



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

EL ANALISIS EVOLUTIVO DE LA
SINTESIS *de novo* DE 5-FOSFORRIBOSIL,
1-PIROFOSFATO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

B I Ó L O G O

P R E S E N T A :

MIGUEL ANGEL CRUZ ESPINDOLA

TUTOR:

Dr. LUIS JOSE DELAYE ARREDONDO

2007





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Índice

1. Resumen

2. Introducción

- 2.1 Evolución de las Rutas Metabólicas
- 2.2 Ruta Metabólica de las Pentosas Fosfato (PPP)
 - 2.2.1 Vía Oxidativa de la Ruta Metabólica de las Pentosas Fosfato
 - 2.2.2 Vía no-Oxidativa de la Ruta Metabólica de las Pentosas Fosfato
- 2.3 Objetivos

3. Material y Métodos

- 3.1 Evolución de la ruta (análisis al interior de la ruta)
- 3.2 Distribución filogenética de las enzimas (análisis al exterior de la ruta)
- 3.3 Análisis filogenético (elaboración de filogenias)

4. Resultados y discusiones

- 4.1 Evolución de la ruta (análisis al interior de la ruta)
- 4.2 Distribución filogenética de las enzimas (análisis al exterior de la ruta)
- 4.3 Análisis filogenético (elaboración de filogenias)

5. Conclusiones

6. Referencias

7. Apéndice

- 7.1 Enzimas que participan en la síntesis de PRPP a través de la PPP
 - 7.1.1 Clasificación de las enzimas
 - 7.1.2 Rutas en las que participan
 - 7.1.3 Reacciones que catalizan
- 7.2 Programas empleados
- 7.3 Clasificación de los dominios de las enzimas
 - 7.3.1 Clasificación de acuerdo a la base de datos Pfam
 - 7.3.2 Clasificación de acuerdo a la base de datos SCOP

1. Resumen

El 5-fosforribosil, 1-pirofosfato (PRPP) es el precursor común en la síntesis de salvamento y *de novo* de nucleótidos; puede ser sintetizado a partir de la glucosa, vía Ruta de las Pentosas Fosfato, síntesis *de novo* o por medio de la reutilización de nucleósidos, síntesis de salvamento. La Ribosa-5-P (Rib-5P) es el precursor directo del PRPP, y es sintetizada por la vía oxidativa de las Pentosas Fosfato desde glucosa. La comparación estructural, realizado en este trabajo, de los dominios que presentan las enzimas que participan en la síntesis de novo de PRPP permite sugerir la existencia de homología entre el dominio *NAD_binding2*, de la enzima 6-fosfogluconato deshidrogenasa, y el dominio *G6PD_N*, de la enzima Glucosa-6-fosfato, 1--deshidrogenasa, debido a que pertenecen a la misma superfamilia, de acuerdo a la clasificación de SCOP; así como el dominio *Glucosamine_iso*, de la enzima 6-fosfogluconolactonasa, y el dominio *Rib_5-P_isom_A*, de la enzima Ribosa 5-fosfato isomerasa al pertenecer a la misma superfamilia también se sugiere que son homólogos; la mayoría de los dominios que presentan las enzimas pertenecen a distintas superfamilias, en las cuales se incluyen un gran número de enzimas que participan en diversas rutas metabólicas. Esta existencia de homología de los dominios de las enzimas que participan en la síntesis de novo de PRPP, con otras enzimas que participan en diversas rutas metabólicas parece indicar que el principal mecanismo de evolución que tomó parte en el ensamblaje de la ruta fue tipo "patchwork" (Jensen, 1976). Por otra parte los resultados obtenidos de la distribución filogenética de las enzimas a través de los tres Dominios no es universal debido a que en el Dominio Archaea la mayoría de los organismos carecen parcial o totalmente de la vía oxidativa de la Ruta de las Pentosas Fosfato, por lo tanto no podemos establecer que esta ruta ya se encontraba en el último ancestro común. Al elaborar árboles filogenéticos mediante el empleo de los dominios presentes en las enzimas, se obtuvieron árboles que no reflejaban una relación clara, debido a que agrupan organismos pertenecientes a distintos linajes celulares, por lo tanto el empleo de estos dominios como marcadores moleculares no son adecuados.

