

AISLAMIENTO CARACTERIZACIÓN Y MODULACIÓN DE TRES ISOFORMAS DE TRIPSINA DE LA GLÁNDULA DIGESTIVA DEL CAMARÓN BLANCO *PENAEUS VANNAMEI*

Juan Carlos Sainz Hernández, Patricia Hernández Cortes y *Fernando L. García Carreño
 Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, A.P. 128, La Paz B.C.S. México
 Fax (612) 12 54710 correo electrónico *fgarcia@cibnor.mx

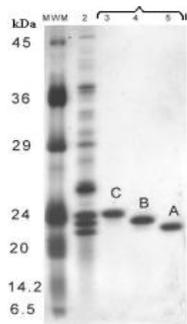
Palabras clave: Tripsinas, caracterización, Penaeus vannamei.

Introducción. La secuencia de amino ácidos de las tripsinas de la glándula digestiva del camarón *Penaeus vannamei* han sido deducidas a través de cDNA (1). A partir de estos datos se ha hipotetizado sobre sus características., pero poco ha sido confirmado experimentalmente. Se ha observado que la actividad de estas tripsinas varía en función de la edad, la concentración de proteína en el alimento y la muda (2) Sin embargo no es claro si el aumento o disminución en la actividad es debido a cambios en la síntesis de la enzima o debido a que se apaga o se enciende la síntesis de una de las isoformas.

El objetivo es aislar y caracterizar las tripsinas digestivas de *Penaeus vannamei*. Realizar un estudio genotípico de las tripsinas a partir de análisis electroforético y analizar si existe un control ambiental .

Metodología. Las tripsinas fueron aisladas mediante electroforesis e hidroelusión a partir del gel. Se caracterizaron en cuanto a su actividad a diferentes temperaturas, pH, inhibidores y concentraciones de Ca²⁺, además se analizó su asociación con carbohidratos y la secuencia del extremo amino-terminal. El análisis genotípico se realizó observando las frecuencias fenotípicas de las tripsinas en 20 familias. La actividad de tripsina y un análisis fenotípico a través de un ciclo digestivo fue examinada con organismos en estadio de muda C. Las muestras fueron obtenidas en diferentes momentos de la digestión.

Resultados y discusión. Tres isotripsinas fueron aisladas de la glándula digestiva de *P. vannamei* Fig 1. No se encontraron diferencias significativas en las características bioquímicas y cinéticas. El cuadro I muestra el análisis N-terminal.



Cuadro I. Secuencia N- terminal de cada una de las tripsinas aisladas

| Tryp | NH ₂ -Terminal |
|------|---------------------------|
| A | IVGGTDATEPGELPY |
| B | IVGGTDAKPGELPY |
| C | IVGGTEVTPGELPY |

Fig 1. Tripsinas aisladas

La cinética digestiva muestra una síntesis continua e intermitente de tripsina. El cuadro II muestra los fenotipos observados de la tripsina en la glándula digestiva. Las familias mostraron que la progenie hereda las variantes fenotípicas por segregación Mendeliana

| Familia | Fenotipo Parental | | Organismos en cada clase de fenotipo | | | Relación esperada | n | Valores de Chi |
|---------|-------------------|----|--------------------------------------|----|----|-------------------|----|----------------|
| | ? | ? | AA | AB | BB | | | |
| 1 | ? | ? | | | 27 | 1 | 27 | 0 |
| 2 | ? | ? | | 14 | 15 | 1:1 | 29 | 0.034483 |
| 3 | ? | ? | 8 | 8 | 7 | 1:2:1 | 23 | 3.8913 |
| 4 | ? | ? | | | 22 | 1 | 22 | 0 |
| 5 | ? | ? | | 13 | 9 | 1:1 | 22 | 0.72727 |
| 6 | ? | ? | | 29 | | 1 | 29 | 0 |
| 7 | ? | ? | | 14 | 14 | 1:1 | 28 | 0 |
| 8 | ? | ? | | 22 | | 1 | 22 | 0 |
| 9 | BB | ? | | 16 | 14 | 1:1 | 30 | 0.13333 |
| 10 | BB | ? | | 30 | | 1 | 30 | 0 |
| 11 | AA | ? | 14 | 16 | | 1:1 | 30 | 0.13333 |
| 12 | AA | ? | | 30 | | 1 | 30 | 0 |
| 13 | AA | ? | | 30 | | 1 | 30 | 0 |
| 14 | AA | ? | | 30 | | 1 | 30 | 0 |
| 15 | AB | ? | | 12 | 18 | 1:1 | 30 | 1.2 |
| 16 | AB | ? | | 14 | 13 | 1:1 | 27 | 0.037037 |
| 17 | AB | ? | 5 | 20 | 5 | 1:2:1 | 30 | 3.33333 |
| 18 | AB | ? | | 13 | 13 | 1:1 | 26 | 0 |
| 19 | AB | AB | 5 | 17 | 8 | 1:2:1 | 30 | 1.13 |
| 20 | AB | BB | | 15 | 15 | 1:1 | 30 | 0 |

Valores Chi-cuadrada (P<0.05) 3.84 para g.l. = 1, 5.99 para g.l. =2.

Conclusiones. Las tres tripsinas digestivas del camarón *Penaeus vannamei* son muy similares en cuanto características bioquímicas con un bajo K_m y una muy alta eficiencia fisiológica comparada con otras tripsinas de origen marino y no son modulables en cuanto a variaciones en la variante fenotípica que ostenta cada individuo.

Agradecimiento. Este trabajo fue financiado con fondos otorgados por el CIBNOR a través del proyecto PAC 27 y por CONACyT proyecto J33750-N en forma especial se agradece a la Dra. Ana Maria Ibarra por su apoyo en el estudio genotípico.

Bibliografía.

- 1) Klein, B., Le-Moullac, G., Sellos, D., and Van-Wormhoudt, A. (1996). Molecular cloning and sequencing of trypsin cDNAs from *Penaeus vannamei* (Crustacea, Decapoda): use in assessing gene expression during the molt cycle. *Internal Journal of Biochemistry and Cellular Biology*, 28(5),551-563
- 2) Lee, P.G., and Lawrence, A.L. (1982). A quantitative analysis of digestive enzymes in penaeid shrimp; influence of diet, age and species. *Physiologist*, 25,241.

