

## Obtención de péptidos con actividad citotóxica derivados de las parasporinas de *Bacillus thuringiensis*

Verónica Melissa Suárez-Treviño<sup>1</sup>, Julio Alejandro Reyes-Puentes<sup>1</sup>, Silvia María Aldana-Salazar<sup>1</sup>, Claudia Berenice López-Alvarado<sup>2</sup>, Jesús Alberto Gómez-Treviño<sup>1</sup>, Benito Pereyra-Alfárez<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Químicas, Av. Pedro de Alba S/N, San Nicolás de los Garza, N. L., México

<sup>2</sup> Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas, Instituto de Biotecnología, Av. Pedro De Alba y Manuel L. Barragán S/N, San Nicolás de los Garza, N. L., México.

\*Autor Responsable: melissa.sutrev@gmail.com

**Palabras clave:** Parasporinas, citotoxicidad, *Bacillus thuringiensis*, proteínas Cry.

### Introducción

*Bacillus thuringiensis* es una bacteria Gram-positiva, aerobia estricta<sup>1</sup>. Durante la fase de esporulación produce inclusiones paraesporales cristalinas de naturaleza proteica<sup>2</sup>. Estas inclusiones, denominadas proteínas Cry, presentan actividad entomopatógena<sup>3</sup>, sin embargo, algunas cepas de *Bacillus thuringiensis* que no tienen actividad insecticida, presentan actividad citotóxica incluso contra células humanas de origen neoplásico, así, el término de parasporinas se usa para describir a las proteínas Cry con actividad citotóxica en contra de células humanas cancerígenas<sup>4</sup>.

### Parte experimental

Las cepas IB79, IB84 y GM18 son cepas nativas de *Bacillus thuringiensis* aisladas del norte y centro de México y pertenecen a la colección de microorganismos entomopatógenos del Instituto de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Biológicas. La cepa de referencia A1470 productora de PS2Aa2 y PS4Aa1 fue proporcionada por el Dr. Eiichi Mizuki de Biotechnology and Food Research Institute, Fukuoka, Japón.

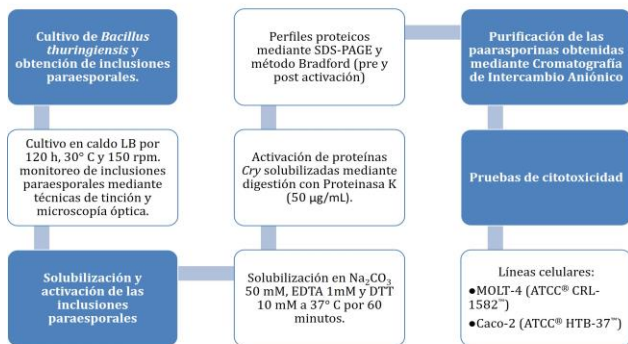


Fig. 1 Esquema general de metodología.

### Resultados y discusión

Se obtuvieron cultivos completamente esporulados y se observó la presencia de cristales paraesporales a partir de las 48 h de incubación.

Los perfiles proteicos de las proteínas digeridas muestran bandas con pesos entre 25 y 30 kDa que podrían relacionarse con las familias de parasporinas PS2 y PS4. La purificación permitió la separación de las parasporinas a lo largo del gradiente aplicado (Tris 20 mM + NaCl 50-100 mM) y fueron recolectadas y recuperadas en distintas fracciones para los bioensayos posteriores (Fig. 1 y 2).

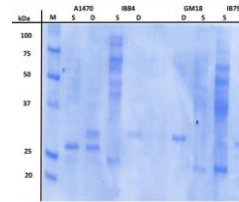


Fig. 1 SDS-PAGE 12%. Muestras solubilizadas en Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> pH 10.0. S: muestra solubilizada; D: muestra digerida.

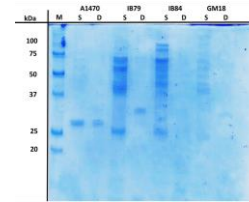


Fig. 2 SDS-PAGE 12%. Muestras solubilizadas en Tris 20 mM pH 8.0. S: muestra solubilizada; D: muestra digerida.

En las figuras 3 y 4 se muestran resultados preliminares de los bioensayos de las cepas IB84 e IB79 contra la línea celular MOLT-4. La Concentración Efectiva Media (CE<sub>50</sub>) fue calculada mediante método probit arrojando un valor de 121 µg/mL para IB79 y 77 µg/mL para IB84. En comparación con la cepa de referencia A1470 la cual produce dos parasporinas, PS2Aa2 y PS4Aa4, con pesos moleculares similares (28 kDa), la actividad biológica de las parasporinas del presente estudio puede deberse a la presencia de más de un tipo de parasporina en un mismo extracto. Esto podría explorarse más a fondo mediante expresión en otros organismos y el empleo de técnicas adicionales de purificación.

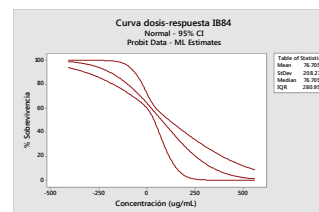


Fig. 3 Curva dosis-respuesta sobre células MOLT-4. Cepa IB84.

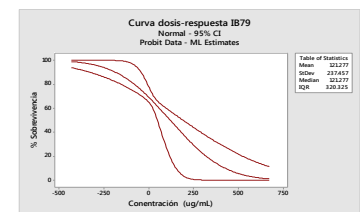


Fig. 4 Curva dosis-respuesta sobre células MOLT-4. Cepa IB79.

### Conclusiones

De acuerdo con los resultados preliminares obtenidos en los bioensayos, se han obtenido parasporinas con actividad citotóxica hacia células MOLT-4 en cultivo *in vitro*.

### Referencias

- Ohba Michio, *et al.* Anticancer Research. 2009, 29, 427-434.
- Arévalo-Niño Katiushka, Pereyra-Alfárez Benito, *et al.* Avances recientes en la biotecnología en *Bacillus thuringiensis*. Universidad Autónoma de Nuevo León. Monterrey, México. 1996.