

PAPEL DE LOS GRUPOS AMINO DE LA β -LACTOGLOBULINA EN SU INTERACCIÓN CON LA β -GALACTOSIDASA

Elizabeth Del Moral Ramírez, Alma E. Cruz Guerrero, Gabriela Rodríguez Serrano, Mariano García Garibay, Lorena Gómez Ruiz y Judith Jiménez Guzmán
Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, A. P. 55-535, México, D. F. México. Tel: 5804-4720 Fax: 5804-4712 E-mail: jjg@xanum.uam.mx

Palabras clave: β -lactoglobulina, succinilación, lactosilación

Introducción. La presencia de β -lactoglobulina (β -lg) en el medio de reacción durante la hidrólisis enzimática de la lactosa produce un efecto activador sobre la β -galactosidasa (β -gal) que podría deberse a la unión entre la enzima y la proteína (1). Algunos de los grupos más reactivos de la β -lg son los grupos amino de los residuos de lisina, siendo el grupo amino de la lisina 47 (lys₄₇) uno de los más expuestos y más reactivos. Se ha observado que la lactosilación de la β -lg ocurre a través de estos grupos y que además provoca la disminución de las interacciones entre ésta y la enzima y su capacidad activadora sobre la β -gal (1), por lo que es muy probable que la unión entre la β -lg y la β -gal se lleve a cabo a través de dichos grupos. El propósito de este trabajo fue determinar la importancia de los grupos amino de la β -lg en la interacción con la β -gal.

Metodología. Se midió la actividad de β -gal de una preparación comercial (Maxiact LX 5000®) mediante la hidrólisis de ONPG [1] en presencia de β -lactoglobulina nativa y de los productos de la reacción de succinilación de la β -lactoglobulina. La reacción de succinilación fue monitoreada a través de una electroforesis en gel de poliacrilamida y urea 8M [2].

Resultados y discusión. La succinilación de la β -lg permite bloquear específica y gradualmente sus grupos amino sin que pierda estabilidad, cuando menos hasta que 10 de estos grupos se encuentran bloqueados [2]. Con ello se puede determinar si estos grupos participan activamente en algún proceso de interés como lo es la activación de la β -gal.



Fig. 1. Electroforesis de β -lg con diferentes niveles de succinilación. Carriles: 1.- β -lg neutralizada con KOH; 2 a 10.- Derivados succinilados.

La verificación del bloqueo de los grupos amino de la β -lg se hizo mediante una electroforesis en gel de poliacrilamida y urea 8M (T=17%, pH=5) (Fig. 1), con ello se aseguró que al menos los grupos amino más reactivos de la β -lg se encontraran bloqueados al medir la actividad de la β -gal.

Se confirmó que la β -lg activa a la β -gal (Fig. 2: *b-lg* y *b-lg KOH*) observándose un aumento en la actividad basal de la β -gal (control). Al medir la actividad de la β -gal en presencia de los primeros derivados succinilados (Fig. 2: *D1* y *D2*), en los cuales aún se conserva parte de la β -lg nativa (Fig. 1) se observó que la activación de la β -gal permanece. Por otro lado, a medida que desaparece la β -lg nativa (Fig. 1), el efecto activador se pierde (Fig. 2 *D4-D12*). En estos puntos los grupos amino más expuestos de la β -lg se encuentran sustituidos y los derivados son estables [2] por lo que la pérdida de la capacidad activadora se debe principalmente al efecto del bloqueo de los grupos amino.

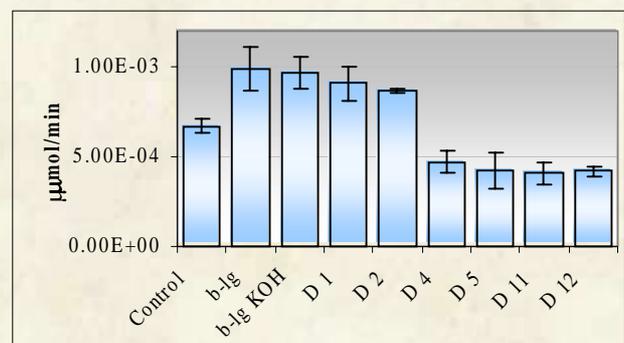


Fig. 1. Actividad de β -gal basal (Control), en presencia de β -lg nativa (*b-lg* y *b-lgKOH*), y β -lg con diferentes grados de succinilación de los grupos amino (*D1-D12*)

Conclusiones. Los grupos amino de la β -lg juegan un papel determinante en la activación de la β -gal, sin embargo, aún es necesario establecer los mecanismos mediante los cuales esto sucede.

Bibliografía.

1. Jiménez-Guzmán J., Sarabia-Leos C., Cruz-Guerrero A., Rodríguez-Serrano G., Lopez-Munguia A., Gomez-Ruiz L., Garcia-Garibay M. Interaction between β -lactoglobulin and lactase and its effect on enzymatic activity. *Int. Dairy J.* Enviado para revisión.
2. Hollecker, M. y Creighton, E. T., (1982). Effect on Protein Stability of Reversing the Charge on Amino Groups. *Biochim. Biophys. Acta.* 701: 395-404.