

CARACTERIZACION DE UNA PROTEASA EXTRACELULAR DE >200 KDa PRODUCIDA POR *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042.

Eliana Astrid Granados Pérez, Adriana Llorente, Augusto González, Amelia Farrés. Insurgentes 3000, Ciudad Universitaria, Tel 56225305

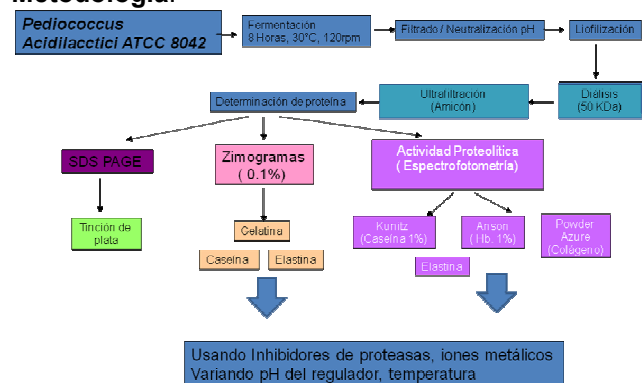
elianagranadosp@gmail.com, farres@servidor.unam.mx

Palabras clave: *Pediococcus acidilactici*, Actividad proteolítica extracelular, Elastina

Introducción. *Pediococcus acidilactici* es una especie de la familia de bacterias ácido lácticas en la que no se ha reportado un sistema de actividad proteolítica, a pesar de ser aislado de un sustrato proteico como es la carne. Llorente (2008) encontró evidencias de dos proteasas extracelulares (107 y >200 KDa). En este trabajo se realizó el análisis bioquímico de la proteasa de mayor peso molecular.

se trata de una metaloproteasa, dependiente de zinc, termoestable a una temperatura de 92°C, siendo la ideal de 37°C y con un pH óptimo de 7,5.

Metodología.



Resultados y discusión.

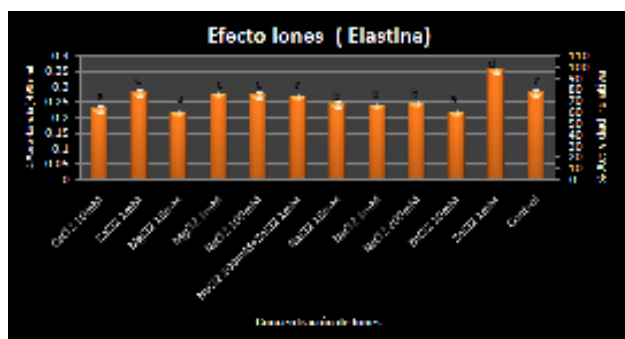


Fig. 1. Evaluación del efecto de diferentes iones en la actividad proteolítica, en pH de 7,5 a 37°C. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.005$)

La enzima se purificó en una columna sephacril S-100, localizando la fracción de alta actividad a los 200 kDa, mostrando actividad sobre colágeno, hemoglobina caseína y en mayor nivel sobre Elastina. La actividad sobre esta última mostró una variación entre 0.232 y 0.350 $\Delta\text{Ah}^{-1}/\text{mg proteína}^{-1}$. En la figura 1 se representa la actividad proteolítica sobre elastina, la cual muestra que

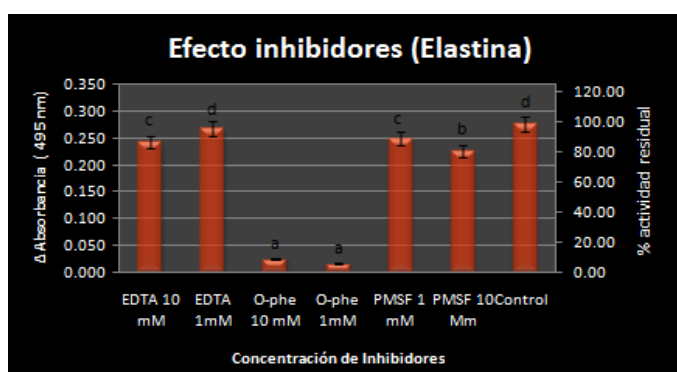


Fig. 2. Evaluación del efecto de diferentes inhibidores en la actividad proteolítica, en pH de 7,5 a 37°C. Las letras diferentes indican diferencias significativas ($p < 0.005$)

Llorente et al. (2008) muestra como la actividad proteolítica disminuye en un 50% cuando se incluye en la reacción enzimática inhibidores como 1,10 ortofenantrolina, mientras que en este trabajo, la reducción de actividad fue en promedio del 95% ($0.013\Delta\text{Ah}^{-1}/\text{mg proteína}^{-1}$). Caso contrario sucede con otros inhibidores como EDTA y PMSF donde no se ve una reducción en las unidades de actividad significativas. (Fig.2) mientras en el trabajo de Llorente et al, se ven reducciones del 20% en el caso de PMSF y 40% en EDTA en el promedio de actividad residual sobre elastina.

Conclusiones.

- La proteasa extracelular de alto peso molecular producida por *P. acidilactici* ATCC 8042 corresponde por los criterios de caracterización hechos a una metaloproteasa, dependiente de zinc, que posee mayor actividad a un pH de 7,5 y en una temperatura de 37°C.

Agradecimientos: UNAM, Macroproyecto Bovinos.

Bibliografía.

- Kiran Kumat, Doddapeneni, Radica Tatineni, et, al. (2007) Purification and characterization of two novel extra cellular proteases from *Serratia rubidea*. Process Biochemistry 42 1229-1236
- Llorente, et al. Novel extracellular proteolytic activity in *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042. Canadian Journal of microbiology. (2008) 694-699