

# Estudio comparativo de las enzimas implicadas en la biosíntesis de arginina a partir de ornitina en plantas

José Alberto Urbano-Gámez<sup>1</sup>, Jorge El-Azaz<sup>2</sup>, Fernando de la Torre<sup>1</sup>, Concepción Ávila<sup>1</sup>, Francisco M. Cánovas<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular y Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de Málaga, Málaga, España.

<sup>2</sup>Department of Botany, University of Wisconsin, Madison, WI 53706, USA

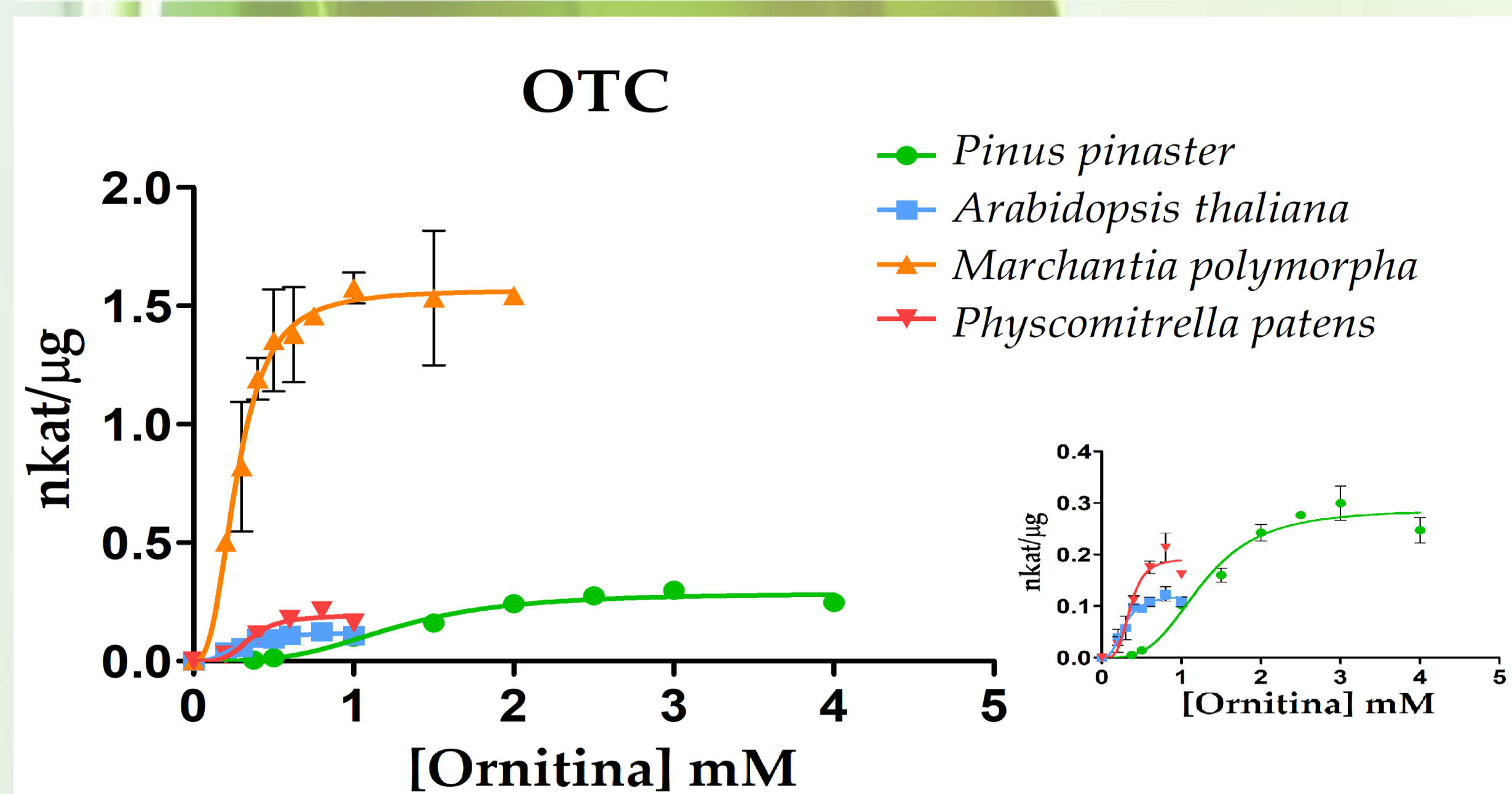
Email autor: alurb@uma.es

## Introducción

La arginina además de ser componente de las proteínas participa en diferentes funciones de las plantas. La arginina es precursor de poliaminas, óxido nítrico (ON, aún por clarificar el mecanismo de síntesis\*) y tiene un papel muy activo en el almacenamiento de nitrógeno, debido a su alto contenido en átomos de nitrógeno (4 vs 6 carbono) (Llácer *et al.*, 2008).

En la mayoría de las plantas, las poliaminas se sintetizan a partir de arginina, mediante su descarboxilación por la enzima arginina descarboxilasa (ADC) para dar lugar a putrescina. Aunque, en algunas plantas, existe una vía alternativa de síntesis de putrescina, mediante la descarboxilación de la ornitina en el citoplasma por la enzima ornitina descarboxilasa (ODC) (Alcázar y Tiburcio, 2018).

El objetivo de este trabajo se centra en determinar si la ausencia de ODC en algunas plantas supone una mayor eficiencia de las enzimas ornitina transcarbamoilasa (OTC), argininosuccinato sintetasa (ASSY) y argininosuccinato liasa (ASL) pues soportan una mayor carga metabólica para satisfacer los requerimientos de la planta de arginina y sus derivados.



