



XIV Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería



AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE PROTEASAS DE *Isostichopus fuscus*.

Arisaí Hernández-Sámamo¹, Xóchitl Guzmán-García¹, Raquel García-Barrientos¹, Isabel Guerrero-Legarreta¹, Felipe Ascencio-Valle², Arturo Sierra-Beltrán², ¹Universidad Autónoma Metropolitana, Departamento de Biotecnología, México D.F., C.P. 09340. ² Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C., Programa de Acuicultura, La Paz, B.C.S., México. C.P. 23000. e-mail: arizai5@hotmail.com.

Palabras clave: Isostichopus fuscus, proteasas, aislamiento de proteínas.

Introducción. El pepino de mar café, *Isostichopus fuscus* es una especie comercial distribuida desde Baja California (México) a Ecuador. Es uno de los holotúridos más grandes y cotizados en el mercado asiático. Contiene gran cantidad de colágeno insoluble, alrededor de 50 % de proteína y altos niveles de lisina, arginina y triptófano (1).

El objetivo de este estudio fue aportar información básica sobre las proteasas del músculo de *I. fuscus* del golfo de California, México, para incentivar su protección y desarrollo para posibles aplicaciones biotecnológicas.

Metodología. Se utilizaron 100 g de músculo de *I. fuscus* del Mar de Cortés. El extracto crudo fue obtenido con amortiguador de fosfatos 20 mM, pH 7, 4 °C. Se aisló la proteína fraccionando con (NH₄)₂SO₄ saturado por lo que se dializó con agua desionizada durante 72 horas a 4 °C. Se concentró por ultrafiltración con una membrana con tamaño de corte de 100 kDa. Se analizó el efecto de pH (2 - 10) y temperatura (0 - 90 °C) sobre la actividad proteolítica con caseína y hemoglobina como sustratos y se determinó la concentración de proteína por el método de biuret. Además, se estimó el peso molecular por SDS-PAGE (2).

Resultados. Los resultados mostraron que la fracción obtenida, con un factor de purificación de 0.81, tuvo baja actividad a pH ácido y actividad significativa ($P < 0.001$) a pH básico mostrando estabilidad. La mayor actividad específica se obtuvo a pH 7 - 8 y fue de 10.53 ± 1.43 y 10.01 ± 0.49 UAP/mg, respectivamente (Figura 1). El rango de temperatura óptima de actividad se observó entre 50 y 60 °C a pH 7.5 (Figura 2). Esta fracción presentó 4 proteínas de peso molecular aparente de 159 - 184 kDa, 109 - 124 kDa, 85 - 93 kDa, y 49 - 54 kDa. Los resultados fueron similares a los reportados para otras especies como *Stichopus japonicus* (3, 4, 5).

Conclusiones. Con base a los resultados y a lo reportado, se sugiere la presencia de serín proteasas y proteasas ácidas como aspartil ó cisteín proteasas con alta actividad, sin embargo, es necesario realizar pruebas de actividad enzimática con sustratos e inhibidores específicos, por lo que con este estudio se otorgó la base para este análisis posterior de actividad proteolítica.

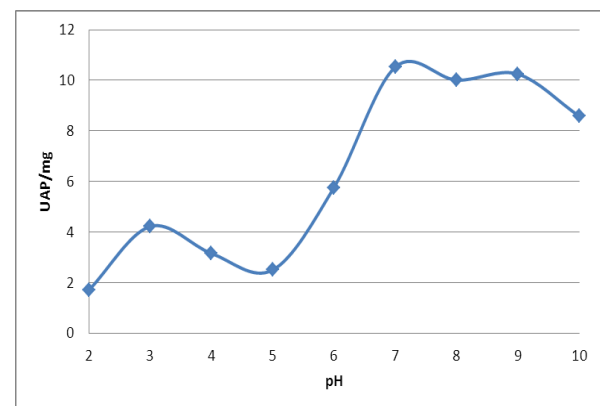


Fig. 1. Actividad específica a diferente pH de proteasas de *I. fuscus*, con caseína y hemoglobina como sustrato.

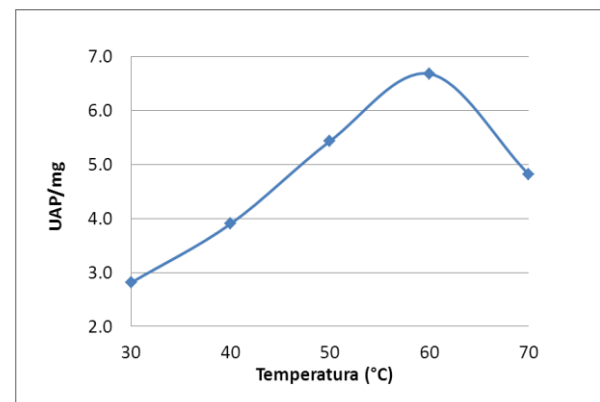


Fig. 2. Actividad específica a diferente temperatura de proteasas de *I. fuscus*, con caseína y hemoglobina como sustrato.

Bibliografía.

1. DeMoor S., Waite J. H., Jangoux M., Flammang P., (2003). Marine Biotechnol. 1 (5): 45 - 57.
2. Laemmli U. K., (1970). Nature. 227 (5259): 680 - 685.
3. Bei-Wei Zhu, Lu-Lu Zhao, Li-Ming Sun, Dong-Mei Li, Yoshiyuki Murata, Lei Yu and Lei Zhang, (2008). Biosci. Biotechnol. Biochem., 72 (6), 1430 - 1437.
4. Fu-Yan X., Hu-Xue C., Chun-Miao B., Jie-Li Z., Gao X., Wen-Ge Y., (2005). Aquaculture. 246 (1 - 4): 321 - 329.
5. Qi H., Dong X. P., Cong L. N., Gao Y., Liu L., Mikiro T., Zhu B. W. (2007). Fish Physiol Biochem. 33 (2): 181-188.