



**Universidad de las Fuerzas Armadas- ESPE**  
**Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura**  
**Carrera de Biotecnología**



**Trabajo de integración curricular previo a la obtención del  
título de Ingeniera en Biotecnología**

**Obtención de exosomas a partir de Jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe.,  
Zingiberaceae) y Cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae)**

**Autor:** Milenka Andreina Vera Cadena

**Directora:** Torres Arias, Marbel Ph.D.

Sangolquí, 02 Septiembre 2022



# Índice de Contenidos

1

Introducción

2

Justificación  
del problema

3

Objetivos e  
Hipótesis

4

Materiales y  
Métodos

5

Resultados y  
Discusión

6

Conclusiones

7

Recomendaciones

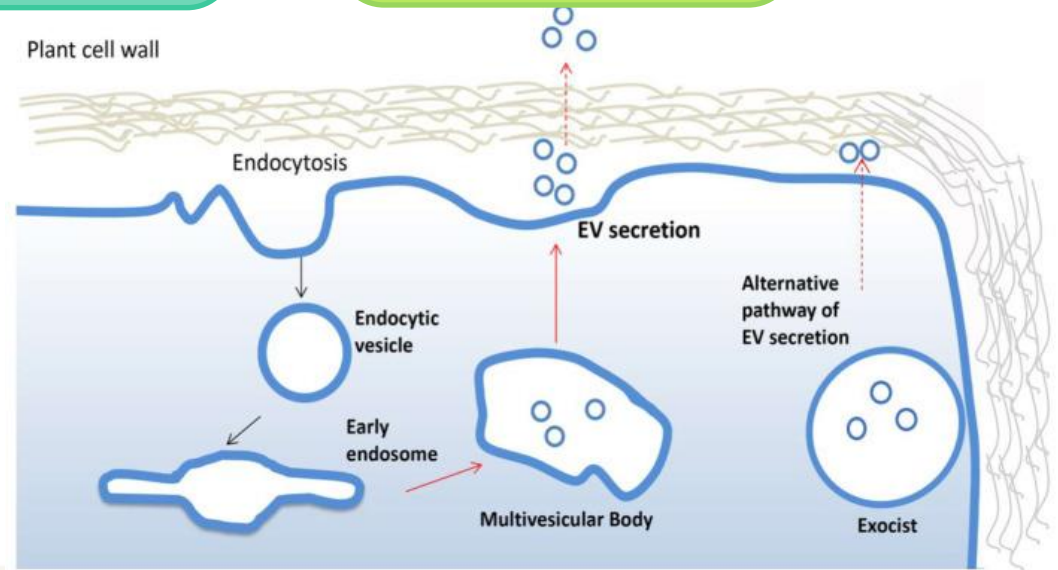
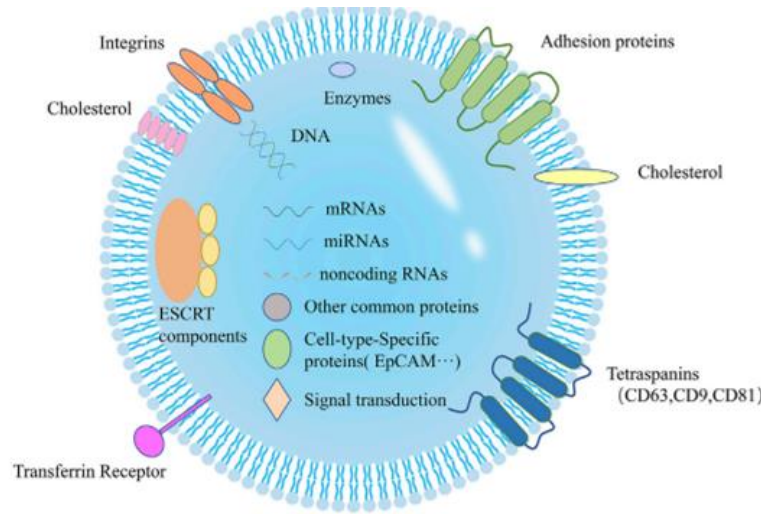
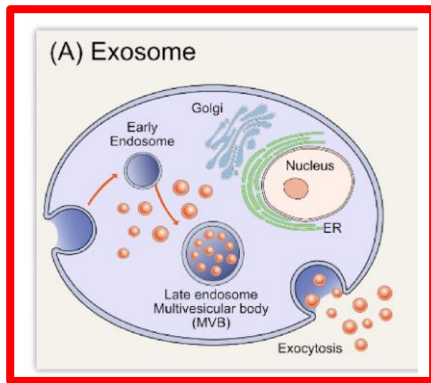
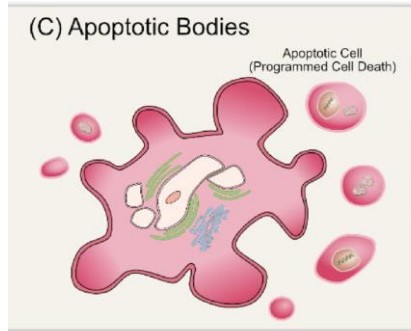
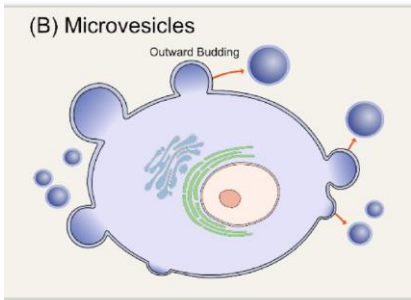


**ESPE**

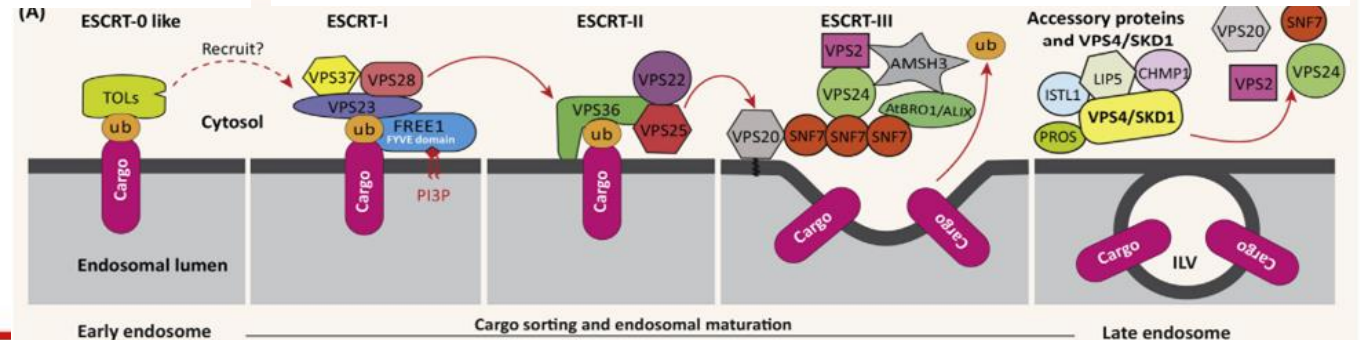
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA



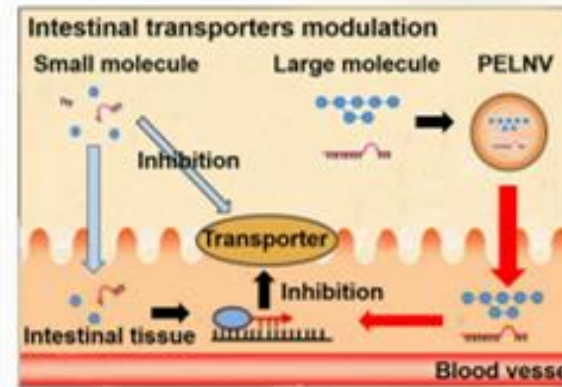
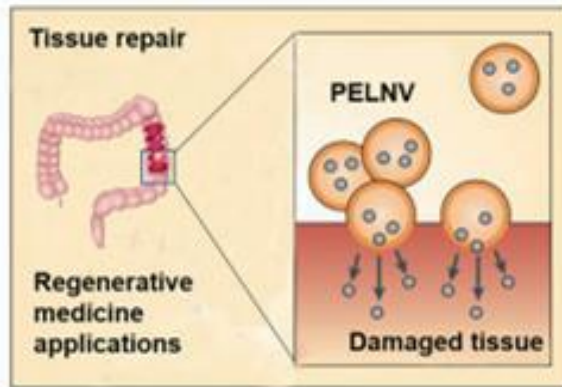
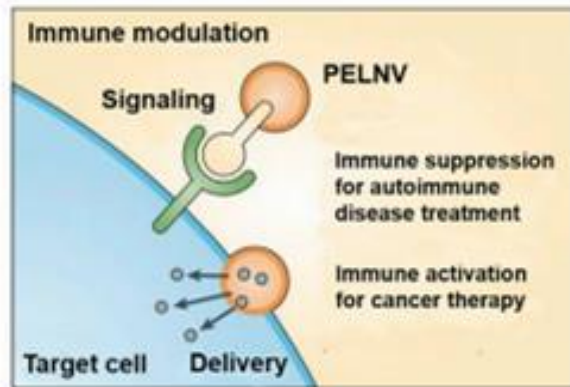
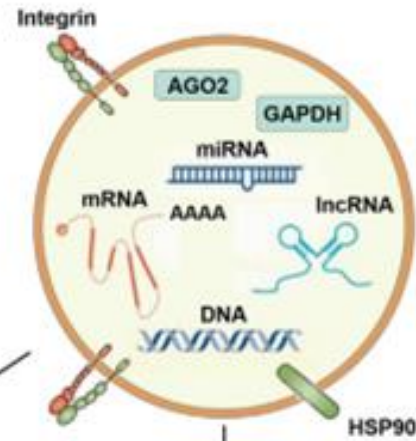
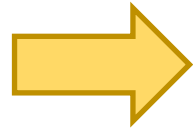
VERSIÓN: 1.0



