

UN CAUDALOSO RÍO DE CARBONO A MIGHTY RIVER OF CARBON

por FERNANDO DE LA TORRE*, EMILIO GUTIÉRREZ-BELTRÁN†, MARINA RUEDA*, JORGE EL-AZAZ*, BELÉN PASCUAL*, RAFAEL CAÑAS*

*DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y BIOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. UNIVERSIDAD DE MÁLAGA.

† DEPARTMENT OF PLANT BIOLOGY, UPPSALA BIOCENTER, SWEDISH UNIVERSITY OF AGRICULTURAL SCIENCES, SE-75007 UPPSALA, SWEDEN.

fdelatorre@uma.es

Palabras clave: Fenilalanina, carbono, compuestos fenólicos, biotecnología
Keywords: Phenylalanine, carbon, phenolic compounds, biotechnology

Enviado: 11 de noviembre de 2016
Aceptado: 13 de diciembre de 2016

La ruta de biosíntesis del aminoácido fenilalanina, así como las posteriores rutas que conducen a la biosíntesis de un amplísimo abanico de compuestos de gran interés biológico y económico, son responsables de uno de los mayores flujos metabólicos en la biosfera. Paradójicamente, los mecanismos metabólicos y la regulación de estas rutas han sido insuficientemente estudiadas en décadas pasadas en parte debido a la complejidad de las mismas. En los últimos años se han producido avances significativos en nuestro conocimiento de estas rutas y su regulación a distintos niveles. Estos avances suponen la base para futuras mejoras biotecnológicas en áreas tan diversas como la generación de biomasa, la mejora de cultivos de interés nutricional o la producción de madera.

The metabolic pathway responsible for the biosynthesis of the amino acid phenylalanine, as well as the subsequent routes leading to the biosynthesis of a wide range of compounds of great biological and economic interest, are responsible for one of the largest metabolic fluxes in the biosphere. Paradoxically, the metabolic mechanisms and regulation of these routes have been insufficiently studied in past decades in part due to its complexity. In recent years there have been significant advances in our knowledge of these routes and their regulation at different levels. These advances are the basis for future biotechnological improvements in areas as diverse as the generation of biomass, the nutritional improvement of crops or the production of wood.

La superficie de nuestro planeta aloja gran número de ríos que conducen el agua desde las montañas hacia otros ríos, lagos o mares. Nuestro planeta posee además otros tipos de ríos, no menos caudalosos, como los que conducen a millones de coches cada mañana, los que conducen trillones de correos basura o los de estudiantes buscando un futuro mejor.

Los autores queremos dedicar este artículo a poner de manifiesto un río que aunque no siempre tenemos presente es fundamental para la vida en nuestro planeta, un río que brota del CO₂ atmosférico y fluye hacia la síntesis de un aminoácido, la fenilalanina (Phe), para desembocar en un mar gigantesco y variado de compuestos fenólicos. Los seres vivos necesitan un constante suministro de Phe como metabolito de partida para la síntesis de proteínas. Para las plantas, este aminoácido es además precursor de la síntesis de un amplísimo catálogo de compuestos de enorme importancia cuantitativa y cualitativa con papeles cruciales en el crecimiento, desarrollo, reproducción y defensa. Entre estos, y a modo de ejemplo, podemos encontrar a la lignina, elemento fundamental de la formación de las paredes secundarias de las células y base del armazón que sostiene a las plantas.

Resulta muy ilustrativo el hecho de que sólo la síntesis de este compuesto implica que entre el 30 y 40 % de todo el carbono fijado fotosintéticamente por las plantas sea canalizado hacia la síntesis de Phe para posteriormente generar este polímero.

En los últimos años, un conjunto de artículos científicos de gran impacto han ayudado a establecer un modelo metabólico que nos permite entender en gran parte la ruta de síntesis de este aminoácido en plantas. Una vez más, el estudio del metabolismo en plantas se ha valido de su comparación con las bien caracterizadas rutas metabólicas del mundo procarionta para dilucidar sus componentes principales.

Dos ejes metabólicos centrales del coloquialmente conocido como metabolismo central carbonado, la glucólisis y la ruta de las pentosas fosfato, son responsables de proveer los elementos de partida, fosfoenolpiruvato y eritrosa-4-fosfato respectivamente. Estos dos compuestos, una vez transferidos al interior de los cloroplastos son transformados mediante las siete reacciones enzimáticas sucesivas que conforman la ruta del shikimato para dar lugar a un compuesto fundamental, el corismato (figura 1). Etiológicamente esta ruta toma el nombre del primer

compuesto de la ruta que pudo ser identificado, el ácido shikímico, que a su vez toma el nombre de la planta a partir de la que se aisló por primera vez *Illicium religiosum*, conocida como *shikimi* en Japón donde es muy apreciada como base para elaborar el incienso más valorado en los templos budistas.

