

# LA CAROTENOGÉNESIS COMO ESTRATEGIA DE DEFENSA CONTRA EL ESTRÉS OXIDATIVO PROVOCADO POR ÓXIDO NÍTRICO EN *Phaffia rhodozyma*.

Erika Grajales, Daniela Castro, Sergio Sánchez

Depto. de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM, Ciudad Universitaria, México D.F. CP 04510. Fax: 5622-3855

e-mail: sersan@servidor.unam.mx

Palabras clave: *Phaffia rhodozyma*, arginina, óxido nítrico sintasa

**Introducción:** Los carotenoides son metabolitos secundarios con funciones biológicas esenciales, capaces de aumentar la respuesta inmune y funcionar como antioxidantes protegiendo a las células del ataque de radicales libres<sup>3</sup>. La levadura *P. rhodozyma* sintetiza el carotenoide astaxantina, el cual es responsable de dar color a crustáceos y salmones. Diversos factores han sido reportados como estimuladores de la carotenogénesis en microorganismos, como: la concentración y naturaleza de las fuentes de C y N; y la presencia de algunas sales.

**Metodología:** Para caracterizar el efecto que la fuente de N ejerce sobre la síntesis de carotenoides, se cultivó una cepa *P. rhodozyma* NRRL Y 10922 en un medio químicamente definido<sup>1</sup> a 22°C/150 rpm durante 96 h en presencia de los 20 aminoácidos. Se determinó el crecimiento (peso seco), carotenoides totales, pH, y amonio residual. Además, se utilizó un sistema de células en reposo (SCR) con el fin de establecer si el efecto estimulador en la producción de carotenoides se debía a una inducción o bien a la activación de las enzimas de la vía. Por último, se midió la actividad de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS) a través de un ensayo colorimétrico.

**Resultados y discusión:** De los 20 aminoácidos ensayados se seleccionó a la arginina (Arg) por estimular poco más del 100% la producción del pigmento. Los resultados del SCR sugieren que la Arg, o algún producto de su metabolismo, inducen la síntesis de las enzimas necesarias para la producción del carotenoide.

Se sabe que la Arg puede ser atacada por O<sub>2</sub>, mediante la enzima NOS, formando citrulina y óxido nítrico (NO), el cual es una especie de oxígeno reactiva (EOR)<sup>2</sup>, por lo que se sospechó que la Arg podría estar provocando un estrés oxidativo en la célula y en respuesta ésta produciría una mayor cantidad de carotenoides. Basados en esto, se cultivó a la levadura en presencia y ausencia de Arg, obteniéndose actividad de NOS, la cual resultó mayor en los extractos de células crecidas en Arg. (Fig. 1).

Cuando se cultivó a la levadura en ausencia de O<sub>2</sub> (cosustrato de NOS) no hubo estimulación en la producción de pigmento, lo que apoyó fuertemente la hipótesis de su síntesis como consecuencia del NO. Actualmente se realizan estudios para sustentar los resultados anteriores y

así entender el mecanismo de acción que la célula activa ante un medio ambiente oxidativo en su citoplasma.

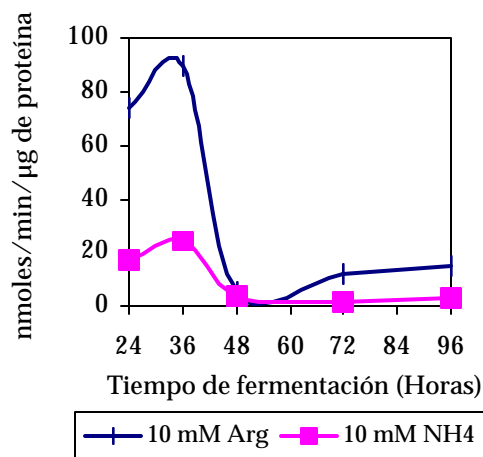


Fig. 1 Actividad enzimática de NOS en presencia y ausencia de Arg.

**Conclusiones:** Se encontró que el aminoácido arginina es el efector positivo con mayor influencia sobre la síntesis de carotenoides en *P. rhodozyma*. Además, se comprobó que el metabolismo de Arg induce la síntesis de las enzimas carotenogénicas. Por último, los resultados sugieren que la acumulación de carotenoides en *P. rhodozyma*, cultivada en un medio con Arg como única fuente de nitrógeno, es debida a que este aminoácido provoca un estrés oxidativo en la célula, ya que su grupo guanidino es atacado por NOS, produciendo óxido nítrico y en respuesta, la célula activa la ruta biosintética de carotenoides como forma de defensa al medio ambiente oxidativo de su citoplasma.

Agradecimientos: Erika Grajales es becaria de CONACyT

## Bibliografía:

1. Flores-Cotera, L.B., Martín, R. and Sánchez, S. (2001). Citrate, a possible precursor of astaxanthin in *Phaffia rhodozyma*: influence on varying levels ammonium, phosphate and citrate in a chemically defined medium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 55:341-3472.
2. Hansberg, W. (1999) La biología del dioxígeno en singulete. *TIP* 2 (2): 47-55
3. Johnson, E.A., W.A. Schroeder (1995) Microbial carotenoids. *Adv. Biochem. Eng.* 53:119-178