



## CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA PROTEÍNA ALCOHOL ACIL TRANSFERASA ASOCIADA A LA BIOSÍNTESIS DE COMPUESTOS VOLÁTILES EN *VASCONCELLEA PUBESCENS*

LUIS ALBERTO MORALES QUINTANA  
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA

### RESUMEN

El aroma de los frutos es un importante atributo de calidad que influye en la aceptación del consumidor, es un carácter complejo, determinado por un conjunto de compuestos volátiles de bajo peso molecular. En *Vasconcellea pubescens* (papaya cultivada en Chile) el aroma del frutos es atribuido principalmente a ésteres de bajo peso molecular, los cuales son producidos mediante reacciones de esterificación entre alcoholes y acil CoAs catalizadas por la enzima Alcohol Acil Transferasa (VpAAT1). Con el objeto de aumentar nuestro entendimiento acerca de la producción de aroma durante el proceso de maduración del fruto *V. pubescens*, se realizó un estudio de los mecanismos moleculares de la VpAAT1, mediante la técnica de modelamiento comparativo, construyendo la estructura tridimensional de la enzima la cual fue validada y refinada mediante dinámica molecular. El modelo resultante mostró que la proteína está formada por 15 hojas  $\beta$ , 11  $\alpha$  hélices y 4 hélices denominadas Hélices 310. El sitio activo de la proteína es el segmento HTMSD y se encuentra en un loop entre la hoja  $\beta$  7 y la  $\alpha$  hélice 5. La dinámica molecular de 2ns mostró que la H166 y D170 forman parte del sitio activo, orientando sus cadenas laterales hacia un canal de solvente presente en el centro de la enzima, permitiendo una interacción directa entre estos residuos con acil-CoA y alcohol. Por docking molecular se exploraron las diversas posibilidades de interacción entre la proteína y sus dos ligandos. Para la interacción con alcoholes y acil CoAs se sugiere la conformación más estable del complejo formado por estas tres moléculas de forma de reproducir el posible mecanismo catalítico de la enzima. Al mutar la H166 por Alanina, se determinó la importancia del residuo de Histidina dentro de la actividad catalítica de la enzima, lo cual reflejó diferencias importantes en los valores energéticos de la enzima silvestre versus la mutante, siendo más estable la proteína silvestre. De esta manera, el modelo sugiere el mecanismo de acción de la enzima VpAAT1.

## ABSTRACT

The aroma in fruits is an important attribute of quality that influences the consumer's acceptance, which is a complex character, determined by a set of low molecular weight volatile compounds. In *Vasconcellea pubescens* the aroma is formed mainly by esters, which are produced through an esterification reaction between alcohols and acyl-CoAs catalyzed by the enzyme acyl alcohol transferase (VpAAT). For the purpose of increasing our understanding about the production of aroma during the process of fruit maturation of *V. pubescens*, a study of the molecular mechanisms of the VpAAT1 was carried out. The comparative modeling methodology was used to build the enzyme structure, which was validated and refined with molecular dynamics simulation. The resulting model showed that the protein structure is composed of 15  $\beta$  sheets and 14  $\alpha$  helix, the protein's active site is the segment HTMSD and located in a loop between the sheet 7 and the helix 5. The molecular dynamic simulation of 2 ns showed that the residue H166 and D170 is part of the active site and exposed to the solvent channel, allowing the interaction with the substrates. Additionally, we explored the possibilities of interaction of a set of putative substrates with the AAT protein using molecular docking simulation. For the interaction with alcohols and Acyl-CoA, our results suggest that the stable conformation of the complex formed by these three molecules is produced binding first Acyl-CoA to protein, and as a result of the conformational changes produced by the Acyl-CoA would enter the alcohol into the solvent channel. When the H166 residue was mutated to Alanine, it was determined the importance of Histidine's residue within the catalytic activity of the enzyme, which showed important differences in the energetic values of the normal enzyme versus the mutant, being more stable the normal protein. The model allowed us to clarify the enzymatic mechanism of VpAAT1. Palabras Claves: *Vasconcellea pubescens*, Aroma, Modelos por Homología, Docking, Dinámica Molecular.