

## Caracterización de genes implicados en la biosíntesis de estreptolidigina

---

Dina H. Horna, Cristina Gómez, Carlos Olano Alfredo F. Braña, Carmen Méndez y José A. Salas

### Introducción

La estreptolidigina es un antibiótico perteneciente a la familia de los ácidos tetrámicos (Schobert y Schlenk, 2008) producido por *Streptomyces lydicus*. Estudios biosintéticos usando precursores marcados han demostrado la incorporación de propionato, acetato, metionina y ácido glutámico (probablemente en forma de metil-aspartico) en la formación de la estructura principal del antibiótico (Chen y Harrison, 2004; Chen *et al.*, 2006). Estos estudios apuntan a un sistema híbrido policétido sintasa-sintetasa de péptidos no ribosomales para la biosíntesis de estreptolidigina, lo cual se ha confirmado con el reciente aislamiento y caracterización del agrupamiento génico responsable de la biosíntesis del antibiótico (Olano *et al.*, 2009). Dentro de la ruta se han identificado genes encargados de la regulación y secreción del antibiótico y otros genes que codifican proteínas involucradas en el aporte y modificación final del precursor aminoacídico. En esta comunicación se presentan los experimentos de inactivación y expresión de los genes *slgZ* y *slgM*, para demostrar o comprobar su participación en la biosíntesis del antibiótico estreptolidigina.

### Materiales y métodos

Con el fin de demostrar las funciones de *slgZ* y *slgM* en la biosíntesis de estreptolidigina, se inactivaron independientemente ambos genes en *S. lydicus*. Para la delección de *slgZ*, una asparagina sintetasa putativa, se amplificaron dos fragmentos de ADN de 1 kb por PCR del cósmido Slg4A8, usando los oligonucleótidos HEI19/HEI20 (PCR A) y HEI21//HEI22 (PCR B) y clonados en el plásmido pEFBAoriT, flanqueando el gen de resistencia a apramicina y posteriormente se subclonó el gen de resistencia a higromicina, obteniéndose el plásmido pDslgZHyg. Esta construcción fue introducida en *S. lydicus* dando origen al mutante SLMZ por reemplazamiento génico (figura 1a).

La inactivación de *slgM*, una metiltransferasa putativa, fue realizada por amplificación de un fragmento de 900 pb por PCR del cósmido Slg4A8, usando los oligonucleótidos Cris15 y Cris16. Este fragmento fue clonado en el vector pOJ260P originando el plásmido pOJM, posteriormente dicho plásmido fue introducido en *S. lydicus*, obteniendo el mutante SLMM (figura 1b).

