

Cultivos celulares vegetales, una eficaz plataforma para la producción biotecnológica y estudio de la biosíntesis de metabolitos secundarios de interés farmacológico

Adolfo Rodríguez^a, Rosa María Cusido^b, Javier Palazón^b y Karla Ramírez-Estrada^{a,b,*}

^aLaboratorio de Metabolismo Celular, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, Ciudad Universitaria, San Nicolás de los Garza, N.L., México

^bDepartamento de Biología, Sanidad y Medio Ambiente, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Barcelona, España.

*karla.ramirezst@uanl.edu.mx

Palabras clave: *Taxus media*, cultivo celular de plantas, Taxanos, Taxol, caracterización de genes, perfiles de transcripción

Introducción

El taxol® es un alcaloide diterpénico sintetizado por distintas especies de *Taxus* que presenta una alta eficacia frente a diversos tipos de cáncer. Además del elevado costo del proceso de extracción, el principal problema asociado a la obtención de taxol es la baja proporción en que se encuentra en su fuente de origen, la corteza interna del tejo, ya que la obtención de 1 Kg de taxol implica la destrucción de aproximadamente 1500 árboles (1). Lo antes mencionado demuestra la necesidad de utilizar sistemas alternativos, para poder responder a la elevada demanda mundial de este compuesto. Los cultivos celulares vegetales son un sistema potencialmente eficaz para la producción de moléculas complejas derivadas de especies vegetales como lo es el taxol, así como para el estudio de su biosíntesis y regulación.

En este trabajo hemos estudiado la producción de taxol y taxanos relacionados en cultivos celulares de *Taxus media* tratados con dos potentes elicitores, así mismo estudiamos el efecto sobre los genes clave en la biosíntesis del taxol.

Metodología

Los cultivos celulares de *T. media* fueron proporcionados por Exposito *et al.* y cultivados según se describe previamente (2). El experimento de elicitación se llevó a cabo en cultivo de dos fases, primero se favorece la formación de biomasa, donde se determinó la cinética de crecimiento y en la segunda fase se cambió el medio de cultivo y agregaron los elicitores. Las muestras para la determinación de taxanos se tomaron cada 4 días por 20 días y para el análisis de expresión a 0, 4, 24, 12 y 48 horas después de la adición de los elicitores. Los taxanos fueron extraídos y cuantificados según se describe previamente (3); el diseño de primers, la extracción de RNA síntesis de DNAc y las condiciones para la RT-qPCR fueron realizadas de acuerdo a lo descrito por Sabater-Jara *et al.* (4)

Resultados y discusión.

En la cinética de crecimiento observamos que el tratamiento con coronatina (CORO) inhibió el crecimiento, mientras que la ciclodextrina (CD) aumentó la biomasa. EL mejor tratamiento resultó ser la combinación de los dos elicitores (CD+CORO) con un máximo de producción después de los 12-16 días de la elicitación. Los taxanos totales obtenidos en el tratamiento combinado son mayores a la sumatoria de los dos tratamientos, lo que sugiere un efecto sinérgico, como previamente se ha observado en otros sistemas (4).

Con el objetivo de analizar los perfiles de transcripción y la producción de taxanos en los tratamientos estudiados, se analizaron los cambios en la expresión por RT-qPCR de los principales genes involucrados en la síntesis de taxanos. El aumento de la expresión de los genes correlacionó con el aumento en la cantidad de taxanos, así mismo detectamos genes flujo-limitantes.

Conclusiones

Nuestro estudio demostró nuevamente la factibilidad en el uso de cultivos celulares de plantas del genero *Taxus* y la posibilidad de aumentar la producción de taxanos con la adición de diferentes elicitores.

Referencias

- 1.- Vidensek, N., Lim, P., Campbell, A., Carlson, C., 1990. *J. Nat. Prod.* 53, 1609– 1610.
- 2.-Exposito, O., Syklovska-Baranek, K., Moyano, E., Onrubia, M., Bonfill, M., Palazon, J., Cusido, R.M., 2010. *Biotechnol. Prog.* 26, 1145–1153.
- 3.- Onrubia, M., Moyano, E., Bonfill, M., Cusido, R.M., Goossens, A., Palazon, J., 2013. *J. Plant Physiol.* 170, 211–219.
- 4.- Sabater-Jara, A.B., Onrubia, M., Moyano, E., Bonfill, M., Palazon, J., Pedreno, M.A., Cusido, R.M., 2014. *Plant Biotechnol. J.* 12, 1075– 1084.