

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



**PURIFICACIÓN, CARACTERIZACIÓN E INMOVILIZACIÓN DE
PROTEASAS DE EXCRECIÓN DE *Staphylococcus* sp. DE LAS
SALINERAS DE MARAS - CUSCO**

TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE BIÓLOGO

PRESENTADO POR:

Bach. PERCY HUAIHUA PUMA

ASESOR (A):

Dra. MARÍA ANTONIETA QUISPE RICALDE

CUSCO – PERÚ

2019

RESUMEN

Las proteasas son enzimas importantes para diversas aplicaciones biotecnológicas, debido a que son catalizadores biológicos altamente eficientes y específicos, sin embargo la aplicación de las enzimas a nivel industrial se ha visto limitada por varios factores, principalmente su alto costo, inestabilidad y disponibilidad en cantidades pequeñas, lo cual se han ido superando por la búsqueda de enzimas estables a condiciones extremas y la investigación de nuevas técnicas como la inmovilización de las enzimas. El presente trabajo tuvo como objetivo estudiar la purificación, caracterización e inmovilización de proteasas de excreción de *Staphylococcus* sp. de las salineras de Maras-Cusco. Los extractos obtenidos por fermentación sumergida se concentraron por liofilización, estos se trataron en sistemas cromatográficos de afinidad, intercambio aniónico y filtración en gel, así mismo se adaptó la electroelución como método de purificación, para la inmovilización de la proteasa se usaron soportes de gelatina y poliacrilamida. Los extractos de *Staphylococcus* sp. N10, obtuvieron una actividad enzimática de 29.25 U/mL/min y 28.2 U/mL/min en los medios de cultivo MH y TSB respectivamente, según la SDS-PAGE y zimograma con gelatina se identificó una proteasa con un peso de 60 kDa, esta enzima se purificó usando cromatografía de intercambio aniónico (QAE Sephadex A-50) y filtración en gel (Sephadex 100 G) obteniendo un grado de pureza de 13.56 veces más frente al extracto inicial y un rendimiento de 7.1 % de la actividad total, sin embargo se obtuvieron mejores resultados por electroelución purificándose 32.4 veces más, con una recuperación de la actividad total de 17.5%, la enzima se confirmó como metaloproteasa, con actividad optima a pH 7.0 y temperatura de 40°C. La inmovilización de la proteasa, se realizó a partir de los extractos de la cepa N10, que tuvo mejor resultado usando gelatina de pescado preactivado con glutaraldehído al 10%, recuperando el 64% de actividad después del segundo uso.