

PRODUCCIÓN DE PROTEASAS ACTIVAS A BAJAS TEMPERATURAS POR MICROORGANISMOS DE LA ANTÁRTIDA

Martínez, M.C.¹ y Castro-Sowinski, S.^{1,2}

¹ Unidad de Microbiología Molecular, Laboratorio de Ecología Microbiana, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Av. Italia 3318, Montevideo, Uruguay – macemar@adinet.com.uy

² Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225, Montevideo, Uruguay

Palabras clave: proteasas activas a bajas temperaturas, sicrófilos, sicrotolerantes, Antártida.

Key words: cold active proteases, psychrophiles, psychrotolerant, Antarctica.

Las proteasas constituyen el principal grupo de enzimas de interés industrial y biotecnológico. Además de sus variadas aplicaciones clínicas, se destaca su uso en la industria alimenticia y textil, en el procesamiento del cuero, como aditivos en detergentes, y en panadería. Tanto plantas, animales como microorganismos son fuente de este tipo de enzimas, pero los microorganismos poseen varias características que los hacen preferidos al momento de buscar enzimas proteolíticas. La mayoría de las proteasas empleadas actualmente son activas a temperaturas superiores a la ambiente, pero existe a nivel industrial una demanda en aumento por enzimas que puedan actuar a bajas temperaturas.

Dada su adaptación a vivir en ambientes fríos, los microorganismos sicrófilos y sicrotolerantes son potenciales productores de proteasas activas a bajas temperaturas.

En este trabajo se aislaron microorganismos productores de enzimas proteolíticas activas a bajas temperaturas, a partir de muestras tomadas cerca de la base antártica uruguaya, ubicada en la Isla Rey Jorge, Archipiélago Shetland del Sur, en las coordenadas 62° 11' 4'' de latitud Sur y 58° 51' 7'' de longitud Oeste. Se aisló un total de 14 bacterias con actividad proteolítica que fueron identificadas por secuenciación del gen 16S. Se obtuvo 9 aislamientos correspondientes al género *Pseudomonas* y un aislamiento de *Janthinobacterium* con capacidad de crecer a 4°C y a 30°C, y 4 aislamientos de *Flavobacterium* que sólo crecieron a 4°C. Todos los aislamientos produjeron exo-proteasas exclusivamente cuando crecieron a 4°C. Sin embargo, en los medios de cultivo libres de células se detectó actividad proteolítica tanto a 4°C como a 30°C, y además se comprobó que, una vez producida a 4°C, se mantenía la estabilidad enzimática tras 48hs a 30°C. Se evidenció la presencia de sólo una iso-proteasa para cada aislamiento, tanto a 4°C como a 30°C.

Utilizando el programa CODEHOP se diseñaron cebadores degenerados para amplificar genes codificantes de serín proteasas (las principales enzimas empleadas industrialmente) para los géneros *Flavobacterium* y *Janthinobacterium*. También se emplearon otros cebadores de serín proteasas previamente diseñados con el mismo programa. Actualmente, nos encontramos en la etapa de amplificación de dichos genes y clonado, para ser luego secuenciados.