

ADSORCIÓN DEL MACROPÉPTIDO DE LA CASEÍNA SOBRE UN SUSTRATO CARGADO: EL IMPACTO DE LA REGULACIÓN DE LA CARGA

Pablo M. Blanco^{1,*}; Micaela M. Achetoni²; María F. Baieli³; Claudio F. Narambuena²

¹ Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Hlavova 8, 128 00 Prague 2, Czech Republic. *E-mail: blancoapa@natur.cuni.cz

² Universidad Tecnológica Nacional & Grupo Bionanotecnología y Sistemas Complejos. (CONICET), Facultad Regional San Rafael, Argentina. Av. General Urquiza 314 C.P.:5600, San Rafael, Mendoza, Argentina.

³ Universidad de Buenos Aires & Instituto de Nanobiología (CONICET-UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Buenos Aires, Argentina.

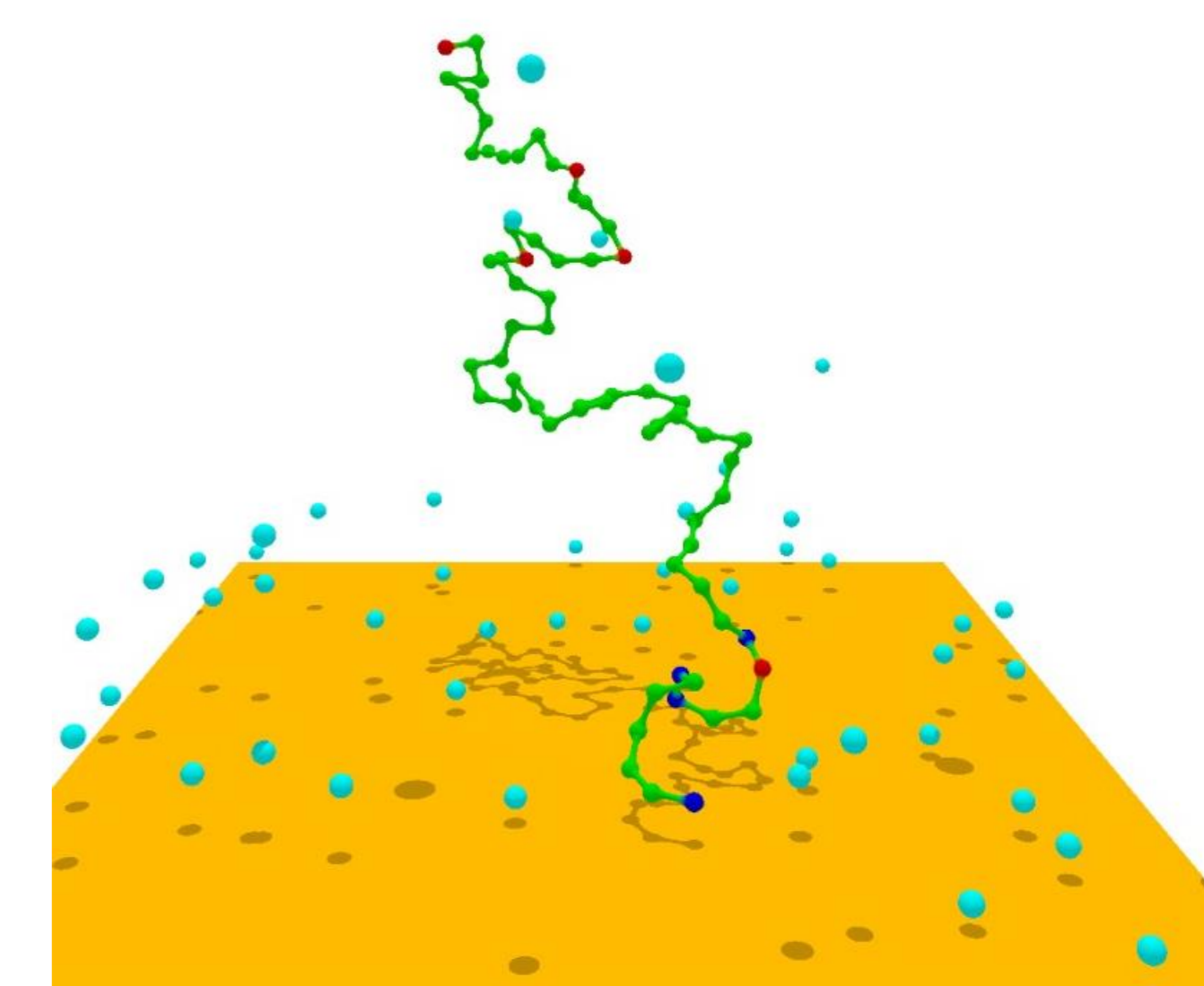
Universidad Tecnológica Nacional Facultad Regional San Rafael

