

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Muchas plantas contienen látex, que es exudado cuando las mismas son dañadas, habiéndose detectado un considerable número de proteínas presentes en esta secreción. Sin embargo el rol de estas proteínas, entre las cuales hay varias enzimas, es aún motivo de especulación entre los fisiólogos vegetales. En un buen número de casos el látex contiene proteasas, a veces en cantidades tan elevadas que han dado lugar a su aprovechamiento biotecnológico (papaína, ficina).

En un trabajo reciente (Konno *et al.*, 2004) ¹ parece haber quedado demostrado que algunas proteasas juegan un importante papel en la defensa de la planta frente al ataque de insectos fitófagos. De todos modos este hecho no parece estar generalizado, ya que el látex de muchas plantas parece no contener proteasas, o al menos no contenerlas en su forma biológica activa, si se atiende a la información bibliográfica existente. Por otra parte la presencia de tejidos laticíferos tampoco es una constante en las plantas, sino que por el contrario está limitada a algunos grupos taxonómicos, siendo característica su presencia en las familias *Caricaceae*, *Moraceae*, *Euphorbiaceae*, *Apocynaceae* y *Asclepiadaceae*, entre otras.

En base a esta información y a la experiencia existente en el LIProVe en el aislamiento de fitoproteasas presentes en laticíferos, se decidió analizar el contenido de este tipo de enzimas en dos especies que crecen en la zona: *Araujia angustifolia* (Hook et Arn.) Decaisne y *A. hortorum* Fourn. (*Asclepiadaceae*).

¹ Konno, K., Ch. Hirayama, M. Nakamura, K. Tateishi, Y. Tamura, M. Hattori & K. Kohno (2004) "Papain protects papaya trees from herbivorous insects: role of cysteine proteases in latex". *Plant J.*, **37**: 370-8.

OBJETIVOS

- Analizar la presencia de hidrolasas en el látex obtenido mediante incisiones superficiales en frutos de *Araujia angustifolia* (Hook et Arn.) Decaisne y *A. hortorum* Fourn. (*Asclepiadaceae*), en especial endopeptidasas.
- Obtener preparaciones parcialmente purificadas de proteasas a partir del látex de ambas especies y establecer sus principales características bioquímicas, ante la posibilidad de su aplicación en eventuales procesos biotecnológicos.
- Purificar los extractos parcialmente purificados mediante técnicas cromatográficas y caracterizar sus componentes con el objeto de determinar las condiciones óptimas de actividad enzimática.
- Analizar el comportamiento de las enzimas purificadas frente a inhibidores y activadores específicos, a efectos de determinar su mecanismo catalítico.
- Establecer las preferencias de los extractos parcialmente purificados y de las enzimas puras frente a sustratos sintéticos.
- Inmovilizar las fitoproteasas en distintos soportes para evaluar la factibilidad de su empleo en procesos biotecnológicos.
- Estudiar la capacidad de las enzimas en reacciones de síntesis en medios orgánicos utilizando sistemas no convencionales.
- Aplicación de las fitoproteasas como biocatalizadores en la síntesis de pequeños péptidos de interés para la industria química, farmacéutica y de los alimentos.
- Determinar las secuencias N-terminales de las endopeptidasas purificadas.
- Intentar la clonación y secuenciamiento de alguna(s) de las endopeptidasas presentes.