30-150 nm







Agentes terapéuticos

Administración dirigida de fármacos

Nutracéuticos

# Características *Zingiber officinale* Roscoe.

# Introducción

Familia Zingiberaceae

Generalidades

- Originaria de Asia e India
- Regiones tropicales y subtropicales

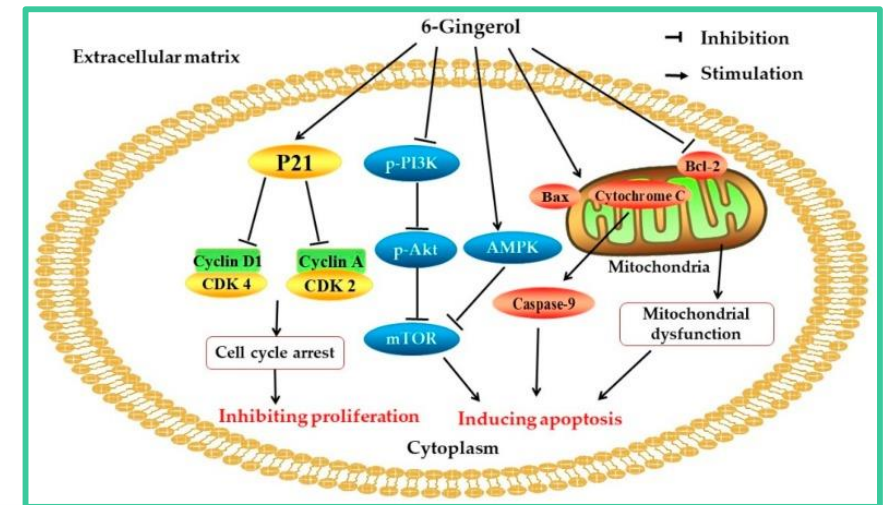
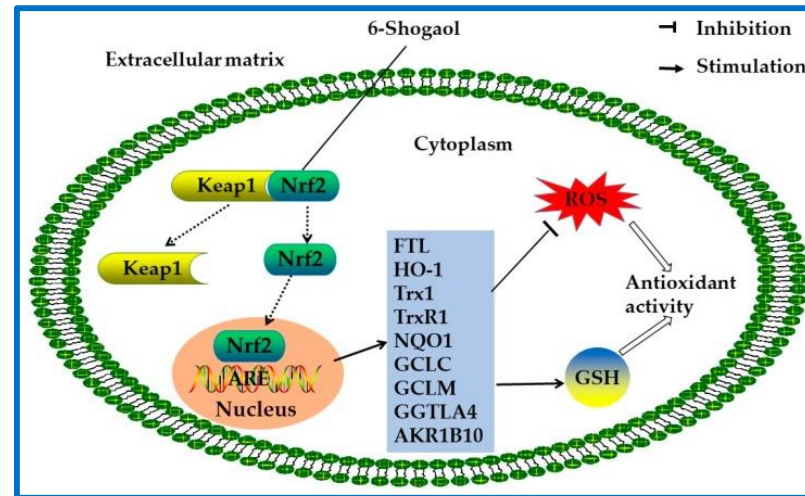
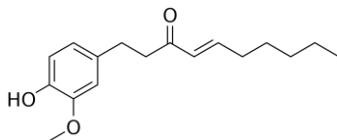
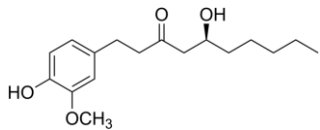


Vías de transducción de señales reguladas por 6-Shogaol y 6- Gingerol

Compuestos representativos

6-Gingerol

6-Shogaol





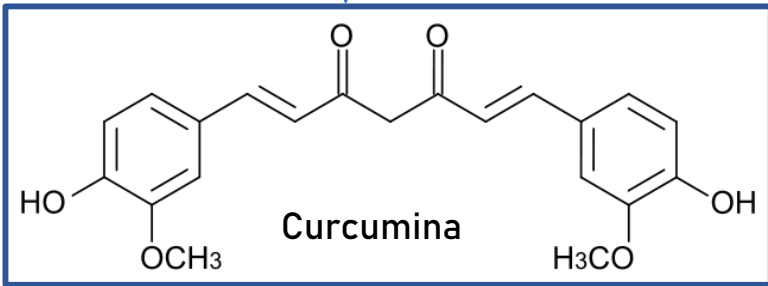
# Características *Curcuma longa* L.

Familia Zingiberaceae

## Características

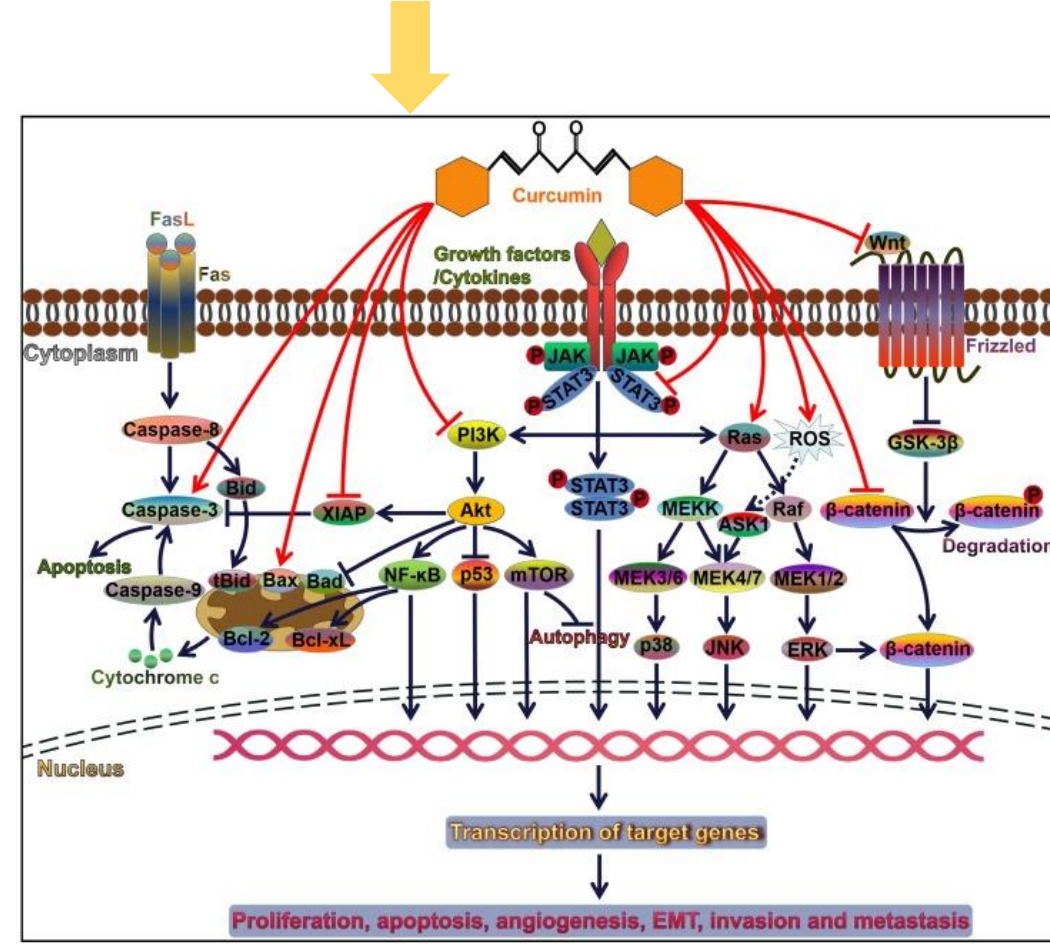
- Originaria de Asia (India y Vietnam)
- Regiones tropicales

## Compuesto representativo



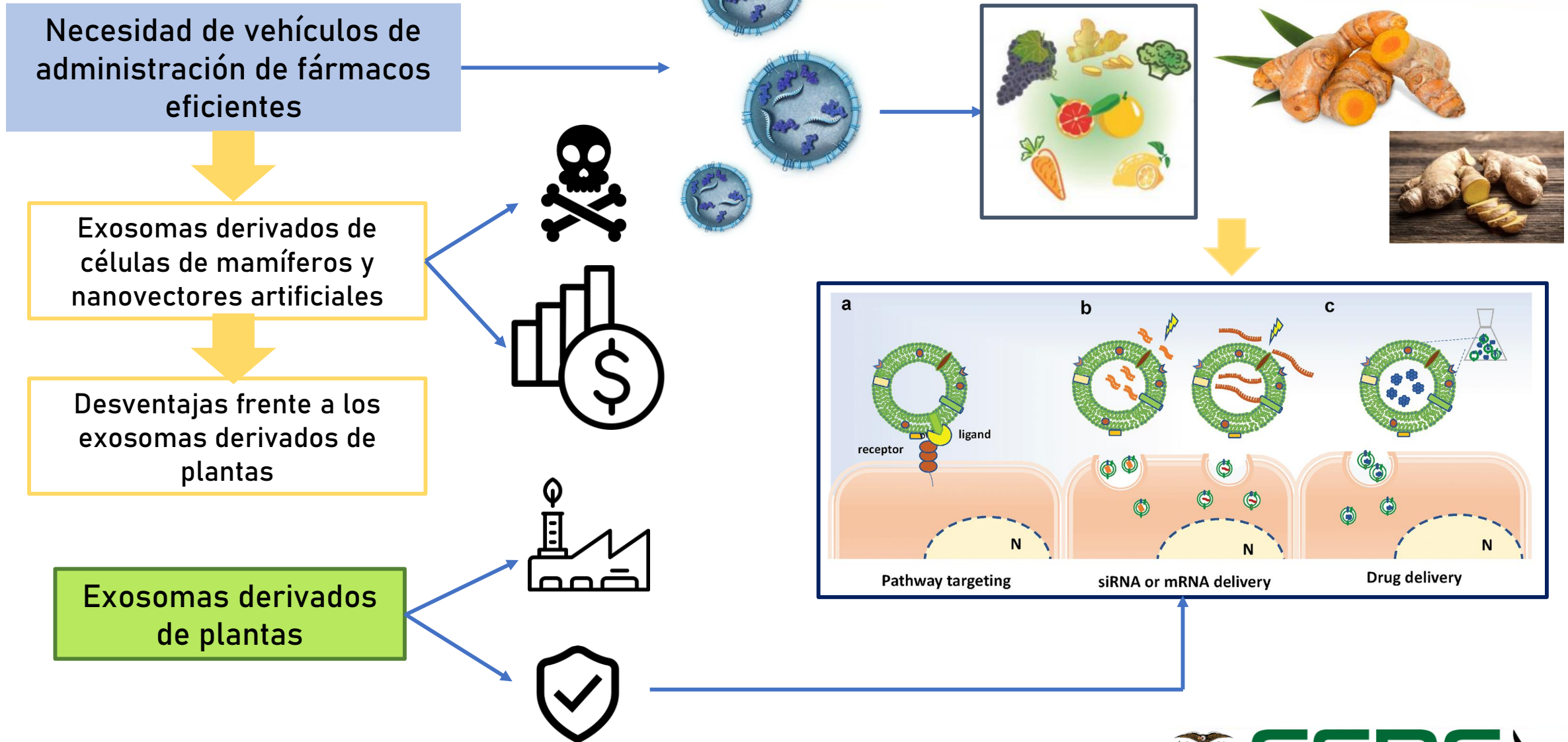
# Introducción

## Vías de transducción de señales reguladas por la Curcumina



(Verma et al., 2019) (Wang et al., 2019)

# Justificación del problema



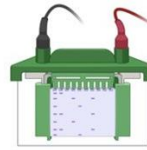
# Objetivos

## Objetivo General



Caracterizar exosomas a partir de extracto de plantas.