CONICET



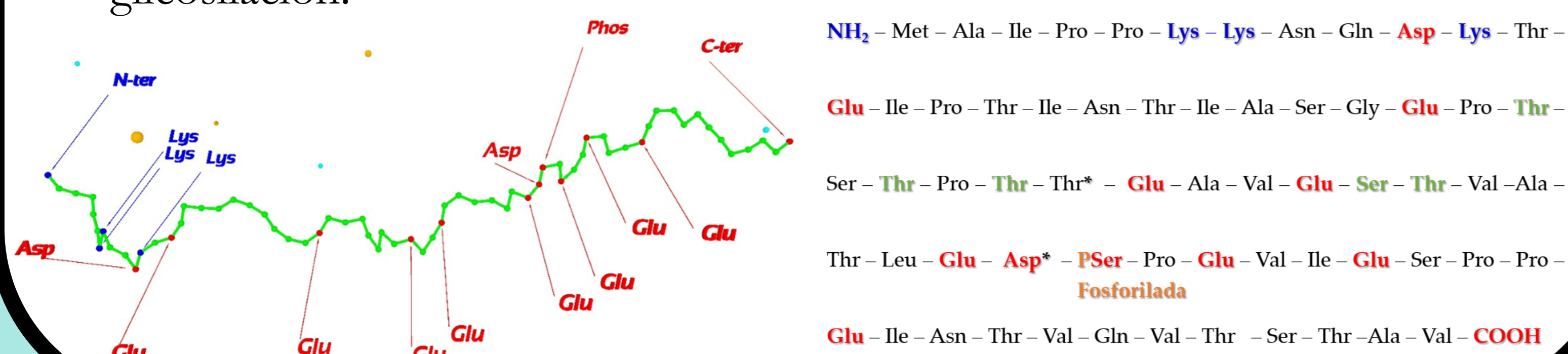
Introducción

El macropéptido de la caseína (GMP) constituye entre 20-25% de las proteínas totales en el suero láctico obtenido durante la producción del queso. Contiene un bajo contenido de aminoácidos aromáticos, permitiendo su uso como suplemento alimentario para pacientes de la fenilcetonuria.^[1] El GMP puede ser purificado desde el suero láctico mediante el uso de técnicas cromatográficas con sustratos de quitosano.^[2] En la superficie del sustrato hay una cantidad significativa de grupos cargados, causando la adsorción de la proteína sobre el sustrato, permitiendo su purificación. El GMP no presenta una estructura definida en solución,^[3] lo que permite reproducir sus propiedades fisicoquímicas mediante modelos de grano grueso.^[4] En este trabajo, se estudia la adsorción del GMP sobre un sustrato cargado. Siguiendo la metodología establecida para estudios similares en polielectrolitos débiles,^[5] se utiliza un modelo de grano grueso que incluye las interacciones electrostáticas, volumen excluido y regulación de la carga de los grupos ácido/base débiles del GMP.



Físico-química del CMP

- Pertenece a la familia de las proteínas intrínsecamente desordenadas (IDPs), que presentan una característica estructura flexible en solución.
- Contiene **4 grupos básicos** (en el extremo N-terminal) y **13 grupos ácidos**.
- Alrededor del 50 % del CMP se haya glicosilado en solución. El GMP presenta **5 posibles aminoácidos glicosilables**, que pueden albergar hasta **6 grupos de ácido siálico (Sia)**.
- Su punto isoeléctrico (pI) oscila entre 3,15 y 4,14; en función de su grado de glicosilación.



