

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS.....	4
ÍNDICE DE TABLAS.....	5
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	5
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
1. INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 La 6-fosfogluconato deshidrogenasa en las vías centrales: función e importancia celular.....	9
1.2 Enzimología estructural de 6-fosfogluconato deshidrogenasas.....	11
1.3 La 6-fosfogluconato deshidrogenasa de <i>Escherichia coli</i> en el contexto evolutivo.....	18
1.4 Hipótesis y objetivos.....	20
2. METODOLOGÍA.....	22
2.1 Análisis filogenético.....	22
2.1.1 Búsqueda de homólogos de <i>Ec6PGDH</i>	22
2.1.2 Superposición estructural.....	22
2.1.3 Alineamiento de secuencias contra perfil.....	23
2.1.4 Curación del alineamiento múltiple.....	23
2.1.5 Construcción de los árboles filogenéticos.....	24
2.2 Análisis de residuos conservados.....	25
2.3 Análisis de módulos centrípetos.....	26
2.4 Dinámica molecular.....	27
2.4.1 Herramientas.....	27
2.4.2 Análisis.....	30
2.4.3 Parámetros.....	31
2.4.4 Protocolo de equilibrado.....	31
3. RESULTADOS.....	32
3.1 Análisis filogenético de la <i>Ec6PGDH</i>	32
3.1.1 Búsqueda de homólogos a <i>Ec6PGDH</i>	32
3.1.2 Alineamiento de secuencias contra perfil.....	33
3.1.3 Construcción del árbol filogenético bayesiano.....	34
3.2 Análisis de residuos conservados.....	37
3.3 Módulos centrípetos de la <i>Ec6PGDH</i> y <i>Hs6PGDH</i>	39

3.4 Topologías y parámetros estructurales para los sistemas de simulación molecular.....	39
3.5 Construcción de los sistemas silvestres con ligandos en el sitio activo.....	41
3.6 Dinámicas moleculares de los sistemas de proteínas silvestres.....	41
3.6.1 Estabilidad conformacional de la proteína.....	41
3.6.2 Puentes de hidrógeno.....	42
3.6.3 Energía libre de unión.....	44
3.7 Dinámicas moleculares de mutantes triples.....	45
3.8 Dinámicas moleculares de los sistemas mutantes.....	45
3.8.1 Estabilidad conformacional de la proteína.....	45
3.8.2 Puentes de hidrógeno.....	46
3.8.3 Energía libre de unión.....	48
4. DISCUSIÓN.....	49
4.1 Análisis filogenético de la <i>Ec6PGDH</i>	49
4.2 Residuos conservados de la <i>Ec6PGDH</i>	50
4.3 Módulos centrípetos de la <i>Ec6PGDH</i>	51
4.4 Dinámica molecular.....	52
4.4.1 Interacciones con el cofactor NADP.....	52
4.4.2 Interacciones con el cofactor NAD.....	54
5. CONCLUSIONES.....	55
6. REFERENCIAS.....	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. 6PGDHs con estructura conocida.....	12
Tabla 2. Datos cinéticos de 6PGDHs de diversos organismos.....	17
Tabla 3. Mutantes propuestas para la <i>Ec6PGDH</i>	45

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Fórmula para el cálculo del RMSD implementada en el algoritmo de STAMP1.2	23
Ecuación 2. Fórmula del Teorema de Bayes.....	24
Ecuación 3. Función centrípeta.....	27
Ecuación 4. Ecuación del movimiento de Newton y ecuación del campo de fuerza.....	28

Ecuación 5. Cálculo de la energía libre de unión	31
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de los dinucleótidos de nicotinamida y adenina NAD(P).....	9
Figura 2. Datos cinéticos de 6PGDHs de diversos organismos	10
Figura 3. Reacción catalizada por la 6PGDH de <i>Escherichia coli</i>	11
Figura 4. Representación de la estructura secundaria en 6PGDH de <i>Escherichia coli</i>	13
Figura 5. Interacciones entre <i>Ec</i> 6PGDH y el extremo carboxilato del 6PG	14
Figura 6. Interacciones entre <i>Ec</i> 6PGDH y los hidroxilos centrales del 6PG.	14
Figura 7. Interacciones entre <i>Ec</i> 6PGDH y el extremo fosfato del 6PG.	15
Figura 8. Interacciones entre <i>Ec</i> 6PGDH y el cofactor ATR.	16
Figura 9. Interacciones entre <i>Ll</i> 6PGDH y la región Ribosa-Nicotinamida del cofactor NADP.	16
Figura 10. Estructura general de los β -hidroxiácidos.....	19
Figura 11. Reacción enzimática de HIBADH	19
Figura 12. Árbol filogenético para las secuencias del dominio SH2 construido mediante el método <i>PILEUP</i>	25
Figura 13. Diagrama de la metodología para el análisis de residuos conservados.....	26
Figura 14. Módulos centrípetos del monómero de la fosfofructoquinasa-2.....	26
Figura 15. Representación de un sistema molecular utilizando PBC.....	29
Figura 16. Representación de la distancia a las que serán consideradas las interacciones no enlazantes con respecto a la distancia máxima	29
Figura 17. Árbol de RMSD	34
Figura 18. Fragmento del alineamiento múltiple	35
Figura 19. Árbol filogenético bayesiano de 6PGDH	36
Figura 20. Análisis de los residuos conservados en 6PGDH.	38
Figura 21. Análisis de módulos centrípetos.	40
Figura 22. Gráficos RMSD de los sistemas silvestres.....	42
Figura 23. Puentes de hidrógeno de los sistemas silvestres	43
Figura 24. Cálculo de la energía libre de unión de los sistemas silvestres.....	44
Figura 25. Gráficos RMSD de los sistemas mutantes	46
Figura 26. Puentes de hidrógeno de los sistemas mutantes.....	47
Figura 27. Cálculo de la energía libre de unión de los sistemas mutantes	48