



DESARROLLO DE UN SISTEMA DE ESTAMPADO MOLECULAR PARA LA RECUPERACIÓN DE LACTOFERRINA

Iris Méndez Palacios, Alberto López Luna*, Eduardo Bárzana*, Judith Jiménez Guzmán, Mariano García Garibay
Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana, Iztapalapa, A. P. 55-535, México, D. F.
México. Tel: 5804-4720 Fax: 5804-4712 E-mail: jmgg@xanum.uam.mx
Departamento de Alimentos y Biotecnología, Facultad de Química, UNAM, 04510, México D.F., México

Palabras clave: lactoferrina, estampado molecular, proteínas de suero

Introducción. La lactoferrina (LF) es una de las proteínas con mayor valor agregado del suero de leche. Se ha demostrado que esta proteína posee importantes funciones biológicas tales como: antimicrobianas, anticarcinógena, antiinflamatoria, antioxidante y acarreadora de hierro (1). El estampado molecular es una técnica que consiste en la selección de una molécula plantilla que se mezcla con monómeros funcionales que al polimerizarse forman una cavidad específica que reconoce específicamente dicha molécula permitiendo así su separación. Esta técnica ha sido utilizada fundamentalmente para la separación de moléculas de baja masa molecular (2). El objetivo del presente trabajo fue desarrollar un polímero estampado molecularmente que permitiera la recuperación selectiva de la LF, demostrando que esta técnica puede aplicarse también en la recuperación de biopolímeros de alta masa molecular como las proteínas.

Metodología. Para desarrollar el polímero estampado molecularmente se utilizaron como monómeros funcionales 4-vinilpiridina (MIP1), sola o en combinación con ácido metacrílico (MIP2), y como agente entrecruzante etilenglicol dimetacrilato bajo distintas condiciones de polimerización (calentamiento a 60°C durante 16 h o luz UV). Para crear la cavidad específica se utilizó como molécula plantilla LF pura; se sintetizaron los respectivos blancos sin la presencia de la proteína. Los polímeros se enfrentaron a soluciones complejas conteniendo LF, y la eficiencia de recuperación se midió por la disminución de hierro en el sobrenadante titulándolo con KSCN 0.05M, así como por electroforesis nativa en gel de poliacrilamida.

Resultados y discusión. El único polímero capaz de recuperar específicamente la LF fue el MIP1 polimerizado por calentamiento. El análisis por electroforesis demostró que la LF disminuyó con respecto a las otras proteínas presentes en la solución compleja, demostrando que la sorción fue específica para la LF (Fig. 1)

Al determinar las proporciones de las proteínas en el gel se observó que en la solución compleja la LF representaba el 82% del total de proteínas, disminuyendo a 62% para el MIP1 demostrando la retención específica de LF por esta técnica.

Para cuantificar la cantidad de LF retenida por el polímero MIP1 se midió la proteína por su contenido de hierro; los resultados se muestran en la Fig. 2.

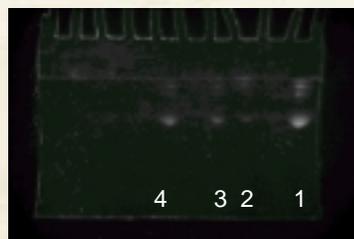


Fig. 1. Electroforesis de los sobrenadantes de la solución compleja de LF después de enfrentarse al MIP1 y su blanco. Carriles: 1.- Solución compleja LF; 2 y 3 Sobrenadante MIP1; 4.- Sobrenadante del blanco.

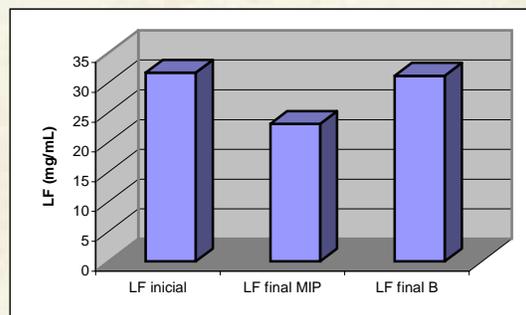


Fig. 2. Determinación de LF por análisis de hierro en los sobrenadantes después de enfrentarse al polímero

En la Fig. 2 se observa que la reducción de LF cuantificada por análisis de hierro en el MIP1 fue de 27.2% con respecto a la concentración inicial, mientras que en el blanco solamente hubo una retención de 1.6%, demostrando que no se trata de una adsorción inespecífica sino una retención en la cavidad formada en el polímero por la molécula plantilla.

Conclusiones. En el presente estudio se logró sintetizar un polímero hecho con vinilpiridina y etilenglicol dimetacrilato polimerizado por calentamiento capaz de retener específicamente a la lactoferrina a partir de una mezcla de proteínas. La optimización de este sistema permitiría el desarrollo de una técnica de purificación de esta proteína de alto valor agregado a partir de suero de leche.

Bibliografía.

1. Korhonen H., Marnila P., (2003), Lactoferrin, Encyclopaedia of Dairy Sciences, Roginski H., Fucquay J., y Fox, P.F, editors., Elsevier Science Academic Press, EUA.
2. Piletsky S., Alcock S., Turner A., (2001) Molecular Imprinting: At the edge of the third millennium. *Trends Biotechnol.* 19, 9-12.