Obtener exosomas a partir de Jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe., Zingiberaceae) y Cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae).



Analizar el perfil proteico de exosomas de jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe., Zingiberaceae) y cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) mediante electroforesis vertical.

## Objetivos específicos



Determinar la citotoxicidad de exosomas de Jengibre (*Zingiber officinale* Roscoe., Zingiberaceae) y Cúrcuma (*Curcuma longa* L., Zingiberaceae) mediante ensayo colorimétrico con Bromuro de 3-(4 5-dimetiltiazol-2-il)-2 5-difeniltetrazolio (MTT).

## Hipótesis

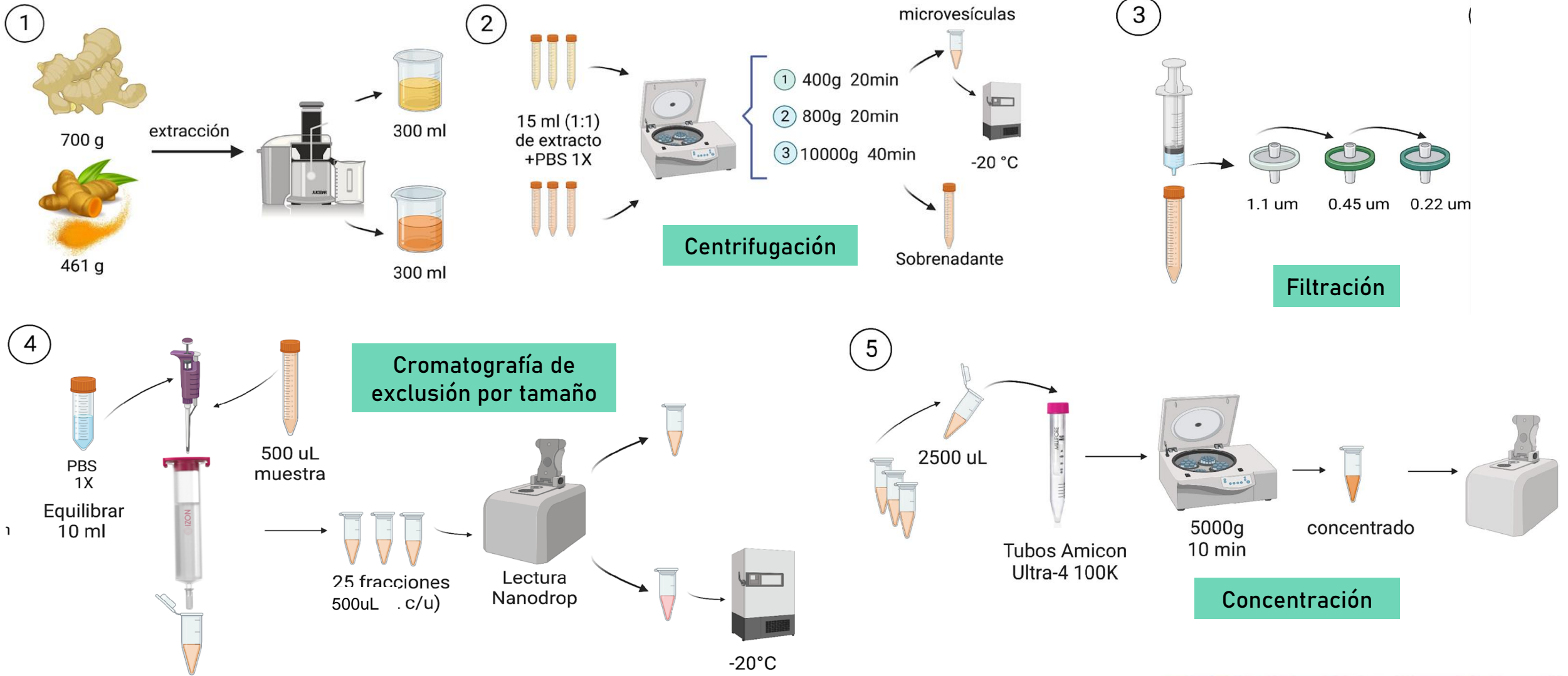
Las plantas de Jengibre y Cúrcuma liberan exosomas con un efecto antiproliferativo significativo dependiente de la concentración en las líneas celulares de HeLa y HEK293.



**ESPE**  
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS  
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

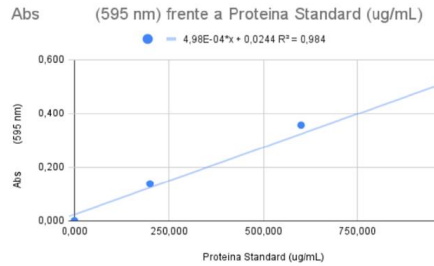






# Caracterización de exosomas

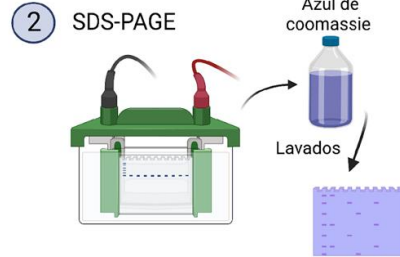
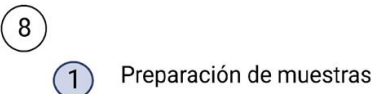
# Materiales y Métodos



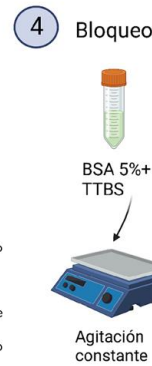
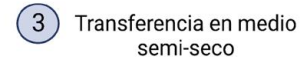
Cuantificación por ensayo de Bradford



