

CARACTERIZACIÓN DE PROTEASAS EN EL SISTEMA DIGESTIVO DE LA LANGOSTA ROJA *Panulirus interruptus*

Laura E. Celis Guerrero y Fernando L. García Carreño
Centro de investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C. (fgarcia@cibnor.mx)

Palabras clave: caracterización, proteasas, sistema digestivo

Introducción. Con la caracterización de proteasas digestivas conocemos algunos aspectos bioquímicos de la digestión de proteína en esta especie. Esto permite utilizar un alimento en forma óptima basado en el conocimiento de la capacidad fisiológica del organismo. Aunque *P.interruptus* es un producto pesquero que se comercializa al momento de la captura y que no es cultivado en la región, no significa que se deje fuera el interés por un crecimiento eficiente, ya que en otros países el recurso langostero es mantenido en estanques especiales por varios meses y alimentados durante ese periodo para obtener un mayor crecimiento y recuperación del producto, todo con la finalidad de comercializarlo vivo y fuera de temporada.

Metodología. Se obtuvieron muestras de la cámara gástrica (CG), glándula digestiva (GD), intestino (I), contenido intestinal (CI) y jugo gástrico (JG). A cada muestra se le evaluó la concentración de proteína, actividad proteolítica alcalina, ácida y específica para tripsina y quimotripsina. El patrón proteico y enzimático se estimó con SDS-PAGE, modificada. Las proteasas se identificaron con inhibidores específicos para la clase serino-proteasas (1). Propiedades enzimáticas como pH y temperatura óptima fueron evaluadas en JG y extracto de la GD. Por otro lado, con un grupo de veinte organismos se observó el patrón proteolítico individual, así como su permanencia en un ciclo digestivo.

Resultados y Discusión. Sólo se observó actividad proteolítica alcalina en JG y en el homogenizado de la GD, teniendo en el JG una mayor actividad por mg de proteína (Cuadro I). La temperatura óptima fue de 50°C y el pH óptimo fue de 8.5 con sustrato alcalino (azocaseína 1%) y un óptimo pH de 3 en la región ácida (hemoglobina 0.5%), esto en ambos extractos enzimáticos. El patrón electroforético mostró 15 bandas con actividad alcalina tanto en GD como en JG. Bandas de mayor peso (58 y 60 KDa) y unas de menor peso (35, 33 y 20 KDa) fueron afectadas por el inhibidor de serino-proteasas, PMSF. El inhibidor de tripsina, TLCK, actuó sobre proteasas con pesos entre 16 y 22 KDa. SBTI inhibió las mismas proteasas que fueron afectadas por PMSF y TLCK. Este mismo patrón de inhibición se encontró en JG y en CI. El análisis electroforético mostró evidente variación individual con organismos mantenidos durante tres meses bajo las mismas condiciones, considerando el estadio de muda y tiempo de alimentación (Fig.1). Este patrón se mantuvo a lo largo de un ciclo digestivo y se observó un mes después del ciclo tomado.

Cuadro I. Actividad amidasa en JG, GD y CI, utilizando sustratos específicos para tripsina (BAPNA) y quimotripsina (SAPNA), expresados como ?mol de nitroanilida liberada /min /mg proteína.

Actividad Amidasa			
	JG	GD	CI
BAPNA	1.54?0.08	0.55?0.02	0.35?0.02
SAPNA	0.52?0.02	0.25?0.02	0.13?0.01

-tadas por PMSF y TLCK. Este mismo patrón de inhibición se encontró en JG y en CI. El análisis electroforético mostró evidente variación individual con organismos mantenidos durante tres meses bajo las mismas condiciones, considerando el estadio de muda y tiempo de alimentación (Fig.1). Este patrón se mantuvo a lo largo de un ciclo digestivo y se observó un mes después del ciclo tomado.

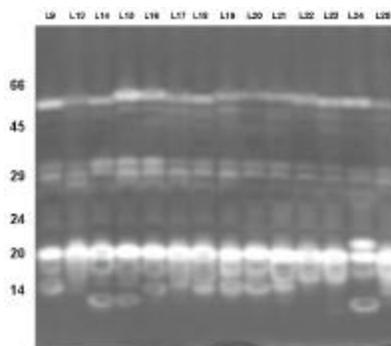


Fig. 1. Patrón proteolítico en 14 organismos. Al momento de tomar la muestra la L9 presentaba un estadio D2; L13-16, 24 y 25 en estadio C; L17-23 en estadio D0.

Conclusiones. La mayor parte de las proteasas alcalinas son afectadas por inhibidores específicos de serino-proteasas, principalmente por inhibidores de tripsina. Así, tripsina tiene un papel principal en la digestión de la proteína proveniente del alimento. Las proteasas en esta especie de crustáceo actúan a niveles por debajo de los óptimos, ya que el pH del JG y de la GD son ligeramente ácidos (6.3±0.3). El óptimo encontrado en la región ácida (pH3) ha sido documentado en otras especies de crustáceos (2). Sin embargo, más estudios son requeridos para conocer la naturaleza de la enzima que actúa a ese nivel de acidez en esta especie de crustáceo. El JG es el mejor candidato para ensayos de digestibilidad por presentar mayor actividad por mg de proteína. La síntesis de las proteasas varía entre individuos (variabilidad intraespecífica) independientemente de factores externos o de una condición fisiológica como el estadio de muda o un tiempo específico del ciclo digestivo.

Agradecimientos. Al CONACYT por la beca para LCG.

Bibliografía.

- García-Carreño, F, Dimes, L y Haard, N. (1993). Substrate-gel electrophoresis for composition and molecular weight of proteinases or proteinaceous proteinase inhibitors. *Analyt Biochem.* 214: 65-69.
- Glass, H y Stark, J. (1994). Protein digestion in the European lobster *Homarus gammarus* (L). *Comp.Biochem.Physiol.* 108B(2): 225-235.