

INFLUENCIA DEL pH EN LA INTERACCIÓN DE LA β -LACTOGLOBULINA CON LA β -GALACTOSIDASA DE *KLUYVEROMYCES LACTIS* Y SU EFECTO EN LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA

Ma. del Carmen Pérez-Rangel^A, Judith Jiménez-Guzmán^A, Salvador Tello-Solis^B, Alma Cruz-Guerrero^A, Lorena Gómez-Ruiz^A, Mariano García-Garibay^A, Gabriela Rodríguez-Serrano^A.

^ADepartamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, A. P. 55-535, México, D. F. México. Tel: 5804-4720 Fax: 5804-4712 E-mail: gmsr@xanum.uam.mx

^BDepartamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, A. P. 55-535, México, D. F. β -lactoglobulina (β -lg), β -galactosidasa (β -gal), orto-nitro-fenil- β -D-galactosido (ONPG).

Introducción: Se ha reportado que la presencia de algunas proteínas, entre ellas la β -lactoglobulina (β -lg), puede activar a la β -galactosidasa (β -gal). Se han encontrado evidencias de que este efecto activador está relacionado a la capacidad de la proteína de ligarse con la enzima (1). Cuando se calienta β -lg en presencia de lactosa, la proteína se lactosila (2) y pierde su capacidad de unirse con la β -gal, debido probablemente a que la región en que se une la lactosa, es la misma involucrada en la interacción entre la β -lg y β -gal. Se especula que en esta unión este involucrada la lisina 47 (1).

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia del pH sobre la interacción β -lg- β -gal y el efecto que estos cambios tienen sobre la actividad enzimática.

Metodología: La actividad de la lactasa se determinó a los diferentes pH (6, 6.5, 7, 7.5, 8, 8.5 en solución amortiguadora 0.05 M de fosfatos de potasio) en el preparado comercial Maxilact LX-5000 en presencia de diferentes concentraciones de β -lg y β -lg lactosilada. La actividad se midió a 37°C por la hidrólisis del ONPG (3).

Resultados y Discusión: La capacidad activadora de la β -lg fue diferente a los distintos pH's encontrándose la máxima activación a 7.0, distinta a la actividad máxima encontrada en el control cuyo pH óptimo fue de 7.5 (Figura 1). Lo cual puede implicar que la modificación de las cargas de las proteínas afecta la interacción entre ellas.

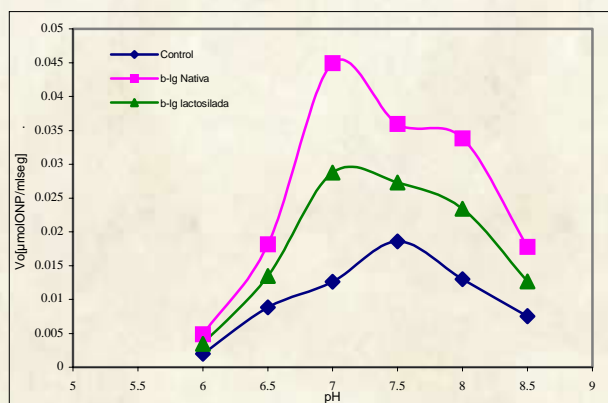


Figura 1. Efecto de la β -lg y β -lg_{lac} en la actividad de la lactasa

La lactosilación de la β -lg disminuyó su capacidad activadora en diferente proporción dependiendo del pH (Tabla 1) y al igual que la proteína nativa, modificó el perfil de actividad con respecto al pH. En estudios de lactosilación de β -lg (2) se reporta que el máximo nivel de lactosilación a las condiciones usadas es de 35% lo cual coincide con la disminución de la capacidad activadora encontrada a pH 7.0; esto sugiere que la β -lg lac, no está participando en la activación de la enzima.

Tabla 1. Diferencia en la activación obtenida con β -lg y β -lg_{lac}.

pH	Diferencia en la activación con β -lg y β -lg _{lac}
6.5	26 %
7	35 %
7.5	24 %
8	31 %
8.5	29 %

Conclusiones: Los cambios observados en la actividad en función del pH se deben probablemente a los cambios en las cargas de los residuos de aminoácidos, que afectan las interacciones que se dan entre la β -lg y la β -gal. Cuando la β -lg se lactosila pierde su capacidad activadora, debido probablemente a que la lisina 47 es la involucrada en la interacción.

Bibliografía:

1. Jiménez-Guzmán J., Sarabia-Leos C., Cruz-Guerrero A., Rodríguez-Serrano G., López-Munguía A., Gómez-Ruiz L., García-Garibay M. Interaction between β -lactoglobulin and lactase and its effect on enzymatic activity. *Int. Dairy J.* Enviado para revisión.
2. Léonil J., Mollé D., Fauquant J., Maubois J. L., Pearce R. J., Bouhallab S. (1997). Characterization by Ionization Mass Spectrometry of Lactosyl β -Lactoglobulin Conjugates Formed During Heat treatment of Milk and Whey and Identification of One Lactose-Binding Site. *J. Dairy Sci.* 80, 2270-2281.
3. Jiménez-Guzmán, J., Cruz-Guerrero, A. E., Rodríguez-Serrano, G., López-Munguía, A., Gómez-Ruiz, L., García-Garibay, M. (2002). Enhancement of Lactase Activity in Milk by Reactive Sulfhydryl Groups Induced by Heat Treatment. *J. Dairy Sci.* 85(10), 2497-2502.