

## **SÍNTESIS ENZIMÁTICA DE GALACTOSYL-XYLOSA USANDO ?-GALACTOSIDASE A. ORYZAE**

*Giacomini, C.*<sup>1,2</sup>, *Irazoqui, G.*<sup>1</sup>, *Gonzalez, P.*<sup>1</sup>, *Batista-Viera, F.*<sup>1</sup> y *Brena, B.M.*<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Cátedra de Bioquímica, Facultad de Química. Gral. Flores 2124, Montevideo, Uruguay, FAX: + 598 2 9241906. Email: [cgiacomi@bilbo.edu.uy](mailto:cgiacomi@bilbo.edu.uy)

<sup>2</sup> Laboratorio de Bioquímica, Unidad Asociada del Instituto de Química Biológica, Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay.

En los últimos años la síntesis de oligosacáridos está recibiendo atención a nivel mundial debido al importante papel que los mismos tienen en muchos procesos y biológicos y a su efecto en la salud humana y de animales de granja. La síntesis química de oligosacáridos es compleja y la condensación regioselectiva de los monosacáridos requiere muchos pasos de protección, activación, condensación y desprotección. Algunas glicosidasas han probado ser catalizadores atractivos para la síntesis de oligosacáridos ya que son accesibles, económicas, fáciles de manejar y no requieren cofactores. Su mayor desventaja cuando se las compara con las glicosil-transferasas son sus rendimientos de moderados a bajos y la falta de regioespecificidad en al glicosilación. En este trabajo se reporta la síntesis enzimática del disacárido galctosil-xilosa en medio acuoso, utilizando ?-galactosidasa de *A.oryzae*, o-nitrofenil?-D-galactopiranosido (ONPG, 0.05 M) como dador del grupo galactosil y xilosa (0.5 M) como aceptor. La reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente y el grado de avance de la síntesis se monitoreó por HPLC. El rendimiento de la reacción se define como la cantidad de galactosil-xilosa producida, expresada como el porcentaje de la cantidad inicial del dador del grupo galactosil. El ONPG se hidrolizó completamente en dos horas y el rendimiento máximo de la reacción de síntesis fue de un 16 % , el que se alcanzó a los 60 minutos. Se estudió también la influencia de la concentración del aceptor, variando la concentración de xilosa entre 0.05 – 2.7 M. Cuando esa concentración fue de 2.7 M (41 % w/v) la velocidad de hidrólisis de ONPG no disminuyó y el rendimiento de la reacción de síntesis aumentó a un 22%. El efecto de los co-solventes orgánicos en el rendimiento de la reacción de síntesis fue estudiado para dimetil-formamida (DMF, 50% v/v) y acetona (50% v/v) con xilosa 0.5 M. La velocidad de hidrólisis de ONPG disminuyó notoriamente en ambos casos. En el caso del DMF el rendimiento máximo de síntesis fue de un 4% y se alcanzó a las cinco horas. Por otro lado, cuando el co-solvente utilizado fue acetona, se alcanzó un rendimiento máximo de un 12% en una hora. En la síntesis de otro galactosil-glicósido: galactosil-etilenglicol se alcanzaron rendimientos de transglicosilación mayores a un 90%.