



EFFECTO DE REGULADORES DE CRECIMIENTO SOBRE LÍNEAS DE RAÍCES DE BRÓCOLI TRANSFORMADAS CON pCAMBIA 1105.1 Y EL GEN L1 DEL HPV16

M en C. Juan Manuel Jiménez Antaño¹, Dra. Ma. Del Carmen Montes Horcasitas¹, Dra. Emma Gloria Ramos Ramírez¹, Dr. Armando Ariza Castolo², Dra. Josefina Pérez Vargas³, QBP. Octavio Gómez Guzmán¹, Dr. Graciano Calva Calva¹

juan8784@hotmail.com, gcalva@cinvestav.mx

¹Departamento de Biotecnología y Bioingeniería del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN. Av. IPN 2508 Col. San Pedro Zacatenco. México, D.F., México 07360. Apartado postal 14-740, 07000. Teléfono: 57473800 Ext. 4348.

²Departamento de Química del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN.

³Posgrado en Ingeniería Bioquímica, TESE.

Palabras clave: L1 de HPV16, Raíces de brócoli, Reguladores de crecimiento.

Introducción. El cáncer cervicouterino se asocia a la infección previa por el virus del papiloma humano (HPV) [1]. La proteína L1 es el componente principal de la cápside de este virus, la cual puede ensamblarse en cápsides vacías conocidas como partículas semejantes a virus (VLP) [2]. Estos VLP inducen títulos altos de anticuerpos neutralizantes (Moniz. M. 2003). Por esta razón se producen vacunas a base de VLP en sistemas como levaduras y células de insecto [4]. En este trabajo, se pretende establecer cultivos de raíces de brócoli como modelo de expresión L1 o VLP y aquí reportamos el efecto de varios reguladores del crecimiento vegetal sobre la producción y regeneración de ese tejido radical.

Metodología. La construcción pCAMHPV16L1 se preparó mediante la clonación del gen *l1* del HPV16 en pCAMBIA 1105.1. Con esta construcción se indujeron raíces transformadas vía *Agrobacterium rhizogenes*. La transformación se confirmó mediante morfología de las raíces y actividad de la β -glucuronidasa.

Para evaluar el efecto de los reguladores de crecimiento se usó un diseño experimental de cuadrados latinos con tres factores a 5 niveles [IAA (ácido indol acético), Kin (Kinetina) y GA3 (ácido giberélico), a 0, 0.05, 0.5, 5.0 y 10.0 ppm]. En este experimento se evaluó también el efecto de origen del explante (raíz, hipocotilo y cotiledones)

Resultados. Se establecieron líneas de raíces transformadas positivamente de acuerdo al ensayo de β -glucuronidasa. El fenotipo característico de estas raíces pilosas fue alta vellosidad y rápido crecimiento como se han reportado en estudios previos (Henzi *et al.* 2000) y en el grupo de trabajo (García 2009).



Fig. 1. Dos líneas de raíces transformadas (74 y 75) con alta vellosidad y rápido crecimiento, y resultado positivo a β -glucuronidasa.

Del efecto de los reguladores de crecimiento se encontró que los tratamientos 2 con 0.05 ppm de IAA y 0.005 ppm de GA₃, 6 con 0.05 mg/L de Kin y 0.005 ppm de GA₃ y 7 con 0.05 ppm de IAA y 0.005 ppm de Kin mostraron mayor elongación y ramificación de raíces, pero el tratamiento 25 con 10 ppm tanto de IAA como de Kin fue donde se produjeron raíces más gruesas y ramificadas

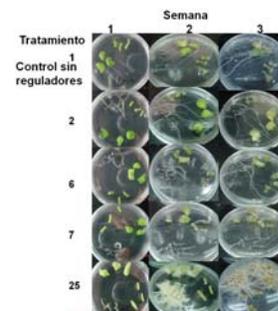


Fig. 1. Los tratamientos 2, 6, 7 y 25 fueron donde se observó una mayor ramificación y elongación de raíces.

Conclusiones. Se establecieron líneas de raíces transformadas con el gen *l1* del HPV16. Los reguladores de crecimiento Kin y de IAA a 10 ppm favorecieron el crecimiento y ramificación de raíces.

Agradecimiento. El primer autor agradece a CONACYT por la beca otorgada para sus estudios de Maestría y por el financiamiento proyecto CONACYT número 47678.

Bibliografía.

1. Diestro M. D., S. M., Gómez N. F. (2007). "Cáncer de cuello uterino: Estado actual de las vacunas frente al virus del papiloma humano (VPH)." *Oncología (Barc.)* **30**(2): 14-31.
2. Ishii, Y., Tanaka, K. y Kandaa, T. (2002). "Mutational analysis of human papillomavirus type 16 major capsid protein L1: the cysteines affecting the intermolecular bonding and structure of L1-capsids." *J. Virol.* **308**(2003): 128-126.
3. Carter, J., Wipf, G., Benki, S., Christensen, N. y Galloway D. (2003). "Identification of a Human Papillomavirus Type 16-Specific Epitope on the C-Terminal Arm of the Major Capsid Protein L1." *J. Virol.* **77**(21): 11625-11632.
4. Stanley, M. (2007). "Prophylactic HPV vaccines." *J. Clin. Pathol.* **60**: 961-965.