

## TRANSICIÓN DE LA TOXINA Cry1Ab DE *Bacillus thuringiensis* EN EL RECONOCIMIENTO SECUENCIAL DE LOS RECEPTORES CADERINA Y AMINOPEPTIDASA-N: PAPEL DEL ASA 3 DEL DOMINIO II.

Pacheco, S., Gómez, I., Bravo, A. y Soberón, M.

Depto. de Microbiología Molecular. Instituto de Biotecnología-UNAM. Apdo. Postal 510-3 C.P. 62251, Cuernavaca, Mor. Tel: (777) 3 29 16 24, fax: (777) 3 17 23 88. spacheco@ibt.unam.mx, [mario@ibt.unam.mx](mailto:mario@ibt.unam.mx).

### RESUMEN:

Las toxinas Cry1A producidas por *Bacillus thuringiensis* son proteínas con actividad insecticida hacia Lepidópteros. Uno de los pasos importantes en el mecanismo de acción de estas toxinas es el reconocimiento de receptores localizados en el intestino de los insectos blanco. Estas toxinas tienen una alta especificidad, lo cual las hace una alternativa viable para el control de plagas de insectos, pues los productos químicos insecticidas que se han utilizado no son selectivos y se acumulan en el medio ambiente provocando daños secundarios hacia otros organismos incluso al hombre. Se han caracterizado dos proteínas receptoras con una función secuencial: Caderina y Aminopetidasa-N (APN). La interacción de las toxinas Cry1A con caderina promueve la formación de un oligómero, el cual se une al segundo receptor APN y posteriormente se inserta a la membrana formando un poro. La transición de unión entre ambos receptores aun es poco conocida. En este trabajo demostramos que el asa 3 del dominio II de la toxina Cry1Ab tiene un papel importante en este evento. Se generaron mutaciones en el asa 3 de la toxina Cry1Ab, estas mutaciones abaten la toxicidad hacia larvas de *Manduca sexta* y correlacionan con la pérdida de unión a los receptores caderina y APN. Mediante ensayos de unión de la toxina Cry1Ab a vesículas de la microvellosidad media apical del epitelio intestinal (VMMA) de *M. sexta*, se observó que estas mutaciones afectan la unión hacia los receptores presentes en el intestino del insecto. Además realizamos experimentos de unión de Cry1Ab a las vesículas en presencia de las toxinas mutantes como competidores, observando un desplazamiento de la unión de la toxina Cry1Ab, lo cual indica una clara deficiencia de reconocimiento de las mutantes hacia las proteínas receptoras. Finalmente, utilizando anticuerpos monoclonales analizamos el reconocimiento de las asas 2 y 3 de estas mutantes con la finalidad de descartar posibles cambios estructurales en el dominio II, los resultados observados indican una conformación similar al de la toxina silvestre, atribuyendo exclusivamente la pérdida de toxicidad y unión a las mutaciones.