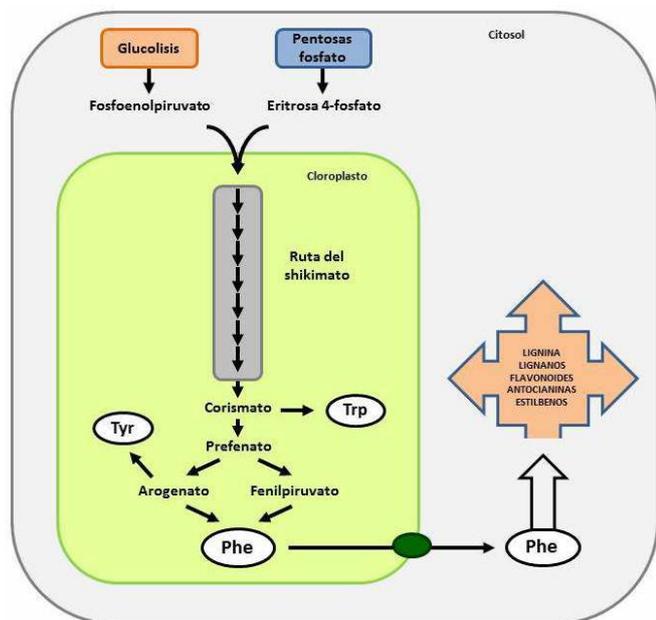


Figura 1. Biosíntesis y destinos metabólicos de la Phe en plantas.

Merece la pena hacer también una pequeña referencia etimológica al corismato. Esta palabra deriva de la palabra del griego clásico $\chiωριζω$ que significa «separar». La denominación no podría ser más acertada, ya que este compuesto es precisamente un punto de ramificación y separación metabólica fundamental precursor para otras rutas y para la síntesis de compuestos de importancia crítica para las plantas. De esta forma, el corismato es precursor para la síntesis de las vitaminas K1 y B9 o de la hormonal vegetal ácido salicílico. El corismato es además la molécula precursora de dos rutas independientes que conducen a la síntesis de los tres aminoácidos aromáticos presentes en las proteínas: fenilalanina (Phe), tirosina (Tyr) y triptófano (Trp) (figura 1). En la primera de estas dos rutas, la enzima antranilato sintasa conduce el corismato hacia la síntesis de Trp que a su vez es precursor para la síntesis de compuestos de enorme importancia como los indol glucosinolatos, la camalexina o la hormona auxina. Esta ruta ha sido históricamente la mejor caracterizada de entre las implicadas en la síntesis de aminoácidos aromáticos precisamente como consecuencia de los grandes esfuerzos de investigación centrados en determinar la ruta de síntesis de la hormona auxina. La segunda de estas rutas se inicia mediante la acti-

vidad corismato mutasa que transforma la molécula de corismato en prefenato. Partiendo de prefenato las plantas disponen de dos rutas alternativas para la síntesis de Phe y otras dos para la síntesis de Tyr que difieren en los metabolitos intermediarios: arogenato y fenilpiruvato para la Phe y arogenato y 4-hidroxifenilpiruvato para la Tyr.

Centrándonos en el caso de la Phe debemos destacar algunos de los descubrimientos recientes que nos han permitido establecer un esquema general de su biosíntesis en plantas. En primer lugar, dos trabajos publicados casi simultáneamente a finales de 2010^[1,2] identificaron la enzima con actividad prefenato aminotransferasa responsable de la conversión de prefenato en arogenato, precursor directo de la síntesis de Phe y Tyr (figura 1). En el año 2014, nuestro grupo de investigación en la Universidad de Málaga dirigido por el Profesor Francisco M. Cánovas contribuyó a establecer el papel fisiológico de esta enzima en la biosíntesis cloroplastídica de aminoácidos mediante el estudio de su bifuncionalidad como prefenato aminotransferasa y aspartato aminotransferasa^[3]. Paralelamente, el laboratorio dirigido por la Profesora Natalia Dudareva en *Purdue University* (Indiana, EEUU) presentó los primeros resultados demostrando la existencia de una ruta alternativa para la síntesis de Phe usando fenilpiruvato como intermediario^[4] y de forma muy destacada describió por primera vez el mecanismo por el que la Phe es exportada desde los cloroplastos al citosol para servir de precursor en múltiples rutas metabólicas^[5]. Muy recientemente, nuestro grupo ha contribuido a la identificación y caracterización de las enzimas con actividad deshidratasa implicadas en ambas rutas de síntesis de Phe: prefenato deshidratasa y arogenato deshidratasa^[6].

