**Efecto de la regulación de carga en la adsorción del macropéptido de la caseína sobre un substrato cargado, un estudio computacional.**

Micaela M. Achetoni(1), Pablo M. Blanco(2), Maria F. Baeili(3), Claudio F. Narambuena(1).

(1) Universidad Tecnología Nacional. Facultad Regional San Rafael & Grupo Bionanotecnología y Sistemas Complejos. CONICET-UTN-UNSL. San Rafael, Argentina.

(2) Department of Physical and Macromolecular Chemistry, Faculty of Science, Charles University, Czech Republic

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

claudionarambuena@gmail.com

El macropéptido de caseína (CMP) se encuentra en el suero dulce, el cual se obtiene de la coagulación de la leche con quimosina en la fabricación de queso. El CMP constituye el 20-25% de las proteínas totales en suero de leche y carece de aminoácidos aromáticos, por lo tanto, es un candidato interesante para ser utilizado como suplemento alimenticio para pacientes con fenilcetonuria (dificultad para metabolizar aminoácidos aromáticos). Un método económico y simple (claves para la aplicación industrial) de purificación de CMP desde el suero lácteo es el uso técnicas cromatográficas con sustratos de quitosano. En la superficie del substrato hay una cantidad significativa de grupos cargados, causando que el sustrato tenga una densidad de carga relevante. La interacción electrostática entre el CMP y el sustrato causa la adsorción de la proteína sobre el sustrato, consiguiendo así purificarla. Estudios experimentales y teóricos recientes han demostrado que este glicomacropéptido no presenta una estructura definida en solución y pertenece a la familia de proteínas intrínsecamente desordenadas (IDPs). Esto permite el uso de modelos computacionales de grano grueso, que han demostrado ser capaces de reproducir fielmente experimentos de small-angle X-ray scattering y elipsometría.

El objetivo de este trabajo es el estudio computacional de la absorción del CMP sobre un substrato cargado, siguiendo una estrategia similar a la usada en estudios computacionales recientes para el estudio de la adsorción de polielectrolitos débiles sobre sustratos cargados. La estructura del CMP es representada mediante un modelo de grano grueso y se mide su adsorción sobre la superficie cargada mediante simulación Monte Carlo. Las interacciones electrostáticas del sistema y el equilibrio acido-base de los grupos titulables del CMP. Este modelo computacional es capaz de capturar los aspectos físico-químicos fundamentales que gobiernan el proceso de absorción del CMP en el sustrato (interacciones electrostáticas, volumen excluido y regulación de la carga de los grupos acido/base débiles del CMP). Esto permite estudiar, desde el punto de vista fundamental, la influencia de factores como el pH, concentración de sal y densidad de carga superficial del substrato en la adsorción de CMP. Se realizaron estudios a diferentes concentraciones de sal (1 𝑚𝑀, 10 𝑚𝑀, y 100 𝑚𝑀) en un amplio rango de 𝑝𝐻. Se analizo en primera instancia la carga del glicomacropéptido aislado, y se encontró que este se ve afectado por la concentración de sal. En presencia del sustrato cargado, la carga de titulación del aCMP presenta un punto isoeléctrico (pI) de aproximadamente 3,6 unidades de pH, dato coincidente con el marco teórico. En segunda instancia, se estudió la formación del complejo glicomacropéptido-sustrato. Para sustratos cargados negativamente el aCMP fue adsorbido solo en condiciones de pH por encima del pI. A su vez, la cantidad de glicomacropéptido adsorbido se incrementa al aumentar la carga del sustrato o disminuir la concentración del sustrato. Mientras que, para sustratos cargados positivamente, se observa que disminuir la concentración de sal o aumentar la carga causa que el aCMP se absorba a niveles de pH más bajos, llegando a adsorberse en ambos lados de su pI.

Palabras clave: glicomacropéptido, modelo computacional, adsorción.