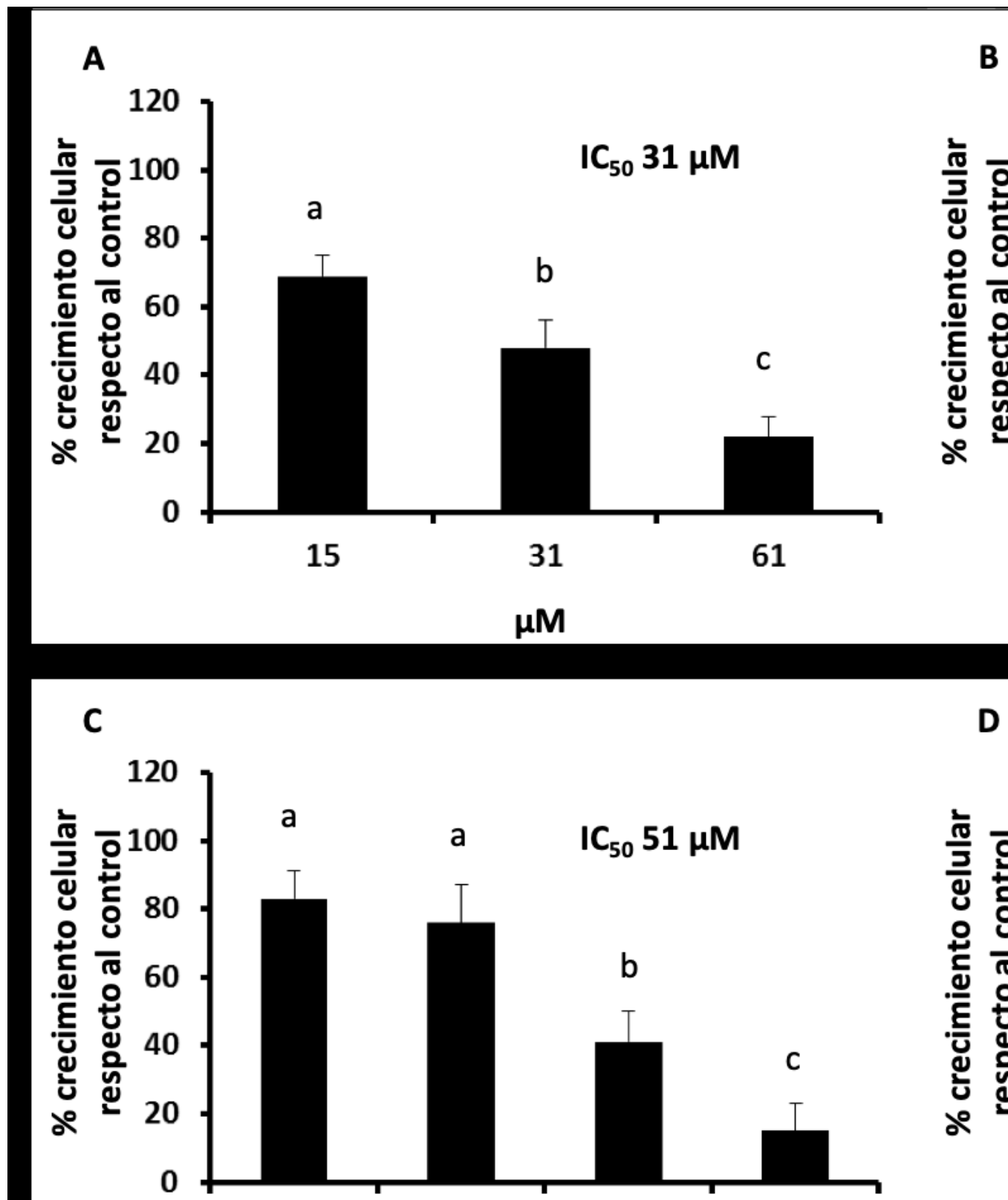


POLIMORFISMO Y ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS INHIBIDORES BOWMAN-BIRK EN LEGUMINOSAS



14

28

54

82

 μM

Efecto de las proteínas rTI1 (A) y sus mutantes derivados rTI1inactivo (B), rTI1Tryp-Tryp (C) y rTI1Chym-Chym (D) sobre el crecimiento in vivo de células cancerígenas HT29 procedentes de adenocarcinoma colorrectal humano.

Resumen

Los inhibidores de la familia Bowman-Birk (BBI) son inhibidores de proteasas de plantas que se encuentran en concentraciones elevadas en leguminosas tales como soja, guisante, lenteja y garbanzo, y que presentan la capacidad de inhibir una o varias serín proteasas, incluyendo las enzimas digestivas tripsina y quimotripsina, mediante dos dominios de inhibición. BBI es capaz de resistir tanto las condiciones ácidas como la acción de enzimas proteolíticas en el estómago e intestino delgado, permitiendo que cantidades fisiológicamente relevantes lleguen al intestino grueso en forma activa, con el fin de ejercer sus propiedades anti-cancerígenas y anti-inflamatorias en el tracto gastrointestinal. En esta tesis doctoral, una forma recombinante del inhibidor BBI (rTI1), mayoritario en guisante, así como dos mutantes derivados (rTI1Tryp-Tryp y rTI1Chym-Chym, con actividad específica frente a tripsina y quimotripsina, respectivamente) han demostrado influir negativamente en el crecimiento de células procedentes de adenocarcinoma colorrectal humano in vitro. Sin embargo, un mutante inactivo derivado del mismo, no mostró efecto alguno, sugiriendo que el efecto anti-proliferativo que ejercen las proteínas BBI en células cancerígenas de colon es consecuencia de su capacidad intrínseca de inhibir las actividades proteolíticas de las serín proteasas. Dado el creciente consumo de leche de soja, y con el fin de evaluar la presencia de proteínas BBI que pudieran ejercer efectos beneficiosos para la salud, se cuantificó el contenido en proteínas BBI en leches de soja comerciales, presentes en forma activa, cuyos resultados sugieren que las leches de soja comerciales presentan cantidades fisiológicamente relevantes de BBI activos, pudiendo ejercer efectos beneficiosos para la salud. Por otro lado, la actividad inhibidora de tripsina asociada a las proteínas BBI de leguminosas afecta a la digestibilidad proteica y, por tanto, limita el uso de semillas en nutrición animal. Mediante la metodología TILLING hemos analizado tres mutaciones puntuales en la proteína TI1 con las que podemos concluir que (1) la eliminación de uno de los puentes disulfuro en uno de sus dominios de inhibición es crítico para la inhibición de las enzimas tripsina y quimotripsina; (2) la sustitución del aminoácido serina por fenilalanina en el segundo dominio de inhibición reduce la inhibición de quimotripsina; y (3) el cambio en la carga del extremo C-terminal no afecta a las propiedades inhibitoras de la proteína, pero podría modificar su capacidad de formar oligómeros, estando este hecho asociado a la estabilidad proteica de los BBI.