Todos estos recientes avances son una importante base para afrontar futuras estrategias biotecnológicas encaminadas a modificar elementos estructurales y/o regulatorios de estas rutas con el objetivo de dirigir los flujos metabólicos hacia la síntesis de determinados compuestos fenólicos. Un ejemplo ilustrativo de este tipo de estrategias lo podemos encontrar en el trabajo desarrollado por el laboratorio de la profesora Cathie Martin en el *John Innes Centre* (Norwich, Reino Unido). Este grupo publicó recientemente un trabajo en el que describían como la simple expresión heteróloga de un factor de transcripción de *Arabidopsis*, AtMYB12, en plantas de tomate era suficiente para aumentar los flujos a través de las rutas del shikimato y biosíntesis de Phe para resultar en una acumulación masiva de compuestos fenólicos en sus frutos entre los que destacan los importantes antioxidantes del grupo de los

flavonoides^[7]. Estos resultados son sin duda, y seguro que lo veremos pronto, un importante punto de partida para el diseño de alimentos de nueva generación diseñados para mejorar nuestras dietas y reducir la incidencia de enfermedades como las relacionadas con el daño oxidativo.

Otro ejemplo de la importancia fundamental que tiene el conocimiento de los mecanismos moleculares que determinan los flujos a través de estas rutas lo encontramos en un área aparentemente tan alejada de los tomates como es la generación de biocombustibles. En este sentido, es sabido que la celulosa presente en la madera es un importante precursor para la producción de bioalcoholes como el etanol. La presencia en esta misma madera de elevados niveles de lignina es un elemento dramáticamente limitante en la eficiencia del procesamiento industrial debido a su capacidad para reducir la hidrólisis de la celulosa. Diversos consorcios de investigación a nivel mundial están actualmente enfocados en estrategias biotecnológicas que permitan modificar en la madera el contenido en lignina o su estructura/composición con el fin de facilitar su posterior procesamiento industrial.

En este sentido podemos destacar un trabajo publicado muy recientemente en el que mediante la simple manipulación de una de las rutas derivadas de la Phe e implicadas en la síntesis de lignina, los investigadores han conseguido la generación de álamos transgénicos capaces de aumentar en casi un 50% su producción de etanol^[8].

Sin ninguna duda las futuras décadas serán testigo de importantes avances científicos que tendrán a la Phe como protagonista y que pueden implicar cambios importantes para nuestra sociedad. Incluso más lejos de lo que ahora podemos intuir.

Referencias

- ¹Graindorge M y otros (2010). Identification of a plant gene encoding glutamate/aspartate-prephenate aminotransferase: the last homeless enzyme of aromatic amino acids biosynthesis. *FEBS Lett.* 584, 4357-4360.
- ²Maeda H y otros (2011). Prephenate aminotransferase directs plant phenylalanine biosynthesis via arogenate. *Nat Chem Biol.* 7, 19-21.
- ³de la Torre F y otros (2014). Deciphering the role of aspartate and prephenate aminotransferase activities in plastid nitrogen metabolism. *Plant Physiol.* 164, 92-104.
- ⁴Yoo H y otros (2013). An alternative pathway contributes to phenylalanine biosynthesis in plants via a cytosolic tyrosine:phenylpyruvate aminotransferase. *Nat Commun.* doi: 10.1038/ncomms3833.
- ⁵Widhalm JR y otros (2015). Identification of a plastidial phenylalanine exporter that influences flux distribution through the phenylalanine biosynthetic network. *Nat Commun.* doi: 10.1038/ncomms9142.
- ⁶El-Azaz J y otros (2016). Identification of a small protein domain present in all plant lineages that confers high prephenate dehydratase activity. *Plant J.* 87, 215-229.
- ⁷Zhang Y y otros (2015). Multi-level engineering facilitates the production of phenylpropanoid compounds in tomato. *Nat Commun.* doi: 10.1038/ncomms9635.
- ⁸Cai Y y otros (2016). Enhancing digestibility and ethanol yield of Populus wood via expression of an engineered monolignol 4-O-methyltransferase. *Nat Commun.* doi: 10.1038/ncomms11989.