

# CONTENIDO

1.	INTRODUCCIÓN.....	8
1.1	Proteínas cotransportadoras y su importancia: Familia SLC5.....	8
1.2	Transportador SMCT1: Estructura y Función.....	11
1.3	Unión de monocarboxilatos: Nicotinato y compuestos relacionados.....	13
1.4	Mutaciones que afectan la unión a sustratos en SMCT1.....	15
1.5	Planteamiento de investigación.....	17
2.	HIPÓTESIS.....	18
3.	OBJETIVOS.....	18
3.1	OBJETIVO GENERAL.....	18
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	18
4.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	19
	<b>4.1. Modelado de la proteína SMCT1 sobre la base de una estructura templado actualizada. Relativo al objetivo específico 1.</b> .....	19
4.1.1.	Modelado por homología de SMCT1 .....	20
4.1.2	Evaluación de la calidad del Modelo de SMCT1. ....	22
4.1.3	Comparación entre el modelo de SMCT1/MODELLER y SMCT1/ALPHAFOLD... ¡Error! Marcador no definido.	
	<b>4.2. Estudios de acoplamiento molecular para SMCT1 interactuando con nicotinato y compuestos relacionados. Relativo al objetivo específico 2.</b> .....	22
4.2.1.	Obtención de la estructura de nicotinato y compuestos relacionados.....	23
4.2.2.	Caracterización fisicoquímica de los compuestos. ....	24
4.2.3	Acoplamiento molecular de los compuestos ( <i>Docking</i> ). ....	24
4.2.4	Selección de compuestos para la caracterización de los sistemas proteína:ligando. ....	25
	<b>4.3 Identificación de residuos claves en la interacción de SMCT1 con nicotinato y compuestos relacionados. Relativo al objetivo específico 3.</b> .....	26
	<b>4.4. Estudios de simulación molecular de la asociación de compuestos de diversa afinidad con SMCT1. Relativo al objetivo específico 4.</b> .....	26
4.4.1	Simulación de dinámica molecular. ....	27
4.4.2	Construcción de los sistemas para simulaciones de dinámica molecular. ....	28
4.4.3	Construcción de la mutante T91G. ....	28
4.4.4	Implementación para simulaciones de dinámica molecular. ....	29
	<b>4.5. Evaluación de la unión de nicotinato con SMCT1 wildtype y bajo la mutación T91G. Relativo al objetivo específico 5.</b> .....	30

4.5.1	Análisis de RMSD.....	30
4.5.2	Alineamientos estructurales de los sitios de unión a ligando.....	31
4.5.3	Análisis de distancias entre el ligando, residuos putativos y átomos específicos. ....	31
<b>5.1</b>	<b>Modelado de la proteína SMCT1 sobre la base de una estructura templado actualizada.....</b>	<b>32</b>
5.1.1	Modelado por homología de SMCT1 .....	32
4.1.2	Evaluación de la calidad del Modelo de SMCT1. ....	33
<b>5.2</b>	<b>Estudios de acoplamiento molecular para SMCT1 interactuando con nicotinato y compuestos relacionados. ....</b>	<b>36</b>
5.2.1	Verificación de estructuras para ligandos.....	36
5.2.2	Estudios de acoplamiento molecular.....	37
<b>5.3</b>	<b>Identificación de residuos clave en la interacción de SMCT1 con nicotinato y compuestos relacionados. ....</b>	<b>41</b>
<b>5.4</b>	<b>Estudios de simulación molecular de la asociación de compuestos de diversa afinidad con SMCT1.....</b>	<b>42</b>
5.4.1	Comparación entre sistemas SMT1:Nicotinato / SMTC1:Metilnicotinato. ....	42
5.4.2	Comparación entre sistemas SMT1_WT:Nicotinato / SMTC1_T91G:Nicotinato.....	48
<b>5.5</b>	<b>Evaluación de la unión de nicotinato con SMCT1 wild type y bajo la mutación T91G. ....</b>	<b>50</b>
6.	CONCLUSIONES.....	52
7.	REFERENCIAS.....	54
8.	ANEXOS .....	58

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Árbol filogenético de la familia de transportadores dependientes de sodio SLC5. ....	10
<b>Figura 2.</b> Modelo tridimensional por homología del transportador SMCT1. ....	12
<b>Figura 3.</b> Estructura de nicotinato y compuestos relacionados. ....	14
<b>Figura 4.</b> Transporte de nicotinato y compuestos estructuralmente relacionados mediado por SMCT1 humano.....	15
<b>Figura 5.</b> Transporte de nicotinato mediado por SMCT1 WT y mutado. ....	16
<b>Figura 6.</b> Análisis de predicción de estructura secundaria (PSIPRED) y segmentos transmembranales (TOPCONS) para SMCT1.....	21
<b>Figura 7.</b> Recaptación de nicotinato con radio marcaje de carbono 14 en presencia de nicotinato sin radio marcaje, análogos estructurales de nicotinato y monocarboxilatos.....	23
<b>Figura 8.</b> Ecuación de la función de energía potencial utilizada para aproximar fuerzas atómicas que gobiernan el movimiento molecular.....	28
<b>Figura 9.</b> Modelo molecular de la estructura del transportador SMCT1.....	34
<b>Figura 10.</b> La predicción muestra que los residuos que componen el sitio putativo de unión a ligando poseen puntajes por sobre los 0.7 de <i>score</i> ProQM.....	35
<b>Figura 11.</b> Gráfico de Ramachandran.....	36
<b>Figura 12:</b> Alineamiento estructural generado a partir del servidor TM-Align.....	37
<b>Figura 13.(A)</b> Población de los estados de protonación para cada compuesto estudiado.....	38
<b>Figura 13.(B)</b> Gráfico de las curvas del coeficiente de distribución en el rango de pH 1 a 8.....	39
<b>Figura 14.</b> Confórmeros de menor energía generados para nicotinato y metilnicotinato.....	42
<b>Figura 15.</b> Resumen de la búsqueda de residuos consenso entre los 15 compuestos.....	43
<b>Figura 16.</b> Simulación de dinámica molecular para nicotinato en sistema wild type.....	44
<b>Figura 17.</b> Simulación de dinámica molecular para metilnicotinato en el sistema SMCT1 wild type.....	46
<b>Figura 18.</b> Gráfico de frecuencia en los 45 ns finales de simulación de dinámica molecular para nicotinato y metilnicotinato interactuando con el sistema SMCT1 wild type.....	45
<b>Figura 19.</b> Simulación de dinámica molecular nicotinato en el sistema SMCT1 wild type.....	48
<b>Figura 20.</b> Simulación de dinámica molecular metilnicotinato en el sistema SMCT1 wild type.....	49
<b>Figura 21.</b> Simulación de dinámica molecular nicotinato en el sistema SMCT1 mutación T91G.....	51
<b>Figura 22.</b> Comparación de distancias, RMSD en sistemas SMCT1 wild type y con la mutación T91G.....	52
<b>Figura 23.</b> Comparación estructural sistemas SMCT1 wild type y con la mutación T91G.....	53

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Ranking de los 15 compuestos estudiados empleando el método de puntuación Glide XP. .....	<b>39</b>
--	-----------