Microscopía Electrónica de Transmisión



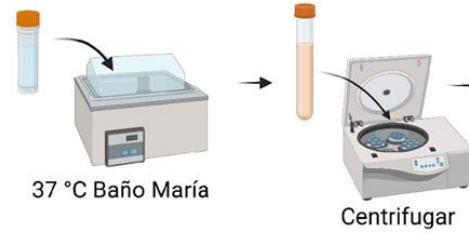
Electroforesis vertical



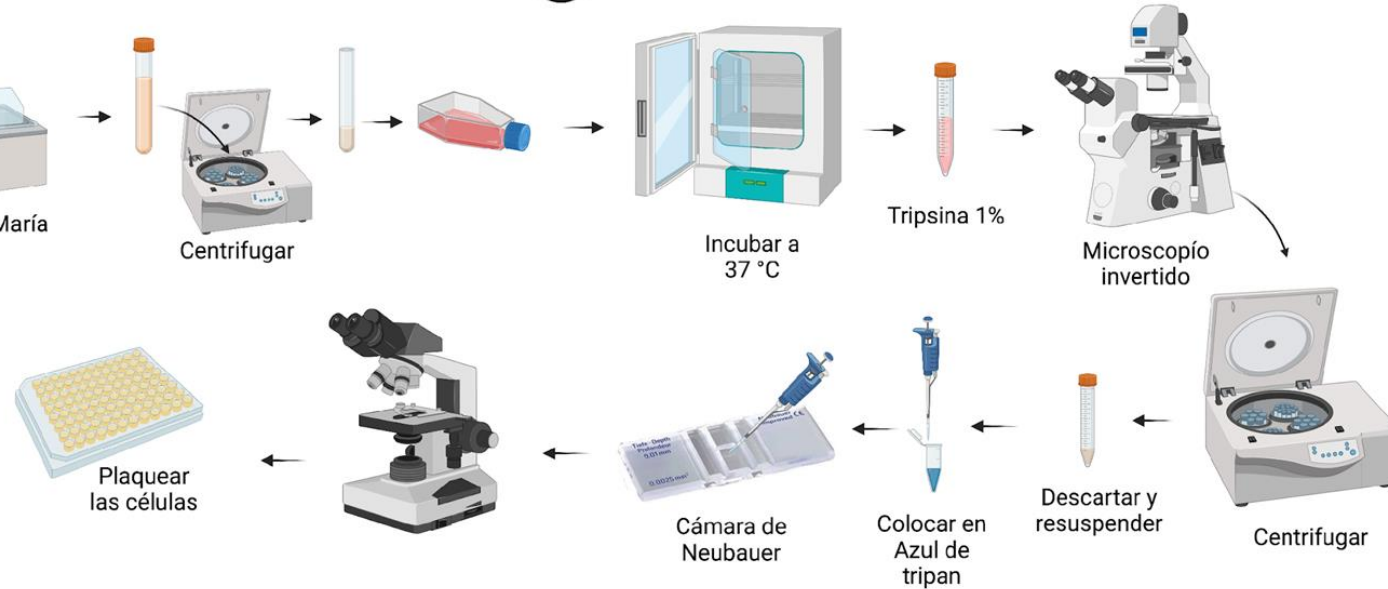
Western Blot



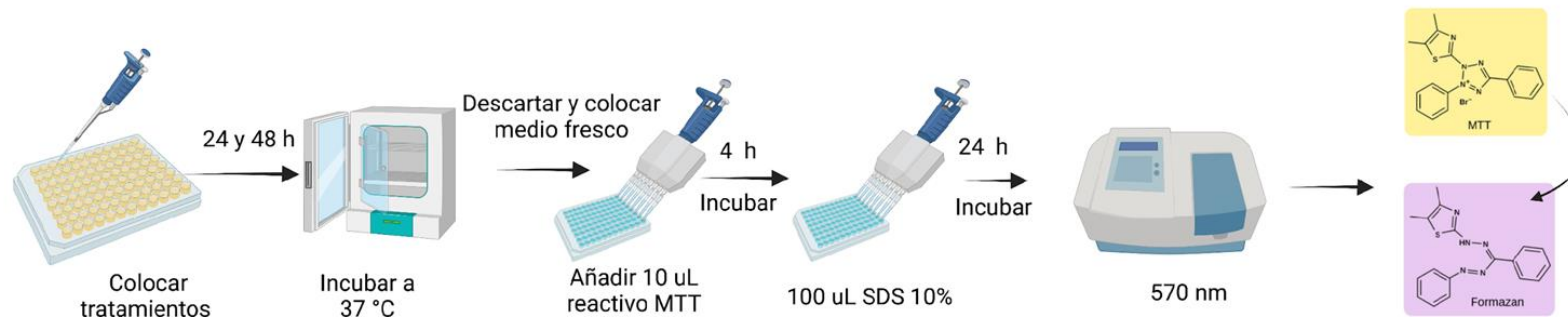
## 9 Descongelación celular



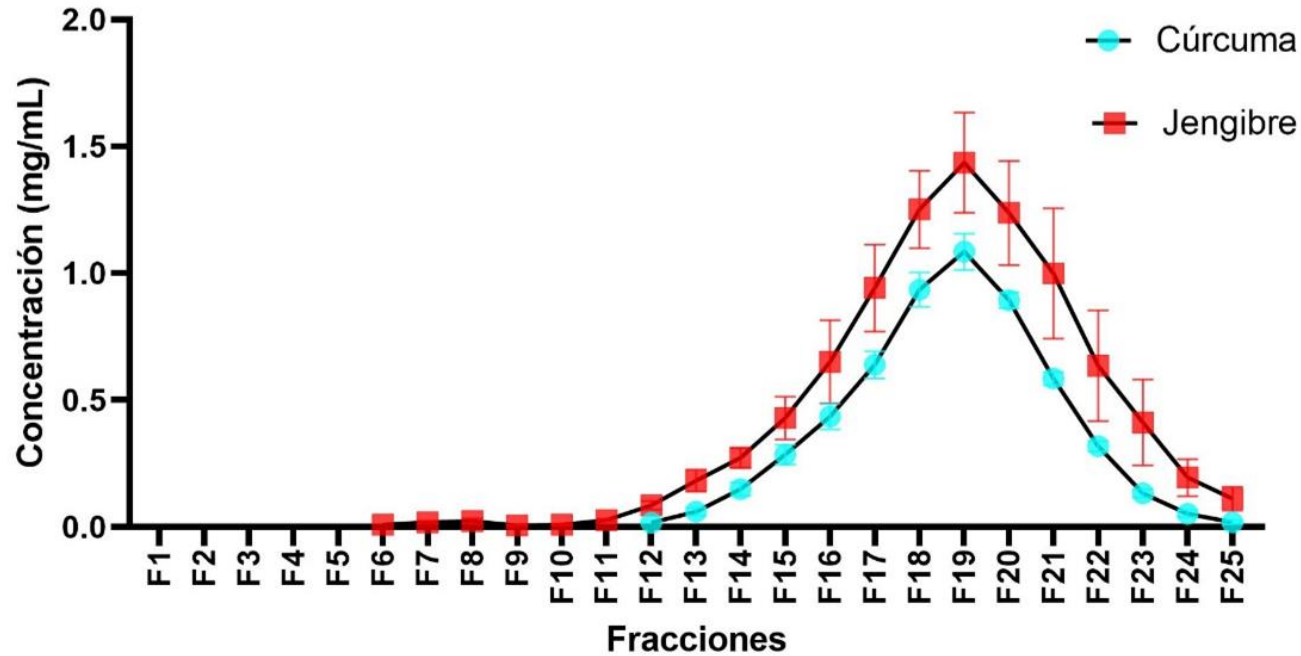
## 10 Plaqueo celular



## Ensayo MTT







Se midió la concentración de proteína de las fracciones con espectrofotometría *Nanodrop 2000* (A280 nm).

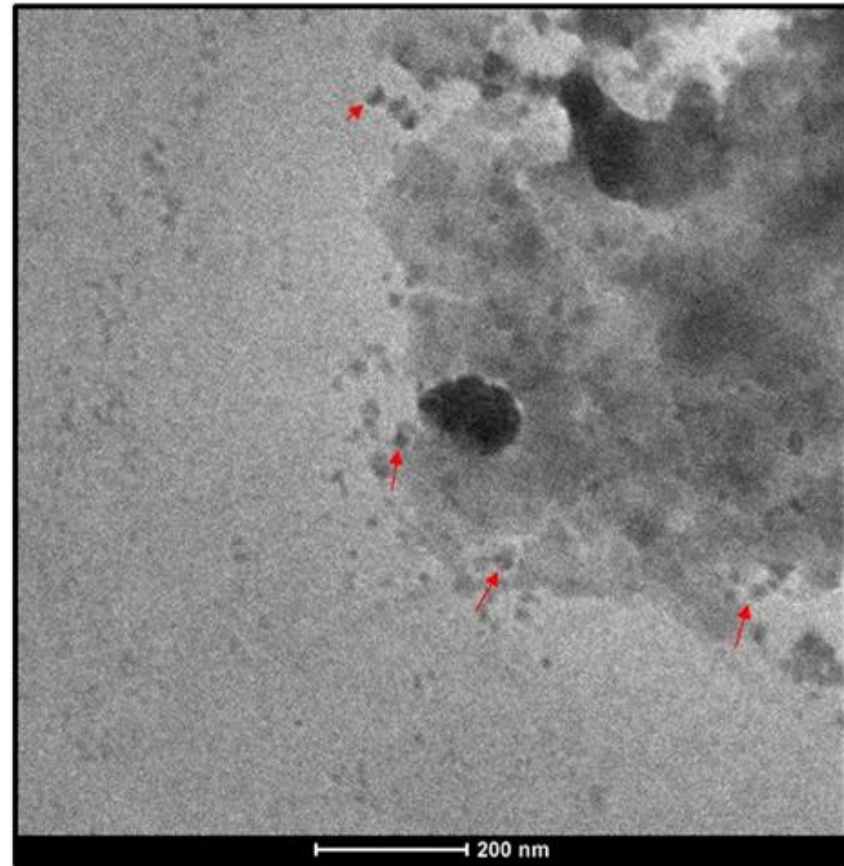
F7-F11 de Jengibre y F12-F16 de Curcuma



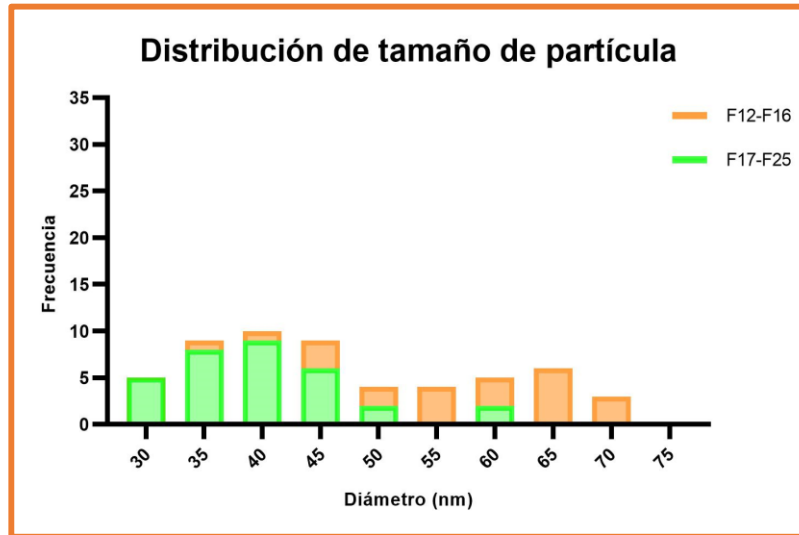
➤ Contenido exosomal

➤ Concentración de proteína en las fracciones F17-F21

## Exosomas de Cúrcuma



37 nm

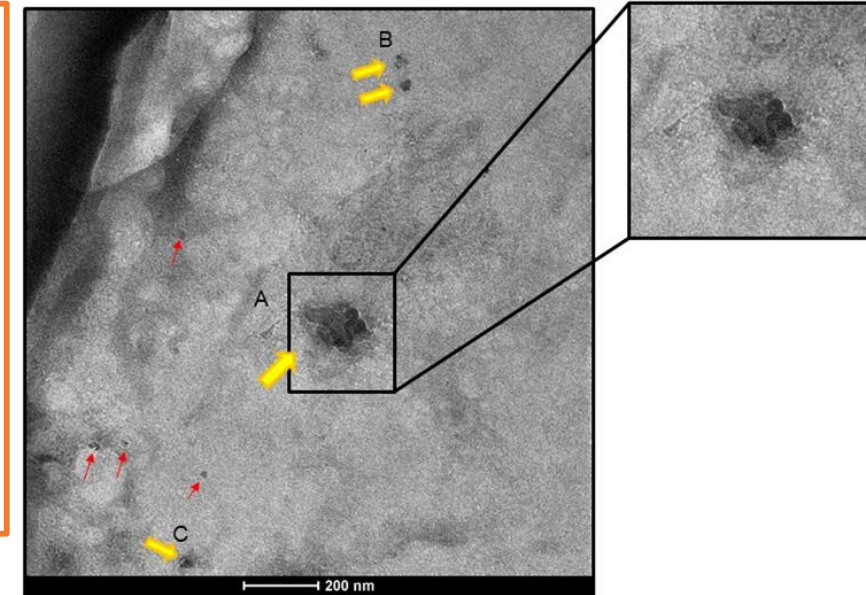


Rango de diámetro:  
30 a 71 nm

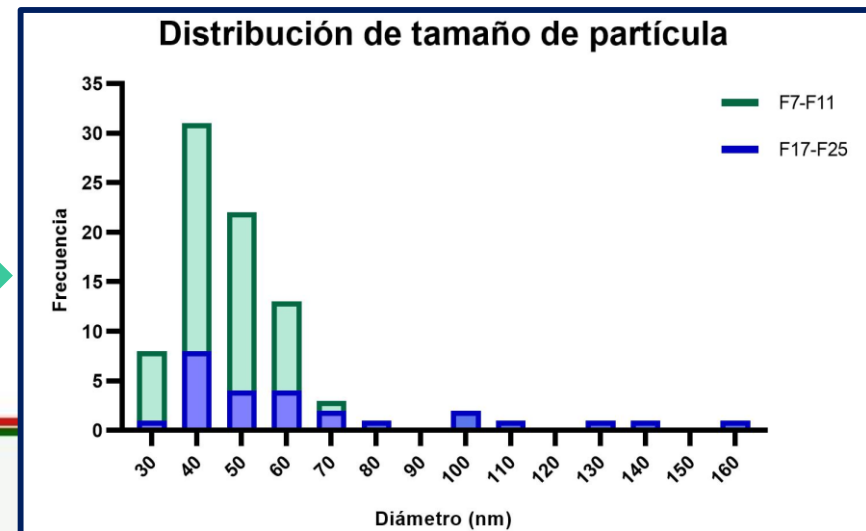
F17-F25 mayor cantidad  
de impurezas proteicas

