



# XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



## PÉPTIDOS ANTITROMBÓTICOS GENERADOS DE CASEÍNAS DURANTE LA FERMENTACIÓN CON *Lactobacillus casei* Shirota.

Rebeca Rojas-Ronquillo, Alma Cruz-Guerrero, Gabriela Rodríguez-Serrano, Carmen Wachter-Rodarte, Lorena Gómez-Ruiz, Ivonne Figueroa-González, Judith Jiménez-Guzmán, Mariano García-Garibay. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, México D.F., C.P. 09340, lcgr@xanum.uam.mx.

*Péptidos antitrombóticos, caseína, Lactobacillus casei Shirota.*

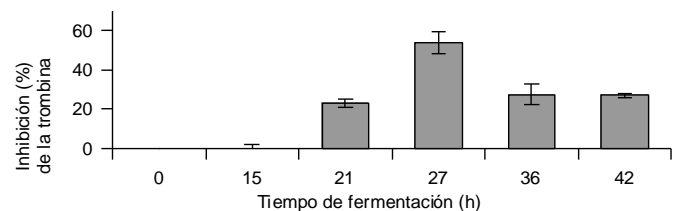
**Introducción.** Se ha estudiado ampliamente que a partir de la hidrólisis de las proteínas de los alimentos se generan péptidos bioactivos; un mecanismo es a través del sistema proteolítico de bacterias ácido lácticas a partir de productos lácteos, en los cuales se han reportado péptidos con distintas actividades biológicas. Los péptidos menos estudiados son los antitrombóticos, llamados así por su capacidad de inhibir la formación del trombo (coágulo) en los vasos sanguíneos. Los principales péptidos antitrombóticos derivados de las proteínas de la leche son: la casoplatelina, un decapeptido derivado de la  $\kappa$ -caseína (1) y el tetrapeptido, KGRS derivado de la lactoferrina (2) ambos inhiben la formación del trombo evitando la agregación de las plaquetas y la unión de estas al fibrinógeno.

El objetivo de este trabajo fue purificar los péptidos con actividad antitrombótica generados a partir de las caseínas, por la acción proteolítica de *Lactobacillus casei* Shirota.

**Metodología.** Se cultivo durante 42 horas en un medio con 3.5% de caseínas y 5% lactosa, usando la bacteria probiótica *Lactobacillus casei* Shirota, aislada del producto lácteo Yakult. La determinación de la inhibición de la trombina se realizó evaluando la acción de dicha enzima sobre el fibrinógeno para formar un coágulo (3). Para la purificación de los péptidos se realizaron dos pasos de cromatografía de alta presión (HPLC): de exclusión molecular (BIOSEC-S 2000) y en fase reversa RP-HPLC (Jupiter 5u C18 300<sup>Å</sup>) con solución amortiguadora de fosfatos 0.1M, pH 6.8 y 0.1% TFA/H<sub>2</sub>O (A) y 0.1% TFA/CH<sub>3</sub>CN:0.1% TFA/H<sub>2</sub>O (90:10) (B) respectivamente. El análisis estadístico fue hecho con los programas SPSS y NCSS.

**Resultados.** Durante la fermentación se tomaron muestras a distintos tiempos y se determinó el porcentaje de inhibición de la trombina (Figura 1), la mayor actividad se observó a las 27 horas de fermentación, con 53.5%. Se seleccionaron las muestras de 27 y 36 horas. Estas muestras se fraccionaron por cromatografía de exclusión molecular, se obtuvieron nueve y diez fracciones de las muestras de 27 y 36 horas respectivamente. De estas fracciones se seleccionaron aquellas que presentaron actividad inhibidora del coágulo, para purificar los péptidos causantes de dicha actividad por RP-HPLC. Los péptidos antitrombóticos obtenidos y su inhibición

específica del coágulo se muestran en la tabla 1, el péptido con mayor inhibición específica fue el 8. Es importante destacar que las masas moleculares obtenidas son muy diferentes a las de los péptidos antitrombóticos reportados. La secuencia de los péptidos antitrombóticos encontrados está siendo estudiada actualmente.



**Fig. 1.** Actividad inhibidora del coágulo de la muestras obtenidas durante la fermentación de caseínas por *Lactobacillus casei* Shirota

**Tabla 1.** Inhibición específica de la formación del coágulo de los péptidos purificados por RP-HPLC.

Péptido	Tiempo de fermentación (h)	Masa molecular (kDa)	Inhibición específica (%inhibición / $\mu$ g/mL)
1	27	2.6	3.8
2		2.6	4.1
3		1.4	1.0
4	36	4.1	4.8
5		4.1	3.1
6		4.1	2.1
7		2.6	6.6
8		2.6	7.7
9		2.6	0.3
10		1.4	4.6

**Conclusiones.** En el presente trabajo se encontró que a partir de la fermentación con *Lactobacillus casei* Shirota en un medio con caseínas se produjeron péptidos antitrombóticos, inhibidores de la acción de la trombina sobre el fibrinógeno, no reportados antes.

**Agradecimiento.** Al CONACyT por la beca de posgrado de Rebeca Rojas-Ronquillo.

### Bibliografía.

- Jollès, P., Levy-Toledano, S., Fiat, A.M., Soria, C., Thomaidis, A., Dunn, F.W., Caen, J.P. (1986). *Eur J Biochem.* 158: 379-382.
- Mazoyer, E., Levy-Toledano, S., Rendu, F., Hermant, L., Lu, H., Fiat, A.M., Jollès, P., Caen, J.P. (1990). *Eur J Biochem.* 194: 43-49.
- Yang, W.G., Wang, Z., Xu, S.Y. (2007). *Chinese Chemical Letters.* 18 (4): 449-451.