



AISLAMIENTO DE BACTERIAS ASOCIADAS A *Taxus globosa Schlecht* DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA DE SIERRA GORDA Y ANÁLISIS DE SU CAPACIDAD PARA PRODUCIR TAXOL MEDIANTE INMUNOENSAYO.

Cecilia de la Paz Vital Beraud^a, Zoila Flores Bustamante^a, Rodolfo Marsch Moreno^a, Victor Olalde Portugal^b, Luis Bernardo Flores Cotera^{a*},

^a Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Depto. Biotecnología y Bioingeniería, Av. IPN. 2508, San Pedro Zacatenco, C.P. 07360, México DF., Tel. (55) 50613800 ext. 4310, Fax (55) 50613313, lfcotera@cinvestav.mx.

^b Centro de Investigación y Estudios Avanzados del IPN, Depto. Biotecnología y Bioquímica, Campus Guanajuato.

Palabras clave: Taxol, *Taxus globosa*, Bacterias productoras.

Introducción. El Taxol es un pseudoalcaloide diterpénico polioxigenado, utilizado en el tratamiento de cáncer de ovario, pecho, pulmón y sarcoma de Kaposi relacionado con el SIDA. El Taxol fue extraído originalmente de la corteza de *Taxus brevifolia* (1), pero está presente en todas las especies de *Taxus* conocidas. Aún en la actualidad, el Taxol es extraído a partir de tejos o es semisintetizado a partir de precursores como la bacatina III, encontrados en las hojas. Otras alternativas para la producción de Taxol incluyen el Cultivo de células vegetales, la síntesis química total y la fermentación de hongos (2) y bacterias (3,4). Sin embargo el tratamiento con Taxol sigue teniendo un alto costo, haciendo necesario desarrollar tecnologías más económicas para su abastecimiento. En México crece una especie de tejo, *Taxus globosa Schlecht*, incluida en el listado de especies raras de México por la SEMARNAT y prácticamente no existen estudios de *T. globosa Schlecht* enfocados en el Taxol y no se han reportado microorganismos asociados a este árbol.

El objetivo principal del presente proyecto es aislar una bacteria capaz de producir taxol, a partir de tejidos de *T. globosa Schlecht* que crecen en la Reserva de la Biósfera de Sierra Gorda, Querétaro.

Metodología. Se realizó un muestreo de tejidos de corteza, hoja, duramen, raíz y rama de *T. globosa Schlecht*, de los cuales se aislaron bacterias en medios con agar: nutritivo, dextrosa papa, R2, cerebro corazón, Czapeck, medio mínimo M9, agua y agua más extracto de hojas del tejo. Las bacterias aisladas se cultivaron por 3 días en medio S7 modificado para bacterias (3,4). Para la preparación de los extractos se homogenizó el cultivo con una mezcla cloroformo-metanol 10:1(2). La parte orgánica se evaporó hasta sequedad. La presencia de taxol en los extractos obtenidos se evaluó mediante inmunoensayos de inhibición competitiva de la compañía Cardax Pharmaceuticals.

Resultados y discusión. Se aislaron 342 bacterias a partir de 5 ejemplares de *T. globosa Schlecht* muestreados en la Sierra Gorda de Querétaro. Se realizaron los extractos de 161 bacterias que crecieron bien en el medio de cultivo S7 utilizado en las fermentaciones. Del total de 161 extractos analizados por inmunoensayo, 17 se consideraron positivos por presentar cantidades de Taxol mayores a la obtenida por medio de cultivo sin inocular (promedio de interferencia de 5.21 ng/L de S7). Las cepas positivas fueron la 81, 131, 145, 188, 201, 204, 215, 331, 350, 352, 353, 366, 368, 384, 394,

396 y 405. Los resultados del análisis de inmunoensayo se muestran en la Figura 1.

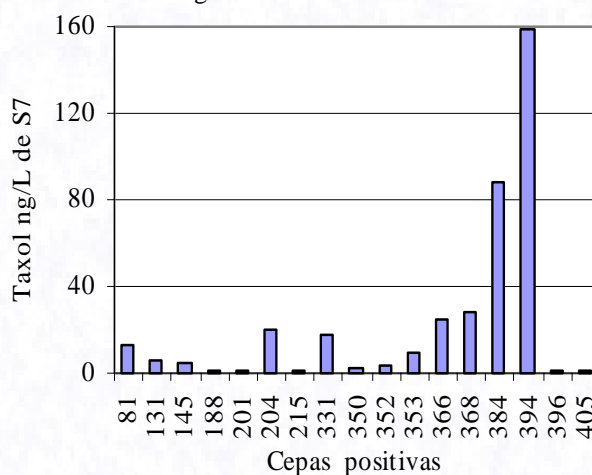


Figura 1. Gráfica 1.-Contenido de taxol en extractos de cultivos bacterianos detectado por inmunoensayo (cepas positivas).

Estas cepas están siendo identificadas por técnicas de biología molecular (gen 16 S ribosomal) y se realizará el análisis cromatográfico y de espectrometría de masas a dos de las bacterias con mejor producción para confirmar la presencia de taxol o precursores de este en los extractos.

Conclusiones. De las 342 bacterias aisladas, 17 de ellas dieron resultado positivo en el análisis de inmunoensayo de inhibición competitiva.

Agradecimiento. Los autores agradecen el financiamiento recibido por el CINVESTAV, y la beca otorgada por CONACYT (no. 199862)

Bibliografía.

1. Wani M, Taylor H, Wall M, Coggon P y Mcphail A.(1971) Plant Antitumor Agent VI. The isolation and Structure of taxol, a Novel Antileukemic and Antitumor Agent from *Taxus brevifolia*, J. Am. Chem. Soc., 93:2325-2327
2. Stierle A, Strobel G, Stierle D, (1993) Taxol and taxane production by *Taxomyces andreanae* an endophytic fungus of Pacific yew. *Science*.260:214-215.
3. Page M, Landry N. (1996) *Bacterial mass production of taxanes with Erwinia*. U.S. Pat No.5,561,055
4. Page M, Landry N. Boissinot, M.(2000) *Bacterial mass production of taxanes and Taxol*. U.S. Pat No.6,030,818.