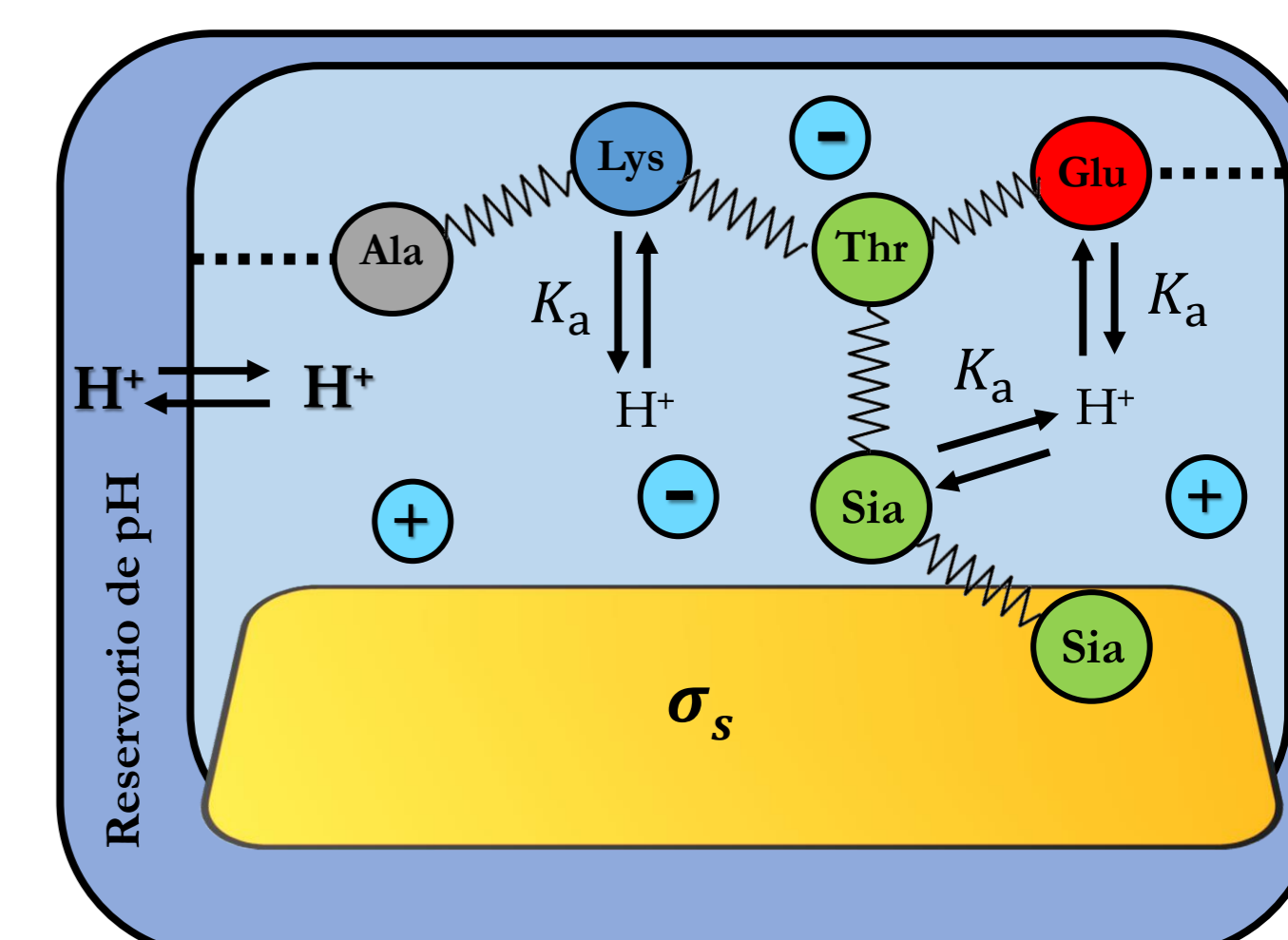
Modelo teórico

Especies químicas en el sistema:

- Adsorbato: macropéptido de la caseína
- Modelo "Bead-and-spring"

$$U_B = k_s(l_{ij} - l_0)^2$$
- Titulación de los grupos ácido/base

$$U_p = k_B T \ln 10 (\text{pH} - \text{p}K_a)$$
- Sustrato cromatográfico cargado
- Superficie uniformemente cargada con densidad de carga σ_s



Simulación Monte Carlo:

- Movimiento transaccional del GMP y los iones pequeños.
- Equilibrado de la conformación del GMP mediante movimientos de pivot.
- Protonación/Deprotonación de los grupos ácido/base siguiendo el criterio Semi-Grand canónico.
- Creación/Destrucción de pares neutros de iones pequeños siguiendo el criterio Grand canónico.