2. Introducción:

El metabolismo de pequeñas moléculas forma el centro de los procesos metabólicos de todos los organismos vivos (Rison y Thornton, 2002); el metabolismo celular es una compleja red de procesos físico-químicos, la mayoría de ellos catalizados por enzimas que permiten la supervivencia y la reproducción de células (Alves et al., 2002). No cabe duda que el surgimiento de las rutas biosintéticas básicas fue uno de los eventos más significativos en la evolución temprana, ya que esto permitió disminuir la dependencia de fuentes exógenas de compuestos primordiales, tales como aminoácidos, purinas, pirimidinas, entre otros compuestos, acumulados en el medio los cuales eran el resultado de la síntesis prebiótica de compuestos orgánicos.

2.1 Evolución de las rutas metabólicas

Con respecto a la evolución de rutas metabólicas distintas teorías han sido formuladas, todas distintas entre sí, para explicar la evolución de las redes metabólicas catalizadas por enzimas desde constituyentes de la sopa prebiótica.

El primer intento para explicar detalladamente el origen de las rutas metabólicas fue desarrollado por Horowitz (1945) y es conocido como la hipótesis retrógrada. Horowitz se basa en la hipótesis heterotrófica de Oparin (1938) y en la correspondencia uno a uno entre genes y enzimas como es sugerido por Beadle y Tatum (1941). En el modelo retrógrado, la dirección de desarrollo de las rutas biosintéticas es hacia atrás desde un metabolito clave; las enzimas que participan en la ruta fueron adquiridas vía duplicación de genes que tomó lugar en orden inverso de como se encuentran actualmente en las rutas. El modelo presupone la existencia de un ambiente químico en el cual ambos, el metabolito clave e intermediarios potenciales estaban disponibles. Un organismo heterotrófico para la molécula **A** podía usar las altas reservas ambientales de el metabolito, hasta el punto en el cual la disponibilidad decae, limitando su crecimiento; un mutante capaz de sintetizar una molécula **A** desde precursores ambientales **B** y **C** por medio de la **enzima 1** pudo tener una ventaja selectiva; rápidamente estos organismos pudieron propagarse a través del medioambiente; en adición, en la ausencia continua de la molécula **A** ambiental, alguna mutación sobre la **enzima 1** podía ser letal, por ello se favoreció su preservación. En cambio, como las concentraciones de **B** o **C** disminuían, el proceso pudo repetirse con el reclutamiento similar de futuras enzimas. El modelo retrógrado de evolución de rutas es ilustrado en la figura 1.1. En adición, Horowitz sugiere la

indisponibilidad simultanea de dos intermediarios (**B** o **C**), lo cual puede favorecer asociaciones simbióticas entre dos mutantes, una capaz de sintetizar **B** y la otra de sintetizar **C** desde otros precursores ambientales (Rison y Thornton, 2002).

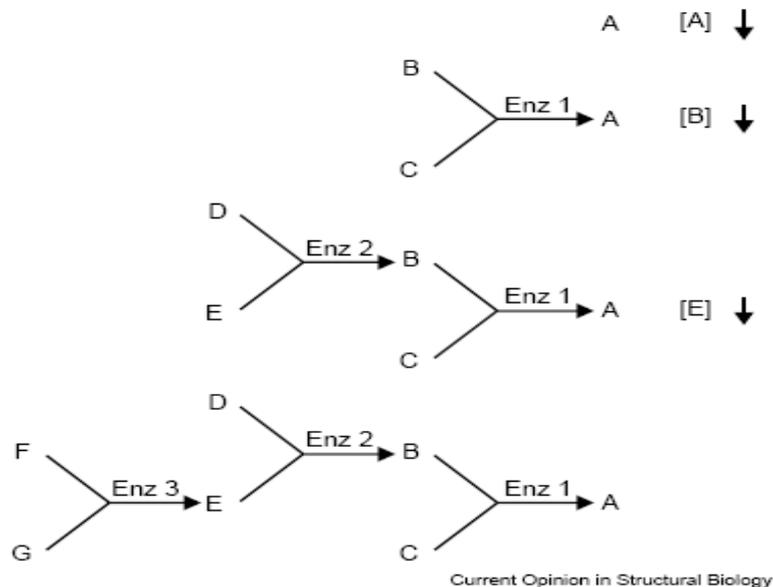


Figura 2.1 Modelo retrógrado de Horowitz (Rison y Thornton, 2002).

