

Resumen

Las bacterias del género *Bacillus*, junto a otros microorganismos como *Pseudomonas*, producen moléculas oligopeptídicas con versatilidad de aplicaciones, denominadas lipopéptidos. Durante el año 2000, Hathout y otros reportaron el hallazgo de un lipopéptido, la kurstakina; llamada así en honor a la variante *kurstaki* HD-1 de *Bacillus thuringiensis*. La biosíntesis es ejecutada por sintetasas peptídicas no ribosomales (NRPS, por sus siglas en inglés) distribuidas como operón en el genoma.

Estudios previos han propuesto su conformación y factores que regulan su expresión, en consecuencia, este trabajo pretende reunir los datos disponibles para explicar el sistema de *Bacillus thuringiensis* en la producción de kurstakinas.

Mediante el uso de distintos softwares bioinformáticos, se describen seis genes; además, un alineamiento múltiple y construcción de un árbol filogenético destaca la exclusividad del operón a especies del clado II dentro del grupo *Bacillus cereus*. Por otro lado, se tomó la parte BBa_K802004 (disponible en el repositorio de iGEM) para su respectiva anotación y uso como vector, entonces, tras un análisis transcriptómico realizado en Galaxy, se propone el reemplazo del promotor de *krs* por la secuencia PrpIU.

Concluyendo, la potencialización de síntesis de kurstakinas es posible de acuerdo al procedimiento *in silico* presentado en este documento y se presenta una propuesta del protocolo a realizar en laboratorio, incluyendo el uso del lipopéptido como biosurfactante.

Palabras clave:

- **LIPOPÉPTIDO**
- **KURSTAKINA**
- **BIOSÍNTESIS**
- **CONSTRUCTO**
- **RENDIMIENTO**

Abstract

Bacteria from *Bacillus* genus, among different microorganisms such as *Pseudomonas*, produce oligopeptide molecules with application versatility, referred as lipopeptides. In 2000, Hathout and colleagues found a brand new lipopeptide family, kurstakin, named after *Bacillus thuringiensis* serovar *kurstaki* HD-1. Biosynthesis is exerted by non-ribosomal peptide synthetases (NRPS), specialized enzymes gathered as operon within bacterial genomic DNA.

Previous research have purposed a description of its conformation and expression regulating factors, thereafter, this document aims to collect current available data in order to explain the mechanism used by *Bacillus thuringiensis* to synthesize kurstakins.

Thus, using a wide branch of bioinformatics software, six genes were described. Furthermore, multiple alignment and phylogenetic tree construction show how operon's distribution is exclusive for clade II in *Bacillus cereus* group. On the other hand, part BBa_K082004 (from iGEM repository) was chosen to be annotated and perform the role of shuttle vector, then, after a transcriptomic analysis executed on Galaxy Project platform, it is suggested to replace *krs* promoter with PrlpU sequence.

To conclude, kurstakin production yield can be enhanced according to *in silico* procedures detailed in this thesis and a protocol plan is purposed for its implementation at laboratory level, including utilization of obtained lipopeptide as biosurfactant.

Keywords:

- LIPOPEPTIDE
- KURSTAKIN
- BIOSYNTHESIS
- CONSTRUCT
- YIELD