

## **$\alpha$ -MANOSIDASA Y SU PARTICIPACIÓN INDIRECTA EN EL DESENSAMBLAJE DE LA PARED CELULAR DE FRUTOS DE FRUTILLA (*FRAGARIA X ANANASSA*)**

Sáez, D.<sup>1,2</sup>; Rodríguez-Arriaza, F.<sup>1</sup>; Valenzuela-Riffo, F.<sup>3</sup>; Morales-Quintana, L.<sup>1</sup>; Méndez-Yáñez, A.<sup>1</sup>

1 Multidisciplinary Agroindustry Research Laboratory, Instituto de Ciencias Biomédicas, Universidad Autónoma de Chile.

2 Programa de Doctorado en Ciencias Biomédicas, Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Autónoma de Chile, Chile.

3 Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Talca. Región del Maule. Chile.

[darwin.saez@cloud.uaautonoma.cl](mailto:darwin.saez@cloud.uaautonoma.cl)

**PALABRAS CLAVE:** exoglicosidasa, N-glicanos libres, N-glicosilación.

La textura es uno de los parámetros organolépticos de la calidad de los frutos; la pérdida de esta cualidad conduce a un fruto poco atractivo para su consumo. Las enzimas que escinden los polisacáridos de la pared celular han sido foco de estudio para comprender cómo inciden el desensamblaje de esta compleja matriz y como esto se relaciona con el ablandamiento de los frutos. En *Fragaria x ananassa*, esta cualidad organoléptica es relevante, dado su breve periodo de vida útil donde este tipo de cambios de textura abundan, lo que conlleva a la pérdida de la calidad. La  $\alpha$ -D-manosidasa manohidrolasa ( $\alpha$ -man) (GH38; EC 3.2.1.24), es una enzima exoglicosidasa que escinde residuos de manosa de las N-glicosilaciones en los extremos no reducidos unidos por enlaces  $\alpha$ -1,2,  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6. La cuantificación de los niveles de transcritos de esta enzima en frutos como ciruela y durazno, ha reportado un incremento en los niveles de transcritos a medida que el fruto madura. Por otra parte, experimentos de RNAi de  $\alpha$ -MAN en tomate, han evidenciado una prolongación de la vida útil del fruto hasta por 30 días. En *F. x ananassa*, no se cuenta con la información acerca del efecto de la enzima  $\alpha$ -man, no se sabe cuántas isoformas es posible encontrar ni sus niveles de transcrito ni la cuantificación de la actividad enzimática durante el proceso de maduración. Es por ello, que el objetivo de esta investigación es caracterizar la familia de  $\alpha$ -man (GH38) presentes en *F. x ananassa*.

Para ello se realizó la búsqueda de todas las isoformas de la familia de  $\alpha$ -MAN presentes en la pared celular de frutos de *F. x ananassa*, determinando su clasificación filogenética. Asimismo, se evaluó el modelo *in silico* de  $\alpha$ -man en su conformación como homodímero, utilizando la estructura cristalográfica de  $\alpha$ -man de frijol. La información anterior se complementó con la evaluación de los niveles de transcritos y la cuantificación de la actividad enzimática a través de la maduración del fruto. Como resultado, diez isoformas fueron encontradas en la búsqueda dentro del genoma de *F. x ananassa*, las cuales varían en sus niveles de transcritos en los diferentes estadios de maduración. Similar comportamiento se observó en los niveles de actividad enzimática total, la que se vio modificada a medida que el fruto madura. Con relación a los análisis *in silico*, el análisis de secuencias y de dominios conservados permitió determinar los aminoácidos clave del sitio activo, actividad catalítica y de formación de dímeros. Las diez  $\alpha$ -man se clasificaron en diferentes grupos filogenéticos, de los cuales se discuten sus diferencias. Por otra parte, el modelamiento por homología proporcionó una construcción de la estructura terciaria con un elevado nivel de confianza de acuerdo con los softwares utilizados como apoyo. Finalmente, se sugieren proyecciones y perspectivas que ayuden a promover la vida útil del fruto.