



DISEÑO DE UN POLÍMERO DE IMPRESIÓN MOLECULAR PARA LA RECUPERACIÓN DE LACTOFERRINA

Judith Jiménez-Guzmán¹, Iris Méndez-Palacios^{2,3}, Alberto López-Luna², Elizabeth Del Moral-Ramírez¹, Eduardo Bárzana², Mariano García-Garibay^{1,3}

¹Departamento de Ciencias de la Alimentación, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Lerma, Lerma Edo. de México, 52006, México. ²Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, 04510, México, D. F. ³Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, 09340, México, D. F., e-mail: mgarcia@correo.ler.uam.mx

Palabras clave: lactoferrina, impresión molecular, análisis de Áreas de Accesibilidad al Solvente.

Introducción. La lactoferrina (LF) es una proteína transportadora de hierro capaz de unir fuertemente Fe^{3+} . Su estudio ha sido punto de interés debido a que posee propiedades antibacterianas, antifúngicas, antivirales, inmunomoduladoras y anticancerígenas [1]. Por su dificultad para ser aislada del resto de las proteínas del suero de leche, la impresión molecular puede ser un método selectivo que permita su aislamiento [2]. El objetivo de este trabajo fue desarrollar un polímero de impresión molecular para la recuperación selectiva de la LF llevando a cabo un análisis de las Áreas de Accesibilidad al Solvente (AAS) y un análisis estructural para hacer la selección de los monómeros funcionales.

Metodología. Para determinar la conveniencia de utilizar vinilpiridina o ácido metacrílico como monómeros funcionales se calcularon las Áreas de Accesibilidad al Solvente en el servidor de "Intercaras, Superficies y Ensamblajes de Proteínas" (PISA) usando la estructura de la LF en complejación con lactosa y posteriormente se hizo un análisis estructural de las interacciones entre la LF y diversos derivados piridínicos y carboxílicos [3]. Dos polímeros de impresión molecular fueron preparados usando vinilpiridina para uno y vinilpiridina-ácido metacrílico 1:1 para el otro. Se usó dimetacrilato de etilenglicol (50 mg/mL) como entrecruzador y persulfato de amonio (0.08 μ g/mL) como catalizador; la polimerización se llevó a cabo en presencia de una disolución de LF pura (50 mg/mL) que sirvió de molde para la impresión molecular. La LF fue retirada con lavados en una disolución de metanol y ácido acético 1:1. La eficiencia de los polímeros de impresión molecular se calculó determinando la disminución de LF en una mezcla comercial con 15 % de LF mediante la titulación del hierro de la LF así como con la electroforesis nativa para determinar la composición de proteínas en los sobrenadantes después de la interacción con los polímeros.

Resultados. El análisis de AAS mostró que existen al menos 5 residuos de glutámico que podrían establecer contacto electrostático con la vinilpiridina (Glu⁶⁶⁴, Glu⁶³⁵, Glu⁴⁴⁴, Glu⁵⁵⁵ and Glu⁶⁵⁹; AAS= 157.52, 142.04, 140.84, 115.42 and 112.35 Å^2 , respectivamente) (Fig. 1). Con el

análisis estructural se determinó que dichos residuos se encuentran el lóbulo-C de la LF en una región muy expuesta y donde no existe impedimento estérico por lo que podrían ser un buen sitio de unión con la vinilpiridina.

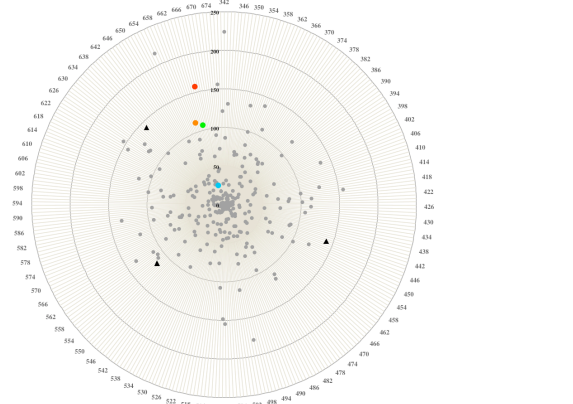


Fig. 1. Áreas de acceso al solvente de la LF (eje central, Å^2 por número de residuo (eje radial). Residuos de unión con vinilpiridina, círculos. Residuos de unión con derivados carboxílicos, triángulos.

Con el polímero de vinilpiridina se logró extraer el 34.5% de LF presente en la mezcla comercial (eficiencia de retención) y también se obtuvo un coeficiente de selectividad de 9.91, lo cual es casi 10 veces mayor que el obtenido para el polímero en el que no se utilizó un molde, demostrando con lo anterior que los polímeros de vinilpiridina de impresión molecular pueden utilizarse para recuperar la LF selectiva y eficientemente.

Conclusiones. Se logró obtener un polímero de vinilpiridina de impresión molecular siendo el único selectivo y eficiente para la recuperación de la lactoferrina. La eficiencia de retención obtenida sugiere que la impresión molecular puede ser una tecnología de interés para la purificación de proteínas importantes a partir de fuentes como el suero de leche.

Bibliografía.

1. Balcão, V.M., Costa, C.I., Matos, C.M., Moutinho, C.G., Amorim, M., Pintado, M.E., Gomes, A.P., Vila, M.M. y Teixeira, J.A. (2013), *Food Hydrocolloid*. 32:425-431.
2. Ruigrok, V.J.B., Levisson, M., Eppink, M.H.M., Smidt, H., van der Oost, J. (2011), *Biochem J.*, 436: 1-13.
3. Laskowski, R.A. (2009), *Nucleic Acids Res.* 37:D355-D359.