Posteriormente, el descubrimiento de los operones le permitió a Horowitz (1965) reformular su propuesta original y, proponer que el agrupamiento de genes que codifican enzimas de una ruta dada puede ser explicado como el resultado de duplicaciones tempranas en tandem.

La hipótesis retrograda establece una clara conexión evolutiva entre la química prebiótica y el desarrollo de rutas metabólicas, y puede ser empleada para explicar algunos pasos en las rutas (Lazcano y Miller, 1999).

Aunque el modelo retrógrado puede explicar favorablemente la evolución de algunos pasos en las rutas, no es aplicable a la mayoría, ya que involucran algunos intermediarios inestables donde su síntesis y acumulación en el ambiente prebiótico parece improbable (Canovas et al. 1967; Ornston 1971; Jensen 1976); además muchos de estos intermediarios son compuestos aniónico, fosforilados, los cuales no podrían permear fácilmente las membranas primordiales en ausencia de un sistema de transporte especializado, cuya presencia no puede ser asumida en células tempranas (Ornston, 1971; Jensen, 1976); por otra parte, la aplicación de la hipótesis retrograda implicaría que el DNA se originó antes que el RNA, lo cual es algo improbable ya que existen numerosas evidencias que apoyan lo contrario (Becerra, 1997). Además, la teoría puede explicar solamente la evolución de rutas en un ambiente rico en

intermediarios metabólicos, la última destrucción de el ambiente orgánico pudo prevenir la evolución de rutas por una evolución retrograda. (Rison y Thornton, 2002).

Un modelo alternativo y poco conocido de la evolución de rutas metabólicas fue hecha por Granick (1957, 1965), el cual plantea que la dirección del desarrollo de las rutas metabólicas es hacia adelante, donde los compuestos no juegan un papel importante en la evolución de la ruta. Basado en la idea Haeckeliana de que la ontogenia recapitula la filogenia, esta hipótesis asume que los compuestos bioquímicos más sencillos son más antiguos que los complejos, al igual que las enzimas, las que catalizan los primeros pasos de una ruta son más antiguas que las que catalizan los últimos. Además, cada paso de la ruta biosintética fue seleccionada por que su producto final tenía una función más útil que su precursor mismo (Pereto et al., 1997); de tal forma que las rutas metabólicas fueron ensambladas hacia adelante por medio de eventos sucesivos de duplicación y mutación del último gen de la cadena (Velasco, 2002). La hipótesis de Granick puede ser utilizada para explicar el anabolismo de distintos componentes de membrana, uno de estos casos corresponde a la presencia del lípido con éter insaturado *2,3-di-O-geranylgeranyl-sn-glycerol*, el mayor componente de membrana de la arquea hipertermófila *Methanopyrus kandleri*, así como uno de los intermediarios en la biosíntesis de *2,3-di-O-phytanyl-sn-glycerol*, el cual es común en otras membranas de arqueas. Estas secuencias de reacciones pueden ser interpretadas como una ruta progresivamente más compleja que evoluciono por la adición de pasos enzimáticos a una ruta antigua cuyo producto final es el lípido con éter insaturado. En las filogenias basadas en 16s rRNA, *Methanopyrus kandleri* se ubica en una de las ramas más antiguas de arqueas por lo que se puede suponer que la estructura de la ruta refleja la filogenia del grupo, de tal forma que los organismos que evolucionaron más recientemente presentan una ruta biosintética de lípidos más compleja (Pereto et al., 1997).

En las hipótesis anteriores la duplicación juega un papel central, sin embargo Lewis (1951) da una propuesta alternativa sobre la duplicación génica, propone que la duplicación seguida de la divergencia subraya el origen de enzimas relacionadas que toman parte en diferentes rutas. Esta idea posteriormente fue retomada por Waley (1969) quien sugiere que la evolución por etapas de rutas metabólicas fue mediante la acumulación aleatoria, de cambios genéticos diminutos en genes duplicados, los cuales eventualmente permitieron cambios conformacionales y el desarrollo de nuevas enzimas con similares propiedades bioquímicas. Una hipótesis similar fue desarrollada independientemente por Ycas (1974) y Jensen (1976), quienes proponían que las rutas biosintéticas pudieron haberse ensamblado por un mecanismo tipo

