

CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE TRANSGLICOSILACIÓN DE β -N-ACETILHEXOSAMINIDASAS SOBRE OLIGOSACARIDOS DE QUITINA CON DIFERENTE GRADO DE POLIMERIZACIÓN Y ACETILACIÓN.

Jesús Rojas¹, Zaizy Rocha¹, Stéphane Trombotto², Laurent David², Catherine Ladaviere², Keiko Shirai^{1*}

¹Universidad Autónoma Metropolitana. Departamento de Biotecnología. Laboratorio de Biopolímeros y Planta Piloto de Bioprocesos y subproductos Agro-industriales y Alimenticios. Av. San Rafael Atlixco 186. Col. Vicentina, Ciudad de México.C.P.09340. e-mail: ibijesus@hotmail.com, smk@xanum.uam.mx

²Ingénierie des Matériaux Polymères IMP@Lyon1, UMR CNRS 5223, Université Claude Bernard Lyon 1, Université de Lyon, 15 bd A. Latarjet, Villeurbanne Cedex, Francia

Palabras clave: β -N-Acetilhexosaminidasas, transglucosilación, oligosacaridos

Introducción. La hidrólisis enzimática de la quitina es llevada a cabo por un sistema sinérgico y consecutivo de enzimas denominadas quitinasas. Dentro de las quitinasas se encuentran las β -N-Acetilhexosaminidasas (Hex) (EC 3.2.1.52) que son enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces glucosídicos en los extremos no reductores de la cadena, liberando N-acetil-D-glucosamina (Nag)². Además, también pueden catalizar la formación de nuevos enlaces glucosídicos mediante la actividad de transglucosilación (TGA). La TGA se ha utilizado como una herramienta para la síntesis de oligosacáridos y polisacáridos de quitina o quitosano. Dentro de las ventajas se obtienen productos con grado de polimerización (DP) y de acetilación (%DA) específicos¹.

Metodología. Las Hex se incubaron con los siguientes sustratos Nag, Nag₂, Nag₃, Hexamero de D-glucosamina (GlcN₆), Glucosa (Glu), Manosa (Man) en una solución amortiguadora 5mM (pH 7,0) a 37° C durante 48 horas. Los sustratos y productos de reacción se identificaron mediante espectrometría de masas por la técnica de MALDI-TOF.

Resultados. En las Tablas 1 y 2. se muestran las asignaciones de picos, DP, %DA y la masa monoisotópica de los sustratos y productos identificados por MALDI-TOF.

Tabla 1. Grado de polimerización (DP), %DA y masa monoisotópica de los sustratos utilizados para TGA de Hex

Sustratos	DP	DA (%)	Masa monoisotópica (m/z)		Formula
			Teórica	Experimental	
Nag	1	100	244.1	244.0	[HO(C ₈ H ₁₃ NO ₅) ₁ H+Na] ⁺
Man	1	0	203.1	203.1	[HO(C ₆ H ₁₀ O ₅) ₁ H+Na] ⁺
Glu	1	0	203.1	203.1	[HO(C ₆ H ₁₀ O ₅) ₁ H+Na] ⁺
Nag ₂	2	100	447.2	447.2	[HO(C ₈ H ₁₃ NO ₅) ₂ H+Na] ⁺
Nag ₃	3	100	650.2	650.3	[HO(C ₈ H ₁₃ NO ₅) ₃ H+Na] ⁺
GlcN ₆	6	0	1007.4	1007.6	[HO(C ₆ H ₁₁ NO ₄) ₆ H+Na] ⁺

En la Fig 1 se observan los espectros de MALDI-TOF en los que se identificaron oligosacáridos utilizados para TGA, además se muestra los productos obtenidos encontrando oligosacáridos con un DP 2 y 3 completamente acetilados y desacetilados.

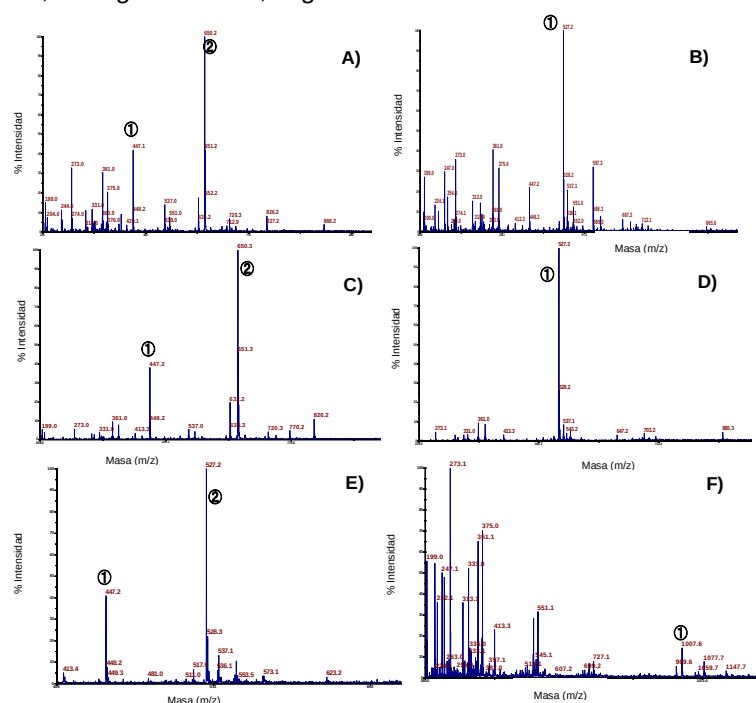


Fig 1. Espectros de MALDI-TOF de los oligosacáridos producidos por TGA utilizando diferentes sustratos. A) Nag B) Man C) Nag₂+Nag₃ D) Glu F) Glu+Nag₂ y E) GlcN₆

Tabla 2. Grado de polimerización (DP), %DA y masa monoisotópica de los productos obtenidos por TGA de Hex

Productos	DP	DA (%)	Masa monoisotópica (m/z)		Formula
			Teórica	Experimental	
Nag ₂	2	100	447.2	447.1	[HO(C ₈ H ₁₃ NO ₅) ₂ H+Na] ⁺
Nag ₃	3	100	650.2	650.2	[HO(C ₈ H ₁₃ NO ₅) ₃ H+Na] ⁺
Man ₃	3	0	527.1	527.2	[HO(C ₆ H ₁₀ O ₅) ₃ H+Na] ⁺
Glu ₃	3	0	527.1	527.2	[HO(C ₆ H ₁₀ O ₅) ₃ H+Na] ⁺

Conclusiones. Hex logra producir oligosacáridos con un grado de polimerización 2 y 3 a partir monómeros acetilados y desacetilados durante 48 horas de reacción.

Agradecimiento. El trabajo experimental se llevó a cabo con financiamiento de CONACYT (No. Proyecto 237292).

Bibliografía.

- Michinari K., Kobayashi A., and Shin-ichiro S. Trends in Glycoscience and Glycotechnology Vol.19 No.107 (May 2007) pp.165–180.
- Slámová, K., Bojarová, P., Petraskova, L., Kren, V. Biotechnology Advances 28 (2010) 682-693.

