

Rol de Arf1 y Arf2 en la morfología de *Mucor circinelloides*

J. Alberto Patiño-Medina, Nancy Y. Reyes-Mares, Marco I. Valle-Maldonado, Carlos Pérez-Arques, Sergio López-García, Martha I. Ramírez-Díaz, Irvin E. Jacome-Galarza, Victoriano Garre y Victor Meza-Carmen

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo

Laboratorio de Diferenciación Celular, Instituto de Investigaciones Químico Biológicas, Edificio A1', Ciudad Universitaria. Gral. Francisco J. Mugica S/N, C.P. 58030, Morelia, Michoacán, México. Phone/Fax: +52 443326 5788, ext. 120

E-mail: joset_3i@hotmail.com; victor_meza2004@yahoo.com.mx

El presente estudio tuvo como objetivo interrumpir los genes *arf1* y *arf2* y determinar los efectos de estas mutaciones sobre el proceso de diferenciación de *Mucor circinelloides*. Las proteínas de la familia Arf pertenecen a la superfamilia Ras de las proteínas G monoméricas, cuya función está asociada con el tráfico vesicular en las vías endocítica y secretora. Las proteínas Arf1 y Arf2 de *M. circinelloides* comparten el 95% de identidad entre ellas, sugiriendo posibles funciones redundantes, fenómeno observado en *Saccharomyces cerevisiae* y *Candida albicans*. La interrupción de los genes se llevó a cabo mediante un evento de doble recombinación homóloga en el que el marco de lectura abierto de los genes *arf1* y *arf2* fueron sustituidos por el marcador de selección *pyrG* para mutantes simples y *leuA* para la doble mutante (restauran la auxotrofía a uracilo y leucina respectivamente). Se usó como cepa receptora a *M. circinelloides* MU402 (*leuA*⁻, *pyrG*⁻). Se generaron las mutantes individuales $\Delta arf1$, $\Delta arf2$ y el doble mutante $\Delta arf2/\Delta arf1^{(+)(-)}$. La mutación en cada caso fue corroborada por PCR, Southern blot y RT-qPCR. Las mutantes sencillas fueron homocariontes (todos los núcleos mutantes) y la doble mutante heterocarionte (núcleos silvestres y mutantes) sugiriendo un papel esencial de ambos genes. Las mutantes se evaluaron en crecimiento en sustrato sólido, producción de esporas, morfología del esporangióforo, velocidad de germinación aeróbica y anaerobia, morfología micelial y de levadura y generación de biomasa en germinación aerobia y anaerobia.