



## CULTIVOS CELULARES DE *Jacaratia mexicana*. EFECTO DE LA CASEÍNA EN LA SÍNTESIS DE PROTEASAS.

<sup>2</sup>Liliana Montaña Herrera, <sup>2</sup>Elisa Morales López, Enrique Durán Páramo, <sup>1\*</sup>María del Carmen Oliver Salvador. Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del Instituto Politécnico Nacional. Av. Acueducto s/n, Barrio La Laguna Ticomán, México, D. F., C.P. 07340, Teléfono: 57296000, Ext.: 56343, 56342. Correo electrónico: oliveripn@hotmail.com

*Palabras clave: Jacarattia mexicana, proteasas, inducción.*

**Introducción.** El cultivo de células vegetales es una herramienta biotecnológica para la producción de metabolitos, entre ellos las enzimas. Las enzimas proteolíticas o proteasas de Caricáceas tienen aplicaciones en las industrias farmacéuticas y de los alimentos, además presentan otras actividades como p.e. la acción mitogénica (1). La *Jacarattia mexicana* es una planta de la familia de las Caricáceas que produce la “mexicaína” que es una proteasa de gran estabilidad y con mayor actividad proteolítica específica que la papaína (2). Las proteasas son enzimas inducibles, como se demostró por vez primera en bacterias (3). En cultivos celulares de *J. mexicana* hemos logrado un incremento de la actividad proteolítica en el medio de cultivo donde crecieron las células, usando un hidrolizado de caseína como inductor (4). En este trabajo se estudió el efecto de la caseína como inductor en la producción de enzimas proteolíticas y en el desarrollo del cultivo.

**Metodología.** Se estableció un cultivo de callos y un cultivo de células en suspensión de *Jacarattia mexicana* en medio Murashige y Skoog (MS) adicionado con 0.50 mg/L de 2,4-D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético) y 0.25 mg/L de BAP (6-bencilaminopurina) a pH 5.6. El ensayo se realizó con dos concentraciones de sacarosa, con y sin caseína 0.5 g/L (Cuadro 1). Los cultivos se mantuvieron en agitación a 100 rpm, a 25°C y fotoperiodo de 16 h y cada quince días se pasaron a medio fresco y cada semana se determinó la biomasa y la actividad proteolítica.

Cuadro 1. Formulaciones del medio MS9 probadas

Medio MS	Caseína (g/L)	Sacarosa % (p/v)
1	0.5	4
2	-	4
3	0.5	6
4	-	6

**Resultados y discusión.** A los 45 días del cultivo celular de *J. mexicana* adicionado con 0.5 g/L de caseína y sacarosa al 4% (p/v), se observó que la actividad proteolítica determinada en el medio donde crecieron dichas células se incrementó un 38% con respecto al cultivo control (Fig.1). Resultados similares se observaron en los cultivos con sacarosa al 6% (p/v) (datos no mostrados). Lo cual sugiere que la caseína promueve la síntesis y/o liberación de las proteasas al medio de cultivo. Además, se observó que los cultivos con sacarosa al 4% (p/v) mostraron una mayor actividad proteolítica que con 6% (p/v). Sin embargo el

crecimiento celular fue mayor con 6% (p/v). Por otro lado, el crecimiento celular de *J. mexicana* aparentemente no se vio afectado por la adición de caseína 0.5 g/L en el medio de cultivo.

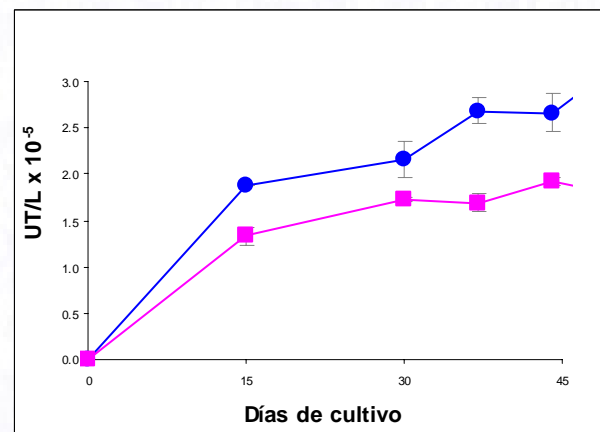


Figura 1. Actividad proteolítica determinada en el medio de cultivo donde crecieron las células de *J. mexicana*. Medio MS con sacarosa 4%: caseína 0.5 g/L (●), sin caseína (■).

**Conclusiones.** La adición de caseína en cultivos celulares de *J. mexicana* incrementó la producción de enzimas proteolíticas excretadas al medio de cultivo donde crecieron dichas células; sin afectar aparentemente el crecimiento celular del cultivo.

El incremento en la concentración de la sacarosa del 4 al 6% si influye, positivamente, en el crecimiento del cultivo celular de *J. mexicana*.

**Agradecimientos.** <sup>1</sup>SIBE-COFFA-IPN, <sup>2</sup>PIFI-IPN y Proyecto CGPI20060388.

### Referencias

- Gomes M.T.R., Mello V.J., Rodrigues K.C.L., Bemquerer M.P., Lopes M.T.P., Faça V.M., Salas C.E. (2005). Isolation of two plant proteinases of latex from *Carica candamarcensis* acting as mitogens for mammalian cells. *Planta Medica* 71: 244-248
- Briones-Martínez, R., Cruz y Victoria M. T., Cortés-Vázquez, M. I. y Oliver-Salvador M. C. (1994). Preparaciones enzimáticas de interés industrial. *Información Tecnológica (Chile)*, 5(1):29-38.
- Castañeda-Agulló, M. (1956) Studies on the biosynthesis of extracellular proteases by bacteria: *Serratia marcescens*, synthetic and gelatine media. *J General Physiology*. 39: 369-375.
- Barrera M. I. (2007). Cultivo de células de *Jacarattia mexicana* en un biorreactor *airlift*: Efecto de un inductor y un elicitor en la producción de enzimas proteolíticas. Tesis de Maestría. UPIBI-IPN. México.