

ESTUDIO DE LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO SECUNDARIO DE *HUMPHREYA COFFEATA* POR LA FUENTE DE CARBONO

Ricardo A. González-Hernández, Norma A. Valdez-Cruz, Mauricio A. Trujillo-Roldán

Unidad de Bioprocesos, Departamento de Biología Molecular y Biotecnología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM. Tercer Circuito s/n, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C.P. 04510 México, D.F.
raghdz1608@gmail.com, maurotru@biomedicas.unam.mx

Palabras clave: basidiomicetos, terpenoides, regulación

Introducción. *Humphreya coffeata* es un basidiomiceto empleado en la medicina tradicional. Estudios previos han demostrado que *H. coffeata* produce polisacáridos (1;2) y terpenoides (3) con potencial citotóxico en células de leucemia. Los terpenoides son los metabolitos secundarios más abundantes, por ejemplo, en hongos del género *Ganoderma*, representan más del 50% de los metabolitos secundarios conocidos (4). Por su parte, *H. coffeata* cambia el perfil químico de los ácidos terpenoides, dependiente de la fuente de carbono del medio de cultivo (3). Si bien no se conoce como ocurre la regulación de síntesis de terpenoides por fuente de carbono, se ha reportado que en algunos hongos hay regulación del nivel de expresión de las terpeno sintasas (TPS), las cuales realizan la ciclación (terpeno ciclasas) y adición de grupos funcionales (enzimas "tailoring") de los terpenoides (5,6). Nuestro objetivo es determinar como la fuente de carbono impacta la expresión de las terpeno-sintasas de *H. coffeata*.

Metodología. La cepa de *H. coffeata*, fue donada por la Universidad EAFIT (Medellín-Colombia), de la cual ya se tiene su genoma secuenciado. Cultivar el hongo en medio complejo líquido (usando glucosa o lactosa). Extraer los metabolitos de la biomasa y sobrenadantes con disolventes orgánicos (7) y obtener sus perfiles cromatográficos en capa fina (TLC). Comparar los metabolitos (triterpenoides) diferentes en cada condición, usar el reactivo de Libermann-Buchard y H₂SO₄ (10%) para revelar. Purificar los triterpenoides producidos diferencialmente, mediante HPLC (7), para el posterior análisis por espectroscopía de infrarrojo, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear y elucidar una posible estructura. A partir de las modificaciones observadas en los terpenoides identificados, se medirá la expresión de los genes codificantes para las posibles TPS responsables, mediante RT-qPCR. Para esto, se buscaron las secuencias de los genes de todas las posibles TPS que posea *H. coffeata* en su genoma. Se espera observar cambios en los niveles de expresión de las TPS propuestas, con cada fuente de carbono.

Resultados. Al comparar los perfiles cromatográficos de los extractos obtenidos en ambas condiciones de cultivo, se observan cambios en el tipo y cantidad de metabolitos obtenidos (**Fig. 1**). Adicionalmente, se han identificado 50

secuencias en el genoma de *H. coffeata*, que pueden ser genes de las terpeno-sintasas putativas. En este análisis se encontraron 45 secuencias de enzimas *tailoring* putativas, correspondientes con diferentes citocromos P450. Asimismo, dos de las secuencias corresponden con la $\Delta(6)$ -protoiludeno sintasa (sesquiterpeno ciclasa) y una secuencia con la lanostano ciclasa (triterpeno ciclasa). Por esta razón, es probable que la diversificación de terpenoides, este ligada a la regulación de las enzimas *tailoring*.

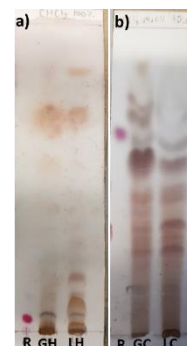


Fig. 1. Perfiles cromatográficos de los extractos a) hexánicos, b) clorofórmicos. Se usó H₂SO₄ 10% para revelar. R: ácido ursólico, G: glucosa, L: lactosa, H: extracto hexánico, C: extracto clorofórmico

Conclusiones. *H. coffeata* produce metabolitos diferentes, estos dependientes de la fuente de carbono empleada en el medio de cultivo. Al existir más secuencias de genes de enzimas *tailoring* que de terpeno ciclasas, la diversificación de las moléculas terpenoides puede deberse a la regulación de las primeras.

Agradecimientos. Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT-UNAM IT-200719, IN-208414) y Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, (CONACYT 247473, 220795). Beca Conacyt CVU: 549452.

Bibliografía.

1. Porras-Arboleda et al. (2009) *Int J Med Mushrooms*. 11(4): 335-350.
2. García García M. (2014) tesis de maestría. Pógrado en Ciencias Biológicas, UNAM
3. Aspron-Moncada V. (2019) Tesis de maestría. Posgrado en Ciencias Bioquímicas, UNAM.
4. Baby S, Johnson AJ, Govindan B. (2015) *Phytochem*. 144: 66-101.
5. Quin MB et al. 2014. *Nat Prod Rep*. 31(10): 1449-1473.
6. Tudzynski B, Liu S, Kelly JM (2000) *FEMS Microbiol Lett* 184: 9-15.
7. Da Cheng H, Xiao-Jie G, Pe GX (2015) *En: Medicinal plants: chemistry, biology and omics*. Elsevier, UK. pag: 293-340.
8. Yang HG et al. (2017) *Sci rep*. 7(1):12925.

