



## EXPRESION DE LA SUBUNIDAD $\beta$ DEL COMPLEJO ENZIMÁTICO ATP SINTASA BAJO CONDICIONES DE HIPOXIA EN EL CAMARÓN PATIBLANCO *Litopeneus vannamei*

Arllett Robles, Gracia Gómez, Fernando García, Adriana Muhlia.  
Mar Bermejo 195, Playa Palo de Santa Rita, La Paz, B.C.S. 23090, México. [fgarcia@cibnor.mx](mailto:fgarcia@cibnor.mx)

*Palabras clave:* ATP sintasa, hipoxia, subunidad  $\beta$ .

**Introducción.** La enzima ATP sintasa juega un papel central en la producción de energía de los organismos vivos. El complejo enzimático cataliza la producción de ATP usando un gradiente de potencial para llevar a cabo la reacción y está compuesto de dos porciones: una embebida en la membrana, llamada F<sub>0</sub>, envuelta en la translocación de protones y la porción F<sub>1</sub> que cataliza la hidrólisis del ATP, compuesta esta última por cinco subunidades denominadas  $\alpha\beta\gamma\delta\epsilon$ .(1). La subunidad  $\beta$  se codifica en el núcleo y participa alternativamente en la síntesis e hidrólisis de ATP. En procesos de regulación provocados por hipoxia en animales estuarinos, se producen cambios en el metabolismo como activación, supresión y aumento de eficiencia en las enzimas, incremento de captación de O<sub>2</sub> por parte de los tejidos, entre otros, dependiendo del curso temporal de la adaptación.

El objetivo del presente es detectar cambios en la expresión del ARNm de la subunidad  $\beta$ , en branquias de animales expuestos a diferentes concentraciones de oxígeno.

**Metodología.** Se analizaron 15 camarones juveniles en intermuda de la especie *Litopenaeus vannamei* aclimatados en las instalaciones del CIBNOR. Las condiciones de salinidad (34 ppm) y temperatura (28 °C) se mantuvieron controladas. Posteriormente se expuso a los organismos a cinco diferentes concentraciones de oxígeno (6, 4, 2, 1.5 y 7 mg/L de oxígeno disuelto). Los organismos se sacrificaron por hipotermia, y se extrajeron las branquias, el ARN total de estos tejidos fue extraído a través del método de TRIZOL (2). Las muestras de ARN fueron tratadas con DNasa I y se preparó el ADNc utilizando 3  $\mu$ g de ARN total y transcriptasa reversa (Super Script III, Invitrogen). La expresión de la subunidad  $\beta$  se evaluó en cada ADNc por densitometría de los amplicones obtenidos en PCR de 27 ciclos. Se utilizaron primers específicos y se normalizó con la expresión del gen de una proteína ribosomal (L8).

**Resultados y discusión.** Al comparar los transcritos de la subunidad  $\beta$  de la ATP sintasa contra el control, se observó un aumento del 30%, en la concentración de 2 mg/L de OD, esto se atribuye a la aclimatación como respuesta al cambio en el medio. Existen reportes del incremento de la subunidad  $\beta$  a nivel transcripcional en carpa a 10°C en comparación a 30°C, esto como antecedente de cambios en la síntesis de las subunidades de la ATP sintasa en respuesta a variaciones en el medio. Se ha sugerido que existen dos tipos de mecanismos

compensatorios que pueden ser empleados, uno es el incremento de la capacidad catalítica de una enzima, el incremento de la concentración de la misma, o ambos.(3) Los cambios detectados semicuantitativamente sugieren un decremento en la expresión de la ATP  $\beta$  conforme disminuye la concentración de O<sub>2</sub>, y, por otra parte, a que se suprimió la trascrición hasta llegar a los 2 mg/L de oxígeno disuelto.

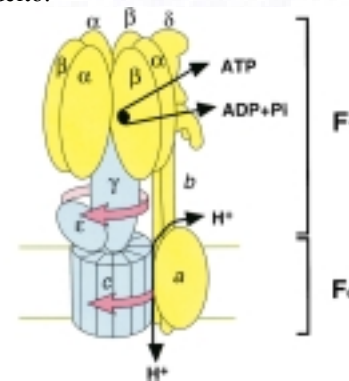


Fig. 1. ATP sintasa, se muestran las subunidades que la componen (4).

**Conclusiones.** La expresión de la subunidad  $\beta$  de la enzima ATP sintasa es reprimida en los primeras horas a 4 mg/L de oxígeno disuelto e inducida un 30% respecto al control en una concentración de 2 mg/L de oxígeno disuelto, evidencia de la aclimatación del organismo y resultado del control transcripcional producido en las condiciones de hipoxia. Estudios más detallados son necesarios para establecer la relación entre el tiempo de exposición a hipoxia y los efectos en la expresión..

**Agradecimientos.** El autor principal agradece a CONACYT por la beca de maestría y al proyecto 48989 otorgado a Adriana Muhlia.

### Bibliografía.

- 1.Boyer, P. (1997). The ATP synthase -a splendid molecular machine-.*Annu. Rev. Biochem.* . 66:717-49.
- 2.Chomczynsky, P. Sacchi, N. (1987). Single step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol-chloroform extraction. *Anal. Biochem.* 162:156-159.
- 3.Itoi, S. Kinoshita, S. Kikuchi, K. Watabe, S. (2002).Changes of carp F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATPase in association with temperature acclimation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.*284:153-163.
- 4.Sambongi, Y. Ueda, I. Futai, M.( 2000). A Biological Molecular Motor, Proton-Translocating ATP Synthase: Multidisciplinary Approach for a Unique Membrane Enzyme. *J Bioenerg Biomembr.*32(5):442-448.