“*patchwork*”, el reclutamiento de enzimas primitivas que podían reaccionar con un amplio rango de sustratos químicamente relacionados (Pereto et al., 1997). Las rutas pudieron haber después evolucionado por duplicación y diversificación de sus enzimas precursoras hacia enzimas más eficientes y específicas como son conocidas hoy en día, las cuales catalizan un solo paso cada uno en la ruta (Schmidt et al., 2003). O’Brien y Herschlag (1999) analizaron diversas enzimas con reacciones alternativas distintas desde su reacción biológica normal para apoyar el concepto de que amplios sustratos y reacciones específicas son subsecuentemente capturados por evolución adaptativa. La evolución de los duplicados durante los estados tempranos pudo ser influenciada por la falta de un mecanismo de reparación de DNA combinado con los altos niveles de ionización y radiación ultravioleta en el ambiente del Precámbrico temprano (Koch 1972). El modelo de reclutamiento de genes explica la diversificación ancestral de enzimas de poca especificidad dentro de familias con reacciones relacionadas, apoyándose en mutaciones puntuales, pequeñas deleciones y otros cambios diminutos. Tal como en los procariontes, los cuales son organismos haploides, y la mayoría de estos pequeños cambios genéticos pudieron ser expresados rápidamente, resultando en un modo rápido de evolución metabólica (Pereto et al., 1997). Sin embargo, el reclutamiento tipo *patchwork* pudo operar solo después del surgimiento de la biosíntesis de proteínas y el desarrollo de enzimas, es decir después del surgimiento del mudo de DNA/proteínas (Lazcano y Miller, 1999). La existencia de enzimas homólogas que participan en diferentes rutas metabólicas proveen evidencia que apoyan esta teoría. Diversos casos de ancestría común han sido documentados, mediante el empleo de comparación de secuencias; es bien sabido que dos diferentes carbamoil fosfato transferasas involucradas en la síntesis de arginina y biosíntesis de pirimidinas han evolucionado desde un ancestro común. Otro caso, es el de la proteína piruvato oxidasa y la acetohidroxiácido sintasa, la primera involucrada en la descarboxilación de piruvato a acetato y la segunda en la biosíntesis de amino ácidos ramificados.

En la actualidad se conoce que en algunas rutas existen pasos que no son catalizados por enzimas, estos son realizados espontáneamente; ninguno de los modelos anteriores de evolución de rutas pueden explicar esto, ya que son modelos completamente enzimáticos; por lo anterior Lazcano y Miller (1999) proponen un modelo alternativo de evolución de rutas metabólicas, este es conocido como el modelo semi-enzimático, y mencionan que las rutas metabólicas fueron parcialmente no-enzimáticas, las cuales se desarrollaron por el empleo de compuestos prebióticos disponibles en el océano primitivo, estos debieron ser algo estables para concentrarse en el ambiente, así como de compuestos resultantes de enzimas poco

específicas, las cuales carecieron de especificidad y eran el resultado de duplicación, las cuales posteriormente se especializaron por la divergencia y fueron empleadas en rutas metabólicas diferentes.

Se sabe que el paso químico correspondiente a una ruta metabólica puede llevarse a cabo en ausencia de enzimas cambiando los reactivos y las condiciones de la reacción. Un ejemplo de esto es la glutamino transferasa tipo G, producto del gen *hisH*, la cual participa en la biosíntesis de histidina; en un medio con una elevada concentración de amonio, la reacción de adición de NH_3 puede realizarse en ausencia de la enzima codificada por *hisH*. Se propone que la reacción se lleva a cabo de manera espontánea en el medio ambiente primitivo utilizando el NH_3 disponible, después se dio el desarrollo de la enzima que codifica el gen *hisH*, seguida por la utilización de glutamina en lugar de NH_3 , cuando este compuesto desapareció desde el océano prebiótico (Lazcano y Miller, 1999).

