

CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA ENZIMA PHPAAT1 IMPLICADA EN LA PRODUCCIÓN DE ÉSTERES EN *PHYSALIS PERUVIANA*.”

**CRISTIAN RICARDO CARRASCO ORELLANA
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

RESUMEN

El fruto de Goldenberry (*Physalis peruviana* L.) presenta características de una baya de tipo climatérica con un agradable e intenso aroma, debido principalmente a la presencia de ésteres. La enzima alcohol aciltransferasa (PhpAAT) presente en el fruto de *Physalis*, es la encargada de sintetizar ésteres mediante reacciones de esterificación entre alcoholes y acil-CoAs. Esta enzima pertenece a la superfamilia BAHD, cuyos miembros presentan bajos niveles de identidad de secuencia (entre 25 – 34%), a pesar de que sus estructuras secundarias se muestran altamente conservadas. Recientemente, se ha logrado aislar un cDNA de largo completo (*PhpAAT1*) desde *P. peruviana*, que codifica para una secuencia polipeptídica de 429 aminoácidos y muestra los motivos característicos de la superfamilia BAHD. Esta presenta dos dominios: HXXXD, que tiene implicancia en la reacción de esterificación, y DFGWG, que cumple una función estructural. Con el objetivo de entender cuál es el mecanismo de acción de esta enzima, y además, caracterizar la interacción de sustratos de alcoholes y acil-CoAs que modulan la generación de los diferentes ésteres, se realizó un modelamiento comparativo para construir la estructura de la enzima. Así también, mediante simulaciones de acoplamiento proteína-ligando (Docking) y dinámica molecular, se evaluaron los posibles modos de unión de los sustratos alcoholes y acil-CoAs frente a la enzima. Los resultados de docking arrojaron que los sustratos de alcohol se orientaron hacia el residuo ASP158 y los sustratos de acil-CoAs hacia el residuo HIS154, el análisis de los complejos de la enzima con ambos sustratos mostraron que butanol y hexanoil-CoA presentan mayor estabilidad en el canal de solvente de la enzima, lo cual fue corroborado por dinámicas moleculares. Adicionalmente, cálculos de APBS realizados mostraron las diferencias de cargas en la estructura de la enzima, lo cual permite dilucidar el hecho de que cada sustrato entre por un sitio determinado al canal de solvente para interactuar con el dominio HXXXD. Estos resultados permiten obtener una aproximación que nos conduzca al esclarecimiento de cómo

es la afinidad de la enzima PhpAAT1 por los sustratos para la formación de ésteres en el fruto de *P. peruviana*.

ABSTRACT

Goldenberry (*Physalis peruviana* L.) is a climateric fruit with a strong aroma. The aroma in goldenberry is principle cause by the presence of esters. Alcohol acyltransferase (PhpAAT) is the main enzyme in the biosynthesis of the esters by the esterification of alcohol and acyl-CoAs. PhpAAT belong to the large family of BAHD, where the main feature is the low sequence identity (25-34%) although their structure are highly preserved. In present, the full cDNA sequence (PhpAAT1) is available, the sequence encode a 429 aminoacids sequence and present 2 main motifs of BAHD family (HXXXD and DFGWG). The HXXXD motif have a important role in the esterification reaction, whereas the DFGWG motif have a structural funtion. The main objetive of this work is the determination of mechanism of the enzyme and characterize the interaction between alcohol susbtrate and acyl-CoAs for the biosynthesis of different esters. To result this objetive i did a comparative modeling to make the structure of the enzyme. In addition, through protein-ligand linkage's simulations (docking) and molecular dynamic, evaluated the possible modes of binding of substrates of alcohol and acyl-CoAs against the enzyme. The docking's results showed that the substrates of alcohol were directed to residue ASP158 and the substrates of acyl-CoAs directed to residue HIS154, the analysis of both substrate show butanol and hexanoil-CoA are the most estable in the solvent channel with negative energy interaction, this reasult was corroborated by molecular dynamic. In addition, APBS result show the differents in charges in the enzyme structure, this result can elucidate the fact of each substrate enter in a specific solvent channel and later interact with HXXXD motif. The result of this work present an approximation of the substrate affinity of PhpAAT1 in the biosynthesis of esters in *P. peruviana*.