

■ SINTESIS DE ANALOGOS DE ATP UNIDOS A SEPHAROSA EN LA PURIFICACION DE UNA PIROFOSFOHIDROLASA.

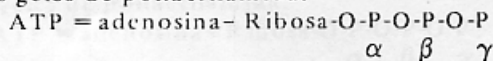
Calvo, V., Valenzuela, M.A. y Traverso-Cori, A. Laboratorio de Bioquímica General, Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacológicas, Universidad de Chile.

La apirasa es una enzima con actividad pirofosfohidrolásica, que se puede aislar del tubérculo de *Solanum tuberosum*. Esta enzima hidroliza el enlace $\beta\gamma$ pirofosfórico del ATP y también el enlace $\alpha\beta$ del ADP, en presencia de un ion divalente que puede ser Ca, Mg, Mn(II).

Se sintetizó 5' - ($\beta\gamma$ metilen) trifosfato de adenosina (ATP-fosfonato), este análogo de sustrato posee un enlace metileno en reemplazo del enlace pirofosfórico $\beta\gamma$, del ATP. La síntesis de este compuesto se efectuó a partir de 5' adenosin monosfosfato y ácido metilendifosfórico con N,N'-dici-clohexil-carbodiimida como agente condensante, en una mezcla de piridina y agua.

Se purificó el ATP-fosfonato de ésta mezcla de reacción, por medio de columnas de intercambio aniónico, siendo el rendimiento de síntesis y purificación en conjunto de un 25%.

Este compuesto ya purificado se unió covalentemente a un grupo amino, proporcionado por una pentanodiamina previamente unida a una matriz de sepharosa, activada con bromocianógeno. La unión del ATP-fosfonato se hizo por la furanosa oxidada con metaperyodato a 2' 3' dialdehído-ATP-fosfonato. Se formó una base de Schiff entre el ATP-fosfonatodialdehído y el extremo amino libre de la pentanodiamina; ésta base de Schiff, se redujo con borohidruro sódico. Se absorbió a este polímero modificado una preparación de enzima que presenta cuatro bandas de proteínas, en electroforesis en poliacrilamida. Mediante un gradiente lineal de ATP (sustrato de ésta enzima), se logró eluir la enzima de esta columna en una fracción que contenía un 98% de apirasa, según se determinó por densitometría de los geles de poliacrilamida.



5' - (β γ metilen) trifosfato de adenosina
= Adenosina - Ribosa - O - P _{α} - O - P _{β} - CH₂ - P _{γ}