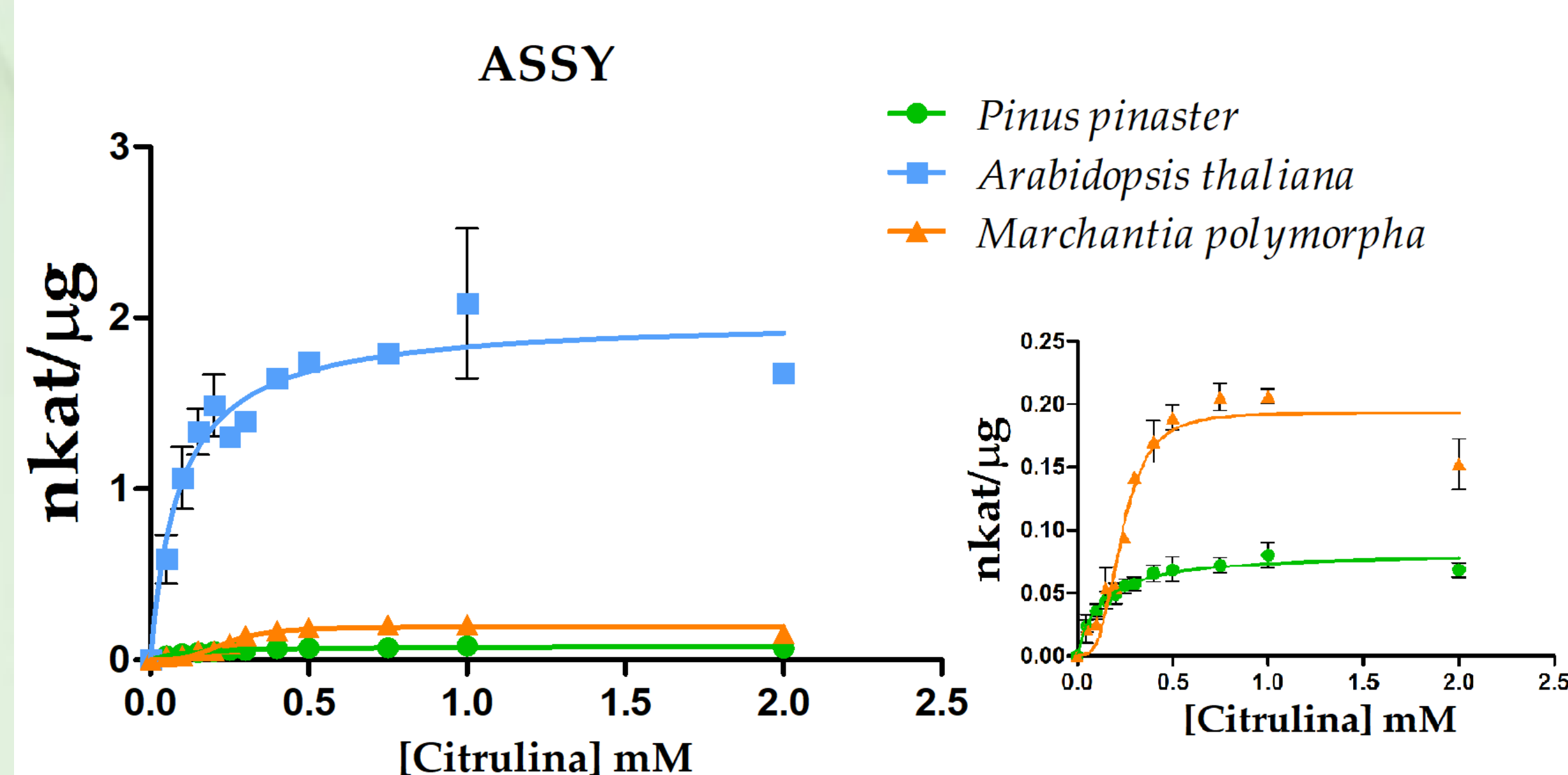
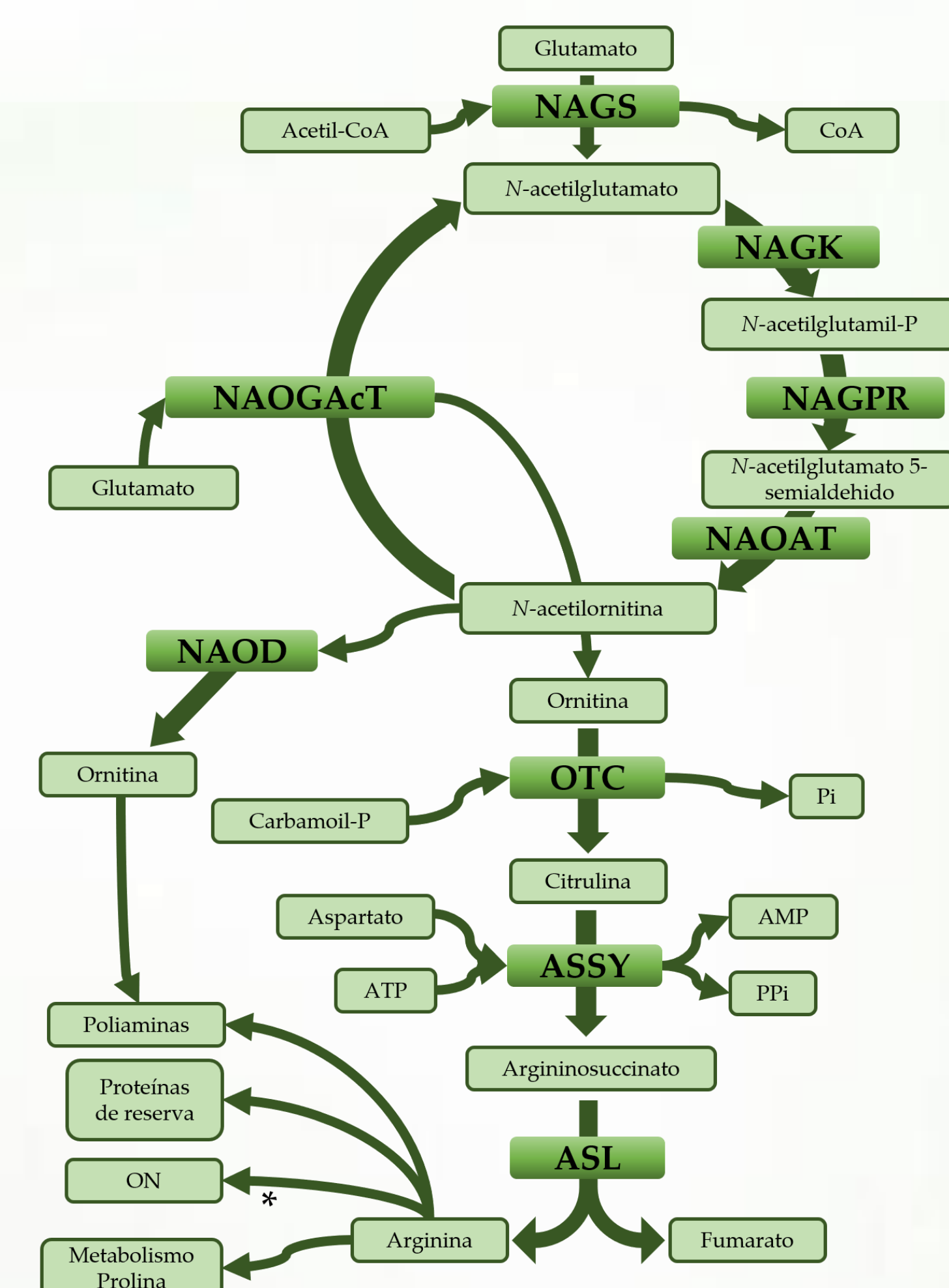
Gráfica 1. Valores de actividad enzimática específica para las enzimas OTC de los organismos *P. pinaster*, *A. thaliana*, *M. polymorpha* y *P. patens*. Todas presentan curvas sigmoideas, relacionadas con su cinética alostérica, pues presentan un índice de Hill cercano a 3. Valores de  $S_{0.5}$  (mM): *P. pinaster*:  $1.28 \pm 0.16$ ; *A. thaliana*:  $0.25 \pm 0.03$ ; *M. polymorpha*:  $0.28 \pm 0.05$  y *P. patens*:  $0.36 \pm 0.05$ .

