



## Obtención, Purificación y Microencapsulado de Lunasina Recombinante

M. A. Gruintal Santos<sup>1</sup>, J. L. Fernández Muñoz<sup>1</sup>, M. Lara Flores<sup>2</sup>, S. Silvente<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN, Unidad Legaria  
Legaria 694, Col. Irrigación, Delegación Miguel Hidalgo, 11500, México D. F.

<sup>2</sup>Instituto de Biotecnología de la UNAM. Av. Universidad 2001, Col. Chamilpa, 62210, Cuernavaca, Morelos

### Resumen

Se ha comprobado que lunasina tiene una alta capacidad anticancerígena [3]. La planta en donde se encuentra en mayor proporción lunasina hasta ahora conocida es el fríjol de soya, pero aun en ella se encuentra en muy poca cantidad y al purificarla se obtiene todavía menos, por otra parte la lunasina al ser un péptido una gran parte se pierde durante la digestión [1], esto sucede a pesar que en la soya se encuentra acompañada por el péptido inhibidor de proteasas de Bowman Birk el cual lo protege durante el proceso digestivo siempre y cuando no haya sido inactivado por un tratamiento térmico. Una de las formas de enfrentar este problema fue propuesta por [2] el cual produjo un transgénico de soya que expresa mucha más lunasina que todos los demás tipos de fríjol de soya. Por otra parte nosotros para realizar nuestro planteamiento tomamos en cuenta que se pierde lunasina durante la digestión y que el consumo del fríjol de soya en América Latina es muy bajo de apenas de 1 a 3 g al día per capita.

Lo que nosotros proponemos es clonar el gen de lunasina a *Escherichia coli* de tal manera que esta lo sobreexpresa para posteriormente purificarla y microencapsularla con una cápsula entérica para de esta manera protegerla de la digestión y pueda ser agregada a una gran variedad de alimentos.

### Introducción

El nombre lunasina es originario del Tagalo que significa "para curar". La lunasina es un péptido de 43 aminoácidos fig. 1, el cual tiene una masa molecular de 4.8 kDa, con un motivo de adhesión entre el aminoácido 33 al 35, con 9 asparticos terminales del lado carboxilo y con una potente actividad antimetabólica del cual se deriva su capacidad anticancerígena, comprobada en la prevención del cáncer de colon, mama, útero y piel [3]. Se ha encontrado exclusivamente en semillas, se descubrió originalmente en el fríjol de soya (0.50 a 8.13 mg de lunasina/g de semilla) y recientemente se produjo un fríjol de soya modificado genéticamente que contiene 70.49 mg de lunasina/g de semilla [2], además se descubrió su presencia en distintas semillas como son: cebada (13.59 a 18.61 µg de lunasina/g de semilla), trigo (0.211 a 0.249 mg de lunasina/g de semilla) y amaranto (9.50 a 12.9 µg de lunasina/g de semilla).

### Procedimiento Experimental

#### Clonación del gen lunasina al vector pQE30 y transformación de *E. coli* M15[pREP4]

El vector pJet1.2/blunt-lunasina fue extraído de *E. coli* DH5α y mandado a secuenciar para comprobar que la secuencia de lunasina fuera correcta, una vez confirmada la secuencia, se puso a digerir con las enzimas de restricción BamHI y KpnI enseguida se clonó a lunasina en el vector pQE30 y se transformó a las células competentes *E. coli* M15[pREP4].

#### Obtención de la proteína lunasina:

La purificación se realiza por cromatografía de afinidad inmovilizada por Ni.

**Microencapsulado:** Este se tiene planeado realizarlo por aspersión y utilizar una película entérica. A las microcápsulas se le realizan pruebas en el DSC para comprobar que la lunasina no reaccione con la cápsula.

#### Figura 1. Estructura primaria de la lunasina [4].

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10										
S	-	K	-	W	-	Q	-	H	-	Q	-	Q	-	D	-	S	-	C	-
11	12	13	14	15	16	17	18	19	20										
R	-	K	-	Q	-	L	-	Q	-	G	-	V	-	N	-	L	-	T	-
21	22	23	24	25	26	27	28	29	30										
P	-	C	-	E	-	K	-	H	-	I	-	M	-	E	-	K	-	I	-
31	32	33	34	35	36	37	38	39	40										
Q	-	G	-	R	-	G	-	D	-	D	-	D	-	D	-	D	-	D	-
41	42	43																	
D	-	D	-	D															

### Agradecimientos

Agradecemos al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) y a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) del Instituto Politécnico Nacional (IPN) por su apoyo a este trabajo, al Dr. Pallavolu Me Reddy por su gran ayuda en el diseño de los oligo nucleótidos.

### Referencias

- [1] J. H. Park, H. J. Jeong and B. O. de Luna, *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 10703-10706 (2007).
- [2] B. H. Ledesam and B. O. de Lumen, *J. Agric. Food Chem.*, **2** 75-80. (2008).
- [3] H. J. Jeong, Y. Lam and B. O de lumen, *J. Agric. Food Chem.*, **50**, 5903-5908. (2002).
- [4] S. Odani, T. Koide, and T. Ono, *J. Biological Chem.*, **262**:22 10502-10505. (1987).