

ESTUDIO SOBRE EL SITIO DE INTERACCIÓN DE LA β -GALACTOSIDASA DE *Kluyveromyces lactis* Y LA β -LACTOGLOBULINA

Elizabeth Del Moral-Ramírez¹, Lenin J. Domínguez-Ramírez², Alma E. Cruz-Guerrero¹, Gabriela M. Rodríguez-Serrano¹, Mariano García-Garibay¹, Lorena Gómez-Ruiz¹, y Judith Jiménez-Guzmán¹

¹Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México, D. F.

²Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.

Fax. 5804-4712, e-mail: jjg@xanum.uam.mx

Palabras clave: β -galactosidasa, grupos ϵ -amino, docking molecular

Introducción. Existen estudios que demuestran que la actividad de la β -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis* (β -gal) aumenta en presencia de β -lactoglobulina (β -lg) y que este efecto activador se debe a la unión entre la enzima y la proteína [1]. Es probable que dicha unión sea a través de los grupos ϵ -amino más expuestos y reactivos de la β -lg [2].

El objetivo de este trabajo es estudiar el mecanismo de interacción entre la β -lg y la β -gal.

Metodología. Con las estructuras del monómero y dímero de la β -lg (PDB ID's: 1CJ5 y 1BEB respectivamente) se llevó a cabo un docking molecular utilizando el programa AutoDock 3.05 [2]. La β -lg se succiniló [3] y el estudio de las interacciones entre la β -lg y la β -gal se hizo por cromatografía de afinidad [1]. La actividad de la β -gal se midió en una preparación comercial (Maxilact LX5000) utilizando ONPG como sustrato [1].

Resultados y discusión. El docking molecular mostró que de todos los residuos, la lisina 138 es el sitio más probable de interacción con la lactosa o el anhídrido succínico (Fig. 1).

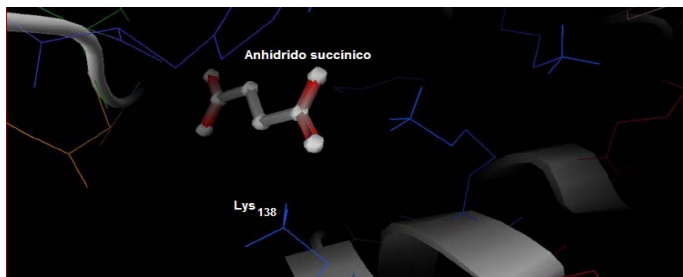


Fig. 1. Docking de la β -lg y anhídrido succínico (gris y rojo), la lisina 138 es el sitio de interacción más probable.

La β -lg se encuentra como dímero al pH de trabajo por lo que se realizó un docking utilizando el modelo del dímero de la β -lg y se encontró que el sitio de interacción más probable involucra al residuo de lisina 138 de uno de los monómeros y al 147 del otro monómero (Fig. 2).

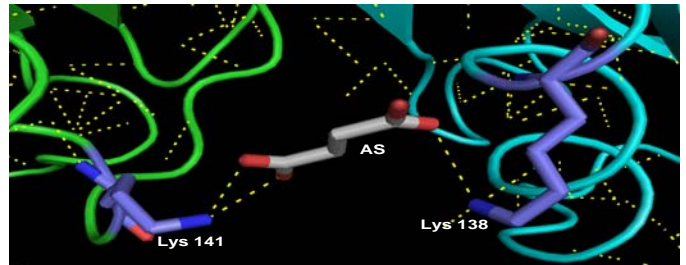


Fig. 2. Docking del dímero de la β -lg y anhídrido succínico (gris y rojo), la interacción se da en la intercara de los monómeros.

La cromatografía de afinidad demostró que la β -lg succinilada disminuye su capacidad de unirse a la β -gal además de perderse el efecto activador (Fig. 3).

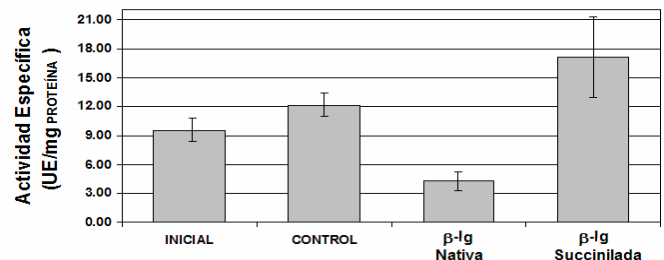


Fig. 3. Actividad específica de β -gal mostrando diferencias en la capacidad de unir proteína.

Conclusiones. Los grupos amino de la β -lg son esenciales para activar a la β -gal y es muy probable que más de un residuo de lisina participe en dicho efecto activador.

Bibliografía.

1. Jiménez-Guzmán J., Sarabia-Leos C., Cruz-Guerrero A., Rodríguez-Serrano G., Lopez-Munguia A., Gomez-Ruiz L., Garcia-Garibay M., (2006). Interaction between β -lactoglobulin and lactase and its effect on enzymatic activity. *Int. Dairy J.* 16(10):1169-11732.
2. Del Moral- Ramírez, E., Domínguez-Rodríguez, L., Cruz-Guerrero, A. E., Rodríguez Serrano, G. M., Gracia-Garibay., M., Gómez-Ruiz, L. y Jiménez-Guzmán, J. (2008). Role of Lysin ϵ -Amino Groups of β -lactoglobulin on Its Activating Effect of *Kluyveromyces lactis* β -Galactosidase, *J. Agric. Food Chem.*, 56: 5859-5863.
3. Hollecker, M. y Creighton, T. E. (1980). Counting Integral Numbers of Amino Groups per Polypeptide Chain, *FEBS Lett.*, 119(1):187-189.