



SEROALBÚMINA BOVINA CATALIZA LA HIDRÓLISIS DE ÉSTERES A TEMPERATURAS EXTRAORDINARIAMENTE ELEVADAS.

Jesús Córdova López¹ y Douglas Clark²

1 Dep. Ing. Química, CUCEI-Universidad de Guadalajara, Blvd. García Barragán y Calz. Olímpica. Col. Olímpica, 44430 Guadalajara Jal. Fax: (33) 36194028. cordova@ccip.udg.mx.

2 Department of Chemical Engineering. University of California. Berkeley, CA 94720. clark@berkeley.edu

Palabras clave: Actividad esterasa, ésteres de *p*-nitrofenol, Seroalbúmina bovina .

Introducción. Seroalbúmina (SA) es la proteína más abundante en el plasma sanguíneo, siendo responsable de una gran variedad de funciones, entre ellas destaca su capacidad hidrolítica de compuestos tales como ésteres, amidas y fosfatos (1). Las diferentes especies de SA son globulares y estructuralmente similares. SA humana está compuesta principalmente por α -hélices y consta de tres dominios, siendo estabilizada por 17 puentes disulfuro. Su sitio activo y de unión, para ésteres de ácidos grasos han sido identificados (2, 3) y el mecanismo catalítico ha sido propuesto (4). Es importante mencionar que los estudios catalíticos con SA, han sido llevados a cabo a temperaturas entre 25 y 40°C. El objetivo de este trabajo consistió en caracterizar la actividad esterasa y la estabilidad de SA bovina (SAB) a temperaturas extremas, nunca antes reportadas en Biocatálisis.

Metodología. La mezcla de reacción consistió en 150 μ M del sustrato (ésteres de ácidos grasos y *p*-nitrofenol) y 5 μ M de SAB disueltos en Buffer PIPES, 0.1M, pH 7, NaCl 1M. 1 ml de esta mezcla fue incubada a la temperatura indicada y la liberación de *p*-nitrofenol (pNP) fue continuamente monitoreada con un espectrofotómetro (AVIV), provisto de un controlador de temperatura. A temperaturas superiores a 100°C, la mezcla de reacción fue presurizada a 60 psi con argón. Una unidad (U) de la actividad esterasa de SAB fue expresada como 1 μ mol de pNP liberado por min. Controles fueron preparados para cada condición experimental y la hidrólisis espontánea fue sustraída a cada ensayo. Cada ensayo fue hecho por triplicado.

Resultados y discusión. La Fig. 1 muestra la especificidad de la SAB por la hidrólisis de ésteres de pNP y ácidos grasos, poseyendo diferentes cadenas de carbonos (a 95°C).

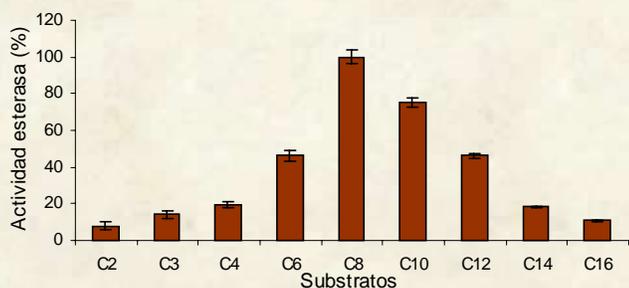


Fig. 1. Especificidad de SAB por sustratos con diferentes cadenas de carbono. Estudio hecho a 95°C.

En esta figura se observa que la catálisis es más selectiva para pNP-caprato (-C8). La Fig. 2 muestra la hidrólisis de

pNP-palmitato (pNPC₁₆) por SAB a diferentes temperaturas de incubación. Este sustrato fue seleccionado debido a su gran termo-resistencia. A temperaturas inferiores a 80°C, la actividad esterasa de la SAB es indetectable. A temperaturas superiores a 80°C, esta actividad aumenta progresivamente hasta alcanzar un óptimo en 150°C. La energía de activación fue de 86.5 kJ/mol, cuyo valor es comparable con aquellos obtenidos para esterases. La eficiencia catalítica (k_{cat}/k_M) de SAB, para la hidrólisis de pNPC₁₆, aumentó en casi 20 veces desde 95°C (1.5 s⁻¹M⁻¹) a 150°C (28.2 s⁻¹M⁻¹).

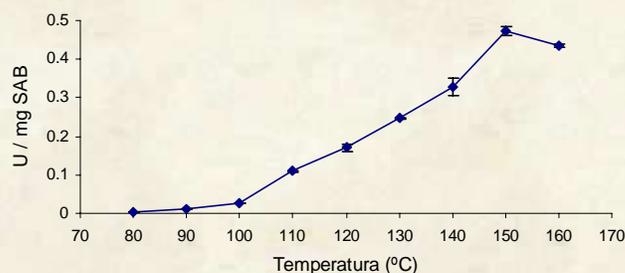


Fig. 2. Actividad catalítica de SAB VS temperatura de incubación.

Conclusiones. La actividad esterasa de la SAB a tan elevadas temperaturas fue inesperada y sorprendente, que ni en el caso de enzimas provenientes de organismos hipertermófilos ha sido reportada. Además, SAB mostró una termoestabilidad asombrosa. Mantuvo su actividad esterasa íntegra después de someterla a 150°C durante 1h.

Agradecimiento. Jesús Córdova agradece a UC-Mexus-Conacyt por la beca otorgada durante su estancia en UC-Berkeley.

Bibliografía.

- Sogorb MA, Monroy A, Vilanova E (1998) Chicken serum albumin hydrolyzes dichlorophenyl phosphoramidates by a mechanism based on transient phosphorylation. *Chem. Res. Toxicol.* 11 (12): 1441-1446.
- Watanabe H, Tanase S, Nakajou T (2000) Role of Arg-410 and Tyr-411 in human serum albumin for ligand binding and esterase-like activity. *Biochem. J.* 349: 813-819.
- Curry S, Mandelkow H, Brick P, Franks N (1998) Crystal structure of human serum albumin complexed with fatty acid reveals an asymmetric distribution of binding sites. *Nature struct. biol.* 5(9): 827-835.
- Sakurai Y, Ma S, Watanabe H, Yamaotsu N (2004) Esterase-Like Activity of Serum Albumin: Characterization of Its Structural Chemistry Using *p*-Nitrophenyl Esters as Substrates. *Pharm Res.* 21(2): 285-292.