2.2 Ruta Metabólica de las Pentosas Fosfato.

Bajo una condición de nutrición heterotrófica, basado en glucosa, el primer nodo metabólico, al entrar la glucosa a la célula, es encontrado alrededor de la glucosa 6-fosfato, el cual diverge en la ruta de la glucólisis y de las pentosas fosfato, y en algunos procariontes se puede encontrar la ruta de Entner-Doudoroff. Cada una de estas rutas tiene una función; la glucólisis (combinado con el ciclo de los ácidos tricarbónicos) es la ruta general para el catabolismo de la glucosa y formación de energía en la célula, mientras que la ruta de las pentosas fosfato (PPP) juega un rol crucial en el metabolismo redox de la célula. En adición a sus funciones catabólicas, estas rutas también tienen funciones anabólicas ya que ellos proporcionan precursores para los monómeros (aminoácidos, ácidos grasos, nucleótidos, azúcares fosfatados, etc.) requeridos para el crecimiento y formación de productos (Kleijn et al., 2006). Aunque el metabolismo de la glucosa presente vías alternas, la ruta glucolítica y la ruta de las pentosas, ambas están estrechamente integradas, ya que presentan intermediarios comunes, la glucosa 6-fosfato, fructosa 6-fosfato y gliceraldehído 3-fosfato; y los intermediarios de una pueden actuar como inhibidores de la otra ruta (Gumma y McLean, 1969).

La ruta metabólica de las pentosas fosfato esta compuesta de dos fases, la vía oxidativa y la no oxidativa (figura 2.2)

2.2.1 Vía oxidativa de la Ruta Metabólica de las Pentosas Fosfato.

La rama oxidativa, irreversible, produce ribulosa-5-P y poder reductor NADPH que puede ser utilizado en las reacciones de biosíntesis, por ejemplo, para la síntesis de aminoácidos y ácidos grasos (Eicks, et al. 2002). En esta primera fase consiste de dos oxidaciones que convierten la glucosa-6-P a ribulosa-5-P (diagrama 1.2) y reduce NADP^+ a NADPH. (Nelson y Cox, 2005).

2.2.2 Vía no-oxidativa de la Ruta metabólica de las Pentosas Fosfato

En la rama no-oxidativa, reversible, de la ruta de las pentosas fosfato, la ribulosa-5-P es convertida a ribosa-5-P mediante la ribosa-5-P isomerasa y a xilulosa-5-P por la rub5-P epimerasa. La ribulosa-5-P sirve como sustrato para la biosíntesis de nucleótidos. Futuras reacciones de la rama no-oxidativa permite la conversión de azúcares fosfatados de C7, C6, C5, C4 y C3, los cuales son también intermediarios de el ciclo reductivo de las pentosas fosfato. Los azúcares fosfato pueden ser utilizados por otras rutas biosintéticas. (Eicks, et al. 2002). Dos únicas enzimas actúan en estas interconversiones de azúcares; la Transcetolasa cataliza la transferencia de un fragmento de dos carbonos desde un donador cetosa a un aceptor aldosa, transfiere C-1 y C-2 de xilulosa-5-P a ribosa-5-P, formando un producto de siete carbonos la sedoheptulosa-7-P. El fragmento de 3 carbonos desde la xilulosa es gliceraldehido-3-P. La transaldolasa cataliza una reacción similar a la reacción de las aldosas de la glucólisis: un fragmento de 3 carbonos es removido desde sedoheptulosa-7-P y condensado con gliceraldehido-3-P, formando fructosa-6-P y la tetrosa eritrosa-4-P. La transcetolasa actúa otra vez, formando fructosa-6-P y gliceraldehido-3-P desde eritrosa-4-P y xilulosa-5-P. Dos moléculas de gliceraldehido-3-P formados de estas reacciones pueden ser convertidas a una molécula de fructosa-1,6-bifosfato, la FBPasa-1 y la fosfohexosa isomerasa convierten la fructosa-1,6-bifosfato a glucosa-6P (Nelson y Cox, 2005).

Las reacciones de reacomodos de las moléculas de Carbón llevadas por la transaldolasa y la transcetolasa en la rama no oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato constituyen la ruta exclusiva para el catabolismo de las pentosas (Zamboni, et al., 2004).

Si la glucosa-6P entra a glucólisis o a la ruta de las pentosas fosfato depende de las necesidades actuales de la célula y sobre la concentración de NADP^+ en el citosol. Sin este aceptor de electrones, la primera reacción de la ruta de las pentosas fosfato no podría proceder. Cuando una célula rápidamente convierte el NADPH a NADP^+ en

reducciones biosintéticas los niveles de NADP^+ se elevan, estimulando alostericamente a la G6PD y ello incrementa el flujo de la glucosa-6P a través de la ruta de las pentosas fosfato. Cuando la demanda de NADPH disminuye los niveles NADP^+ disminuyen, la ruta de las pentosas fosfato se vuelve más lenta y la glucosa-6P es usada para la glucólisis (Nelson y Cox, 2005).

