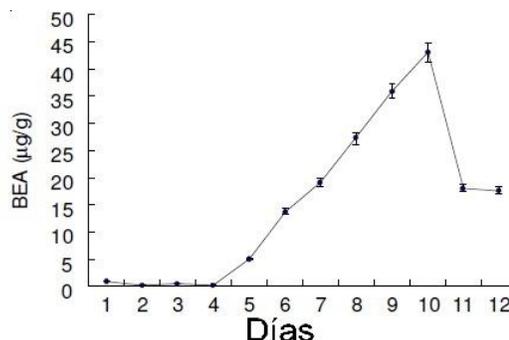


Fig. 2. Concentración de BEA en el cuerpo del gusano de seda (*Bombyx batryticatus*) infectado con *B. bassiana* (modificada de Jiang *et al.*, 2013)

**Conclusiones.** Los oligonucleótidos diseñados son adecuados para el monitoreo de los niveles de expresión del gen *bbBeas*, además existe una clara relación entre los niveles de expresión de este gen en el CMS y la producción de BEA reportada en modelos de infección *in vivo* de *B. bassiana*.

**Agradecimientos.** Se le agradece a CONACyT por el apoyo económico otorgado durante esta investigación y a la Universidad Autónoma Metropolitana.

### Bibliografía.

- Vásquez-Bonilla *et al.*, (2017) Rev. Mex. Cienc. Farm. 48:17-27.
- Wang Q & Xu L (2012) *Molecules*. 17(3): 2367-2377.
- Thomas L, Larroche C & Pandey A (2008) *Biochem. Eng. J.* 81:146-161.
- Barranco-Florido *et al.*,(2002) *Enzyme. Microb. Technol.* 30:910-915.
- Jiang X, Chen YJ & Shi LG (2013) *Chem. Asian. J.* 12:6693-6696.