

---

**CAMBIOS CONFORMACIONALES EN PROTEÍNAS TRANSPORTADORAS DE MEMBRANA DEFINIDOS POR REPETICIONES DE TOPOLOGÍA INVERTIDA**

**MARIELA AMPARO GONZÁLEZ AVENDAÑO**  
**INGENIERO CIVIL EN BIOINFORMÁTICA**

**RESUMEN**

Los transportadores activos secundarios son proteínas transmembranales que median el paso de una amplia gama de solutos a través de la membrana lipídica. El proceso de transporte se basa en un mecanismo de acceso alternado que alcanza al menos tres estados distintivos: una conformación orientada al medio interno, otra conformación intermedia ocluida y una conformación orientada al medio externo. Pese a estos tres posibles estados conformacionales, las proteínas transportadoras tienden a cristalizar en un solo estado. El protocolo denominado "modelado por homología usando repeticiones de intercambio" permite actualmente estimar la conformación opuesta de un transportador usando como templado su conformación inversa. En el presente estudio se utilizó este protocolo para modelar el transportador de nitrato NRT1.1 de *Arabidopsis thaliana* perteneciente a la familia NPF en una conformación orientada hacia el medio externo. Posteriormente, sobre la base de la estructura cristalográfica de NRT1.1 y el modelo generado en una conformación inversa, se construyeron modelos comparativos de tres simportadores de H<sup>+</sup>/glucosinolato (GTR1, GTR2 y GTR3). A través de un análisis estructural de estas proteínas se logró identificar elementos claves para el transporte de nutrientes en proteínas transportadoras de plantas. Adicionalmente, se identificaron residuos implicados en la especificidad y translocación de sustratos. Los resultados obtenidos a lo largo de esta investigación sugieren un sitio de unión a glucosinolatos dependiente de su cadena lateral y predicen mutaciones claves para un transporte selectivo de nutrientes.

## ABSTRACT

Secondary active transporters are transmembrane proteins that allow the passage of a wide range of solutes across the lipid membrane. The transport process is based on an alternate access mechanism that reaches at least three distinctive states: inward-facing, occluded and outward-facing conformation. Despite these three possible conformational states, membrane protein transporters tend to crystallize in a single state. The protocol called Repeat swap homology modelling currently allows estimating the opposite conformation of a transporter using its inverse conformation as template. In the present study, this protocol was used to model the nitrate transporter NRT1.1 of *Arabidopsis thaliana* belonging to the NPF family in an inward-facing conformation. Subsequently, on the basis of the crystallographic structure of NRT1.1 and the model generated in an inverse conformation, comparative models of three H<sup>+</sup>/glucosinolate symporters (GTR1, GTR2 and GTR3) were constructed. Through a structural analysis of these proteins, it was possible to identify key elements for the transport of nutrients in plant transport proteins. Additionally, residues involved in the specificity and translocation of substrates were identified. The results obtained in this investigation suggest a substrate binding site in the three transporters dependent on the glucosinolate's side chains and predict key mutations for selective nutrient transport.