



NANOPARTÍCULAS CON ACTIVIDAD CITOCROMO P450

Karla Paulina Alejo González*; Katrin Quester**, Alejandro Huerta-Saquero** y Rafael Vazquez-Duhalt**.

*CICESE, Física de materiales; **CNyN UNAM, Bionanotecnología. 22860.

kalejo@cnyunam.mx

Palabras clave: modificación química, CYP, plaguicidas.

Introducción. Las enzimas citocromo P450 (CYP) son hemoproteínas producidas por bacterias, archaeas y eucariotas que catalizan una variedad de reacciones (1). Se ha demostrado la capacidad de las CYP para transformar algunos agentes organoclorados y organofosforados que son empleados como plaguicidas (2). Los daños a la salud relacionados con la exposición a plaguicidas incluyen trastornos en la memoria, depresión, problemas respiratorios, padecimientos en la piel, déficit neurológico, malformaciones congénitas, cáncer, entre otras (3). Por otro lado se ha comprobado que la unión de polietilenglicol (PEG) con algunas enzimas, les confiere características deseables que se manifiestan en la actividad catalítica (4). El presente trabajo propone la modificación química de la CYP obtenida por Vidal-Limón y colaboradores (CYP_{VL}) (5), mediante la adición de PEG, para la obtención de nanopartículas capaces de transformar plaguicidas organoclorados y organofosforados.

Metodología. La CYP_{VL} fue expresada de acuerdo a lo reportado (5) y purificada mediante cromatografía de afinidad usando una columna HisTrap HP (GE Healthcare Bioscience). La modificación química a la CYP_{VL} se efectuó mediante la adición de etilendiamina y carbodiimida (CYP_{VL-aminada}), en solución MES 50 mM pH 7, posteriormente se adicionó PEG M-PEG-SCM (CYP_{VL-PEGilada}), solución MES 50 mM pH 8. La actividad enzimática se caracterizó con 2,6-dimetoxifenol como sustrato y 3 mM de H₂O₂ como aceptor final de electrones. Se verificó la estabilidad de la enzima CYP_{VL-PEGilada} a diferentes pHs y temperaturas. Se verificó el porcentaje de residuos modificados mediante TNBS.

Resultados. Se observó un cambio en las constantes catalíticas de la enzima modificada (CYP_{VL-aminada} y CYP_{VL-PEGilada}) respecto a la no modificada, en la tabla 1 se muestra el aumento de la k_{cat} y la disminución de la KM.

Tabla 1. Constantes catalíticas de las CYP, obtenidas con 2,6 dimetoxifenol como sustrato y peróxido de hidrógeno 3 mM.

Enzima	k_{cat}	KM (min^{-1})	k_{cat}/KM
CYP _{VL}	11.1±0.6	172.2±46.6	0.06
CYP _{VL-aminada}	61.9±6.3	63.3±11.4	0.9
CYP _{VL-PEGilada}	87.5±8.9	169.5±54.2	0.5

Conclusiones. La modificación química de la superficie de la CYP_{VL} con M-PEG-SCM propicia un incremento en la actividad de la enzima en la oxidación de diferentes sustratos en presencia de H₂O₂.

Agradecimientos. Al CONACyT por los apoyos otorgados a través del el proyecto SEP-CONACYT (165633), al CONACyT por la beca otorgada a K. Alejo.

Referencias.

- Guengerich, F.P. (2000). Chem. Res. Toxicol. 14: 612-640.
- Sanchez-Sanchez L., Roman R., and Vazquez-Duhalt R. (2012). Pest. Biochem. Physiol. 102: 169-174.
- McCauley, L.A., Anger, W.K., Keifer, M., Langley, R., Robson, and M.G., Rohlman, D. (2006). Environ. Health Persp. 114: 953-960.
- García Arellano H., Valderrama B., Saab-Rincón G., and Vazquez-Duhalt R. (2002). Bioconjugate Chem. 13: 1336-1344.
- Vidal-Limón A., Águila S., Ayala M., Batista C.V. y Vazquez-Duhalt R. (2013). Journal of Inorganic Biochemistry. 122:18-26.