## Material y Métodos

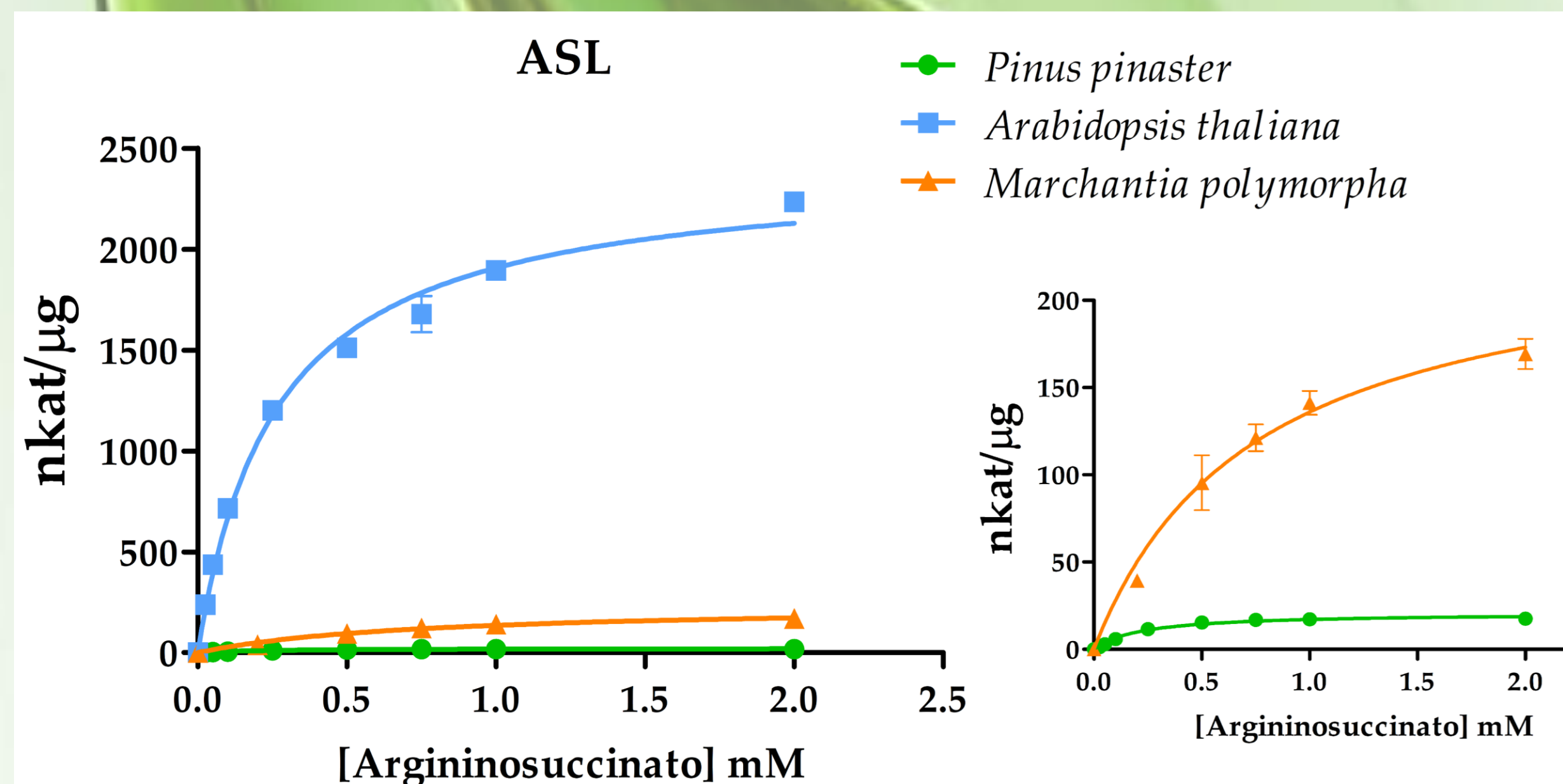
Se produjeron las enzimas OTC, ASSY y ASL de los organismos *Pinus pinaster* (ADC + ODC), *Arabidopsis thaliana* (ADC), *Marchantia polymorpha* (ADC + ODC) y *Physcomitrella patens* (ADC) de forma recombinante y se midieron sus parámetros cinéticos.

