

Generación de glicanos con potencial actividad inhibitoria de galectina a partir de Lactoferrina bovina

Chiara Rachetti (1), Gabriela Irazoqui (1), Cecilia Giacomini (1), Cecilia Porciúncula González (1)

1-Área Bioquímica, Departamento de Biociencias, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

dcp@fq.edu.uy

La lactoferrina (LF) es una glicoproteína presente en la leche de mamíferos que contiene N-glicanos con alto contenido de manosa y N-glicanos complejos. Estos últimos presentan estructuras biantenarias conteniendo unidades de N-acetil-lactosamina, lo que los convierte en potenciales inhibidores de galectina, una proteína sobrexpresada en procesos tumorales. Dado que esta glicoproteína se puede purificar a partir de lactosuero, subproducto de la industria láctea, la misma constituye una fuente económica para la generación de estos glicanos.

El objetivo de este trabajo consistió en la liberación enzimática de los glicanos de LF bovina y la optimización de su purificación y detección mediante distintas estrategias separativas y analíticas.

La deglicosilación se llevó a cabo incubando LF tanto en estado nativo como desnaturalizada con la enzima péptido N-glicosidasa F (PNGasa F), evaluando dicho proceso mediante electroforesis.

Se evaluaron distintos parámetros entre ellos la relación de concentraciones PNGasa F/LF y el tiempo a los cuales se observa deglicosilación. Se determinó a su vez que esta glicoproteína solo es posible de ser deglicosilada en condiciones desnaturalizantes.

Los glicanos obtenidos fueron purificados mediante extracción en fase sólida evaluando distintas columnas (C18, carbón activado, carbono grafitizado) y utilizando cromatografía en capa fina y electroforesis para determinar el éxito de la separación.

De las columnas evaluadas, solo la de carbono grafitizado, logró la separación de los glicanos obtenidos de la LF deglicosilada.

Los resultados obtenidos en este trabajo representan un importante insumo que permitirá en una etapa posterior obtener dichos glicanos en concentración adecuada tanto para su elucidación como su evaluación biológica.