

## SÍNTESIS DE ALCALOIDES EN CULTIVOS DE BROTES DE *CATHARANTHUS ROSEUS* Y SU RELACIÓN CON EVENTOS MORFOGÉNICOS

Vázquez-Flota F, Hernández-Domínguez E, Campos-Tamayo F y Carrillo-Pech M, Centro de Investigación Científica de Yucatán, Calle 43 130 Chuburná de Hidalgo, Fax: (999) 9813900; correo electrónico: felipe@cicy.mx

Además de ser una fuente de alimentos, las plantas pueden proveernos de compuestos químicos con diferentes aplicaciones industriales. Estos compuestos, llamados *productos naturales* o *metabolitos secundarios*, incluyen a los alcaloides, fenilpropanoides y terpenos, entre otros, y cumplen una importante función en la defensa química de las plantas que los acumulan, así como en otras clases de interacciones de las plantas con su entorno. Entre las rutas de síntesis mejor estudiadas se encuentra la de los alcaloides monoterpén indólicos (AMI's) de *Catharanthus roseus*. Los AMI's se forman a partir del triptofano y de la secologanina, un derivado del isopentenil pirofosfato. El interés en ellos se debe a que algunos, específicamente la catarantina y la vindolina, pueden formar dímeros citotóxicos que se utilizan en los tratamientos contra diferentes tipos de cánceres. Por esta razón, durante muchos años, se intentó sin éxito su producción utilizando cultivos celulares. Los cultivos celulares no son capaces de acumular vindolina, debido a que carecen de las actividades enzimáticas de la desacetoxivindolina 4-hidroxilasa (D4H) y desacetilvindolina acetil-CoA acetiltransferasa (DAT) que intervienen en las dos últimas etapas de la formación del alcaloide. De hecho, la expresión de los genes correspondientes a estas enzimas se encuentra transcripcionalmente bloqueada en los cultivos celulares (Vázquez-Flota et al., 2002). Por otra parte, se ha establecido que las enzimas de la formación de la vindolina presentan una complicada distribución intercelular que involucra al menos tres tipos celulares distintos y que este tipo de especialización se pierde en los cultivos desorganizados (Burlat et al., 2004).

En el laboratorio hemos generado un cultivo de brotes de *C. roseus* a partir de hipocotilos de plántulas de seis días de edad utilizando bencilaminopurina como único regulador del crecimiento. Los cultivos presentan una tasa de proliferación de brotes continua que puede ser controlada mediante su mantenimiento en condiciones de fotoperíodo. Los cultivos tienen la capacidad de acumular catarantina, vindolina y otros alcaloides en cantidades similares a las observadas en plantas maduras. Más aún, la acumulación de vindolina y de sus Intermediarios biosintéticos siguen patrones similares a los observados en plántulas germinadas de semillas y que consiste en la acumulación de los intermediarios más sencillos en las etapas tempranas del desarrollo, y de los más complejos en las etapas tardías. Los patrones de activación de las enzimas biosintéticas también siguen tendencias similares, consistentes en la activación temprana de aquellas involucradas en las primeras etapas de la síntesis de los alcaloides, como la

triptofano descarboxilasa (TDC) y estrictosidina sintasa (EST), seguida por la activación de las enzimas involucradas en las etapas finales de la síntesis de la vindolina (D4H y DAT). En plántulas derivadas de semillas, estas dos enzimas se activan de manera casi simultánea y en respuesta a los mismos estímulos, lo que sugiere la existencia de un mecanismo común de activación (Vázquez-Flota et al., 2004). No obstante, en el cultivo de brotes, la activación de la DAT, pero no la de D4H, coincide con las etapas de formación de brotes sugiriendo que la DAT puede presentar requerimiento de diferenciación celular propios.

De manera interesante, el control de la síntesis de la vindolina relacionado con las etapas de desarrollo no parece operar a nivel transcripcional ya que los niveles de los transcritos para TDC, D4H y DAT no se modificaron de manera notable, independientemente del nivel de actividad enzimática.

### **Agradecimientos**

Este trabajo fue financiado por CONACYT

### **Referencias.**

Burlat V, Oudin A, Courtois M, Rideau M, St-Pierre B (2004) *Plant Journal*, 38 : 131-141

Hernández-Domínguez E, Campos-Tamayo F, Vázquez-Flota F (2004) *Biotechnol Lett*, 26: 671-674

Vázquez-Flota F, De Luca V, Carrillo-Pech M, Canto-Flick A, Miranda-Ham ML (2002) *Mol Biotechnol*, 22, 1-8.

Vázquez-Flota F, Carrillo-Pech M, Minero-García Y, Miranda-Ham ML (2004) *Plant Physiol & Biochem*, 42: 623-628.