

IDENTIFICACIÓN DE DOMINIO(S) CATALÍTICO(S) A PARTIR DEL ANÁLISIS DE ESTRUCTURAL DE LAS ENZIMAS CON ACTIVIDAD TELURITO REDUCTASA

WLADIMIR ANDRÉS MORALES CARRASCO
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA

RESUMEN

El telurio (Te) es un metaloide perteneciente al grupo VI A de la tabla periódica, es un elemento escaso en la naturaleza (0,002 ppm), y en su estado elemental (Te₀) no presenta riesgo biológico. Sin embargo, los oxianiones de Te son extremadamente tóxicos a muy bajas concentraciones (nM) para la gran mayoría de los organismos, especialmente el telurito (TeO₃²⁻). En la actualidad, la gran aplicabilidad biotecnológica de este metaloide, han impulsado un renovado interés en dilucidar los mecanismos de toxicidad y resistencia, que este compuesto genera en distintos microorganismos. Actualmente, la resistencia bacteriana a TeO₃²⁻ es un fenómeno que aparentemente no estaría relacionado a productos génicos específicos, sino más bien corresponde a una respuesta multifactorial. Sin embargo, se ha observado que bacterias sensibles o resistentes a este compuesto son capaces de reducir enzimáticamente el telurito a Te₀, postulando a este mecanismo bacteriano, como el responsable de mitigar en parte la toxicidad de este oxianión. Actualmente, se desconoce el mecanismo molecular (dominios y/o aminoácidos) por el cual las proteínas con actividad telurito reductasa (TelR) son capaces de llevar esta función.

Los resultados obtenidos sugieren que la actividad TelR estaría relacionada a la presencia de algunos dominios estructurales comunes, identificado en la base de datos PFAM ID: PF0070 o PF07992, perteneciente a las flavoproteínas. La extrapolación de estos dominios permitió identificar otras 8 proteínas con actividad telurito reductasa, análoga a la actividad biológica descrita en E. coli. Los antecedentes recopilados de la comparación lineal y estructural de las enzimas con actividad TelR, sugieren que los aminoácidos que reducen telurito directamente son las cisteínas. Al evaluar la información estructural de las enzimas con mayor actividad TelR, ellas poseen un puente disulfuro redox, conocidos por los siguientes motivos CxxC y CxxxxC. La reducción de telurito en las flavoproteínas proviene aparentemente por la transferencia de electrones desde el sustrato del NAD(P)H al cofactor FAD, esta molécula reducida se encargaría de romper el puente disulfuro, mencionado anteriormente, activando los tioles de las cisteínas, y estas últimas, se encargarían de reducir telurito a telurio elemental de forma más eficiente.

ABSTRACT

Tellurium (Te) is a metalloid that belongs to the group VIA of the periodic table, is scarce in nature (0,002 ppm). The elemental tellurium (Te⁰) do not present biological hazard, however the oxyanions of tellurite are extremely toxic at very low concentrations (nM) for most organisms, especially tellurite (TeO₃²⁻). At the present time, the wide applicability of tellurite and their potential applications in biotechnology has renewed interest in this metalloid. Furthermore, the bacterial resistance to TeO₃²⁻

is a phenomenon that does not appear to be related to specific gene products, but corresponds to response multifactorial. However, it has been observed that sensitive as resistant bacteria to this compound are able of reducing tellurite to Te⁰, postulating this mechanism like parcial responsible for mitigate toxicity of this oxianión. To the date, in proteins with tellurite reductase activity (TelR) are not know what domains and / or amino acids are involved in the molecular mechanism of reduction.

The results obtained in this thesis suggest that the activity TelR would be related to the presence of certain common structural domains, identified in the PFAM database with domains ID PF00070 or PF07992, belonging to the domain the family the flavoprotein. The extrapolation and search this domain in protein of E. coli, allowed identify 8 new protein with activity TelR. Also, the result the lineal and structural comparison of these enzymes suggest that amino acids of cysteines reduce directly tellurite. This activity occurs by disulfide bond redox with a conserved CXXXC and CxxC motif. The reduction of tellurite by flavoprotein, it is come apparent for the transference of electrons from substrate NAD(P)H to cofactors FAD. This reduced molecule breaking the disulfide bond, generating the activation of group tiol from cisteines, and these reducing efficiently tellurite to elemental tellurium.