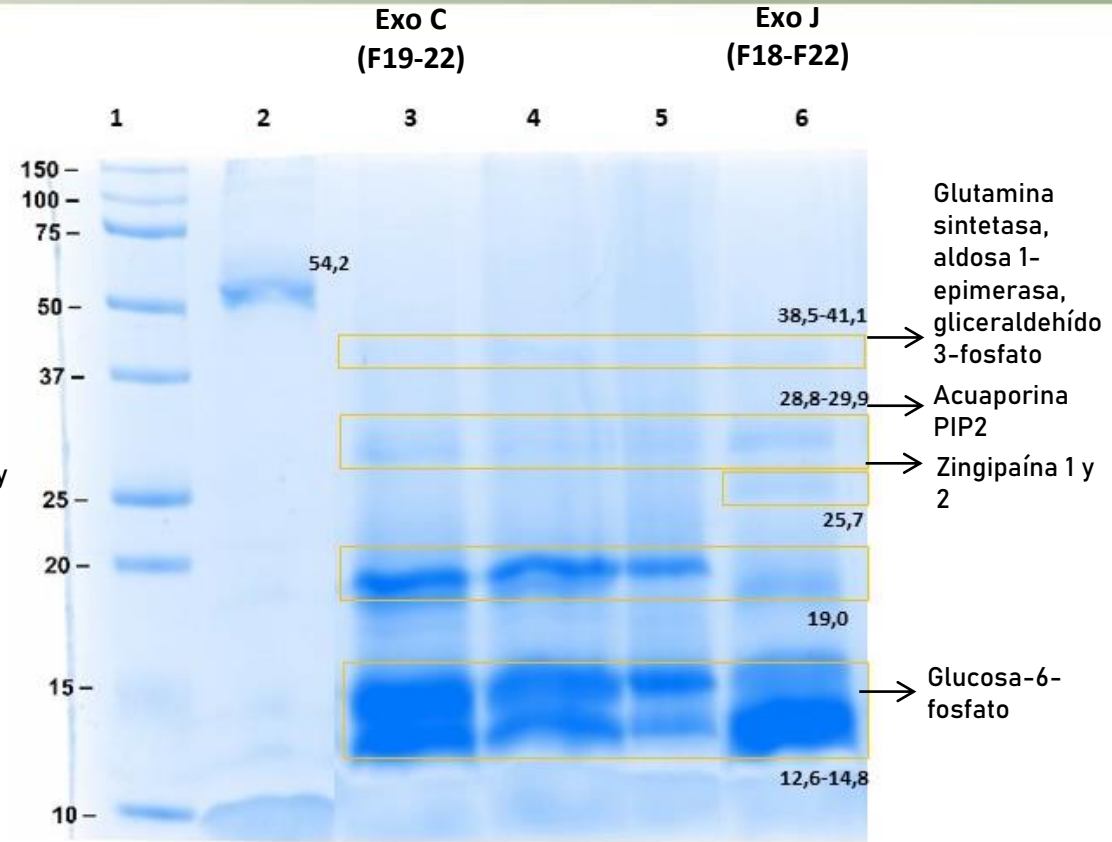
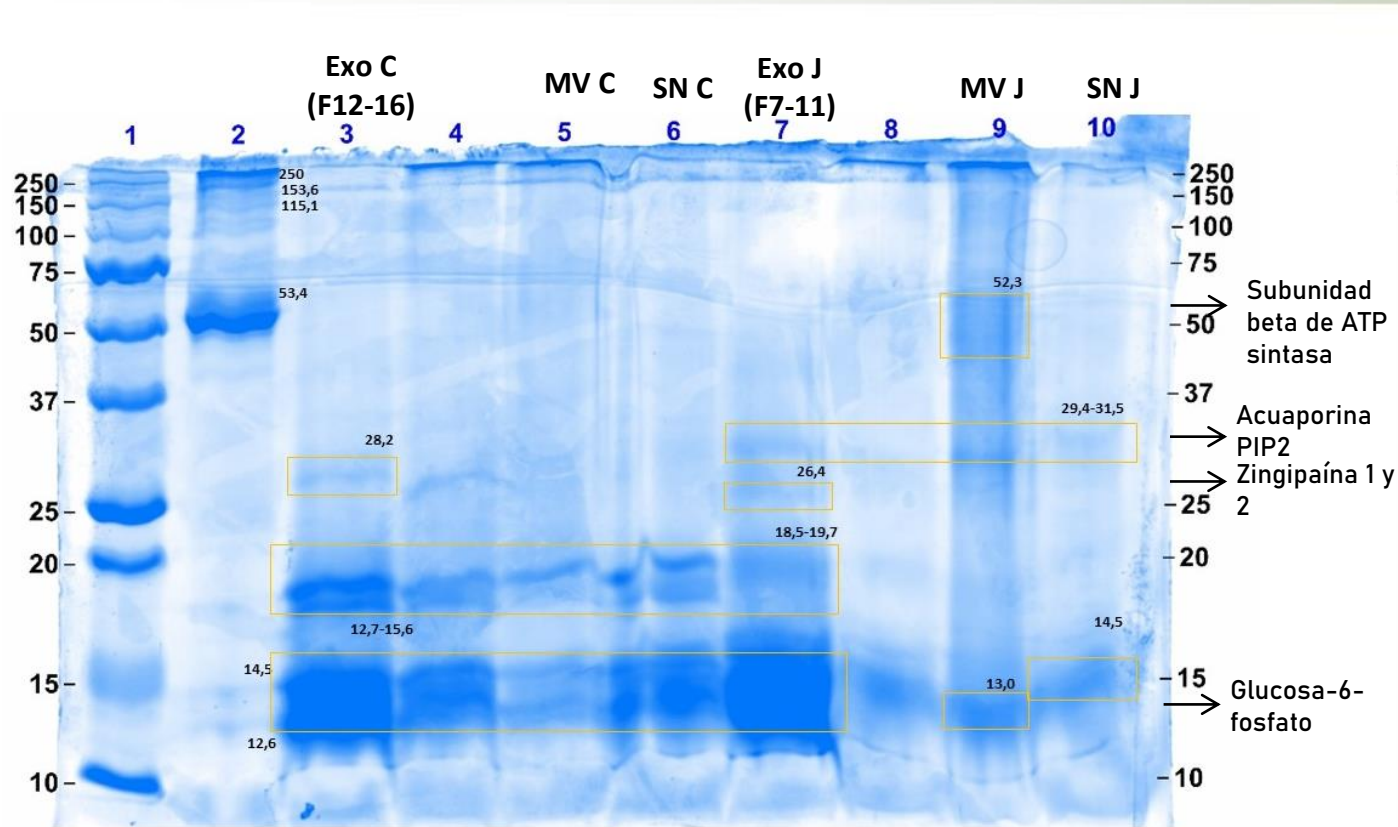
Rango diámetro:  
31 a 156 nm

## Exosomas de Jengibre



A) 156 nm, B) 37 nm, C) 44 nm.



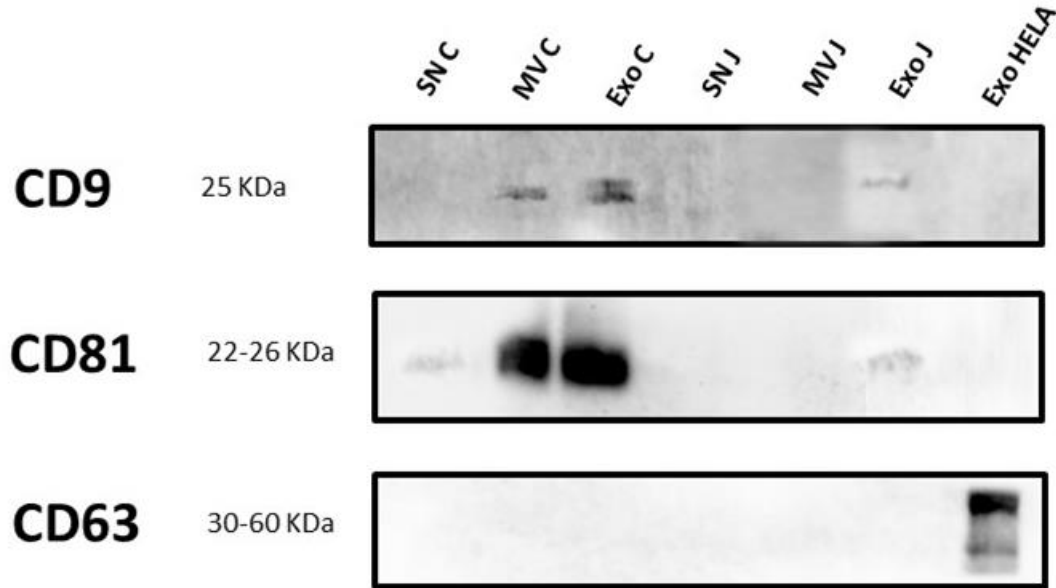


Exo: Exosomas  
MV: Micro vesículas  
SN: Sobrenadante

Exo J: F7-F11 y F18-F22 tienen un perfil proteico (40-10 KDa)

Exo C: F12-F16 y F19-F22 tienen un perfil proteico de 40-12 KDa





Sobrenadante de Cúrcuma (SN C), microvesículas de Cúrcuma (MV C), exosomas de cúrcuma (Exo C), sobrenadante de Jengibre (SN J), microvesículas de Jengibre (MV J), exosomas de Jengibre (Exo J) y exosomas de HELA (Exo HELA).

