



## EFFECTO DE LA SEROALBÚMINA BOVINA EN LA ACTIVIDAD DE LA $\beta$ -GALACTOSIDASA DE *Kluyveromyces lactis*

Christian Sarabia-Leos<sup>o</sup>, Judith Jiménez-Guzmán<sup>o</sup>, Alma E. Cruz-Guerrero<sup>o</sup>, Lorena Gómez-Ruiz<sup>o</sup>, Agustín López-Munguía<sup>o</sup>, Gabriela Rodríguez-Serrano<sup>o</sup> y Mariano García-Garibay<sup>o</sup>

<sup>o</sup>Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, A.P. 55-535, México, D.F., 09340, México. <sup>o</sup>Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, A.P. 510-3, Cuernavaca, Mor., 62271, México. Fax: 5804-4712 e-mail: jmgg@xanum.uam.mx

*Palabras clave:* seroalbúmina bovina,  $\beta$ -Galactosidasa, proteínas de suero.

**Introducción.** Se ha reportado que la estabilidad y la actividad de la  $\beta$ -Galactosidasa o lactasa están influenciadas por varios factores, entre los que se encuentran principalmente: el ambiente iónico y algunas proteínas presentes en el suero de leche que activan fuertemente a la enzima (1, 2). Los objetivos de este trabajo fueron evaluar el efecto activador que tiene la seroalbúmina bovina (SA) sobre la lactasa de *Kluyveromyces lactis* y comprobar a través de la cromatografía de afinidad la especificidad que tiene la lactasa para ligar a la SA.

**Metodología.** Se prepararon mezclas de reacción con concentraciones de SA de 0.1 a 1.0 mg/ml en solución reguladora de fosfatos 0.05 M, pH 7.0. La actividad enzimática se midió por hidrólisis de ONPG a 37°C y pH 7.0 (1,2). Una unidad enzimática (UE) se definió como la cantidad de enzima capaz de hidrolizar 1  $\mu$ mol de ONPG por segundo en las condiciones dadas. Se empleó la cromatografía de afinidad para estudiar la interacción entre la lactasa y la SA. Se probaron dos relaciones molares: 0.05 y 0.1 mol lactasa/mol SA<sub>inmovilizada</sub>. La concentración de proteína se determinó tanto por la técnica de Lowry como por el método de Bradford según convino.

**Resultados y discusión.** La presencia de la SA activó significativamente a la lactasa cuando se probaron todas las concentraciones de 0.1 a 1.0 mg/ml (Figura 1) respecto al control en donde la actividad se midió únicamente en solución reguladora de fosfatos 0.05 M, pH 7.0. No se encontraron diferencias significativas en la actividad entre las diferentes concentraciones de SA utilizadas. Este efecto activador podría deberse a la unión entre la lactasa y la SA muy probablemente de la misma forma en que la  $\beta$ -lactoglobulina, otra proteína presente en el suero, activa a la lactasa al interactuar específicamente con ella (2). Para comprobar si hay interacción entre la SA y la lactasa, y determinar si esta unión es específica, se inmovilizó la SA en una resina comercial Eupergit®. Se lograron inmovilizar 0.092  $\mu$ mol SA/g de resina, misma que se enfrentó a la lactasa comercial (Maxilact LX5000), la cual por electroforesis se determinó que está constituida por una mezcla compleja de ocho proteínas, entre ellas tres con actividad de lactasa.

La actividad específica en los sobrenadantes disminuyó significativamente respecto al control (resina bloqueada con glicina) demostrando que hay una interacción específica entre la enzima y la proteína de leche (Figura 2).

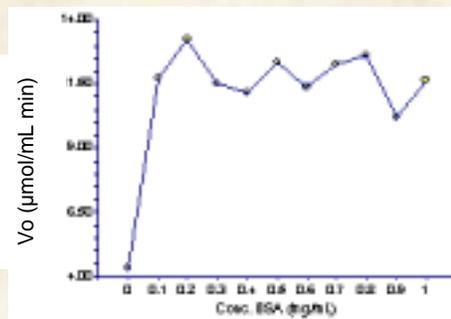


Fig. 1. Velocidades iniciales ( $\mu$ mol ONP/s ml) obtenidas en presencia de SA a diferentes concentraciones de 0.1 a 1 mg/ml.

Independientemente de la relación molar enfrentada, se ligaron a la SA inmovilizada 0.0034 UE de lactasa (Figura 2), sugiriendo que existe una relación molar fija de unión entre ambas proteínas.

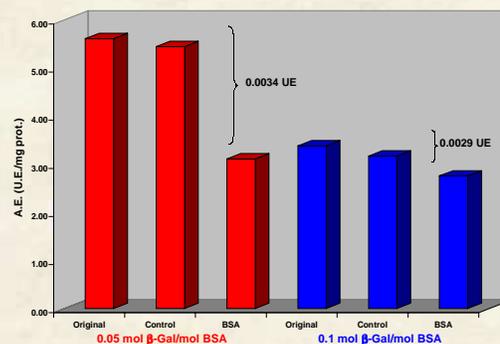


Fig. 2. Actividad Específica (UE/mg<sub>proteína</sub>) después de eluir la lactasa sobre la BSA inmovilizada con la solución A.

**Conclusiones.** Se comprobó el efecto activador de la SA sobre la lactasa de *Kluyveromyces lactis*. Se demostró que la lactasa se une específicamente y que la relación molar entre ambas proteínas es fija.

### Bibliografía

- Mahoney, R. R. y Adamchuk, C. (1980). Effect of milk constituents on the hydrolysis of lactose by lactase from *Kluyveromyces fragilis*. J. Food Sci. 45: 962-964.
- Jiménez-Guzmán, J. (2003). Influencia de las proteínas de leche y su tratamiento térmico en la actividad de la  $\beta$ -galactosidasa de *Kluyveromyces lactis*. Tesis que para obtener el grado de Doctor en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. México, D.F. junio, 57-64.