

OBTENCION DE LINEAS CELULARES DERIVADAS DE *TAXUS GLOBOSA* SCH PRODUCTORAS DE TAXOL (PACLITAXEL) Y TAXANOS RELACIONADOS

¹Gabriela Oble, ^{2,3}Israel Benítez-García, ³Mercedes Bonfill, ³Rosa Cusidó, ³Javier Palazón, y ¹Lidia Osuna. ¹Centro de Investigación Biomédica del Sur-IMSS. Xochitepec, Mor. osunalidia@yahoo.com. ²Laboratorio de Biología Molecular. Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN, ³Laboratorio de Fisiología Vegetal, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

Palabras clave: Paclitaxel, *T. globosa*, cultivos celulares *in vitro*.

Introducción. *T. globosa* (Taxaceae), es un árbol que crece en México de manera silvestre. Se cataloga como especie protegida principalmente por su lento crecimiento. *T. globosa* sintetiza en mayor proporción el taxol y taxanos marcadores del género (1), los cuales se acumulan en mayor proporción en las hojas (2). El taxol es un potente anticancerígeno que se obtiene de dos fuentes: por semi-síntesis a partir del precursor 10 diacetilbaccatina III y a partir de cultivos *in vitro* de diferentes especies de *Taxus*. Actualmente no existen reportes sobre el cultivo *in vitro* de *T. globosa* para la obtención de taxol y taxanos relacionados. Por lo que los objetivos de este trabajo fueron: 1) Establecer los cultivos de callos a partir de hojas, tallos y ápices de *T. globosa*. 2) Evaluar el efecto hormonal sobre el crecimiento celular y producción de taxanos en cultivos de callos derivados de hojas de *T. globosa*.

Metodología. *Material vegetal.* Se utilizaron explantes de hojas, tallos y ápices de *T. globosa* cultivado en condiciones de invernadero. El material vegetal se desinfectó siguiendo la metodología descrita por Cusidó y col.(3). *Inducción de callogénesis.* Los explantes se cultivaron en medio B5 inducción (modificado) (2,4-D) para estimular la dediferenciación durante 30 días, con subcultivos cada 10 días. Una vez que se obtuvieron los cultivos de callos se subcultivaron en medio WPM (modificado) añadido de Picloram, CN y GA₃ durante 6 semanas. Se tomaron muestras cada semana, las variables de respuesta fueron peso fresco y seco. Las biomásas liofilizadas se procesaron para su análisis y la cuantificación de la producción de taxol y taxanos relacionados se realizó por UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) mediante el método de estándar externo.

Resultados y discusión. Se obtuvieron callos derivados de hojas, tallos y ápices de *T. globosa* al tiempo 20 días en medio B5 inducción. Los callos presentaron una consistencia muy friable de coloración verde claro al principio, y color café marrón al final del cultivo. A partir del material de callo derivado de hojas, se evaluó el efecto del medio de producción (WPM modificado) durante 6 semanas. Se determinaron las cinéticas de crecimiento y producción. Los callos cultivados en medio WPM tuvieron un índice de crecimiento celular de 0.70 g (t= 6 sem) y un tiempo de duplicación de 13.2 días (Fig.

1). De acuerdo con los resultados obtenidos por UPLC, los callos obtenidos de explantes de *T. globosa* son productores de taxanos. Los callos de hojas cultivados en medio WPM sintetizaron desde el inicio y hasta el final del cultivo, 4 de los taxanos identificados en otras especies del género. La mayor producción del taxol (paclitaxel) se obtuvo a la 1^a y 6^a semana del cultivo (Fig. 2)

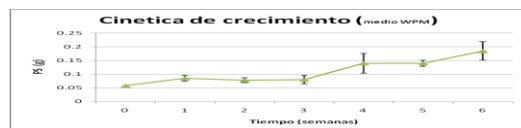


Fig. 1. Cinética de crecimiento celular de callos derivados de hojas de *T. globosa* en medio WPM, n=5, ±DE.

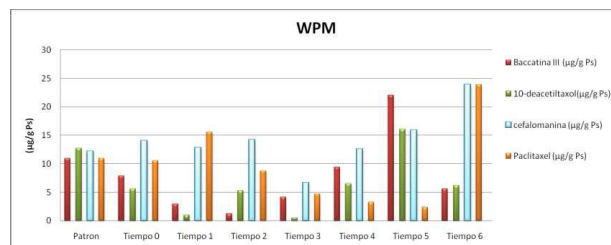


Fig. 2. Análisis y cuantificación de taxanos a partir de extractos metanólicos de callos derivados de hojas de *T. globosa*.

Conclusiones. Se establecieron los cultivos de callos en medio WPM modificado, los cuales fueron productores de los diferentes taxanos marcadores del género. Los callos derivados de hojas acumularon en mayor proporción 4 de los taxanos con respecto a los otros explantes (tallo y ápices). Los estudios están encaminados a incrementar la biosíntesis de taxanos *in vitro* mediante la biotransformación de la especie.

Bibliografía.

1. Van-Rozendaal, E.L.M. (1999). Screening of the needles of different yew species and cultivars for paclitaxel and related taxoids. *Phytochem.* 53(3): 383-389.
2. Soto-Hernández M, Sanjurjo M, González-Garza MT, Cruz-Vega D, Giral-González F. (2000). El Tejo mexicano (*Taxus globosa* Sch.) Potencial de su aprovechamiento en taxol. *Ciencia ERGOSUM* 7(3):277-279.
3. Cusidó, R.M, Palazón, J, Bonfill, M, Navia-Osorio, A, Morales, C, Piñol, M.T.(1999). Production of taxol and baccatin III by a selected *Taxus baccata* callus line and its derived cell suspension culture. *Plant Sci.* 146(2): 101-107