



Estudio de la relación entre la subunidad G α Aga1 y el proceso de formación de artrosporas en *Acremonium chrysogenum*

Jesús Eduardo Zúñiga León*, Jéssica Y. Cruz Ramón, Armando Mejía, Francisco Fierro
Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Depto. de Biotecnología, C.P. 09340
México D.F. Tel. 5539143407; *email: pgen10@hotmail.com

Palabras clave: *Acremonium chrysogenum*, Artrosporas, Proteínas G heterotriméricas.

Introducción. El hongo filamentoso *Acremonium chrysogenum* es utilizado industrialmente en la producción del antibiótico cefalosporina C. En cultivos prolongados, *A. chrysogenum* presenta un tipo de diferenciación celular en el que se generan cadenas de artrosporas formadas a partir de una fragmentación directa de hifas hinchadas (1). Este proceso de diferenciación coincide con la máxima producción de cefalosporina (2). Hasta el momento en *A. chrysogenum* se han caracterizado sólo algunos reguladores globales de su desarrollo asexual y su metabolismo secundario como CPC1, AcVEA, AcSEPH y AcATG1, sin embargo, los mecanismos que regulan el proceso de fragmentación de las hifas no son claros.

En este trabajo estudiamos la función de la subunidad G α Aga1 de las proteínas G heterotriméricas en el proceso de formación de artrosporas, ya que en varios hongos filamentosos ha sido demostrado que esta subunidad regula procesos como el metabolismo secundario, desarrollo asexual, conidiación y patogenicidad (3).

Metodología. Se amplificó el gen *aga1* a partir de *A. chrysogenum* ATCC 11550 y se clonó en el vector pJET1.2/blunt. Mediante mutagénesis sitio-dirigida se obtuvieron los alelos dominantes de activación (*aga1*^{G42R} y *aga1*^{Q204L}) e inactivación (*aga1*^{G203R}) constitutiva. Se transformó *A. chrysogenum* con los alelos dominantes y se obtuvieron las cepas mutantes G42R, Q204L y G203R, y mediante una estrategia de doble marcador se obtuvo la cepa Δ *aga1* con el gen *aga1* deletado. Los estudios de artrosporación se realizaron en medio líquido CCM. Las cadenas de artrosporas se analizaron cada 24 h hasta las 168 h de cultivo con la ayuda de un microscopio óptico Olympus CH30RF100.

Resultados. Los alelos *aga1*^{G42R} y *aga1*^{Q204L} expresan una subunidad G α Aga1 constitutivamente activa, mientras que el alelo *aga1*^{G203R} expresa una subunidad G α Aga1 constitutivamente inactiva. Las cepas mutantes G42R, G203R, Q204L y Δ *aga1* mostraron diferencias morfológicas en la formación de artrosporas respecto a la cepa parental (Fig. 1A). Las cepas G42R, G203R y Δ *aga1* presentaron una fragmentación incompleta. La cepa Q204L no formó cadenas de artrosporas a lo largo de todo el tiempo de cultivo (Fig. 1B), mostrando un

efecto negativo sobre la formación de artrosporas. Un comportamiento similar a Q204L fue observado en la cepa de alta producción *A. chrysogenum* A3/2 tras hacerle una delección del gen *cpcR1* (4). Por otro lado, la cepa parental comenzó a formar artrosporas a partir de las 48 h de cultivo y la cantidad fue aumentando considerablemente respecto al resto de las cepas (Fig. 1C).

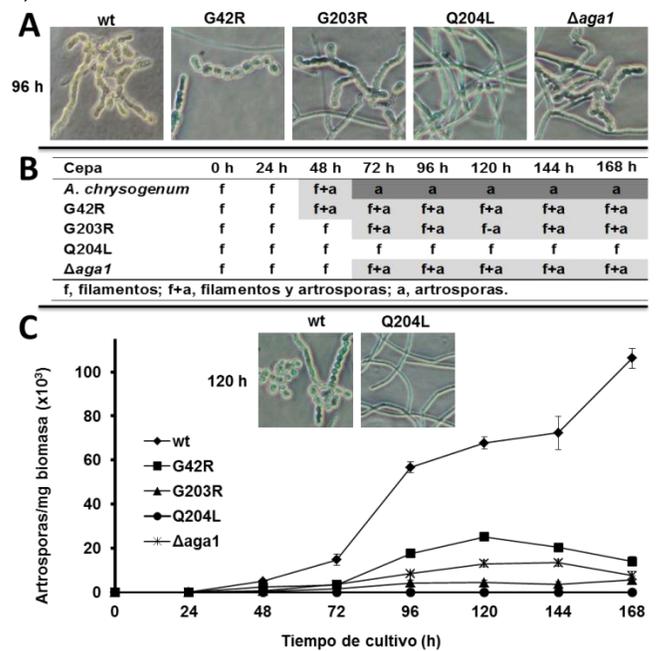


Fig. 1. Formación de artrosporas. **A)** Morfología de las cepas mutantes. **B)** Resumen del análisis morfológico. **C)** Formación de artrosporas en medio CCM.

Conclusiones. La subunidad G α Aga1 regula el proceso de formación de artrosporas, sin embargo, es necesario un ciclo normal de funcionamiento para que el proceso de formación de artrosporas se desarrolle de manera eficiente.

Agradecimiento. A CONACyT por la beca de maestría No. 105527.

Bibliografía.

- Karaffa L., E. Sándor, J. Kozma, A. Szentirmai. (1997). *Process. Biochem.* 32:495-499.
- Nash C. H, F. M. Huber. (1971). *Appl. Microbiol.* 22:6-10.
- Li L., S.J. Wright, S. Krystofova, G. Park, K. A. Borkovich. (2007). *Annu. Rev. Microbiol.* 61:423-452.
- Hoff B, E. K. Schmitt, U. Kück. (2005). *Mol. Microbiol.* 56:1220-1233.