

INDICE

Resumen	
Introducción	1
1. Antecedentes	3
1.1 Oxígeno	3
1.1.1. Activación del oxígeno	3
1.1.2. Enzimas que utilizan oxígeno como sustrato	4
1.2 Citocromo P-450	6
1.2.1. Estructura protohemo	6
1.2.2. Citrocromos	8
1.2.3. Características del citocromo p-450	9
1.3. NAD(P)H deshidrogenasas	13
1.3.1. Flavoproteínas	14
1.3.2. NADPH: citocromo P-450	14
2. Objetivo general	17
3. Hipótesis	18
4. Materiales y métodos	19
4.1. Diseño experimental	19
4.1.1. <i>Allium cepa</i>	20
4.1.2. Material biológico	20
4.1.3. Caracterización del cultivo	21
4.1.4. Tratamientos	21
4.1.5. Extracción de la proteína microsomal	22
4.1.6. Ensayo enzimático	22
4.1.7. Cuantificación de la cantidad de proteína	22
4.1.8. Electroforesis	23
4.1.9. Preparación de la muestra para la electroforesis	23
4.1.10. Análisis mediante Western blot	24
4.1.11. Electrotransferencia	24
5. Resultados	26
5.1. Caracterización del cultivo	26
5.2. Medición de la citocromo P-450 reductasa	28
5.3. Electroforesis de la fracción microsomal	34

5.4. Estandarización de la inmunodetección	34
5.5. Respuesta de la actividad de la NADPH: citocromo c (P-450) reductasa a los tratamientos aplicados	36
6. Conclusiones	43
7. Perspectivas	45
Anexos	46
Referencias	50

RESUMEN

El citocromo P-450 es una enzima que realiza numerosas reacciones de hidroxilación, acilación, dealquilación y dimetilaciones importantes para diversas rutas biosintéticas en algunos procariotes y la mayoría de los eucariotes. El citocromo, para realizar su catálisis, necesita que previamente esté reducido por lo que requiere de una proteína que cumpla esta función, generalmente participa la NADPH:citocromo C (P-450) reductasa en este proceso. Sin embargo, no es la única enzima que participa ya que se han identificado otras proteínas reductoras del citocromo P-450. En plantas, el citocromo P-450 tiene una participación amplia ya que contribuye en la biosíntesis de compuestos importantes en el desarrollo y diferenciación celular, en la biosíntesis de compuestos de defensa y participa en la destoxicificación de algunos compuestos nocivos para la planta. En las plantas se ha identificado a la NADPH:citocromo C (P-450) reductasa como donador universal de la P-450; sin embargo, poco se conoce sobre esta enzima.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en raíces de *Allium cepa* cultivadas *in vitro* sobre la regulación de la NADPH: citocromo C (P-450) reductasa en presencia de diferentes compuestos, algunos tóxicos y otros fitorreguladores del crecimiento.