

Obtención, Purificación y Microencapsulado de Lunasina Recombinante

M. A. Gruintal Santos¹, J. L. Fernández Muñoz¹, M. Lara Flores²

¹Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada del IPN, Unidad Legaria.

Calzada Legaria 694, Col. Irrigación, Delegación Miguel Hidalgo, 11500, México D. F.

²Instituto 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 frijol 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. 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 frijol 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 frijol 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 un cDNA que codifique para lunasina a *Escherichia coli* de tal manera que esta lo sobreexpresen 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 antitumoral 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 frijol de soya (0.50 a 8.13 mg de lunasina/g de semilla) y recientemente se produjo un frijol 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 de un cADN que exprese lunasina a *E. coli*: Partiendo de RNA purificado, que se obtendrá del frijol de soya, el total se transcribirá a cADN con la enzima transcriptasa inversa y posteriormente se separa el cADN que codifique para la lunasina (fig. 1) a través de unos oligonucleótidos que se fabricaran de tal manera que codifiquen del aminoácido 1 al 10 y del 33 al 43 los cuales se unen a

su DNA complementario (cADN) de tal forma que se pueda separar el cADN que codifica para lunasina para posteriormente amplificarlo por PCR. El cADN (lunasina) se une a un vector y se trasfecta a una *E. coli* de tal manera que esta pueda sobreexpresar la lunasina recombinante [4].

Purificación de lunasina: se romperán las bacterias y por cromatografía en columna con anticuerpos policlonales se purificará la lunasina.

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.

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							

Figura 1. Estructura primaria de la lunasina [5].

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.

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] M. C. Falco, M. C. S. Filho, Elsevier, 41 761-766. (2003).
- [5] S. Odani, T. Koide, and T. Ono, J. Biological Chem., 262:22 10502-10505. (1987).