

“ESTUDIO DEL RESIDUO SERINA 370 EN EL MECANISMO DE REACCIÓN DE LA ENZIMA ALCOHOL ACILTRANSFERASA DE *Vasconcellea pubescens*”

**MARYELA OFELIA SAENS TRONCOSO
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

RESUMEN

La papaya de montaña (*Vasconcellea pubescens*) es un fruto climatérico que desarrolla un fuerte y característico aroma, el cual está determinado principalmente por ésteres que son producidos a partir de alcoholes y acil-CoA mediante una reacción de esterificación catalizada por la enzima Alcohol aciltransferasa (VpAAT1). Recientemente, estudios sobre la estructura de la enzima VpAAT1 mostraron que ésta posee un canal de solvente en el centro de la estructura, en el cual se encuentran dispuestos los residuos H166 y D170, miembros del motivo HxxxD descrito como el motivo catalítico de la enzima. Adicionalmente, estudios realizados en la enzima Alcohol aciltransferasa de melón (CmAAT1), la cual está filogenéticamente relacionada a VpAAT1 han mostrado que la presencia de un residuo de serina en la posición 363 (S370 en VpAAT1) sería importante para la actividad de la enzima, siendo la primera evidencia del rol de este residuo parcialmente conservado. Sin embargo, no se ha descrito hasta ahora algún rol en el mecanismo de formación de ésteres de este residuo en la enzima VpAAT1. Por lo tanto, para entender y evaluar un posible rol de este residuo en la actividad catalítica de la enzima VpAAT1 y a fin de incrementar el entendimiento en el proceso de formación de ésteres en papaya de montaña se realizaron estudios *in silico* de la mutación S370 por alanina y treonina. Posteriormente se llevaron a cabo estudios de acoplamiento molecular, dinámica molecular y MM-GBSA caracterizando a nivel atómico las propiedades estructurales e interacciones específicas que determinan la afinidad de la proteína nativa y las mutantes en presencia de los sustratos Bencil alcohol, Butanol, Cinamil Alcohol, Etanol, Acetil-CoA, Hexanoil-CoA. La interacción enzima-sustratos mostró que las energías de afinidad fueron menos favorables para las enzimas mutantes evidenciando que las sustituciones afectaron la interacción de la enzima por los sustratos. Mediante Dinámica Molecular se exploró el comportamiento de los sustratos con las enzimas mutantes evidenciando que las sustituciones realizadas estarían interfiriendo en la interacción directa de los

sustratos con los residuos del sitio activo. Finalmente los resultados obtenidos mediante MM-GBSA se correlacionan con los datos anteriormente reportados.

ABSTRACT

Mountain papaya (*Vasconcellea pubescens*) is a climacteric fruit which develop a strong and characteristic aroma mainly determined by esters. These esters are produced from alcohol and acyl-CoA via an esterification reaction catalyzed by the enzyme alcohol acyltransferase (VpAAT1). Recently, studies on the structure of the enzyme VpAAT1 showed that has a channel in the center of the structure. In this channel the catalytic residues H166 and D170 are located. Additionally, studies of the enzyme Alcohol acyltransferase (CmAAT1) from melon, which is phylogenetically related to VpAAT1 have shown that the presence of a serine residue at position 363 (S370 in VpAAT1) which is important for the enzyme activity, being the first evidence of the role of this residue partially preserved. However, a role in the mechanism of ester formation of this residue in the enzyme VpAAT1 has not been described so far. Therefore, this study aims to understand and evaluate a potential role of this residue in the catalytic activity of the enzyme and to increase the VpAAT1 understanding on the esters formation. In silico mutation of S370 for alanine and threonine were performed as well as molecular docking, molecular dynamics and MM-GBSA atomic level to characterize the structural properties and specific interactions which determine the affinity of the native and mutant protein in the presence of substrates Benzyl alcohol Butanol, cinnamyl alcohol, ethanol, acetyl-CoA, hexanoyl-CoA. Enzyme-substrate interaction showed that the interaction energies were less favorable for the mutant enzymes showing that substitutions affected the interaction of the enzyme substrates. Using Molecular Dynamics explored the behavior of the substrates in the mutant enzymes showing that substitutions made would be interfering with the direct interaction of the substrates with the active site residues. Finally the results obtained by MM-GBSA correlate with previously reported data.