

## II. ÍNDICE GENERAL

I. AGRADECIMIENTOS .....	1
II. ÍNDICE GENERAL .....	4
III. ÍNDICE DE FIGURAS .....	5
IV. RESUMEN .....	7
V. ABSTRACT .....	8
1. INTRODUCCION .....	9
1.1 Antecedentes generales .....	9
1.2 Antecedentes específicos .....	12
1.2.1 Polimerasa Ácida (PA) .....	14
1.2.2 Polimerasa Básica 1 (PB1) .....	15
1.2.3 Polimerasa Básica 2 (PB2) .....	15
1.2.4 Nucleoproteína (NP) .....	16
2. HIPÓTESIS .....	18
3. OBJETIVOS .....	18
3.1 Objetivo General .....	18
3.2 Objetivos Específicos .....	18
4. MATERIALES Y METODOS .....	19
4.1 Determinación de las estructuras cristalográficas que serán utilizadas como plantillas para el modelamiento .....	19
4.2 Alineamientos de las proteínas de ISAV, con sus análogas de la familia Orthomixoviridae .....	19
4.3 Predicción de estructura secundaria para cada proteína del complejo Ribonucleoproteico .....	20
4.4 Modelamiento por homología basado en el alineamiento de las subunidades de la polimerasa y Nucleoproteína .....	20
4.5 Refinamiento de los modelos obtenidos .....	21
4.6 Validación de los modelos obtenidos mediante distintos web-server .....	22
4.7 Acoplamiento molecular de proteínas con RNA .....	24
4.8 Dinámicas moleculares de las proteínas con RNA .....	25
4.9 Cálculo de Potencial Electroestático .....	25
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	27
5.1 Polimerasa Ácida .....	29
5.2 Polimerasa Básica 1 .....	40
5.3 Polimerasa Básica 2 .....	43
5.4 Nucleoproteína .....	48
6. PROYECCIONES .....	67
7. CONCLUSIONES .....	67
8. REFERENCIAS .....	69
9. ANEXOS .....	75
9.1 Anexo 1 (Secuencia aminoacídica de PA) .....	75
9.2 Anexo 2 (Secuencia aminoacídica de PB1) .....	75
9.3 Anexo 3 (Secuencia aminoacídica de PB2) .....	76
9.4 Anexo 4 (Secuencia aminoacídica de NP) .....	76

9.5 Anexo 5 (Extremo Amino-terminal de PA) .....	77
9.6 Anexo 6 (Extremo Carboxilo-terminal de PA) .....	78
9.7 Anexo 7 (Extremo Amino-terminal de PB1) .....	79
9.8 Anexo 8 (Extremo Carboxilo-terminal de PB1) .....	80
9.9 Anexo 9 (Extremo Amino-terminal de PB2) .....	81
9.10 Anexo 10 (Unión a CAP de PB2) .....	82
9.11 Anexo 11 (Extremo Carboxilo-terminal de PB2) .....	83
9.12 Anexo 12 (Nucleoproteína) .....	84
9.13 Congresos .....	86

### III. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Gráfica de la producción de salmón Atlántico en Chile entre el año 1991 y 2009 .....	9
Figura 2. Esquema del patrón de expresión del virus ISA .....	11
Figura 3. Esquema del complejo Ribonucleoproteico de Influenza .....	13
Figura 4. Gráfico tipo Anolea .....	13
Figura 5. Gráficos tipo Prosa .....	13
Ecuación 1. Ecuación de Autodock .....	24
Ecuación 2. Ecuación de campo de fuerza .....	25
Ecuación 3. Ecuación de Poisson-Boltzmann .....	26
Figura 6. Predicción de estructura secundaria del alineamiento de las subunidades PA de la familia <i>Orthomyxoviridae</i> .....	30
Figura 7. Extremo amino terminal de la subunidad PA .....	31
Figura 8. Esquema estructura secundaria amino terminal de PA .....	32
Figura 9. Residuos involucrados en la coordinación con el cofactor de la región endonucleasa de PA .....	33
Figura 10. Alineamiento del extremo amino terminal de PA .....	33
Figura 11. Extremo carboxilo terminal de la subunidad PA .....	34
Figura 12. Esquema estructura secundaria carboxilo terminal de PA .....	35
Figura 13. Acoplamiento molecular del extremo amino terminal de PA de Influenzavirus e ISAV con moléculas de RNA de distintos largos .....	36
Figura 14. Potencial electrostático del dominio endonucleasa de PA .....	36
Figura 15. Alineamiento del extremo amino terminal de PA .....	38
Figura 16. Identificación de residuos involucrados en la interacción de PA con una molécula de RNA .....	38
Tabla 1. Energías del acoplamiento amino terminal de PA con RNA .....	39
Tabla 2. Energías del ligando en acoplamiento amino terminal de PA con RNA .....	39
Figura 17. Predicción de estructura secundaria del alineamiento de las subunidades PB1 de la familia <i>Orthomyxoviridae</i> .....	41
Figura 18. Extremo amino terminal de la subunidad PB1 .....	42
Figura 19. Esquema estructura secundaria amino terminal de PB1 .....	42
Figura 20. Extremo carboxilo terminal de la subunidad PB1 .....	42
Figura 21. Esquema estructura secundaria carboxilo terminal de PB1 .....	42

Figura 22. Predicción de estructura secundaria del alineamiento de las subunidades PB2 de la familia <i>Orthomixoviridae</i> .....	43
Figura 23. Extremo amino terminal de la subunidad PB2 .....	44
Figura 24. Esquema estructura secundaria amino terminal de PB2.....	44
Figura 25. Sitio de unión al cap celular de la subunidad PB2 .....	46
Figura 26. Esquema estructura secundaria del sitio de unión a cap de PB2 .....	46
Figura 27. Extremo carboxilo terminal de la subunidad PB2.....	47
Figura 28. Esquema estructura secundaria carboxilo terminal de PB2.....	47
Figura 29. Predicción de estructura secundaria del alineamiento de las subunidades NP de la familia <i>Orthomixoviridae</i> .....	49
Figura 30. Cristales de Nucleoproteína de Influenzavirus A .....	50
Figura 31. Comparación del modelo de NP de ISAV con una NP de Influenza.....	51
Figura 32. Esquema estructura secundaria de NP .....	51
Figura 33. Potencial electrostático de ambas NP .....	52
Figura 34. Acoplamiento molecular de NP con RNAs de distintos largos .....	54
Figura 35. Residuos involucrados en la interacción con RNA.....	55
Figura 36. Alineamiento sitio de unión a RNA de NP de Influenza e ISAV .....	55
Tabla 3. Energías del acoplamiento de NP con RNA .....	56
Tabla 4. Energías del ligando en acoplamiento de NP con RNA.....	56
Figura 37. Cristal 2WFS.....	58
Figura 38. Dinámicas moleculares de 10 ns con 3 subunidades de Nucleoproteínas y un RNA de 50 nucleótidos .....	59
Figura 39. Interacción del lazo de NP con la NP adyacente en Influenza.....	61
Figura 40. Interacción del lazo de NP con la NP adyacente en ISAV .....	61
Figura 41. Alineamiento de la zona involucrada en la interacción NP-NP .....	62
Figura 42 Mapa de densidades del complejo Ribonucleoproteico de Influenzavirus, acomodando los modelos tridimensionales de ISAV en él.....	63
Tabla 5. RMSD de plantillas con modelos.....	42