



## ACUMULACIÓN DE ARABINOGALACTANO-PROTEÍNAS SECRETADAS POR CULTIVOS DE *Beta vulgaris* L. EN UN BIORREACTOR

Arianna Michelle Hernández Sánchez, Gabriela Sepúlveda Jiménez, Mario Rodríguez Monroy. CEPROBI-IPN. Carretera Yautepec-Jojutla km 8.5 Colonia San Isidro, Morelos C.P. 62731. Fax : 017353941896. [gsepulvedaj@ipn.mx](mailto:gsepulvedaj@ipn.mx)

*Palabras clave : arabinogalactano-proteínas, biorreactor, electroforesis*

**Introducción.** Las arabinogalactanoproteínas (AGPs) son macromoléculas formadas por carbohidratos y proteína en una proporción 9:1 (1). En las plantas, la función de las AGPs está relacionada con el crecimiento y diferenciación celular. Estudios previos indican que cultivos de *Beta vulgaris* L. crecidos en biorreactor secretan proteínas que incluyen AGPs (2). Sin embargo, no se conocen las causas de su secreción, sus características bioquímicas y su relación con el crecimiento celular.

Por lo que, el objetivo del presente trabajo fue estudiar el perfil de acumulación y algunas características bioquímicas de las AGPs secretadas por los cultivos de *Beta vulgaris* L. crecidos en un biorreactor tipo tanque agitado.

**Metodología.** Se realizaron cinéticas de crecimiento del cultivo de *Beta vulgaris* L. en un biorreactor tipo tanque agitado de 2 L operado a 400 rpm, las condiciones de crecimiento fueron las reportadas previamente (2). El crecimiento celular se determinó por medio del peso seco. A través de una filtración del caldo se recuperó el medio libre de células. Las proteínas secretadas por el cultivo se recuperaron mediante la diálisis y liofilización, y se obtuvo su patrón electroforético en SDS-PAGE. Para revelar las proteínas totales los geles se tiñeron con azul de Coomassie (3) y para identificar a las AGPs se usó el reactivo de Yariv (1). La cuantificación de las AGPs se realizó mediante la técnica de difusión radial en gel (4).

**Resultados y discusión.** El cultivo creció con una velocidad de 0.14 días<sup>-1</sup> y alcanzó una biomasa máxima de 16 g/L. La curva de acumulación de las AGPs muestra que la concentración de AGPs en el filtrado aumenta conforme transcurre el tiempo de cultivo. La acumulación de las AGPs alcanzó un valor máximo de 30 mg/L a los 16 días del cultivo (Fig. 1).

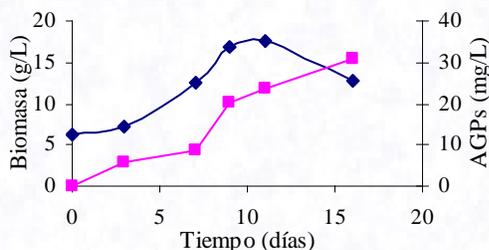


Figura 1. Perfil de crecimiento (◆) del cultivo de *Beta vulgaris* L. y de la acumulación de las AGPs secretadas (■).

El perfil de la acumulación de las AGPs es similar al perfil del crecimiento del cultivo, lo que sugiere que la secreción de estas

macromoléculas es un evento relacionado con el crecimiento celular, como ocurre con el cultivo de *Arabidopsis thaliana* (1). El patrón electroforético (Fig. 2A) de las proteínas secretadas por el cultivo de *Beta vulgaris* L. a lo largo de la cinética de crecimiento fue muy similar a los 9, 11 y 16 días. Esto indica que se secretan las mismas proteínas durante el crecimiento celular. Los resultados de la tinción de los geles con el reactivo de Yariv, (agente sintético que reacciona con las AGPs), sugieren que el cultivo de *Beta vulgaris* L. secreta una AGP de peso molecular mayor a 113 kDa durante el crecimiento celular (Fig. 2B).

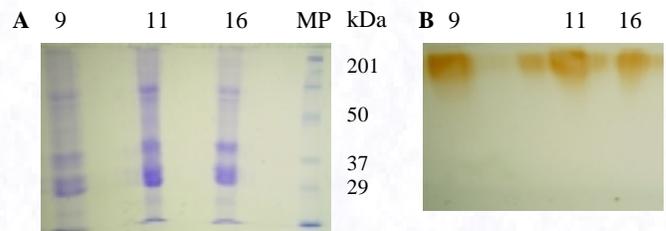


Figura 2. Patrón electroforético de las proteínas y AGPs secretadas al medio de cultivo de células de *Beta vulgaris* L. Tinción con azul de Coomassie (A) y con el reactivo de Yariv (B). 9, 11 y 16 son los días del cultivo. MP: marcadores de peso molecular.

**Conclusiones.** El cultivo de *Beta vulgaris* L. crecido en un reactor agitado mecánicamente secreta una AGP al medio de cultivo de peso molecular aproximado a 113 kDa. La secreción de esta macromolécula está asociada al crecimiento celular del cultivo.

**Agradecimientos.** Los autores agradecen al CONACyT P43861-Z y al SIP20070090 por su apoyo. AMHS agradece la beca CONACyT (200579) y al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI).

### Bibliografía

- Darjania L., Ichise N., Ichikawa S., Okamoto T., Okuyama H. y Thompson G.A. (2002). Dynamic turnover of arabinogalactan proteins in cultured *Arabidopsis* cells. *Plant Physiol. Biochem.* 40:69-79.
- Rodríguez-Monroy M. y Galindo E. (1999). Broth rheology, growth and metabolite production of *Beta vulgaris* suspension culture: a comparative study between cultures grown in shake flasks and in a stirred tank. *Enzyme Microbial Technol.* 24:687-693.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 227:680-685.
- Van Holst, G. y Clarke A. (1985). Quantification of arabinogalactan-protein in plant extracts by single radial diffusion gel. *Anal. Biochem.* 148:446-450.