

# III Reunión Nacional de Carotenoides y I Reunión Hispano-Portuguesa de Carotenoides

## **La proteína HmbC de la familia HMG participa en la regulación de la síntesis de carotenoides en *Fusarium fujikuroi***

M. Carmen Limón, Marta Franco-Losilla, Javier Avalos.

Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla

### **Resumen**

En el hongo filamentoso *Fusarium fujikuroi*, la desaturasa CarB, la fitoeno sintasa/ciclasa CarRA, la oxigenasa CarT y la aldehído deshidrogenasa CarD sintetizan la xantofila neurosporaxantina. La expresión de los correspondientes genes está regulada por la luz a través de la acción de fotorreceptores, entre los que desempeña un papel importante la flavoproteína WcoA. Por otro lado, la ligasa de ubiquitina CarS mantiene a niveles moderados la expresión de los genes de la ruta, ya que los mutantes carentes de esta proteína muestran un fenotipo superproductor de carotenoides debido a la desrepresión de dichos genes. Sin embargo, esta proteína no ejerce su función directamente sobre el ADN, por lo que uno de nuestros objetivos es identificar reguladores directos de los genes de la síntesis de carotenoides. Para ello llevamos a cabo experimentos *pulldown* de proteínas capaces de unirse a los promotores de los genes *carB*, *carX* y *carRA* en el tipo silvestre y en un mutante superproductor. En el listado de proteínas, identificadas mediante espectrofotometría de masas, encontramos dos particularmente abundantes en todas las condiciones pertenecientes a la familia "High Mobility Group" (HMG) que desempeñan funciones reguladoras en otros organismos. Para averiguar su función, se delecionó el gen de una de ellas a la que denominamos HmbC. Los mutantes  $\Delta hmbC$  obtenidos producen más carotenoides que el silvestre tanto en la luz como en la oscuridad, aunque sus niveles fueron inferiores a los del mutante *carS*. El análisis de los niveles de ARNm de los genes *car* mediante qRT-PCR mostró un aumento de la transcripción de los genes estructurales *carB* y *carRA* en los mutantes  $\Delta hmbC$ , así como una disminución de la transcripción del gen *carS*. Estos resultados sugieren que HmbC participa en el control de la carotenogénesis modulando los niveles de la proteína represora CarS.

Los mutantes  $\Delta hmbC$  mostraron, además, otras alteraciones fenotípicas. La incubación de micelio de estos mutantes con cócteles de enzimas hidrolíticas produjo un menor número de protoplastos que cuando se incubó el micelio del silvestre, lo que sugiere diferencias en la estructura o composición de la pared celular en los mutantes. Se observaron también diferencias morfológicas en las hifas de los mutantes en comparación con las del tipo silvestre en condiciones de estrés osmótico, como sorbitol 1,2 M. En conclusión, esta proteína no sólo interviene en la regulación de la biosíntesis de carotenoides sino que también controla otros procesos biológicos como la formación de la pared celular.

**Palabras clave:** *Fusarium*, Regulation, Neurosporaxantina, proteína HMG

Participación preferida: oral\_ X poster\_

III Reunión Nacional de Carotenoides y I  
Reunión Hispano-Portuguesa de Carotenoides

**The HMG-family protein HmbC is involved in  
the regulation of carotenoid genes in *Fusarium  
fujikuroi***

M. Carmen Limón, Marta Franco-Losilla, Javier Avalos

Department of Genetics, Faculty of Biology, University of Sevilla

**Abstract**

In the filamentous fungus *Fusarium fujikuroi*, the desaturase CarB, the phytoene synthase/cyclase CarRA, the oxygenase CarT and the aldehyde dehydrogenase CarD synthesise the xanthophyll neurosporaxanthin. The expression of the corresponding genes is regulated by light through the action of photoreceptors, among which the flavoprotein WcoA plays an important role. On the other hand, the ubiquitin ligase CarS maintains the expression of the genes of the pathway at moderate levels, since mutants lacking this protein show a carotenoid-overproducing phenotype due to the derepression of these genes. However, this protein does not exert its function directly on DNA, so one of our goals is to identify direct regulators of carotenoid synthesis genes.

For this purpose, we carried out pulldown experiments on proteins capable of binding to the promoters of the *carB*, *carX* and *carRA* genes in the wild type and in an overproducer mutant. In the list of proteins identified by mass spectrophotometry we found two particularly abundant in all conditions belonging to High Mobility Group family (HMG), which play regulatory roles in other organisms. To find out their function, we investigated the consequences of deleting the gene of one of them, which we call HmbC. The  $\Delta hmbC$  mutants obtained produce more carotenoids than the wild type in both light and dark, although their levels were lower than those of the *carS* mutant. Analysis of *car* gene mRNA levels by qRT-PCR showed increased transcription of the structural genes *carB* and *carRA* in the  $\Delta hmbC$  mutants, as well as decreased transcription of the *carS* gene. These results suggest that HmbC participates in the control of carotenogenesis by modulating the levels of the CarS repressor protein.

The *hmbC* mutants also showed other phenotypic alterations. Incubation of mycelia of these mutants with hydrolytic enzyme cocktails produced a lower number of protoplasts than the incubation of the wild type, suggesting differences in cell wall structure or composition in the mutants. Morphological differences were also observed in the hyphae of the mutants compared to the wild type under osmotic stress conditions, such as 1.2 M sorbitol. In conclusion, this protein is not only involved in the regulation of carotenoid biosynthesis but also controls other biological processes such as cell wall formation.

**Keywords:** *Fusarium*, regulation, neurosporaxanthin, HMG protein

Preferred participation: oral\_X poster\_