Purificación de proteínas y lectinas de *Amaranthus cruentus* con nanopartículas ferromagnéticas derivatizadas con galactosa.

Ripetta, S.1; Britos, C.2; Barrio, D. A.1

1Universidad Nacional de Río Negro. CIT Río Negro – CONICET.

2Universidad Nacional de Quilmes. LIBios – UNQ

mripetta@unrn.edu.ar, cbritos@unq.edu.ar, drbarrio@unrn.edu.ar

Frente a la problemática de hallar métodos eficientes y rápidos en el campo de la purificación proteica, la utilización de nanopartículas ferromagnéticas funcionalizadas recientemente ha ganado interés por ofrecer alternativas a métodos convencionales más complejos y costosos. El presente trabajo tuvo como objetivo sintetizar y caracterizar nanopartículas ferromagnéticas funcionalizadas con galactosa para purificar proteínas y lectinas de *Amaranthus cruentus.* Las nanopartículas se sintetizaron usando una mezcla de 0,5 ml de una solución 2M de FeCl2.4H2O con 2 ml de FeCl36H2O 1M y bajo burbujeo constante de nitrógeno se adicionaron 40 ml de Hidróxido de Amonio 0,7 M. Posteriormente fueron recubiertas con tetraetiltrietoxisilano (TEOS), funcionalizadas con aminopropiltrietoxisilano (APTES) y derivatizadas con Galactosa. Las partículas fueron caracterizadas mediante FTIR y microscopia electrónica. El tamaño de partícula promedio encontrado fue de 30 nanómetros, mientras que los espectros infrarrojos mostraron picos de absorción característicos y coincidentes con los descriptos previamente. Los estudios de adsorción y desorción de proteínas y lectinas se realizaron con una suspensión de proteínas de Amaranto de 1 mg/ml. Los tiempos de adsorción y desorción ensayados fueron entre 0,5 h y 24 h a 37 °C, pH: 7,0. La desorción de realizó con 20 mM de 1,3-diaminopropano. Los sobrenadantes de adsorción y desorción fueron centrifugados a 10.000 rpm durante 15 minutos y la concentración de proteínas fue determinada mediante la reacción colorimétrica de Bradford y la actividad hemoaglutinante con eritrocitos al 4 % v/v en solución fisiológica. La adsorción de las proteínas fue de 85,71 %, 86,87 %, 88,06 %, 88,04 %, 89,58 %, 90,43 %, y 95,86 % respectivamente para 30, 60, 90, 120, 240, 480 y 1440 minutos de exposición. Para los mismos tiempos el porcentaje de desorción de proteínas fue de 34,96%, 40,11%, 41,89%, 43,23%, 33,66%, 32,50% y 32,52%, respectivamente. Los ensayos de hemoaglutinación mostraron un factor de purificación de 3,63, y una pureza 53,5 mg de lectina/g de proteína. En conclusión, se sintetizaron y caracterizaron nanopartículas ferromagnéticas derivatizadas con galactosa que permiten obtener y purificar proteínas y lectinas de Amaranto. El proceso de recuperación optimizado se determinó en 90 minutos de adsorción y 120 minutos de desorción dado que mejora el porcentaje de recuperación de lectinas.