CD9 (Tspan29), CD81(Tspan28) y CD63 (Tspan30)

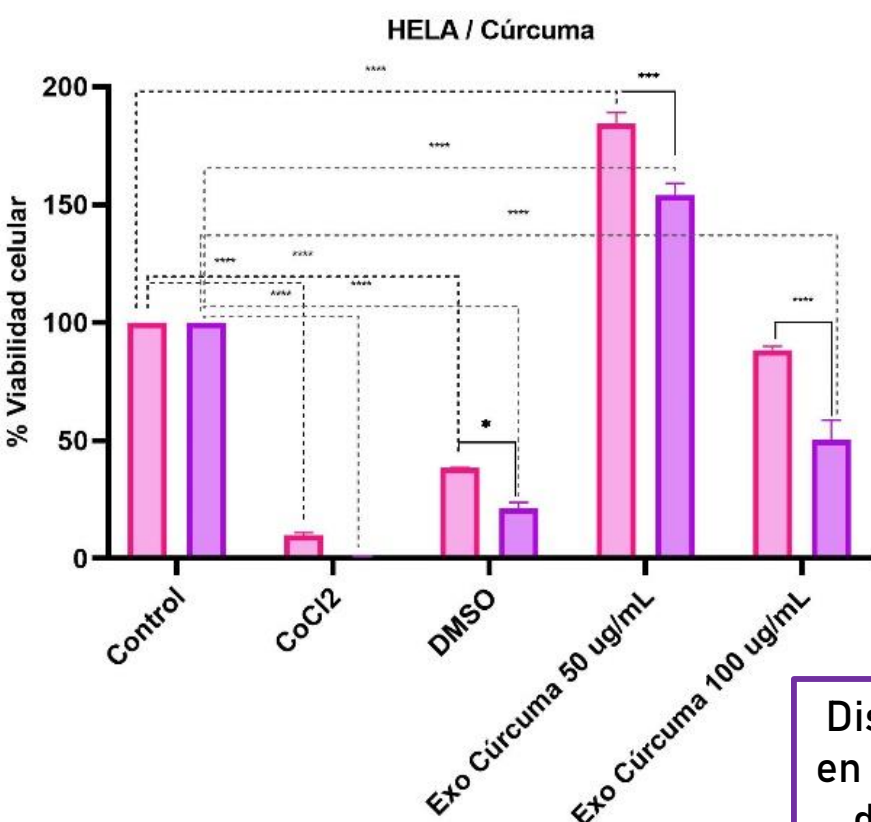
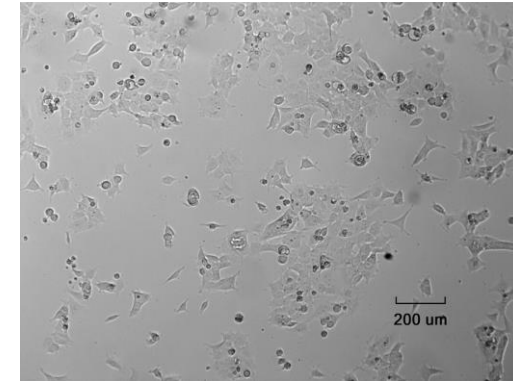


Miembros de las membranas exosomales durante la biogénesis de los cuerpos multivesiculares

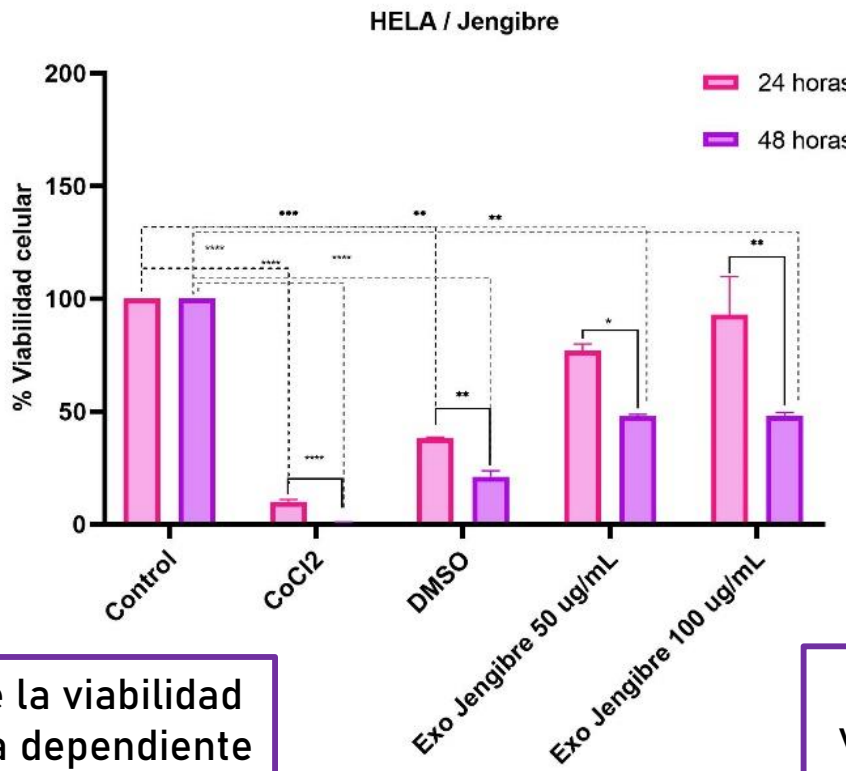
Semejanza estructural de la proteína tanto de origen animal como vegetal

CD9+, CD81+, CD63-

## Células HeLa

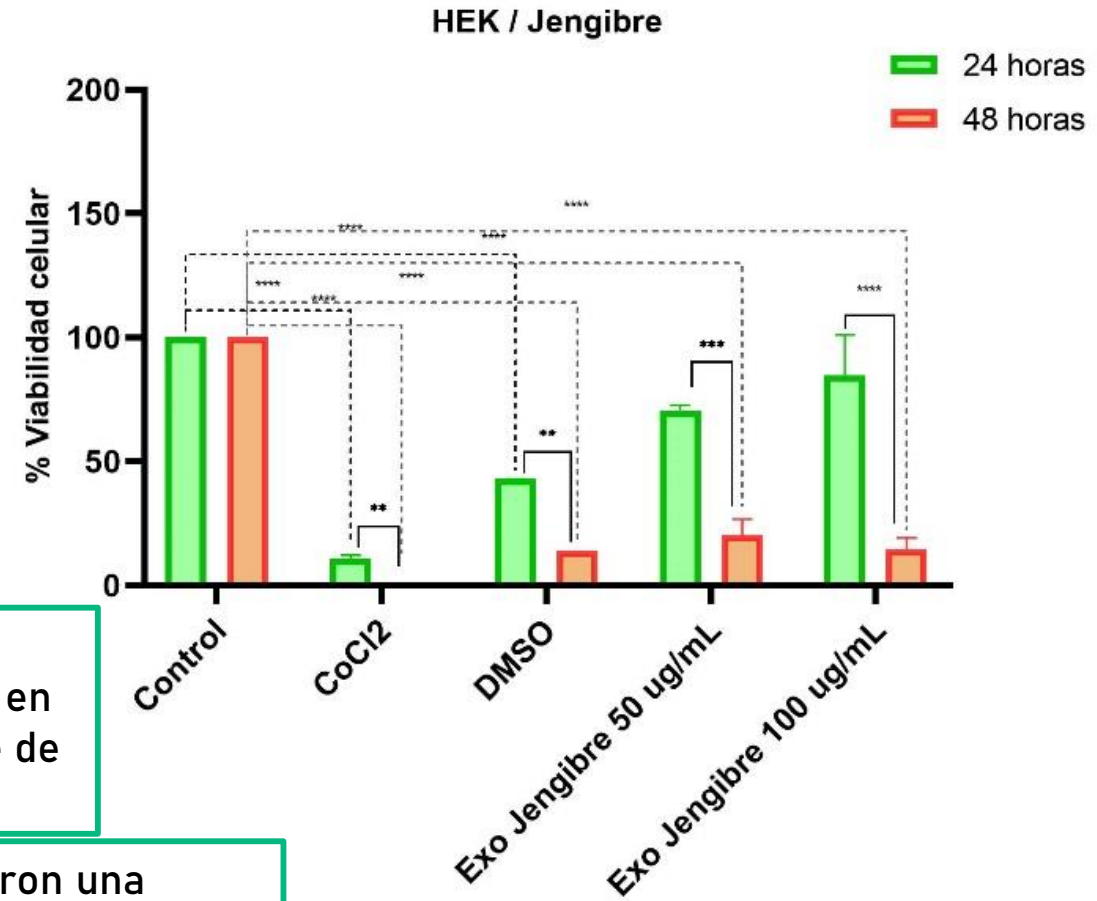
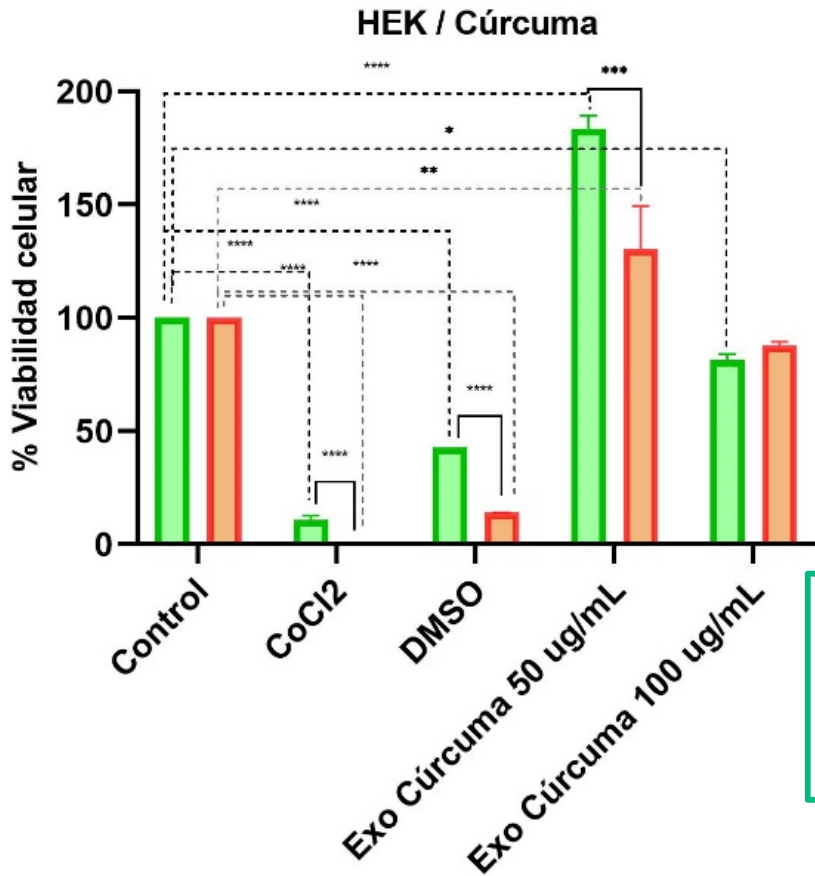


