

Colagenasas tipo serin-proteasas en camarón

Patricia Hernández Cortés. CIBNOR. Apdo. 128, La Paz 23000. Fax (112) 5 47 10. pato@cibnor.mx

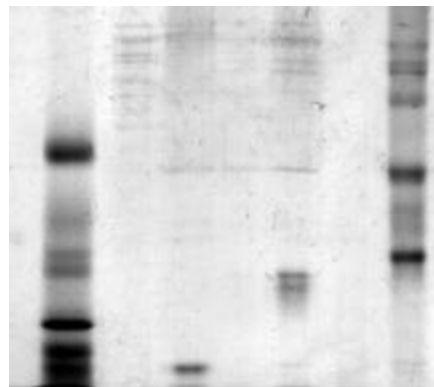
Serin proteasas, colágeno, crustáceos, Penaeus vannamei.

Introducción. Las proteasas son enzimas que hidrolizan los enlaces peptídicos de las proteínas. Además de tomar en cuenta el sitio de hidrólisis, se clasifican de acuerdo a su mecanismo de catálisis. Las metalo-proteasas, por ejemplo, tienen en su sitio catalítico un ion como el zinc o el magnesio. A esta clase pertenecen aquellas proteasas capaces de degradar la triple hélice del colágeno. En algunos invertebrados y peces se han encontrado que otro clase de proteasas, las serin proteasas, también son capaces de hidrolizar el colágeno como lo hacen las tipo metalo. Previamente reportamos la capacidad de las serin proteasas de crustáceos para degradar colágeno nativo y que serin proteasas de vertebrados son incapaces de hacerlo (1).

El objetivo del trabajo es definir si todas las serin proteasas del camarón blanco *Penaeus vannamei* son capaces de degradar colágeno.

Metodología. Se disectó y homogenizó el órgano que sintetiza las enzimas digestivas de *P. vannamei*, el hepatopáncreas, para obtener la fracción soluble (1). Para deslipidizar se utilizó solventes orgánicos. La muestra se aplicó a una columna de afinidad cuyo ligando captura selectivamente tripsinas (2). Se utilizó un intercambiador aniónico para obtener solamente tripsinas en el último paso de purificación. Las tripsinas se incubaron con colágeno solubilizado y posteriormente se analizó la mezcla en geles de acrilamida.

Resultados y Discusión. Se obtuvo de la cromatografía de afinidad cinco proteínas de las cuales cuatro tienen actividad proteolítica. Previamente estas proteasas habían sido identificadas como tripsinas (3). Las fracciones no retenidas en la columna contienen quimotripsina que es otra serin proteasa del camarón. Posterior a la cromatografía de intercambio iónico se obtuvieron las tripsinas puras. Se incubaron diferentes proteasas y fracciones del hepatopáncreas con colágeno nativo (Fig 1). El colágeno mezclado sin enzimas se mantiene íntegro mientras que con la colagenasa de *Clostridium histolyticum*, una metaloproteasa de origen bacteriano, se observa una aparición de mayor número de proteínas producto de la hidrólisis. Esto también ocurre cuando se incuba con tripsina del camarón, las tripsinas aparecen en el gel pero son reconocidas por su peso molecular. Sin embargo, cuando tripsina de bovino es incubada con el colágeno, no se observa hidrólisis alguna. Una de las características de las enzimas de invertebrados es que algunas veces tienen menor especificidad que las enzimas de vertebrados. En este caso



confirmamos que las serin proteasas de otro crustáceo fueron capaces de hidrolizar colágeno nativo. Además de las implicaciones de estructura y función que representa, el potencial de éstas serin proteasas en la industria de los alimentos está por estudiarse

Conclusiones. La capacidad de hidrolizar colágeno nativo por parte de las serin proteasas de crustáceos parece ser una característica distintiva y general entre este grupo de organismos.

Agradecimientos. La presente investigación es financiada por el proyecto CONACYT J33750-N y el PAC28 del CIBNOR.

Bibliografía.

1. García-Carreño, F, Hernández-Cortés, MP and Haard, N. (1994). Enzymes with peptidase and proteinase activity from the digestive system of a fresh water and a marine decapod. *J. Agricult Food Chem.* 42, 1456 – 1461.
2. Hernandez-Cortes, P, Cerenius, L, Garcia-Carreño, F and Söderhäll, K. (1999). Purification and cDNA cloning of trypsin from *Pacifastacus leniusculus* hepatopancreas. *Biol. Chem.* 380, 499-501. 1999.
3. Lemos, D, Ezquerro, JM, Garcia-Carreño, FL. 2000. Protein digestion in penaeid shrimp: digestive proteinases, proteinase inhibitors and feed digestibility. *Aquaculture.* 186: 89-105.