



EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA ACTIVACION DE LA β -GALACTOSIDASA DE *Kluyveromyces lactis* POR PROTEINAS DE SUERO DE LECHE

Lucia Ramirez-Romero¹, Elizabeth Pérez-Bravo¹, Alma E. Cruz-Guerrero¹, Gabriela Rodríguez-Serrano¹, Agustín López-Munguía², Lorena Gómez-Ruiz², Mariano García-Garibay², Judith Jiménez-Guzmán²

¹Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, A.P. 55-535, México, D.F., 09340, México. ²Instituto de Biotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Mor., 62271, México.

Fax: 5804-4712 e-mail: jjg@xanum.uam.mx

Palabras clave: proteínas de suero, seroalbúmina bovina, β -lactoglobulina, lactasa.

Introducción. Se ha reportado que algunas proteínas de la leche tienen un claro efecto activador de la β -galactosidasa o lactasa de levadura. La β -lactoglobulina (β -lg) activa a la enzima a través de dos mecanismos: uno por influencia de sus grupos sulfhidrilo, y otra a través de una interacción entre ambas proteínas, muy probablemente a través de grupos amino. Por su parte, la seroalbúmina bovina (BSA) tiene también un efecto activador de menor proporción y de naturaleza aún desconocida (1, 2). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto activador que tiene la BSA y la β -lg sobre la lactasa de *Kluyveromyces lactis* a diferentes temperaturas de reacción, con objeto de calcular las energías de activación correspondientes y aportar elementos para esclarecer la magnitud de la activación y posibles mecanismos de interacción entre las proteínas.

Metodología. Se determinó la actividad de lactasa de *K. lactis* (Gist-Brocades) en tres condiciones diferentes: en presencia de BSA, con β -lg, y el control sin ninguna proteína. Cada una de las proteínas de suero en concentración de 0.05 mg/ml. Las reacciones se efectuaron en solución reguladora de fosfatos 0.05 M, pH 7.0. La actividad enzimática se midió por hidrólisis de lactosa (5% p/v) a pH 7.0, a temperaturas de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 °C; se determinó la liberación de glucosa mediante un kit de glucosa oxidasa-peroxidasa.

Resultados y discusión. La presencia de ambas proteínas: la BSA y la β -lg activaron a la lactasa como se puede ver en la Figura 1. El efecto activador de la β -lg fue mayor que el de la BSA, como era de esperarse de acuerdo a lo previamente reportado (1,2). Es además notorio que la activación de la enzima por ambas proteínas inicia a partir de 20°C. Los mecanismos de activación en el caso de la β -lg, se han establecido debido sus grupos sulfhidrilo, y por otro lado a través de una interacción entre las proteínas mediante grupos amino (2). Por otra parte, el incremento en la activación a 20°C podría sugerir que existe un mecanismo distinto de interacción entre las proteínas. Las interacciones hidrofóbicas entre proteínas son endotérmicas, por lo que no se dan a temperaturas bajas; el hecho de que la activación de la lactasa ocurra a partir de los 20°C, sugiere que la interacción de la lactasa con estas proteínas pudiera favorecerse por enlaces de naturaleza hidrofóbica.

Es notorio también que a la temperatura superior a la óptima de la enzima (37°C), la actividad disminuye cuando

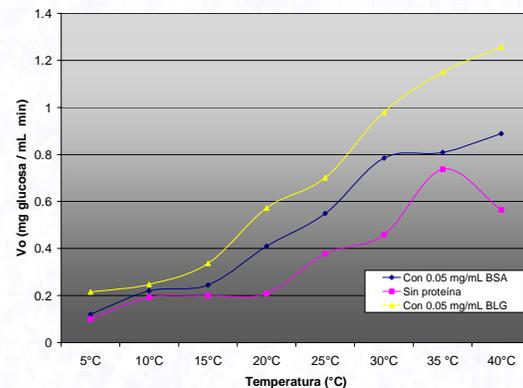


Fig. 1. Velocidades iniciales obtenidas en presencia de BSA y β -lg a diferentes temperaturas.

no hay ninguna proteína presente; en cambio, en presencia de cualquiera de las dos proteínas, se observa un efecto protector de la lactasa, a juzgar por la máxima actividad obtenida a 40°C en ambos casos.

Mediante la ecuación de Arrhenius, a partir de los datos de la Figura 1 se calcularon las energías de activación para la enzima en cada condición. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Energías de activación de la lactasa sin proteína y en presencia de 0.05 mg/ml de BSA o β -lg

Condición	Ea (cal/mol)
Sin proteína	10,129
Con BSA	10,026
Con β -lg	9,652

La disminución de las energías de activación en presencia de las proteínas confirma la activación de la lactasa por éstas, y además que la β -lg tiene mayor poder activador.

Conclusiones. Los perfiles de temperatura de la lactasa de *Kluyveromyces lactis* en presencia de β -lg y BSA sugieren posibles interacciones de naturaleza hidrofóbica que participan en los mecanismos de activación. Las energías de activación confirman la capacidad activadora de las proteínas.

Bibliografía

1. J. Jiménez-Guzmán, A. E. Cruz-Guerrero, G. Rodríguez-Serrano, A. López-Munguía, L. Gómez-Ruiz, M. García-Garibay. 2002. J. Dairy Sci. 85(10), 2497-2502.
2. J. Jiménez-Guzmán, C. Sarabia-Leos, A. Cruz-Guerrero, G. Rodríguez-Serrano, A. López-Munguía, L. Gómez-Ruiz, M. García-Garibay. 2006. Int. Dairy J. 16(10), 1169-1173.