



## SÍNTESIS DE FUCOSIL-OLIGOSACÁRIDOS EMPLEANDO $\alpha$ -L- FUCOSIDASA RECOMBINANTE DE *Thermotoga maritima*

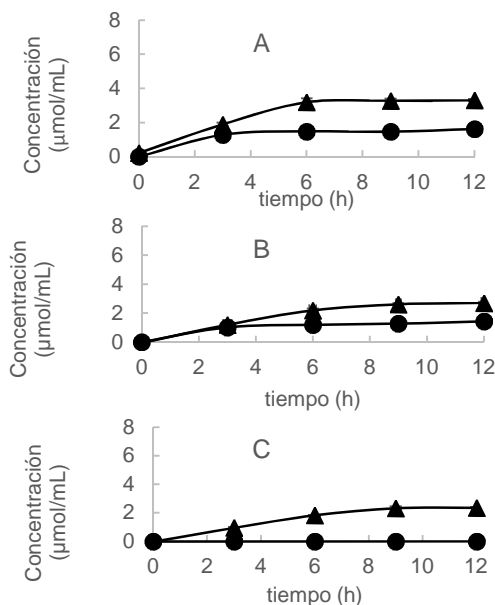
Yolanda Escamilla-Lozano<sup>1</sup>, Mariano García-Garibay<sup>1,2</sup>, Agustín Lopez-Mungia-Canales<sup>3</sup>, Lorena Gomez-Ruiz<sup>1</sup>, Gabriela Rodríguez-Serrano<sup>1</sup>, Sergio Alatorre-Santamaría<sup>1</sup> and Alma Cruz-Guerrero<sup>1</sup>, <sup>1</sup>UAM-Iztapalapa, Depto. Biotecnología. Cd de México. CP 09340, <sup>2</sup>UAM-Lerma. Depto. de ciencias de los alimentos. Lerma de Villada. Edo de México. CP 52006. <sup>3</sup>UNAM, Instituto de Biotecnología. Cuernavaca, Morelos. CP. Email: yescamilla\_lozano@hotmail.com

*Palabras clave: fucosidasa, síntesis, oligosacáridos.*

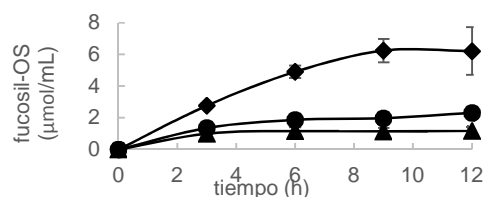
**Introducción.** Los fucosil-oligosacáridos (fucosil-OS) presentes en leche humana, tienen una importante participación en la prevención de enfermedades gastrointestinales (1). Dada la similitud de estos carbohidratos con los receptores de la superficie del epitelio gastrointestinal, actúan evitando la adhesión de patógenos causantes de diarrea en lactantes como *Campylobacter jejuni* y *Escherichia coli* (2). Debido a la complejidad de su estructura no se encuentran disponibles para la adición en formulas maternizadas (3). El objetivo de este trabajo fue el empleo de la  $\alpha$ -L-fucosidasa ( $\alpha$ -fuc) recombinante de *Thermotoga maritima* para la síntesis de fucosil-OS similares a los encontrados en leche materna.

**Metodología.** El gen que codifica  $\alpha$ -fuc de *Thermotoga maritima* (TM306) fue clonado en el vector pET22 (Novagen). El plásmido pET22Fuc se utilizó para transformar *Escherichia coli* BL21. La expresión de  $\alpha$ -fuc se logró adicionando IPTG como inductor. La enzima fue extraída por sonicación y parcialmente purificada para utilizarla en la síntesis de fucosil-OS. La mezcla de reacción contenía p-nitrofenil-fucosido (pNP-F) 1 mg/mL, lactosa (100, 200 y 300 mg/mL) y 0.2 U/mL de  $\alpha$ -fuc, la reacción se llevó a cabo a pH 7 y 60 °C durante 12 h. Los productos obtenidos fueron cuantificados mediante HPLC.

**Resultados.** En la Fig.1 se puede observar que la concentración de PNP es mayor cuando se tiene 100 mg/mL de lactosa, por lo que se puede decir que la reacción de hidrólisis de la fucosidasa se ve favorecida a bajas concentraciones de lactosa. Se observó que al incrementar la cantidad de lactosa, existe menor concentración de fucosa libre, ya que una parte de esta, es transferida a la lactosa para sintetizar fucosil-OS. En la Fig. 2 se puede observar que en las reacciones donde se empleó 100 y 200 mg/mL de lactosa hay una baja producción de fucosil-OS. Mientras que a 300 mg/mL de lactosa la reacción de transfucosilación se vio favorecida y se logró obtener 6.2  $\mu$ mol/mL del compuesto.



**Fig. 1.** Productos obtenidos en las reacciones de transfucosilación a diferentes concentraciones de lactosa. A) 100 mg/mL de lactosa; B) 200 mg/mL de lactosa; C) 300 mg/mL de lactosa: fucosa (●); pNP (▲).



**Fig. 2.** Síntesis de fucosil-OS a diferentes concentraciones de lactosa: 100 mg/mL (▲); 200 mg/mL (●); 300 mg/mL (◆).

**Conclusiones.** Fue posible emplear la  $\alpha$ -fuc de *T. maritima* recombinante para la síntesis de fucosil-OS. Lo que plantea una alternativa a la producción de oligosacáridos similares a los encontrados en leche humana.

**Agradecimiento.** Se agradece al CONACyT por otorgar la beca número 234678.

### Bibliografía.

1. Kuntz, S. Rudloff, S and Kunz, C. (2008). *BRIT. J. NUTR.* 99:462-471
2. Newburg, D, S. (2009). *J. Anim. Sci.* 87 (Suppl 1): 26-34.
3. Domínguez-Vergara, A, M. Vázquez-Moreno, L. y Ramos-Clamont G. (2009). *ALAN.* Vol. 59 (4): 358-368.