

**RESOLUCION DE LA ESTRUCTURA TERCIARIA
DE R-FICOERITRINA DE *Gracilaria chilensis***

TESIS DE DOCTORADO

**Entregada a la
Universidad de Concepción**

**En cumplimiento parcial de los requisitos
para optar al grado de Doctor en Ciencias Biológicas
Area de Especialización en Biología Celular y Molecular**



Por

Carlos A. Contreras Martel

Directora de Tesis: Dra. Marta Bunster Balocchi

**Laboratorio de Biofísica Molecular
Dpto. de Biología Molecular
Fac. de Cs. Biológicas
Universidad de Concepción
Concepción, Chile**

Septiembre 2000

Resumen

El conocimiento de la estructura tridimensional de las proteínas ha sido una importante herramienta, tanto en el pasado como en el presente, para la comprensión de muchos fenómenos biológicos y juega un papel crucial en la biología molecular actual. La determinación de la estructura de proteínas por difracción de rayos-X constituye una poderosa técnica para su análisis estructural a nivel atómico, lo que permite correlacionar la estructura con la función.

El presente trabajo se enfocó a la determinación de la estructura terciaria de R-ficoeritrina de *Gracilaria chilensis*, proteína encargada de captar y transferir la energía luminosa en el ficobilisoma. El análisis de la estructura permite plantear un modelo de conducción de luz para esta proteína.

R-ficoeritrina está constituida por dos tipos de cadenas: α y β , y por cadenas de unión γ que forman el agregado $(\alpha\beta)_6\gamma$. La estructura tridimensional de este hexámero se logró mediante cristalografía y difracción de rayos-X. Se obtuvieron datos a 2,7 y 2,2 Å de resolución para sendos cristales. En ambos casos se obtuvieron los mismos parámetros de celda unidad ($a=b=187$ Å, $c=59$ Å; $\alpha=\beta=90^\circ$, $\gamma=120^\circ$) y el grupo espacial R3. Los datos de la mayor resolución presentaron el fenómeno de macla. El problema de la fase se resolvió por reemplazo molecular empleando la estructura de R-PE de *Polysiphonia urceolata*. La solución de la estructura para el cristal maclado se realizó mediante el programa SHELX-97. Los factores R y R_{free} obtenido al finalizar el refinamiento fueron 0,16 y 0,25 respectivamente.

Cada uno de los residuos aminoacídicos de las cadenas α y β fueron correctamente asignados, siendo posteriormente confirmado por secuenciación química parcial de ambas

cadena. Se reconocieron claramente en los mapas de densidad electrónica dos cromóforos en la cadena α ($\alpha 82$ y $\alpha 139$), tres en la β ($\beta 82$, $\beta 158$ y $\beta 50/61$) y una metilación sobre $\beta 72N$. Además, se logró asignar una región helicoidal de seis residuos de la cadena de unión γ .

En base al análisis estructural de los cromóforos se plantean posibles rutas de transferencia de energía en R-ficoeritrina de *Gracilaria chilensis*, considerando la ubicación y las distancias intercromóforos.

Las coordenadas de R-PE de *Gracilaria chilensis* fueron depositadas en el *Protein Data Bank* (1eyx.pdb), constituyendo la primera estructura tridimensional de una proteína resuelta en Chile.

