

PURIFICACION Y CARACTERIZACION DE LECTINAS DE FRIJOL TEPARI (*Phaseolus acutifolius*)

Valadez Vega Ma. del Carmen, Guzmán Partida Ana María, Soto Cordoba Francisco,
Alvarez-Manilla Dubón Gerardo

Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. valadez@cascabel.ciad.mx

Palabras clave: *Phaseolus acutifolius*, Hemaglutinina, Glicopéptido

Introducción. Las lectinas han sido detectadas en cientos de especies de plantas, en donde pueden constituir hasta el 10% de la proteína total de la semilla (1,2). Son moléculas polivalentes, presentan por lo menos dos sitios de unión hacia azúcares (3), permitiendo formar entrecruzamientos entre macromoléculas que contengan azúcares. Las lectinas representan una clase heterogénea de proteínas o glicoproteínas, las cuales poseen actividades biológicas tales como hemaglutinación, transformación de linfocitos, además de presentar efectos tóxicos (4) La capacidad hemaglutinante de las lectinas es inhibida por ciertos carbohidratos, desde monosacáridos hasta polisacáridos o glicoconjugados, sin embargo, presentan mayor afinidad por carbohidratos con estructuras complejas. Algunos de los estudios que se han realizado con el fin de caracterizar las lectinas de frijol tepari se han empleado líneas de frijol procedente de diversos lugares(5,6,7), sin embargo los resultados obtenidos en estos estudios son muy diversos, lo cual hace patente la falta de información concisa sobre las características de las lectinas del frijol tepari. El objetivo del presente trabajo es la purificación de las lectinas de frijol tepari y la determinación de sus características químicas y

Metodología. El frijol tepari fue adquirido en el mercado de la Ciudad de Hermosillo, Son. La extracción de la lectina se realizó de la harina de frijol en PBS, con precipitación con sulfato de amonio y la purificación se realizó por cromatografía de afinidad empleando una columna de agarosafetuna. El ensayo de hemaglutinación se realizó utilizando la técnica de diluciones seriadas, con eritrocitos humanos tripsinizados. La estimación de peso molecular se realizó por cromatografía de filtración en gel y por electroforesis, empleando geles de poli(acrilamida) en condiciones nativas y desnaturizantes. La determinación del punto isoeléctrico se realizó mediante isoelectroenfoque. Para la electroforesis en dos dimensiones la primera dimensión se corrió en un gel de enfoque isoeléctrico y la segunda dimensión se corrió en un gel de gradientes de poli(acrilamida). La determinación de aminoácidos se llevó a cabo por HPLC donde se realiza una hidrólisis con HCL y derivatización con O-phthalaldehído. El análisis de metales se realizó mediante espectrometría de absorción atómica y la caracterización parcial de los ligandos de la lectina se realizó por cromatografía de afinidad con lectina inmovilizada en azlactona-acrilamida y posteriormente los glicopéptidos eluidos se analizaron por hidrólisis, reducción, acetilación y cromatografía de gases.

Resultados y Discusión. La lectina purificada representó una fracción (10%) de la actividad hemaglutinante detectada originalmente. Los resultados obtenidos por electroforesis

muestran que es una proteína tetramérica, la cual al ser sometida a un proceso de desnaturalización y reducción es capaz de descomponerse en sus monómeros respectivos. La filtración en gel indica que la oligomerización de la lectina va a depender de la fuerza iónica del medio. La espectroscopía de masas (MALDI-TOF), indica que la proteína es una mezcla heterogénea de dos monómeros con pesos moleculares muy similares. Por otro lado los estudios de enfoque isoeléctrico y electroforesis en dos dimensiones indicaron tres bandas con puntos isoeléctricos distintos. La determinación de actividad específica por hemaglutinación mostró que la lectina de frijol tepari tiene mayor actividad que la observada para la concanavalina A, y que solamente algunas glicoproteínas presentan efecto inhibitorio. El análisis de metales indicó que el calcio es el metal que se encuentra en mayores cantidades, y en el análisis de aminoácidos se encontró que glicina, leucina, metionina e isoleucina son los más abundantes. El estudio de afinidad de la lectina hacia glicopéptidos mostró que aquellos que contienen manosa, galactosa y N-acetil glucosamina son los que presentan mayor afinidad.

Conclusiones. La proteína purificada es una lectina tetramérica. La oligomerización de esta proteína es dependiente de la fuerza iónica del medio. La lectina presenta mayor afinidad hacia glicoproteínas y glicopéptidos con residuos de manosa, galactosa y N-acetil glucosamina

Agradecimientos. Dirección adjunta de apoyo a la investigación científica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología.

Bibliografía.

1. Sharon, N. y Lis, H. (1989). Lectins. Ed. Chapman and Hall. N.Y.
2. Sharon, N. y Lis, H. (1990). *Faseb J.* 4(14):3198-3208.
3. Liener, I.E., Sharon, N. Y Goldstein, U.J. (1986). The lectins: Properties, Functions and Applications in Biology and Medicine. Ed Academic press, INC. London.
4. Vierbuchen, M. (1991). Lectin Receptors. En: *Current Topics in Pathology Cell Receptors*. Seifert, G. Ed. Springer-Verlag, New York. P. 271-361.
5. Valadez-Vega, M. C. (1993). Adaptación Agronómica, Calidad Química, Física, Toxicológica y Aceptabilidad de Líneas de Frijol Tepari (*Phaseolus acutifolius*) en el Estado de Querétaro. Men C Tesis. Universidad Autónoma de Querétaro, Querétaro, Qro.
6. Pusztai, A., Watt, W. and Stewart, J. C. (1987). *Phytochem.* 26(4):1009-1013.
7. Vargas-Albores, F., de la Fuente, G., Agundis, C. y Córdoba, F. (1987). *Prep. Biochem.* 17:379-396.