## Resultados

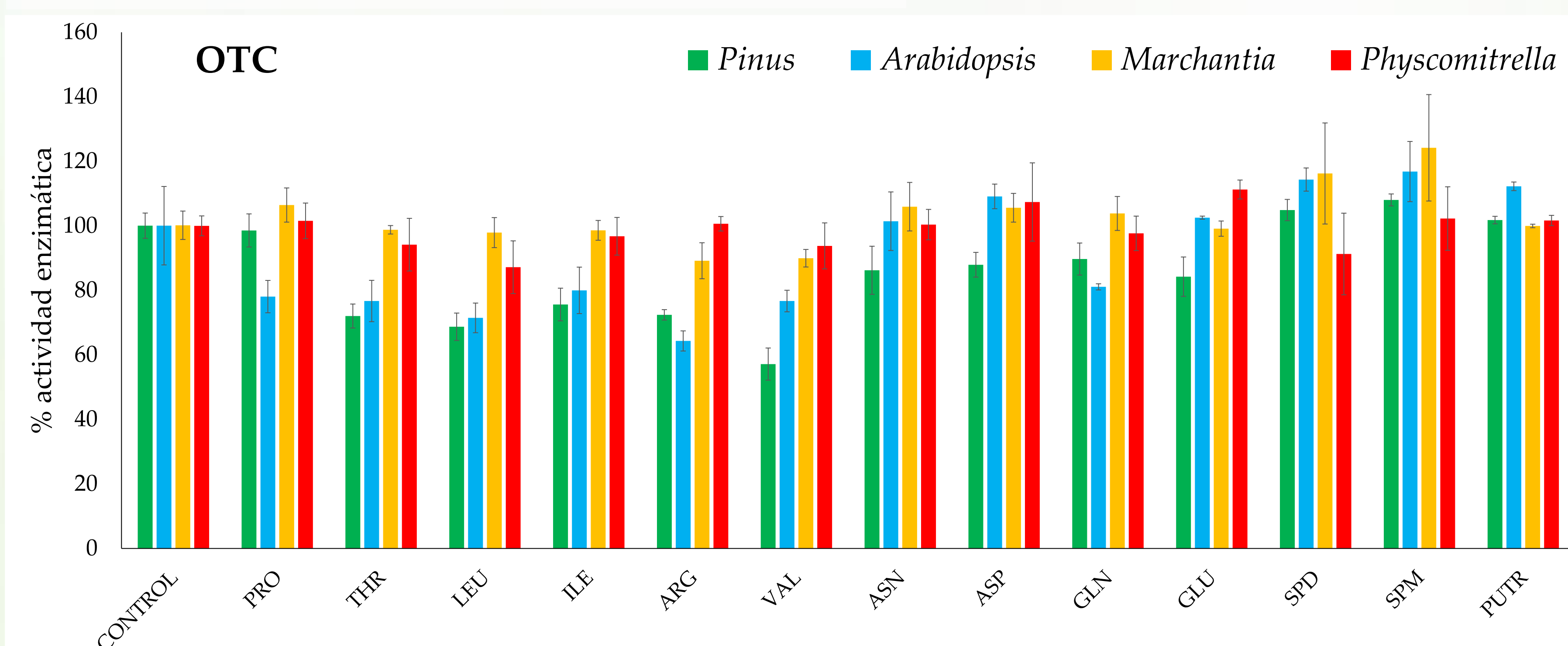
Los resultados muestran una mayor eficiencia de al menos dos enzimas (ASSY y ASL) de *A. thaliana* (no presenta ODC) respecto a las mismas enzimas analizadas de *P. pinaster* y *M. polymorpha* (ADC + ODC), así como la inhibición de la actividad enzimática de las enzimas OTC de *P. pinaster* y *A. thaliana* en presencia de arginina.



