

## ANÁLISIS ESTRUCTURAL DE HOMOLOGÍA ENZIMÁTICA ENTRE ALCOHOL ACETILTRANSFERASAS DE LEVADURAS FERMENTATIVAS

René Quezada<sup>a</sup>, Alejandro Morales<sup>b</sup>, Manuel Kirchmayr<sup>a</sup>, Melchor Arellano<sup>a</sup>, Anne Gschaedler<sup>a</sup>.

<sup>a</sup>CIATEJ, Camino Arenero 1227, Col. El Bajío, Zapopan, Jalisco, CP. 45019. <sup>b</sup>CUCEI-UdeG, Marcelino García Barragán 1421, Col. Olímpica, Jalisco, CP. 44430. \*agschaedler@ciatej.mx.

Palabras clave: ColabFold, enzima, levadura.

**Introducción.** Los ésteres generados por levaduras durante procesos fermentativos se sintetizan mediante reacciones enzimáticas. Las alcohol acetil transferasas I y II (AATasa I y II), codificadas por los genes *Atf1* y *Atf2*, son responsables de la síntesis de ésteres de acetato. Estos genes han sido identificados dentro de levaduras como *S. cerevisiae* y *K. marxianus*<sup>1,2</sup>. La adquisición masiva de datos en biología molecular ha llevado a utilizar nuevos métodos analíticos además del análisis de laboratorio. Una de las herramientas es ColabFold, que ofrece una predicción acelerada de estructuras y complejos proteicos combinando la búsqueda rápida de homologías de MMseqs2 con AlphaFold2 o RoseTTAFold<sup>3</sup>. El objetivo de este estudio pretende demostrar que, aunque se presente una baja similitud entre secuencias de aminoácidos, es posible encontrar homología estructural.

**Metodología.** Las secuencias proteicas utilizadas corresponden a *S. cerevisiae* ATF1 (P40353), *S. cerevisiae* ATF2 (P53296) y *K. marxianus* DMKU3 ATF1 (XP\_022675344). Fue realizado un BlastP para evaluar la identidad entre secuencias. Se analizó la similitud entre enzimas, para ello se crearon modelos 3D, los cuales se llevaron a cabo utilizando las herramientas ColabFold-CCP4MG. Los sitios activos se buscaron en el servidor HHMER. Finalmente se revisó la similitud en algunas regiones analizando las propiedades fisicoquímicas de los aminoácidos.

**Resultados.** El BlastP entre *S. cerevisiae* ATF1 y ATF2 con *K. marxianus* reveló un 37 y 33% de identidad respectivamente. El diseño de los modelos 3D nos permitió observar como la estructura se mantiene con gran similitud, tanto en la formación del sitio activo como en varias  $\alpha$ -hélices y hojas- $\beta$  a pesar de su baja similitud, como se observa en la Figura 1. Al analizar los aminoácidos en dos regiones específicas B y C de la Figura 2, que presentan afinidad al retículo endoplásmico y gotas lipídicas reportado por Lin *et al.*<sup>4</sup>, se aprecia como, aunque los aminoácidos no son iguales, si comparten propiedades fisicoquímicas similares, lo que puede ayudar a mantener la estructura final. Estos análisis abren una puerta para el estudio de enzimas con dominios putativos AATasa como los reportados en algunas especies de *Hanseniaspora*.

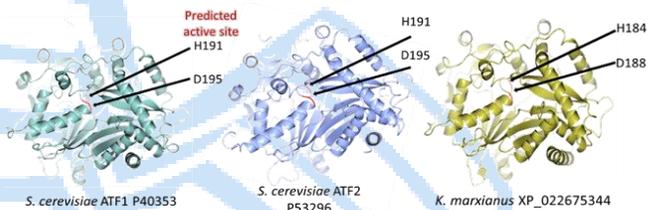


Figura 1. Modelos construidos de alcohol acetiltransferasa e identificación de los aminoácidos del sitio activo.

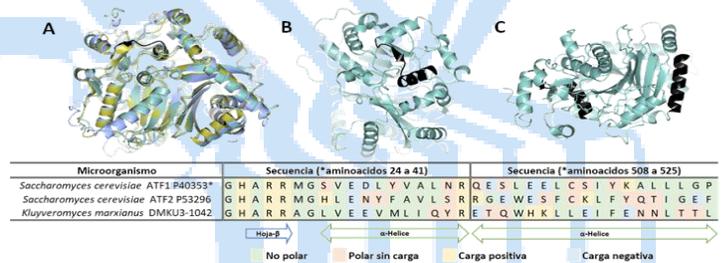


Figura 2. A) Superposición enzimática para la verificación de similitudes estructurales. B) Región afín a gotas lipídicas<sup>4</sup>. C) Región afín al retículo endoplásmico<sup>4</sup>.

**Conclusiones.** Los modelos revelan que la estructura de la enzima se puede mantener a pesar de la baja homología entre las secuencias, debido posiblemente a la similitud de las propiedades fisicoquímicas de los aminoácidos. Se deben analizar más secuencias para corroborar estos resultados, y de esta forma identificar estos genes en genomas donde no están reportados, pero se sospecha su presencia.

**Agradecimiento.** A CONACYT por la beca de investigación y a los Proyectos CB-252665 y FORDECYT-296369.

### Bibliografía

- Loviso, C. L., & Libkind, D. (2018). Síntesis y regulación de compuestos del aroma y el sabor derivados de la levadura en la cerveza: ésteres. *Revista argentina de microbiología*, 50(4), 436-446.
- Morrissey, J. P., Etschmann, M. M., Schrader, J., & de Billerbeck, G. M. (2015). Cell factory applications of the yeast *Kluyveromyces marxianus* for the biotechnological production of natural flavour and fragrance molecules. *Yeast*, 32(1), 3-16.
- Mirdita, M., Schütze, K., Moriawaki, Y., Heo, L., Ovchinnikov, S., & Steinegger, M. (2022). ColabFold: making protein folding accessible to all. *Nature Methods*, 1-4.
- Lin, J.-L., & Wheeldon, I. (2014). Dual N-and C-terminal helices are required for endoplasmic reticulum and lipid droplet association of alcohol acetyltransferases in *Saccharomyces cerevisiae*. *PLoS one*, 9(8), e104141.