



DETECCIÓN DE CURCINA EN CÉLULAS *IN VITRO* DE *Jatropha curcas* L.

Melissa Bermejo Cruz, Alma Leticia Martínez Ayala, Antonia De Jesús Sánchez, Silvia Evangelista Lozano*, Departamento de Biotecnología del CEPROBI-IPN; km 6 Carretera Yautepec-Jojutla, Calle Ceprobi No. 8. C. P. 62731. Colonia San Isidro. Yautepec, Morelos, Méx. correo electrónico: sevangel@ipn.mx

Palabras clave: proteínas inactivadoras de ribosomas, metabolitos secundarios del piñón.

Introducción. La *J. curcas* contiene metabolitos, como la curcina, que ha sido reportada en plantas tóxicas (semillas, hoja y tallo), la curcina es una proteína inactivadora de ribosomas (RIPs); estas son de interés por su actividad enzimática de N-glicosidasa, la cual inhibe la síntesis de proteínas, evitando la producción de células neoplásicas (1). La detección en plantas no tóxicas de proteínas con pesos moleculares entre los cuales se encuentra la curcina, serían la pauta para la producción a futuro en material *in vitro* y el aprovechamiento de su actividad antitumoral para la construcción de inmunotoxinas.

El objetivo fue establecer *in vitro* el genotipo no tóxico y determinar en callo, la presencia de proteínas con pesos moleculares de 28-32 kDa las cuales pudieran corresponder a curcina.

Metodología. Se sembraron *in vitro* explantes nodales de plantas cultivadas en maceta; en medio de cultivo MS (2), adicionando con 30 g·L⁻¹ de sacarosa y reguladores de crecimiento vegetal (RCV) con las combinaciones de AIB (0, 0.1, 0.25 y 0.5 mg·L⁻¹) combinado con BAP (0, 0.1, 0.25 y 0.5mg·L⁻¹) para inducir la formación a callo. Para el fraccionamiento de los extractos proteicos se siguió la metodología reportada por Stirpe y col. (3) y Lin y col. (1). De las fracciones proteicas obtenidas, así como de los extractos de proteína cruda (sin fraccionar) se cuantificó la concentración de proteínas totales mediante el método colorimétrico del ácido bicinonínico (BCA) (4). Las fracciones obtenidas, así como los extractos referidos como proteína cruda fueron analizados por electroforesis desnaturalizante.

Resultados. Se encontró que el mejor resultado para la inducción de callo fue la combinación AIB 0.5 mg·L⁻¹ + BAP 0.25 mg·L⁻¹, en las que se obtuvieron callos de mayor tamaño, friables y de color verde claro en el 100% de los explantes cultivados (Figura 1).



Fig. 1. Inducción de callo de *J. curcas* a partir de explantes nodales.

El perfil electroforético de los extractos de proteína cruda como de las fracciones mostró la presencia de bandas de

28-32 kDa correspondientes a la curcina (Figura 2 y 3) al igual que los de semilla de *J. curcas* y *Croton tiglium* usados como control positivo.

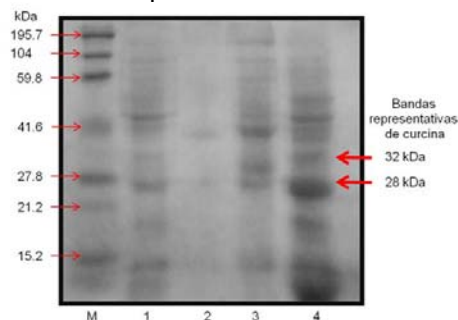


Figura 2. Patrones electroforéticos desnaturalizantes (SDA-PAGE) de extractos proteicos de: M) Marcador molecular, 1) Plántula *in vitro* de *J. curcas*, 2) Callo de *J. curcas*, 3) croton, 4) semilla *J. curcas*.

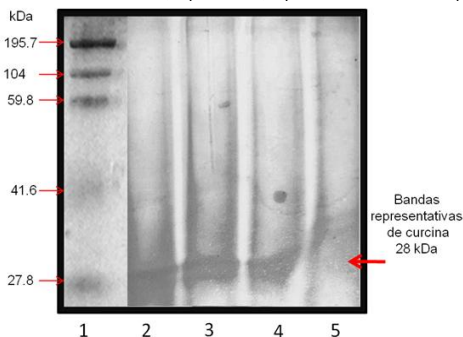


Figura 3. Patrones electroforéticos desnaturalizantes (SDA-PAGE) de fracciones proteicas: M) Marcador molecular, 1) Plántula *in vitro* de *J. curcas*, 2) Callo de *J. curcas*, 3) croton, 4) semilla *J. curcas*.

Conclusion. Los mejores tratamientos para la inducción de callo de *J. curcas* a partir exolantes nodales, fueron la combinación de AIB (0.5 mg·L⁻¹) + BAP (0.25 mg·L⁻¹). Demostrándose que en los extractos proteicos crudos y fraccionados se encuentran presentes bandas de 28-32 kDa correspondientes a curcina

Agradecimiento. Al financiamiento otorgado al proyecto SIP20100024 del IPN.

Bibliografía.

1. Lin J., Zhou X, Wang J., Jiang P. and Tang K. (2010). Purification and characterization of curcin, a toxic lectin from the seed of *Jatropha curcas*. *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 40:107-118.
2. Murashige, T. y Skoog, F. 1962. *Physiologia Plantarum* 15:473-497
3. Stirpe F., Pession-Brizzi A., Lorenzoni E., Strocchi P. y Montanaro L. (1976). *Biochemistry Journal* 156:1-6.
4. Bollag D.M.y Edelman S.T. (1991). *Protein methods*. Wiley-Liss. United States of America.