Disminución de la viabilidad en células HeLa dependiente de la concentración y del tiempo de exposición



Disminución de la viabilidad en células HeLa dependiente del tiempo de exposición

(\*p < 0.0332, \*\*p < 0.0021, \*\*\*p < 0.0002, \*\*\*\* p < 0.0001)

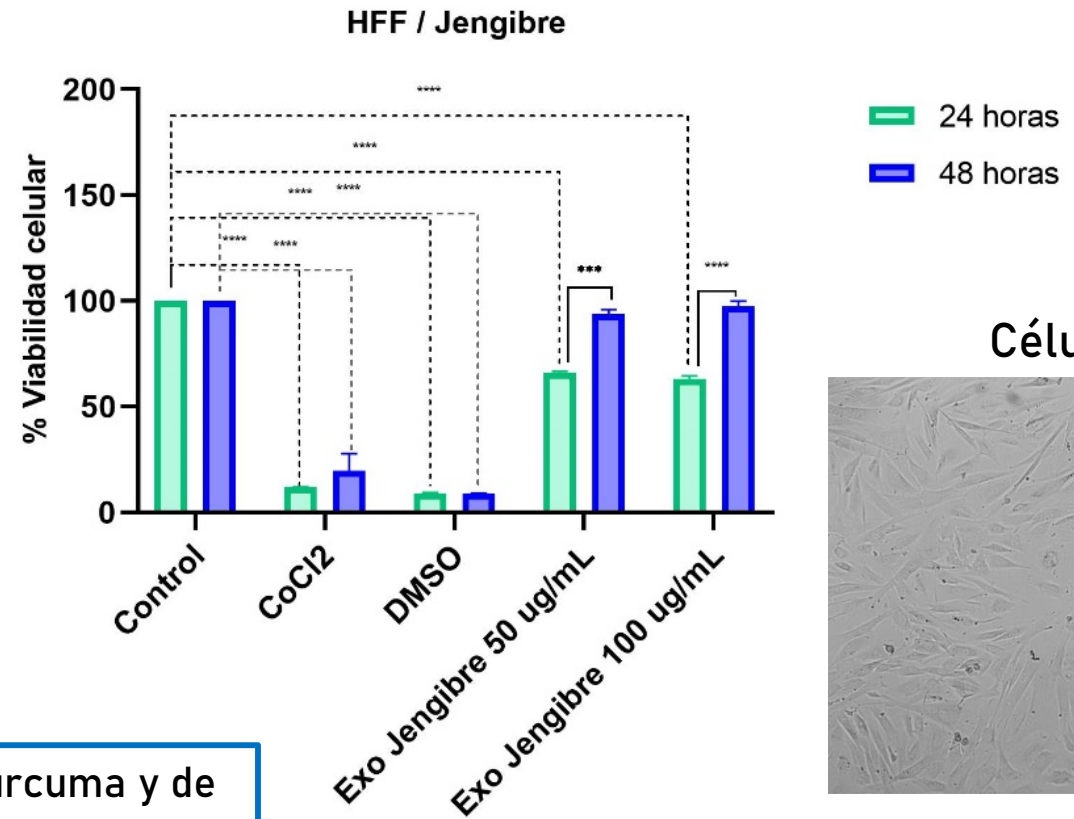
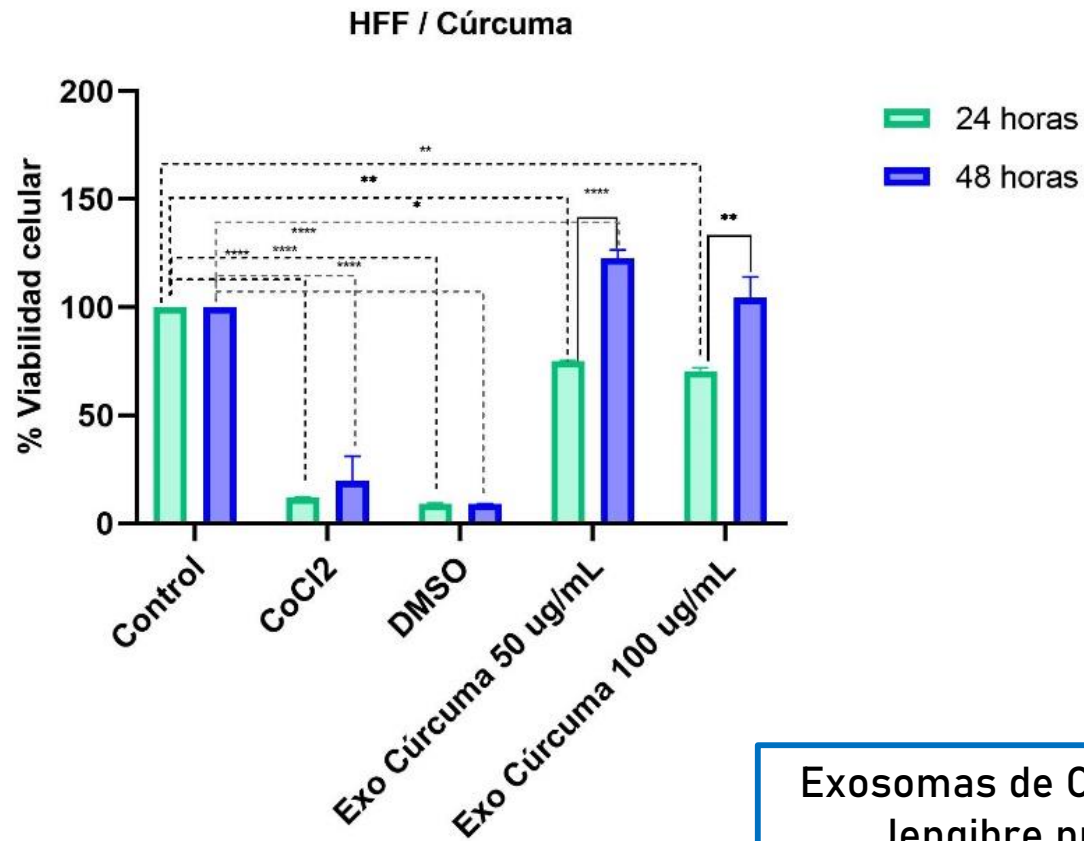


Exo C mostraron una disminución de la viabilidad en células HEK293 dependiente de la concentración.

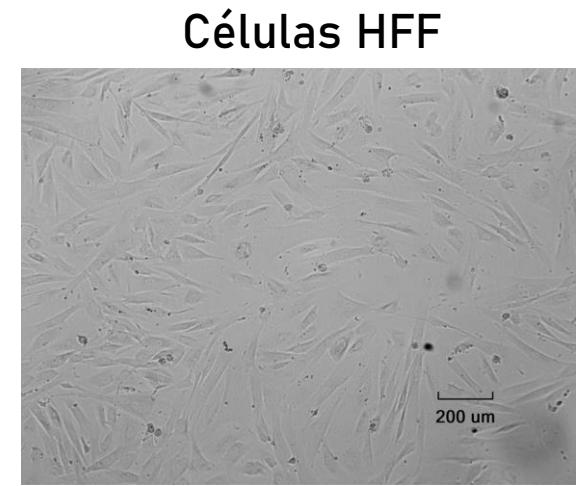
Exo J mostraron una disminución de la viabilidad en células HEK293 dependiente del tiempo de exposición

(\*p < 0.0332, \*\*p < 0.0021, \*\*\*p < 0.0002, \*\*\*\* p < 0.0001)



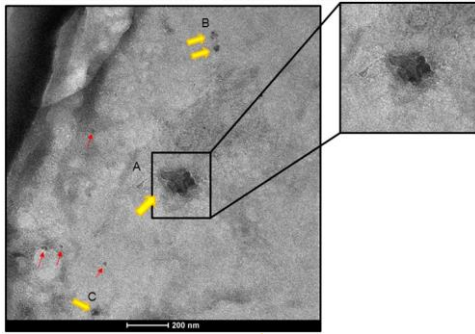
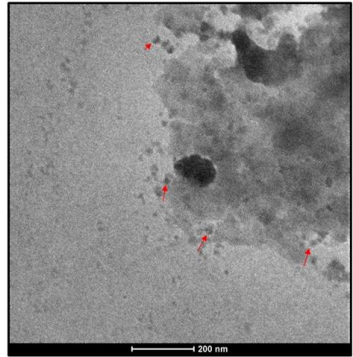


Exosomas de Cúrcuma y de Jengibre presentan biocompatibilidad en células HFF.



