



ESTUDIO DE LA ACTIVIDAD PROTEOLÍTICA DE UNA NUEVA CEPA HALOALCALINA AISLADA DEL EX LAGO DE TEXCOCO

J. C. Coronado-Corral, L. A. Cira-Chávez, M. I. Estrada-Alvarado, J. A. Campaña-Ruiz, L. E. Gassós-Ortega
Instituto Tecnológico de Sonora, Depto. de Biotecnología y Ciencias Alimentarias, Ciudad Obregón, Sonora, México
85000. luis.cira@itson.edu.mx

Palabras clave: proteasa, extremófilo, termoestabilidad

Introducción. Las proteasas son las enzimas clave en las aplicaciones industriales más importantes, representando alrededor del 60% en el mercado a nivel mundial. Actualmente el uso de las enzimas está limitado por su baja estabilidad en presencia de ciertos factores tales como temperaturas y pH elevados, así como la presencia de solventes orgánicos y algunos cationes (1). Por lo anterior el objetivo de la presente investigación fue caracterizar los extractos proteolíticos obtenidos a partir de una bacteria halóalcalofila aislada del ex lago de Texcoco por medio de fermentación líquida.

Metodología. La cepa MI33 fue seleccionada por su capacidad proteolítica en agar marino adicionado con leche descremada al 2%. La producción de los extractos enzimáticos se llevó a cabo a nivel matraz por fermentación líquida a 37°C en medio marino y leche descremada como inductor, durante un periodo de 5 días, tomando muestra cada 24 para la determinación de proteína por el método de Bradford (2) y actividad enzimática por el método Iversen y Jorgensen (3). Los extractos enzimáticos fueron caracterizados en base a su perfil electroforético por SDS-PAGE en condiciones desnaturizantes, pH y temperatura óptima, y termoestabilidad (4). La actividad enzimática del extracto crudo fue evaluada en presencia de cinco inhibidores de proteasas: EDTA 20 mM, PMSF 100 mM, TPCK 5 mM, TLCK 10 mM, y e64 500 mM (5).

Resultados. En la fig. 1 se observa que la máxima actividad proteolítica se presentó a las 96 h de fermentación, alcanzando un valor de 1.7 U/mg de proteína. Por otra parte, se encontró que el pH y la temperatura óptima fueron 11 y 70°C, respectivamente. El peso molecular aparente fue de 25 kDa, coincidiendo con la actividad hidrolítica presente en el zimograma de actividad utilizando caseína como sustrato. El extracto enzimático fue estable en un amplio rango de temperatura (50, 60 y 70°C), siendo 60°C donde presenta una mayor estabilidad térmica (fig. 2). Los resultados sugieren que la actividad del extracto producido por la cepa MI33 puede deberse a la presencia de una serin-proteasa, ya que la actividad proteolítica fue inhibida al 100% por PMSF.

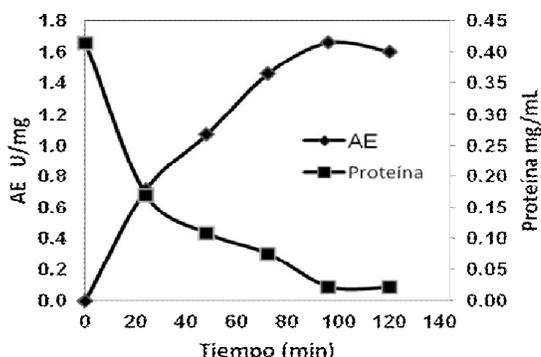


Fig. 1 Comparación de la concentración de proteína contra la actividad enzimática durante la cinética de fermentación por la cepa MI33, en caldo marino con leche descremada al 2%.

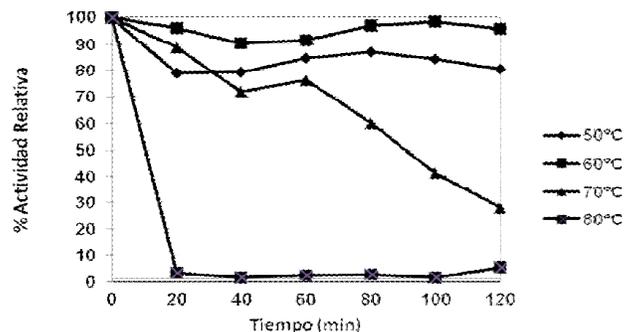


Fig. 2. Efecto de la temperatura sobre la estabilidad del extracto enzimático producido por la cepa MI33.

Agradecimiento. A CONACYT por la beca otorgada para la realización del presente trabajo.

Conclusiones. La cepa MI33 es capaz de producir y secretar proteasas extracelulares del tipo serin-proteasa, las cuales son estables a temperaturas superiores a los 50°C, con un pH y temperatura óptima de 11 y 70°C.

Bibliografía.

- (1) Hindhumathi M, Vijayalakshmi S, Thankamani (2011). Research in Biotechnology. 2(4): 13-19.
- (2) Bradford M. M. (1976). Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- (3) Iversen S. L., Jorgensen M. H. (1995). Biotechnology techniques. 9(8):573-576.
- (4) Rao Ch. S., Sathish T., Ravichandra P., Prakasham R.S. (2009). Process Biochemistry 44:262-268
- (5) Annamalaia N., Rajeswarib M. V., Sahub S. K., Balasubramanian T. (2014). Process Biochemistry 49:1012-1019.