

ESTUDIO DE UN REGULADOR TIPO GntR SOBRE LA REPRESIÓN POR CARBONO EN *Streptomyces coelicolor*.

Montserrat Manzo, Alba Romero, Beatriz Ruiz, Sergio Sánchez

Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, México D. F., A.P. 70228, C.P. 04510; monse27@comunidad.unam.mx

Palabras clave: *Streptomyces*, regulación por carbono, regulador transcripcional.

Introducción. Las bacterias del género *Streptomyces* son importantes industrialmente por su capacidad de producir una gran variedad de metabolitos secundarios (1). Sin embargo, se conoce poco acerca de los mecanismos de regulación que afectan su producción (2). Uno de los mecanismos de regulación más estudiados es la represión catabólica por carbono (RCC), mecanismo que controla la expresión de genes involucrados en el transporte y metabolismo de fuentes de carbono alternativas. En *Escherichia coli* y *Bacillus subtilis*, el sistema PTS tiene un papel preponderante, pero no en *Streptomyces* pues está limitado a fructosa y N-acetilglucosamina (3). En *Streptomyces*, la RCC tiene un mecanismo dependiente y otro independiente de la glucosa cinasa de ATP (ATP-Glk). Se ha propuesto que en la RCC dependiente de ATP-Glk, la cinasa participa en conjunto con reguladores transcripcionales (RT) para regular la expresión de genes (2,4). En un análisis transcripcional realizado en *S. coelicolor* M145 en condiciones represoras (glucosa 0.5% + agar 0.5%) se identificaron 134 genes dependientes de ATP-Glk, 9 de estos genes fueron RT que probablemente sean los efectores en la RCC. De estos RT, dos pertenecen a la familia GntR, uno a la familia LuxR, otro a la familia SARP, cuatro pertenecen a la familia MerR, y también se identificó a ArgR (2). En el presente estudio se predijeron los sitios de unión y genes blanco de los 9 RT, permitiendo la selección de uno de ellos para evaluar su contribución en la RCC en *S. coelicolor*.

Metodología. Para la predicción de los sitios de unión se extrajeron las secuencias -400 a +50 de los RT y 10 de los ortólogos de cada RT y se analizaron en el programa MEME. Las secuencias obtenidas se alinearon con una base de datos que contenía las secuencias -400 a +50 de los 134 genes dependientes de ATP-Glk para obtener los genes blanco, utilizando el programa MAST. Se identificó al RT que tenía un mayor número de genes blanco involucrados en el metabolismo del carbono y se eliminó el gen mediante la metodología de PCR-targeting (5). Se evaluó el efecto de la mutación al comparar en condiciones represoras a *S. coelicolor* M145 y la cepa $\Delta gntR1$ en el consumo de glucosa, la actividad de la ATP-Glk, la producción de antibióticos y la expresión de 3 genes blanco putativos del RT (2).

Resultados. De acuerdo al análisis bioinformático, ambos reguladores de la familia GntR tuvieron un alto número de genes blanco. Debido a que el denominado GntR1 tuvo resultados estadísticamente más significativos que los obtenidos con el denominado GntR2, se decidió generar la mutante $\Delta gntR1$. La mutante $\Delta gntR1$ mostró una velocidad de consumo de glucosa mayor en comparación a la cepa M145, probablemente debido a que la cepa mutante también mostró una mayor actividad de la ATP-Glk. Adicionalmente, la cepa mutante

produjo más antibióticos en comparación con la cepa M145, indicando que la cepa mutante no presenta RCC en la producción de la producción de antibióticos (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación fisiológica entre *S. coelicolor* M145 y la mutante $\Delta gntR1$. Incubación de 144 h.

Medición	Velocidad de consumo de glucosa	Actividad ATP-Glk	Producción de undecilprodiosina	Producción de actinorrodina
M145	0.49 mM/h	120 U/mg	2.2 μ mol/g	8.6 μ mol/g
Mutante	0.66 mM/h	249 U/mg	3.0 μ mol/g	14.3 μ mol/g

De la lista de genes blanco putativos de GntR1 se eligieron a los genes *glkA*, *gntR2* y *luxR* para medir su expresión. Debido a que en los cultivos se utilizó agar como segunda fuente de carbono, también se cuantificó la expresión del gen *dagA*, responsable del primer paso de la degradación de agar y que está sujeto a RCC. La expresión de los genes demostró una expresión diferencial en los genes blanco putativos de GntR1, y que la actividad alta de ATP-Glk en la cepa mutante tiene correlación con su expresión elevada (Fig. 1). Además, se eliminó la represión ejercida por la presencia de glucosa y la ATP-Glk sobre *dagA*.

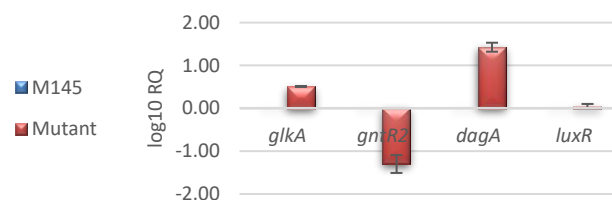


Fig. 1. Comparación de la expresión de genes en *S. coelicolor* M145 y la mutante $\Delta gntR1$.

Conclusiones. La mutación en GntR1 provocó el aumento de la velocidad de consumo de glucosa y la eliminación de la represión de glucosa sobre *dagA*, sugiriendo que GntR1 contribuye en el proceso de RCC.

Agradecimientos. A CONACyT por la beca otorgada para los estudios de posgrado.

Bibliografía.

1. Demain AL (2014). J Ind Microbiol Biotechnol. 41:185-201
2. Romero A et al. (2016). BMC Microbiol 16:77
3. Romero A et al. (2017). World J Microbiol Biotechnol. 33:162
4. Gubbens J et al. (2012). Mol Microbiol. 86:1490-1507
5. Gust B et al. (2003). Proc Natl Acad Sci U S A. 100:1541-6