$$U_S = \begin{cases} \frac{\sigma_s z_i e d_{z,i}}{2\epsilon_0 \epsilon_r} & \text{si } r_i > d_{z,i} \\ \infty & \text{si } r_i < d_{z,i} \end{cases}$$

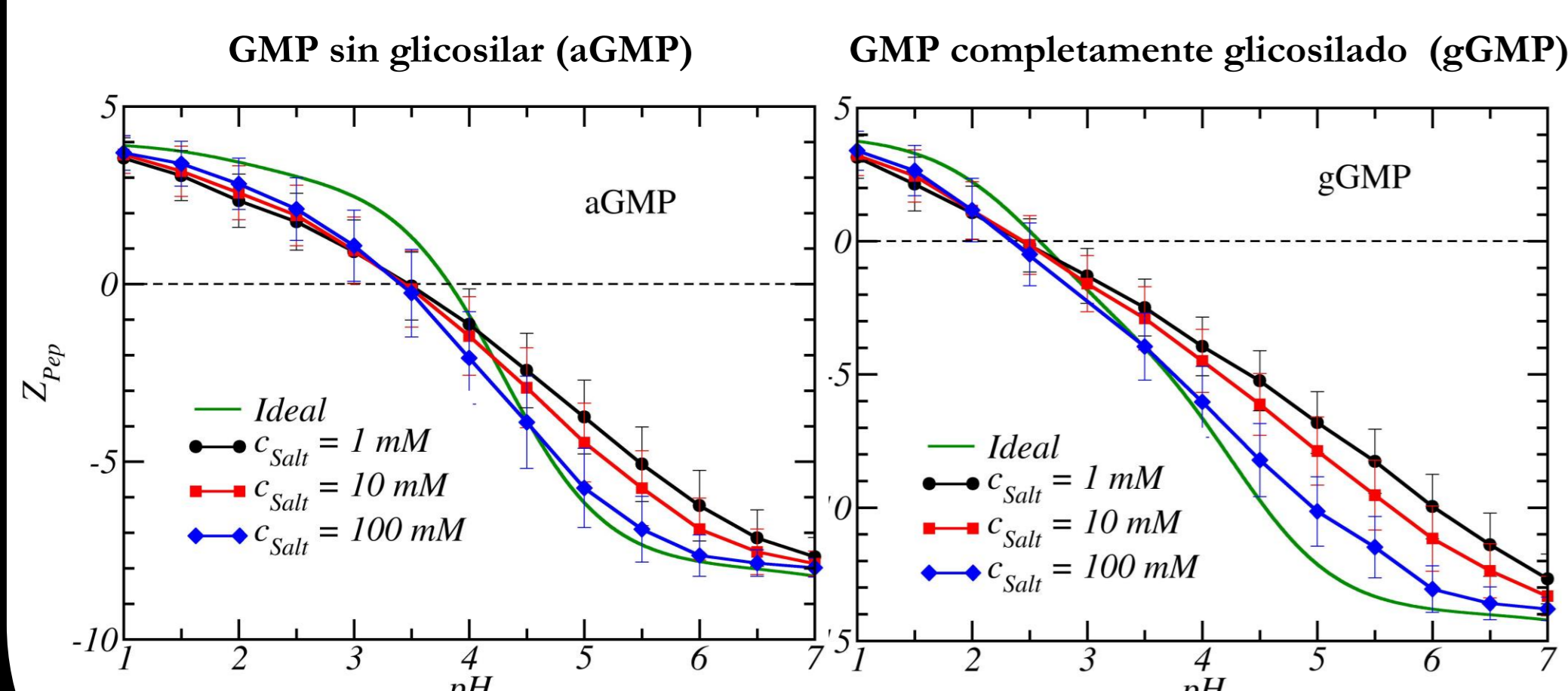
$$U_{el} = \begin{cases} l_B \frac{z_i z_j}{d_{ij}} & \text{if } d_{ij} > r_i + r_j \\ \infty & \text{if } d_{ij} \leq r_i + r_j \end{cases}$$

Titulación del GMP en ausencia del sustrato cargado

- Observable: carga total promedio del CMP

$$Z_{\text{pep}} = \sum_{i=0}^G z_i \quad z_i = \text{carga promedio del aminoácido } i$$

