

ESTABILIDAD DE β -GALACTOSIDASAS SOLUBLES E INMOVILIZADAS EN SISTEMAS SEMI-ACUOSOS. EFECTO DEL AUMENTO DE LA CONCENTRACIÓN DE CO-SOLVENTE

Irazoqui, G.¹, Giacomini, C.^{1,2}, Batista, F.¹ y Brena, B.¹.

¹ Cátedra de Bioquímica, Facultad de Química. Gral. Flores 2124. Montevideo, Uruguay. FAX: +598 2 9241906.

E-mail: bbrena@fq.edu.uy

² Unidad Asociada de Química Biológica, Facultad de Ciencias.

Se utilizaron tres β galactosidasas (*A. oryzae*, *K. lactis*, *E. coli*) como modelos para el estudio de la estabilidad en sistemas semi-acuosos y la inmovilización se realizó a glutaraldehído-agarosa. Los co-solventes usados fueron: N,N-dimetilformamida (DMF), etanol, acetona, dioxano y acetonitrilo (todos entre 6 y 75% v/v). La cinética de inactivación fue analizada de acuerdo al modelo en dos pasos propuesto por Henley y Sadana, con un estado final enzimático (E_2) con actividad específica distinta a cero.

$$A = [100 + (\%_1 k_1 / (k_2 - k_1)) - (\%_2 k_2 / (k_2 - k_1))] \exp(-k_1 t) - (k_1 / (k_2 - k_1)) (\%_1 - \%_2) \exp(-k_2 t) + \%_2$$

Los parámetros $\%_1$ y $\%_2$ son los porcentajes de actividad específica de los estados enzimáticos E_1 y E_2 con respecto al estado enzimático nativo. Los gráficos experimentales de la actividad residual vs. tiempo fueron ajustados utilizando el programa Enzfitter. El estudio de inactivación térmica a diferentes temperaturas reveló que todos los derivados son considerablemente más estables que las correspondientes enzimas solubles. En la forma soluble de la β -galactosidasa de *A. oryzae* es la más estable, pero su forma inmovilizada fue más inestable que la enzima soluble en presencia de los co-solventes estudiados. Los derivados de *E. coli* y *K. lactis* mostraron estabilización importante a bajas concentraciones de co-solventes. A pesar de que la inmovilización permitió estabilización frente a la temperatura y frente a bajas concentraciones de co-solventes, esto se torna difícil al aumentar la concentración de los mismos. La inmovilización puede imponer cierta tensión en la estructura de la proteína dejándola más sensible para desnaturalizarse a altas concentraciones de co-solventes, por lo que se están estudiando estrategias complementarias de estabilización.