Gráfica 2. Valores de actividad enzimática específica para las enzimas ASSY de los organismos *P. pinaster*, *A. thaliana* y *M. polymorpha*. Se observa la diferencia de valores entre las enzimas procedentes de organismos con ODC frente a la enzima de *A. thaliana*, que solo posee ADC. Solo la ASSY de *M. polymorpha* presenta una cinética alostérica. Valores de  $K_m$  (mM): *P. pinaster*:  $0.12 \pm 0.03$ ; *A. thaliana*:  $0.12 \pm 0.03$ . Valores de  $S_{0.5}$  (mM): *M. polymorpha*:  $0.24 \pm 0.02$ .



Gráfica 3. Valores de actividad enzimática específica para las enzimas ASL de los organismos *P. pinaster*, *A. thaliana* y *M. polymorpha*. Se puede observar de nuevo la diferencia de los valores entre las enzimas procedentes de organismos con ODC frente a la enzima de *A. thaliana*, que solo posee ADC. Valores de  $K_m$  (mM): *P. pinaster*:  $0.22 \pm 0.04$ ; *A. thaliana*:  $0.26 \pm 0.03$ ; *M. polymorpha*:  $0.66 \pm 0.07$ .



Gráfica 4. Valores de actividad enzimática específica para las enzimas OTC de los organismos *P. pinaster*, *A. thaliana*, *M. polymorpha* y *P. patens* en presencia de diferentes metabolitos. Se observa como valina (VAL) y arginina (ARG) son los principales moduladores de la actividad en *P. pinaster* y *A. thaliana*, mientras que las enzimas de los organismos *M. polymorpha* y *P. patens* son prácticamente insensibles. 100% actividad en *Pinus* =  $2.2 \pm 0.1$  nkat/μg; 100% actividad en *Arabidopsis* =  $2.01 \pm 0.25$  nkat/μg; 100% actividad en *Marchantia* =  $6.17 \pm 0.26$  nkat/μg; 100% actividad en *Physcomitrella* =  $0.49 \pm 0.02$  nkat/μg.

## Conclusiones

La ausencia de ODC parece determinar una mayor presión selectiva en el nivel de eficiencia de las enzimas ASSY y ASL. Además, la arginina influye en su propia biosíntesis, reduciendo la actividad de la OTC, y definiendo así un segundo punto de regulación junto con la NAGK.

## Referencias:

- Llácer J.L. *et al.*, Curr Opin Struct Biol. 2008 Dec;18(6):673-81.
- Alcázar R., Tiburcio A.F. Methods Mol Biol. 2018;1694:117-122.
- Urbano-Gámez J.A. *et al.*, Plants. 2020;9(10), 1271.

## Financiación:

Este trabajo ha sido financiado por proyectos del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (BIO-2015-69285-R and RTI2018-094041-B-I00) y fondos procedentes del programa Garantía Juvenil del Ministerio de Trabajo, Migración y Seguridad Social.