

## REDISEÑO DEL SITIO DE RECONOCIMIENTO DE LA LISOZIMA.

Gutiérrez-Magdaleno, G., Bello-Ramírez, M., <sup>1</sup>Romero-Gómez, S., García-Hernández, E.

Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Química. Depto. Bioquímica. Circuito Exterior S/N Del. Coyoacán, CP 04510, México D.F. Tel. 56224565  
[gabrielggab@gmail.com](mailto:gabrielggab@gmail.com)

<sup>1</sup>Universidad Autónoma de Querétaro. Facultad de Química. Depto. Biotecnología. Av 5 de Febrero esquina con calle Hidalgo S/N. Centro univertario. "Cerro de las Campanas", Queretaro, Qro. CP 76010. Tel. (442) 1921200 Ext. 5516

**Resumen.** En estos últimos años, nuestro grupo de investigación ha estado estudiando las interacciones proteína-carbohidrato (PC), intentando esclarecer los principios energético-estructurales subyacentes al fenómeno. Una nueva etapa en nuestro estudio de los complejos PC, es rediseñar el sitio del reconocimiento de las proteínas, para cambiar su especificidad hacia otras estructuras sacarídicas. El blanco primario del actual proyecto es reajustar el sitio del reconocimiento del lisozima del huevo de gallina para hacerlo específica para los oligómeros de la glucosa $\beta$ (1-4). Usando la estructura cristalina de la lisozima con la Quitotriosa (GlcNAc $\beta$ (1-4)GlcNAc $\beta$ (1-4)GlcNAc) como prototipo, un modelo es la celotriosa con la lisozima (Glc $\beta$ (1-4)Glc $\beta$ (1-4)Glc) fue construido, simplemente se eliminó el grupo NAc. Después de varios ciclos de mutación-refinamiento y de minimizaciones de energía usando Rosetta, una mutante fue obtenida cuya energía de unión era comparable a la del complejo silvestre (lisozima-Quitotriosa). Las mutaciones optimizaron la interacción con los grupos OH de la celotriosa y son: Ile98Gln, Ile58Gln, Leu56Ser, Trp108Tyr, Leu75Arg. Además, las mutaciones Ala107Asn Trp63Tyr, incrementan la afinidad con los grupos comunes de los complejos celotriosa y Quitotriosa. Posteriormente, se expresó la lisozima recombinante en *Aspergillus niger*. La proteína recombinante fue caracterizada por medio de la espectroscopia de fluorescencia y dicroísmo circular. La unión fue medida con calorimetría de titulación isotérmica. Concluyendo que la estructura secundaria, terciaria y la unión de la lisozima recombinante es idéntica a la lisozima adquirida de SIGMA.