## ¿PEROXISOMAS O MICROSOMAS? ORGANELOS DONDE SE LOCALIZA LA ALCOHOL OXIDASA INVOLUCRADA EN LA DEGRADACIÓN DE HIDROCARBUROS

Hortencia Silva Jiménez y Roberto Zazueta Sandoval\*.

IIBE. Facultad de Química, Universidad de Guanajuato. Noria Alta s/n CP 36050. Guanajuato, Gto. Tel. (473)732 0006 ext. 8148. Fax: ext. 8153. e-mail: zazueta@ quijote.ugto.mx

Palabras clave: Alcohol oxidasa, peroxisomas, degradación de hidrocarburos.

Introducción. En levaduras metilótrofas, la alcohol oxidasa (metanol oxidasa) cataliza la oxidación de metanol a formaldehído. En estos microorganismos se ha encontrado que la enzima alcohol oxidasa se encuentra localizada en peroxisomas, también se sabe que estos organelos aumentan de tamaño, así como su número cuando el organismo es puesto en contacto con un medio de inducción (metanol). En un hongo filamentoso, como es el caso de Penicillium simplicissimum, se ha encontrado que la vanilil alcohol oxidasa, la cual degrada compuestos fenólicos, se encuentra localizada tanto a nivel peroxisomal como a nivel citosólico. En la cepa YR-1 de Mucor circinelloides, la cual es capaz de crecer en presencia de hidrocarburos, se ha detectado actividad de alcohol oxidasa (AO), probablemente participante en la ruta de degradación de estos compuestos, pero se desconoce la ubicación intracelular de la misma. En hongos filamentosos, existe un escaso conocimiento acerca de las rutas de biodegradación de hidrocarburos, por lo cual. es de gran interés conocer si estas enzimas están compartimentalizadas en algún organelo particular como peroxisomas o en algún otro tipo de compartimento.

Metodología. Se utilizó medio mínimo de sales-peptona, suplementado con decano 0.5% o glucosa 1% para la obtención de biomasa. Para detectar la o las poblaciones con actividad de AO se usaron gradientes continuos de sacarosa del 10-60%. A cada una de las fracciones obtenidas del gradiente se le midió actividad de AO y actividad de los marcadores enzimáticos usados: oxigenasa (microsomas), peroxidasa (peroxisomas) y ADH (citosol). También se llevaron a cabo inmunodetecciones utilizando anticuerpos anti-AO y anti-lipoxigenasa de soya.

Resultados y discusión. En extractos celulares de YR-1, obtenidos por rompimiento con  $N_2$  líquido, provenientes de micelio crecido con Decano al 0.5% como fuente de carbono, fueron sometidas a gradientes continuos de sacarosa del 10-60% en los cuales se definen dos picos de actividad de alcohol oxidasa a una densidad de 1.14-1.15g/ml y 1.22-1.24g/ml, la actividad de peroxidasa (marcador de peroxisomas) comigra con el primer pico de actividad de AO en una densidad de 1.14-1.17g/ml (Fig. 1), la actividad de ADH (marcador citosólico) en una densidad 1.06 g/ml mientras que la actividad de oxigenasa (marcador microsomal) se comporta de manera similar que la AO a

través del gradiente, teniendo dos máximos de actividad que comigran con AO a una densidad de 1.14-1.15g/ml.

En extractos celulares, obtenidos con  $N_2$  líquido, provenientes de micelio crecido en Glucosa 1%, se observa un patrón de distribución tanto de la actividad de AO como de oxigenasa muy hetereogéneo.

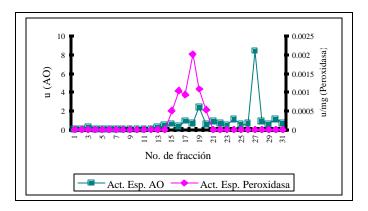


Fig. 1. Distribución de la actividad de AO y peroxidasa a través del gradiente contínuo de sacarosa del 10-60%.

Conclusiones. Los datos anteriores podrían sugerir que la AO se localiza en dos poblaciones de microsomas, una de las cuales (la de menor densidad) podría estar compartimentalizada en peroxisomas y otra en algún otro tipo de vesícula u organelo que forma parte del sistema microsomal.

## Bibliografía.

1. Janssen, F.W., R.M. Kerwin y H. W. Ruelius. 1975. Oxidation-reduction enzymes. Alcohol oxidase form basidiomycetes. Methods in enzymology. Academic Press Inc. Vol. XLI. Chapter 79; pp364-369.