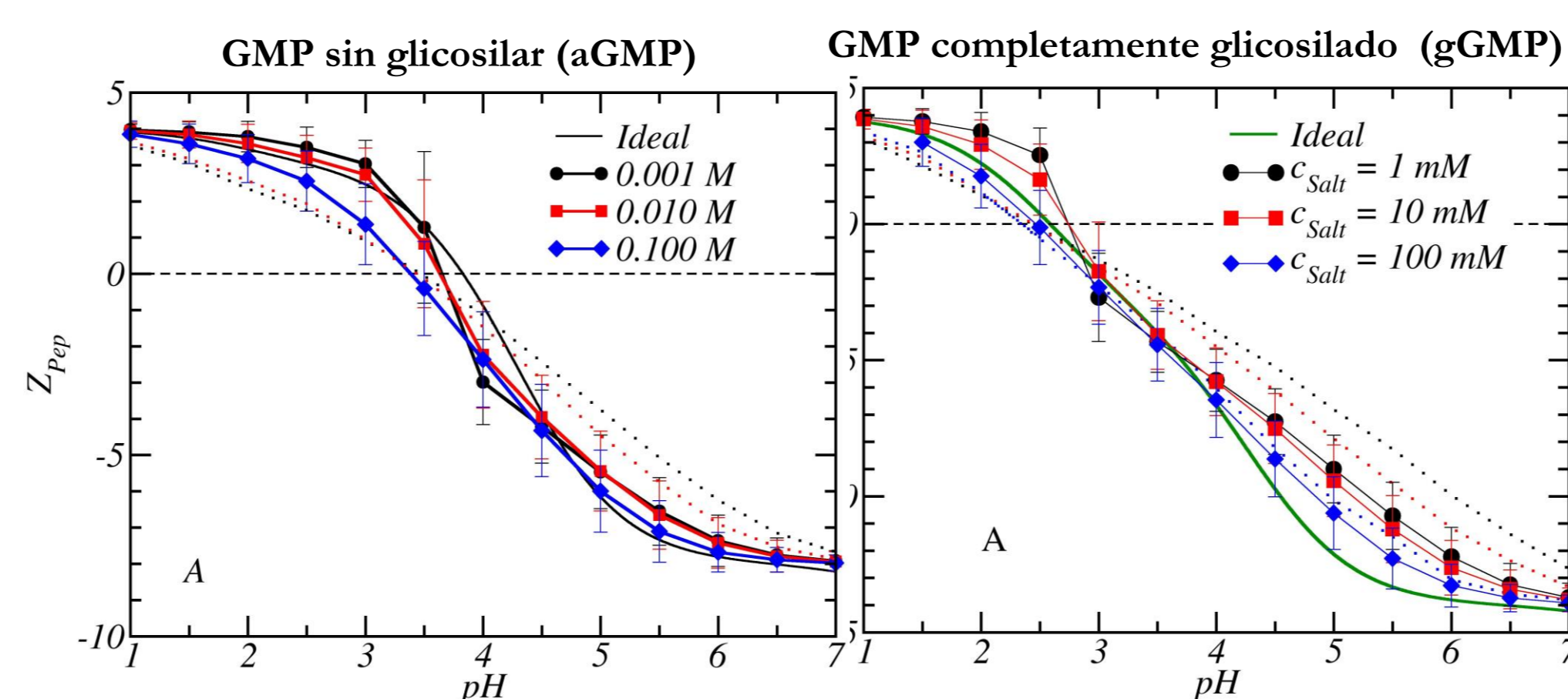
- Se obtienen valores límite del pI para el CMP entre 2,9 y 3,5 según su grado de glicosilación.
- Se observa que la concentración de sal añadida a la solución solo afecta significativamente la titulación del GMP para valores de pH entre 3,5 y 6,5.



