

RELACION ESTRUCTURA-FUNCION DE LAS ENZIMAS PIRUVATO CINASA

Elizabeth Ponce y Ma. Enriqueta Muñoz

Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Departamento de Acuicultura, Biotecnología Marina. Km. 107 carretera Tijuana-Ensenada, Ensenada, B. C. México. C.P. 22860.

Fax: (646)175-05-34 E-mail: eponce@cicese.mx

Palabras clave: *piruvato cinasa, metabolismo.*

Introducción. La piruvato cinasa (PK) es una enzima clave de la vía glicolítica. Esta enzima cataliza la formación de piruvato y ATP a partir de fosfoenolpiruvato y ADP (1). La PK está presente en la mayoría de organismos y presenta una gran diversidad en sus características funcionales y regulación. Entre las principales características están las siguientes: A) La mayoría de los organismos contienen una sola PK, pero algunos organismos tienen dos o cuatro isoformas diferentes; B) La enzima está conformada por una o más subunidades y muchas de ellas presentan regulación alostérica y/o requieren de cationes monovalentes para su actividad. Debido a la relevancia y a la enorme diversidad de propiedades de esta enzima, en este trabajo se llevó a cabo un análisis de las características funcionales y catalíticas de las PK de diferentes organismos con base a las secuencias completas disponibles en bancos de datos y a las estructuras cristalográficas conocidas.

Metodología. El alineamiento de secuencias de PK se llevó a cabo utilizando 50 secuencias completas de aminoácidos de diversos organismos disponibles en los bancos de datos (Gen Bank, Swiss Prot). El programa utilizado para realizar el alineamiento fue el Clustal del programa DNASTAR. El análisis de las características funcionales y de regulación se realizó a través de la comparación de las secuencias del alineamiento con la información disponible en la bibliografía sobre las estructuras cristalográficas de PK, principalmente de *Escherichia coli*, músculo de gato y de conejo (2,3,4). Asimismo, a partir del alineamiento se obtuvo un árbol filogenético utilizando el programa TREECON (5).

Resultados y Discusión. En el alineamiento de las 50 PK se observó un alto grado de conservación principalmente en la región central, que es donde se encuentran los sitios de unión al PEP, ADP y iones. La mayoría de las PK bacterianas mostraron un dominio NH₂-terminal corto, a diferencia de las PK de vertebrados. En cambio, la PK de las bacterias del género *Bacillus*, *Lactobacillus delbrueckii* y de una de las secuencias de *Synechocystis* sp. PCC6803 presentaron un dominio COOH terminal largo, que incluye un motivo de unión a PEP. A partir del árbol filogenético se determinaron 6 diferentes grupos (Fig. 1): el grupo I incluye vertebrados, hongos, levaduras, y algunos microorganismos patógenos; el grupo II incluye plantas; el III comprende a las enterobacterias; el IV a los microorganismos del género *Bacillus* y *Lactobacillus*; el grupo V comprende microorganismos eucariotas, principalmente patógenos y el grupo VI incluye microorganismos termófilos y a algunas bacterias patógenas.

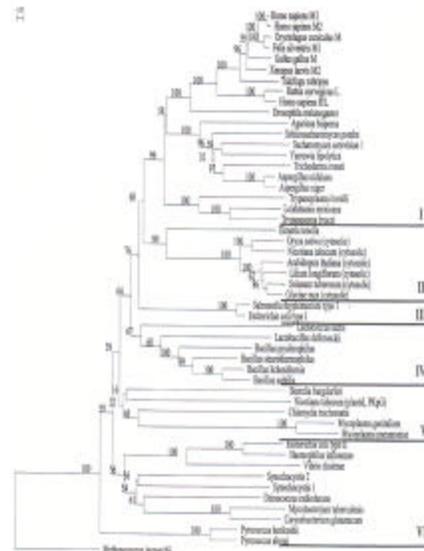


Fig. 1. Árbol filogenético de las enzimas PK

Conclusiones. Los análisis estructura-función permitieron identificar los residuos conservados en las 50 secuencias de PK analizadas, los cuales están involucrados en actividades de regulación de la enzima. Algunos de estos residuos participan a la vez en diferentes funciones de la enzima tales como unión a ligandos monovalentes o divalentes, unión al sustrato o a sitios de unión de ADP/ATP. Las PK incluidas en los diferentes grupos del árbol filogenético comparten características estructurales, alostéricas y catalíticas importantes. Las PK's de algunos organismos tienen potencial para ser utilizadas como marcadores tumorales, biosensores, blanco para quimioterapia de parásitos y/o como modelo industrial para la sobreproducción de proteínas recombinantes.

Bibliografía.

1. Valentini, G., Chiarelli, L., Fortin, R., Speranza, M. L., Galizzi, A., Mattevi, A. (2000). The allosteric regulation of pyruvate kinase. *J. Biol. Chem.* 275: 18145-18152.
2. Stammers, D. K., Muirhead, H. (1975) Three dimensional structure of cat muscle PK at 6 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 95: 213-225.
- 3.- Larsen, T. M., Laughlin, T. L., Holden, H. M., Rayment, I., Reed, G. H. (1994) Structure of rabbit muscle pyruvate kinase complexed with Mn²⁺, K⁺, and pyruvate. *Biochemistry* 33: 6301-6309.
4. Mattevi, A., Valentini, G., Rizzi, M., Speranza, M. L., Bolognesi, M., Coda, A., (1995) Cristal structure of *E. coli* pyruvate kinase I: molecular basis of the allosteric transition. *Structure* 3, 729-741.
5. Van de Peer, Y., De Wachter, R., R. (1994) TREECON for Windows. *Comput. Appl. Biosc.* 10: 569-570.