



Universidad de Concepción
Dirección de Postgrado
Facultad de Ciencias Biológicas -Programa de Magister en Bioquímica y Bioinformática

**Clonamiento, Expresión y Caracterización Funcional de Reductasas de
Ácido Deshidroascórbico en Células HEK-293**

*Cloning, expression and functional characterization of dehydroascorbic
acid reductase in HEK-293 cells*

Claudia Solange Jaña Martínez
CONCEPCIÓN-CHILE
2011

RESUMEN

La vitamina C es un nutriente esencial para el normal funcionamiento de los sistemas fisiológicos, participa como antioxidante y cofactor enzimático. Puede encontrarse biológicamente activa en solución en la forma reducida (ácido ascórbico, AA) u oxidada (ácido deshidroascórbico, DHA). Las células de mamíferos son capaces de transportar el ácido ascórbico a través de cotransportadores de sodio ascorbato (SVCTs) y el ácido deshidroascórbico a través de transportadores facilitativos de glucosa (GLUTs). La vitamina C en el organismo se encuentra fundamentalmente en la forma reducida, dado a que el DHA que se genera en reacciones redox se reduce inmediatamente a ácido ascórbico intracelularmente, por un proceso de reciclaje y acumulación, con participación de DHA reductasas. Sin embargo, se desconoce el papel específico de cada una de las reductasas en la acumulación intracelular de elevadas concentraciones de ácido ascórbico. En esta dirección postulamos que las reductasas de ácidos deshidroascórbico glutaredoxinas y aldocetoreductasas son las responsables de la acumulación y reciclaje de la vitamina C. Para establecer este punto, nos hemos propuesto clonar DHA reductasas desde las células de origen humano; las enzimas aldoceto reductasa 1C3 (AKR1C3) la cual es NADPH dependiente, glutaredoxina 1 (Grx1) y glutaredoxina 2a (Grx2a) ambas dependientes del Glutación. Una vez clonadas se construirán quimeras reductasa-proteína verde fluorescente para establecer su localización subcelular en células transfectadas, realizando ensayos y estudios de su papel en la acumulación, reciclaje y retención celular de vitamina C.