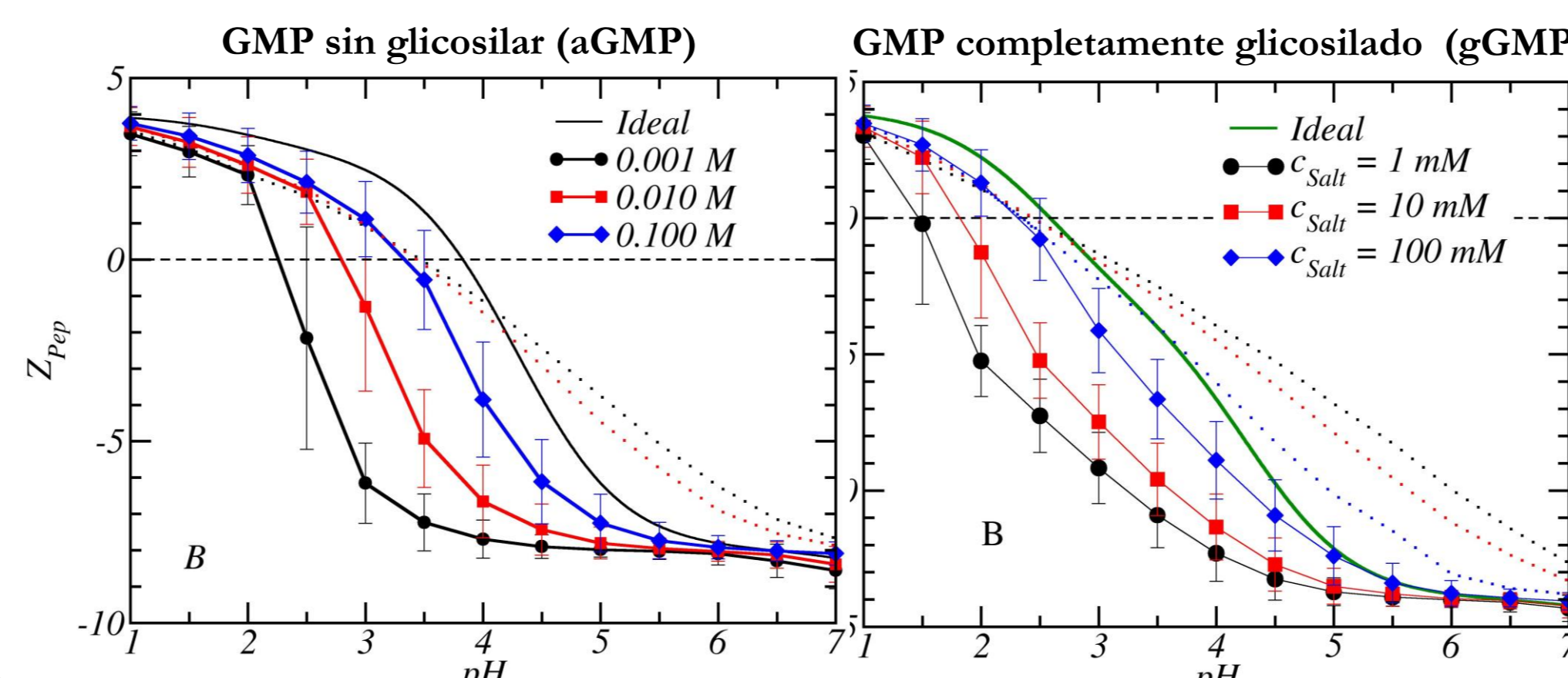
Regulación de la carga del GMP debido al sustrato cargado

El sustrato modifica la carga del GMP significativamente, especialmente cuando se encuentra cargado positivamente.