(\*p < 0.0332, \*\*p < 0.0021, \*\*\*p < 0.0002, \*\*\*\* p < 0.0001)

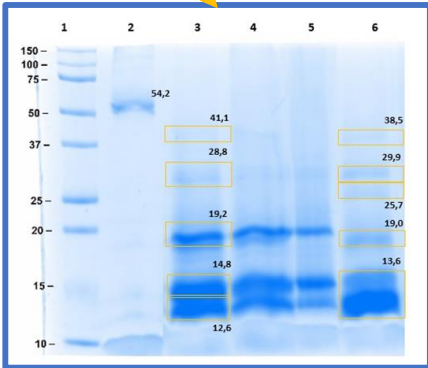
# Conclusiones



**Exosomas de Jengibre**  
 Morfología: esférica  
 Diámetro: 31 -156 nm  
 Biomarcadores: CD81+, CD9+  
 y CD63-.

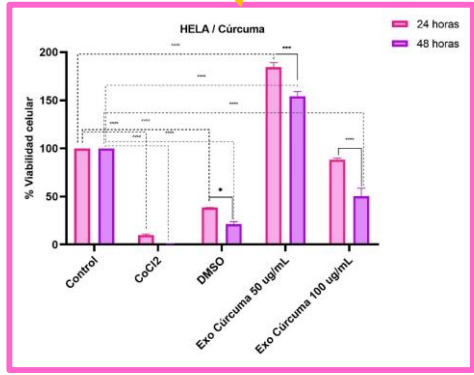
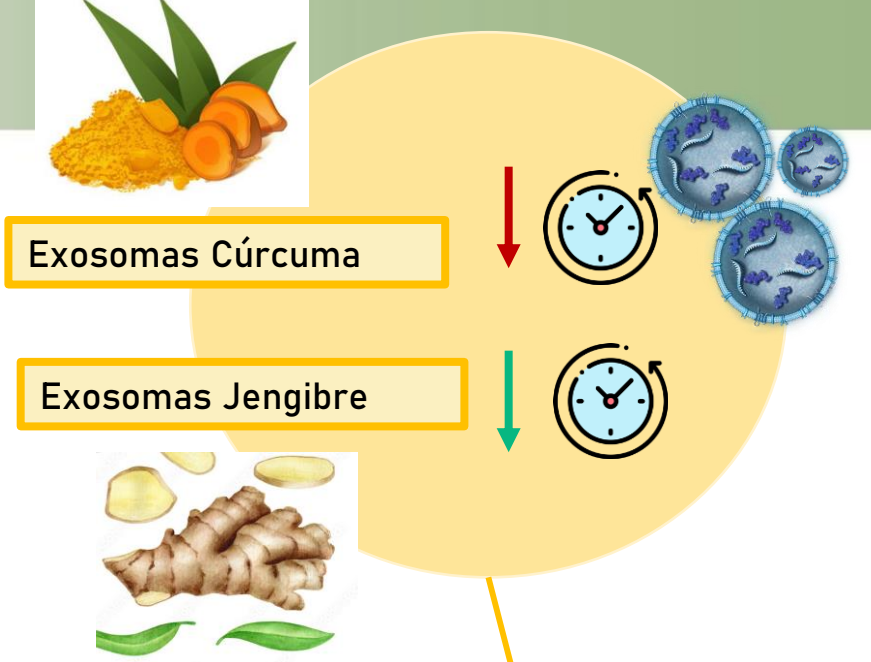
**Exosomas de Cúrcuma**  
 Morfología: semiesférica  
 ovalada  
 Diámetro: 30-71 nm  
 Expresión de  
 biomarcadores CD81+,  
 CD9+ y CD63-.

Análisis SDS-  
 PAGE: 40-12 KDa y  
 40-10 kDa para  
 Cúrcuma y  
 Jengibre  
 respectivamente.

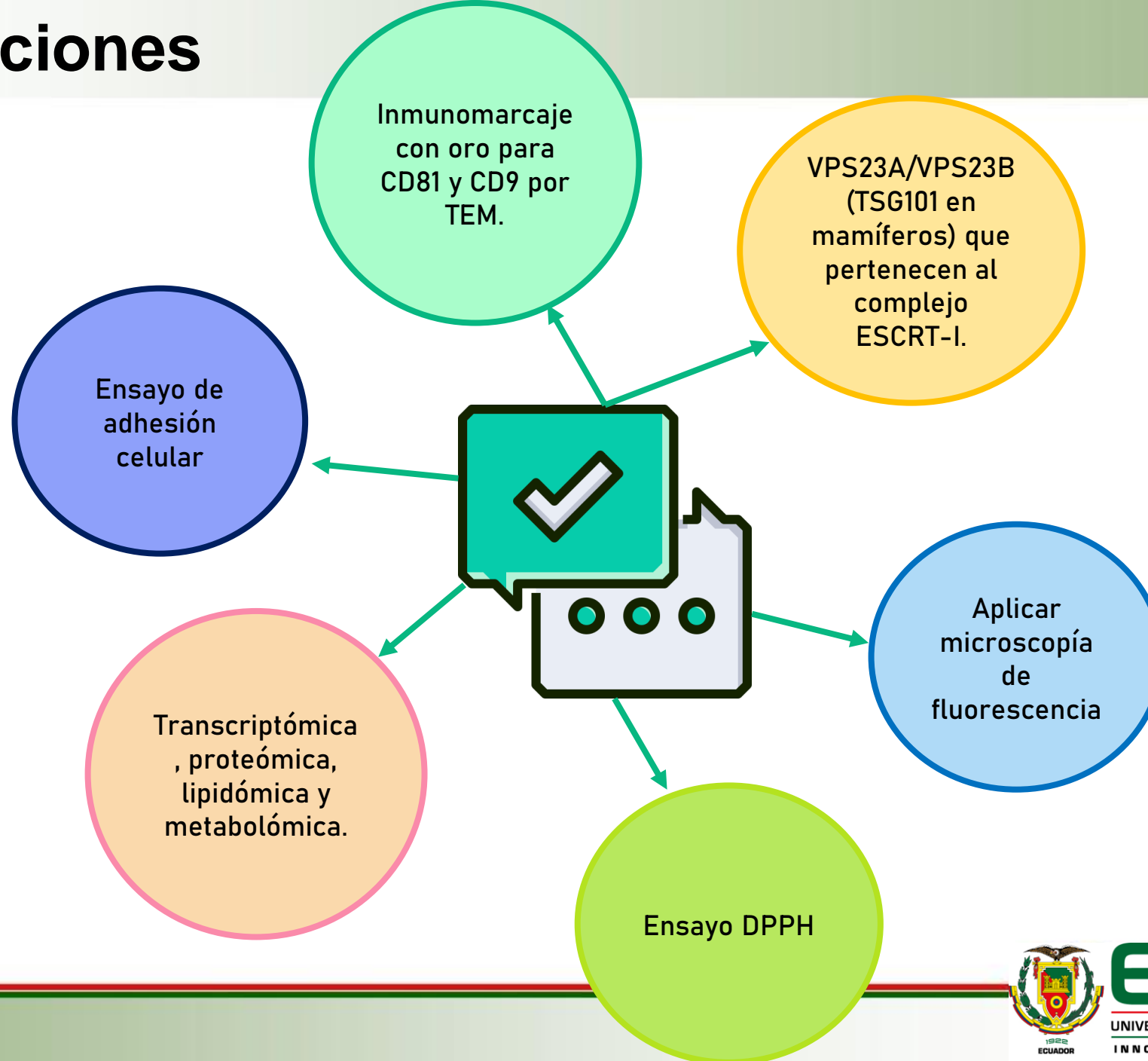


**HIPOTESIS**

✓   
 ✗

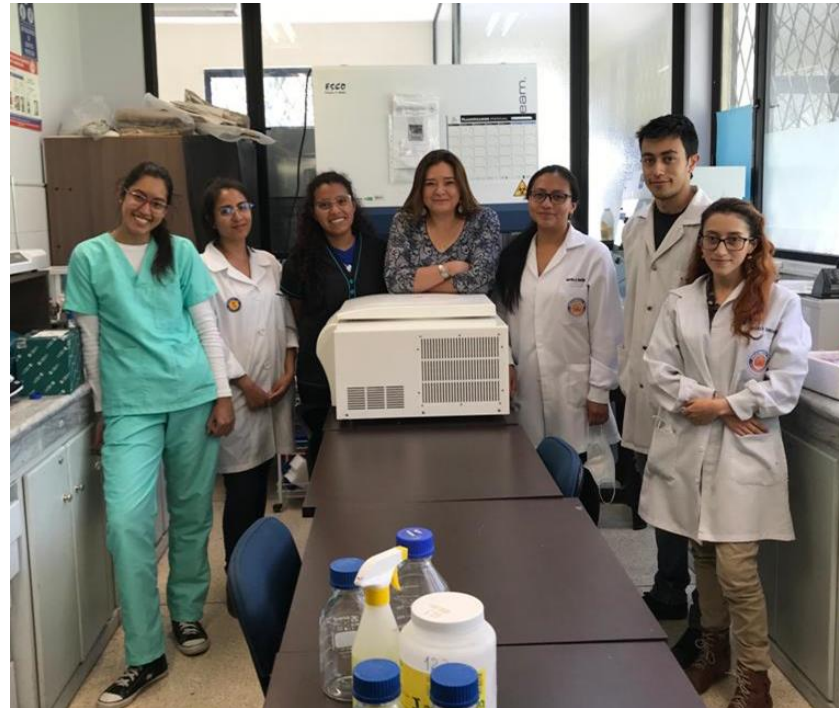


# Recomendaciones

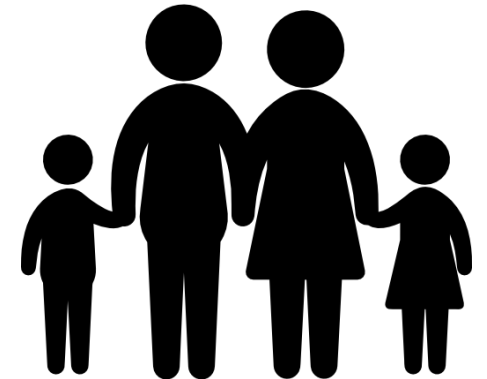




# Agradecimientos



Familia y  
Amigos



Marbel Torres Ph.D.  
Ing. Andrea Aluisa  
Ing. Fernanda Toscano  
Alexis Debut Ph.D

