

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Página
ÍNDICE DE CONTENIDOS	i
ÍNDICE DE TABLAS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	iv
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUCCIÓN	1
1 Relevancia del estudio estructural de la Alcohol Acil Transferasa asociada a la biosíntesis de compuestos volátiles en <i>Vasconcellea pubescens</i>	1
2 El fruto de <i>Vasconcellea pubescens</i> y el proceso de maduración climatérica	3
2.1 El fruto de <i>Vasconcellea pubescens</i> como modelo de estudio	4
2.2 El proceso de maduración climatérica	5
3 Biosíntesis de ésteres: acción catalítica de las enzimas Alcohol Acil Transferasas.	6
3.1 Alcohol Acil Transferasas y su actividad en frutos.	8
4 Métodos Computacionales de Modelado Molecular y Selectividad de la Interacción Proteína-Ligando “Docking”	9
4.1 Modelado de proteínas homólogas	10
4.2 Minimización de energía	14
4.3 Dinámica molecular	16
4.4 Acoplamiento Proteína-Ligando o “Docking”	18
HIPÓTESIS	20
OBJETIVO GENERAL	21
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21

	Página
MATERIALES Y MÉTODOS	22
1 ANÁLISIS DE SECUENCIA	22
2 MODELADO POR HOMOLOGÍA DE LA ENZIMA VpAAT1	23
3 DINÁMICA MOLECULAR Y RELAJACIÓN DEL SISTEMA	25
3.1 Descripción del Sistema	25
4 INTERACCIÓN PROTEÍNA-LIGANDO “DOCKING”	27
5 MUTACIÓN DE LA HIS166 POR ALA	30
RESULTADOS	32
1 ANÁLISIS DE SECUENCIA	32
1.1. Obtención Estructura Secundaria	34
2 MODELADO POR HOMOLOGÍA DE LA ENZIMA VpAAT1	35
3 INTERACCIÓN PROTEÍNA-LIGANDO “DOCKING”	43
4 INTERACCIÓN PROTEÍNA MUTADA-LIGANDO MEDIANTE “DOCKING”	51
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIÓN	63
TRABAJOS FUTUROS	65
BIBLIOGRAFÍA	66
ANEXOS	75
1 PRESENTACIONES A CONGRESOS	75
1.1 Título y autores de la presentación en la XXXI Reunión Anual Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular de Chile.	75
1.2 Título y autores de la presentación en la III Reunión Anual Biología Vegetal.	75
1.3 Título y autores de la presentación en la I Congreso Estudiantes de Bioinformática.	75
2 IMÁGENES DEL MODELO ESTRUCTURAL DE VpAAT1	76

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1: Sustratos y sus estructuras.	28
TABLA 2: Sustratos utilizados en las simulaciones de Docking más los esteres producidos.	29
TABLA 3: Comparación de secuencias aciltransferasas pertenecientes a la familia BAHD, incluyendo la secuencia de VpAAT1	34
TABLA 4: Energías de Interacción	44
TABLA 5: Valores de actividad y energía de Interacción (1).	47
TABLA 6: Valores de actividad y energía de Interacción (2).	49
TABLA 7: Valores de actividad y energía de Interacción (3).	51
TABLA 8: Diferencias entre la energía libre de interacción de la enzima silvestre y la mutante (1).	53
TABLA 9: Diferencias entre la energía libre de interacción de la enzima silvestre y la mutante (2).	54

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1: Exportaciones Sector Agropecuario.	1
FIGURA 2: Exportaciones Chilenas de fruta fresca (2006).	1
FIGURA 3: Formas de Comercialización de la papaya Chilena.	3
FIGURA 4: Fruto de <i>Vasconcellea pubescens</i> .	4
FIGURA 5: Etapas de desarrollo del fruto de <i>Vasconcellea pubescens</i> .	4
FIGURA 6: Esquema de reacción para la formación de ésteres.	7
FIGURA 7: Pasos de un modelo por Homología.	14
FIGURA 8: Energía potencial de un sistema en dos y tres dimensiones.	15
FIGURA 9: Métodos de minimización.	16
FIGURA 10: Condiciones periódicas de borde en dos dimensiones.	18
FIGURA 11: Energía de Interacción.	18
FIGURA 12: Descripción de las etapas e input usados por <i>MODELLER</i> .	24
FIGURA 13: Estados de Protonación de la Histidina.	27
FIGURA 14: Construcción de un sistema en Dinámica Molecular.	27
FIGURA 15: Estrategia de Docking.	29
FIGURA 16: Alineamiento múltiple de secuencias aciltransferasas pertenecientes a la familia BAHD, incluyendo la secuencia de VpAAT1.	32
FIGURA 17: Relación filogenética de secuencias aciltransferasas pertenecientes a la familia BAHD, incluyendo la secuencia de VpAAT1.	33
FIGURA 18: Predicción Estructura Secundaria de VpAAT1.	35

FIGURA 19:	Tabla de resultados arrojados por el programa PSIPRED.	36
FIGURA 20:	Alineamiento entre VpAAT1 y 2BGH.	37
FIGURA 21:	Modelo estructural de la enzima VpAAT1.	38
FIGURA 22:	Ubicación de Canal de solvente en la enzima.	38
FIGURA 23:	Acercamiento al sitio Activo de la enzima VpAAT1.	39
FIGURA 24:	Alineamiento estructural con acercamiento al sitio activo.	39
FIGURA 25:	Resultado análisis con PROCHECK.	40
FIGURA 26:	Resultado 1 del análisis con ProSA.	41
FIGURA 27:	Resultado 2 del análisis con ProSA.	41
FIGURA 28:	Resultado del análisis con Verify3D.	42
FIGURA 29:	Resultado del análisis con ANOLEA.	43
FIGURA 30:	Mejores conformaciones de sustratos Alcoholes.	44
FIGURA 31:	Acetil-CoA dentro del canal de solvente de la enzima.	45
FIGURA 32:	Mejores conformaciones de sustratos AcilCoAs.	46
FIGURA 33:	Mejores conformaciones de Acetil-CoA con Etanol y Bencil Alcohol.	47
FIGURA 34:	Relación entre Actividad v/s Energía de Interacción (1).	48
FIGURA 35:	Mejores conformaciones.	49
FIGURA 36:	Relación entre Actividad v/s Energía de Interacción (2).	50
FIGURA 37:	Mejores conformaciones de Acetil-CoA con Hexanol y Hexnoil-CoA con Etanol.	50
FIGURA 38:	Relación entre Actividad v/s Energía de Interacción (3).	51

FIGURA 39:	Alineamiento estructural enzima silvestre v/s enzima mutante H166A.	52
FIGURA 40:	Diferencias entre la energía libre de interacción de la enzima silvestre y la mutante.	53
FIGURA 41:	Diferencias entre la energía libre de interacción de la enzima silvestre y la mutante.	54
FIGURA 42:	Posición del residuo T255 en el modelo estructural de VpAAT1.	56
FIGURA 43:	Energía de Interacción.	59
FIGURA 44:	Canal de solvente vista frontal.	76
FIGURA 45:	Acercamiento al sitio activo de la enzima.	76
FIGURA 46:	Proteína embebida en agua y contraíones.	76