- Sustrato cargado negativamente $\sigma_s = -0.5 \text{ e/nm}^2$



- Sustrato cargado positivamente $\sigma_s = +0.5 \text{ e/nm}^2$

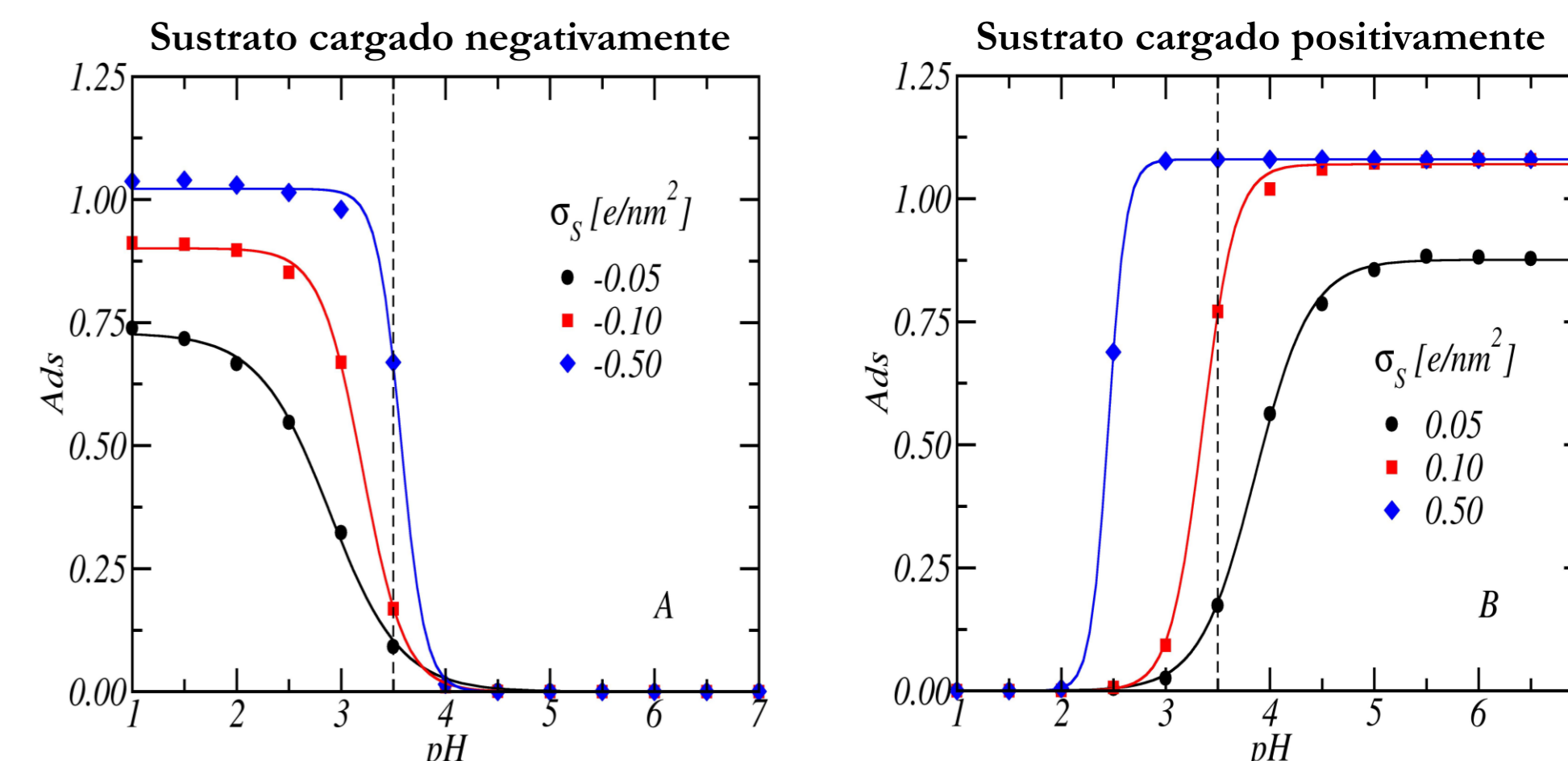


Adsorción del GMP sobre un sustrato cargado

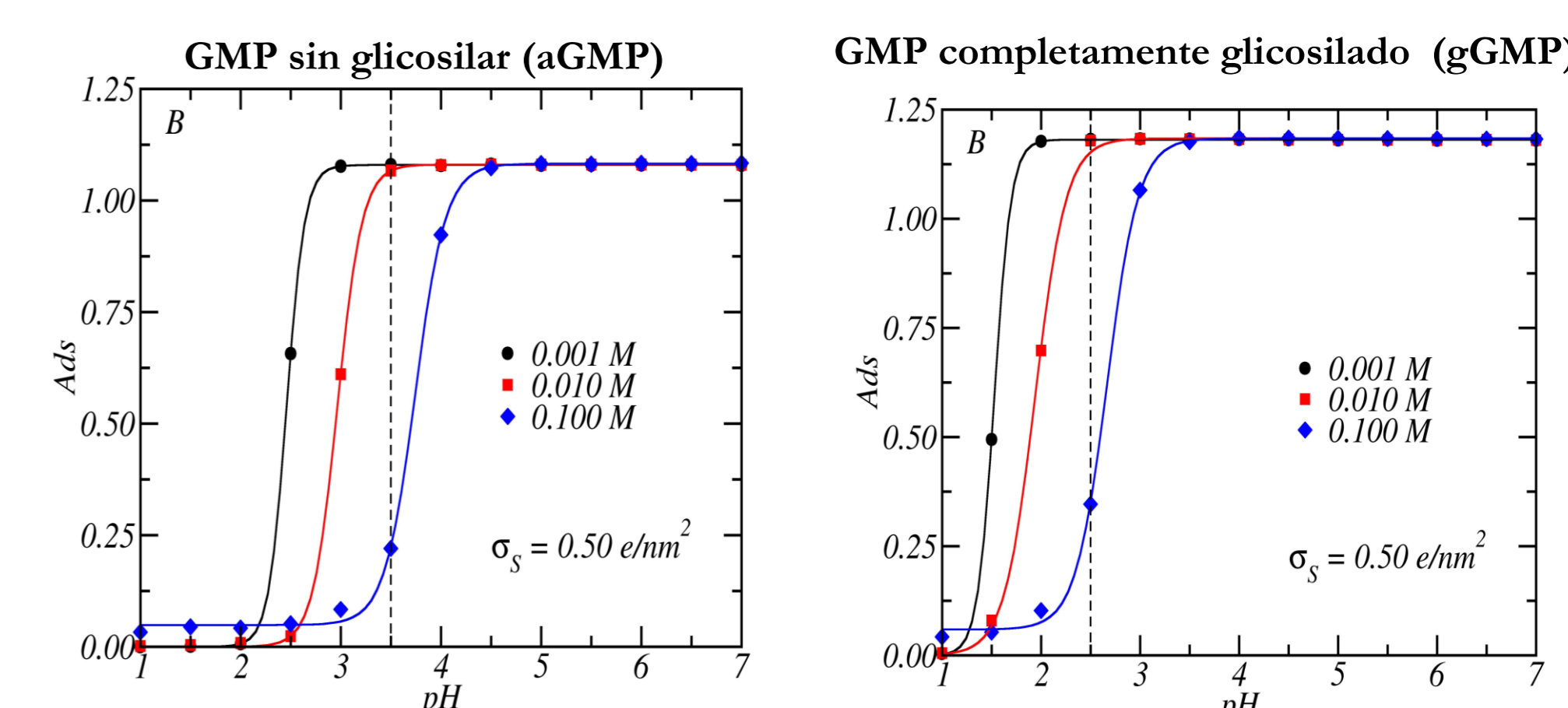
- Observable: cantidad de GMP adsorbido en el sustrato

$$\Gamma_{\text{Ads}} = \int_{z=0}^{z=2.5 \text{ nm}} c(z) dz \quad c(z) = \text{concentración de GMP en la posición } z$$

- Adsorción del aGMP sobre diferentes sustratos cargados



- Efecto de la sal añadida en la adsorción del GMP



Conclusiones

- En ausencia del sustrato cargado, la curva de titulación del GMP presenta un punto isoeléctrico (pI) alrededor de 3,6 unidades de pH, en consonancia con los valores de referencia en la literatura.^[1]
- La presencia del sustrato cambia significativamente la carga del GMP, especialmente cuando esta positivamente cargado.
- Para sustratos cargados negativamente, se observa que el GMP se adsorbe sólo en condiciones de pH por encima de su pI. Al aumentar la carga del sustrato o disminuir la concentración de sal añadida, aumenta la cantidad de GMP adsorbido.
- Para sustratos cargados positivamente, se observa que aumentar la carga o disminuir la concentración de sal añadida causa que el GMP se adsorba en el sustrato para valores del pH mas bajos, llegando a adsorberse en ambos lados de su pI.

Bibliografía

- [1] Sharma, R. *et al.*, *Dairy science & technology*, 2013, 93(1), 21-43.
- [2] Baieli, M. F. *et al.*, *Biotechnology progress*, 2017, 33.1,171-180.
- [3] Theillet, F. X. *et al.*, *Chem. Rev.*, 2014, 114, 6661-6714.
- [4] Hyltegren, K.; Skepo, M., *J. Colloid Interface Sci.*, 2017, 494, 266-273.
- [5] Narambuena, C. F. *et al.*, *Polymer*, 2021, 212, 123170