

ESTUDIO DEL PAPEL DE LOS GRUPOS ϵ -AMINO DE LA β -LACTOGLOBULINA EN SU INTERACCIÓN CON LA β -GALACTOSIDASA DE *Kluyveromyces lactis*

Elizabeth Del Moral Ramírez, Alma E. Cruz Guerrero, Gabriela Rodríguez Serrano, Mariano García Garibay, Lorena Gómez Ruiz y Judith Jiménez Guzmán

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

Palabras clave: β -galactosidasa, docking molecular, succinilación, lactosilación

Introducción. La presencia de β -lactoglobulina (β -lg) en el medio de reacción durante la hidrólisis enzimática de la lactosa produce un efecto activador sobre la β -galactosidasa (β -gal) que podría deberse a una unión entre la enzima y la proteína a través de los grupos químicos más reactivos de la β -lg [1]. El propósito de este trabajo fue estudiar el mecanismo de interacción entre la β -lg y la β -gal.

Metodología. Se construyó un modelo tridimensional de la β -lg con el programa de cómputo PyMOL y se llevó a cabo un docking molecular de la β -lg y la lactosa con el programa ADT 3.05. Se bloquearon los grupos amino de la β -lg por medio de una reacción de succinilación que fue monitoreada a través de una electroforesis en gel de poliacrilamida y urea 8M [2]. Se midió la actividad de β -gal de una preparación comercial (Maxiact LX 5000®) mediante la hidrólisis de ONPG [2].

Resultados y discusión. Se sabe que la lactosilación de la β -lg disminuye su efecto activador sobre la β -gal y que ésta ocurre a través de los grupos amino más reactivos de la proteína [1]. Se encontró que los grupos amino más susceptibles de reaccionar son los de los residuos de lisina 138, 15, 47 y 69 (Fig. 1) por encontrarse sumamente expuestos y sin impedimento estérico.



Fig. 1. Modelo tridimensional de la β -lg dibujada con el programa PyMOL, De Lano Scientific LLC, 2007. Se muestran los grupos amino más susceptibles de reaccionar.

El docking molecular mostró que el sitio de unión de más baja energía, y por lo tanto el más probable es el grupo amino de la lisina 138 de la β -lg (Fig. 2). Por otra parte se ha encontrado que la β -lg se lactosila en el grupo amino del residuo de lisina 47 [1]. Esto demuestra la alta reactividad de los grupos amino de la proteína.

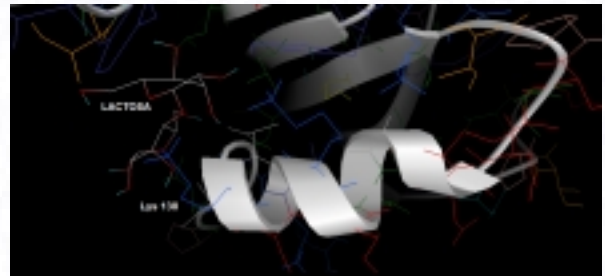


Fig. 2. Docking molecular de la β -lg (listones grises y líneas de colores) y la lactosa (gris y rojo)

Conforme la β -lg se va succinilando, el efecto activador desaparece (Fig. 3). Es muy probable que en estos puntos los grupos amino más reactivos de la β -lg se encuentren sustituidos, por lo que la pérdida de la capacidad activadora podría deberse principalmente al efecto del bloqueo de los grupos amino, con lo que queda claro que es necesario que estos se encuentren libres para que la interacción, y por lo tanto la activación de la β -gal, se lleve a cabo.

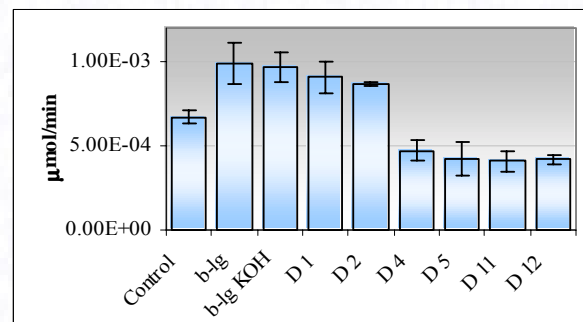


Fig. 3. Actividad de β -gal basal (Control), en presencia de β -lg nativa (con y sin KOH), y β -lg con diferentes grados de succinilación de los grupos amino (D1-D12)

Conclusión. Los grupos amino de la β -lg participan en la interacción entre la β -lg y la β -gal, y por lo tanto en la activación de la enzima. El docking molecular mostró que la lisina más reactiva es la 138, sin embargo, se ha reportado que la primera en lactosilarse es la 47; muy probablemente ambas lisinas están involucradas en la interacción de acuerdo a los resultados de la succinilación.

Bibliografía.

1. Jiménez-Guzmán J., Sarabia-Leos C., Cruz-Guerrero A., Rodríguez-Serrano G., López-Munguía A., Gómez-Ruiz L., García-Garibay M. *Int. Dairy J.* 16(10), 1169-1173, (2006).
2. Del Moral- Ramírez, E., "Efecto de los grupos amino de la β -lactoglobulina sobre la actividad de la β -galactosidasa" Tesis de Licenciatura, UNAM (2005), 4-43.