Durante el aumento de hexosas, la ruta de las pentosas fosfato llega como la mayor fuente de pentosas fosfato para la biosíntesis de nucleótidos y del cofactor anabólico redox NADPH (Zamboni, et al., 2004).

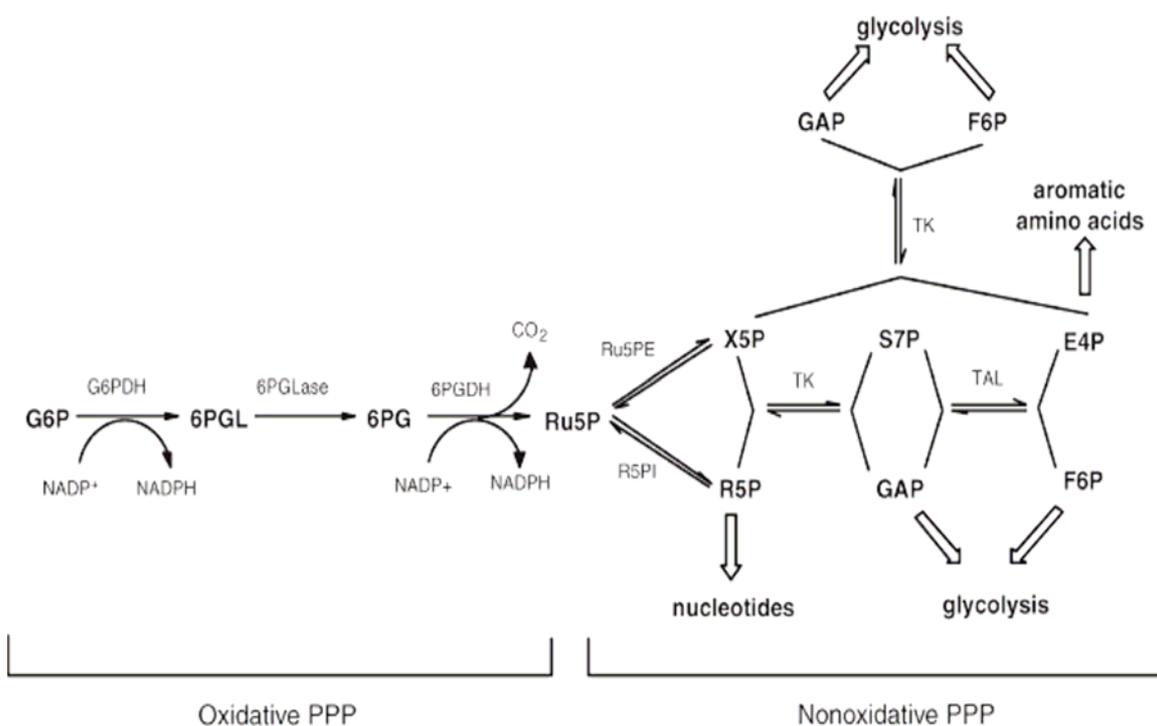


Figura. 2.2 Ruta de las pentosas fosfato. Abreviaciones: PPP= Ruta de las pentosas fosfato; G6P = glucosa 6-fosfato; G6PDH = glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; 6PGL = 6-fosfoglucono- δ -lactona; 6PGLase = 6-fosfoglucono- δ -lactonasa; 6PG = 6-fosfogluconato; 6PGDH = 6-fosfogluconato deshidrogenasa; Ru5P = ribulosa-5-fosfato; Ru5PE = ribulosa-5-fosfato-3-epimerasa; R5Pi = ribosa-5-fosfato isomerasa; R5P = ribosa-5-fosfato; X5P = xilulosa-5-fosfato; TK = transcetolasa; S7P = sedoheptulosa-7-fosfato; GAP = gliceraldehido-3-fosfato; TAL = transaldolasa; E4P = eritrosa-4-fosfato; y F6P = fructosa-6-fosfato.
Traducción: glycolysis = glucólisis; aromatic amino acids = aminoácidos aromáticos; nucleotides = nucleótidos; oxidative = oxidativa; nonoxidative = no oxidativa (Soderberg, 2005)

Síntesis de PRPP a través de la ruta de las pentosas fosfato (PPP)

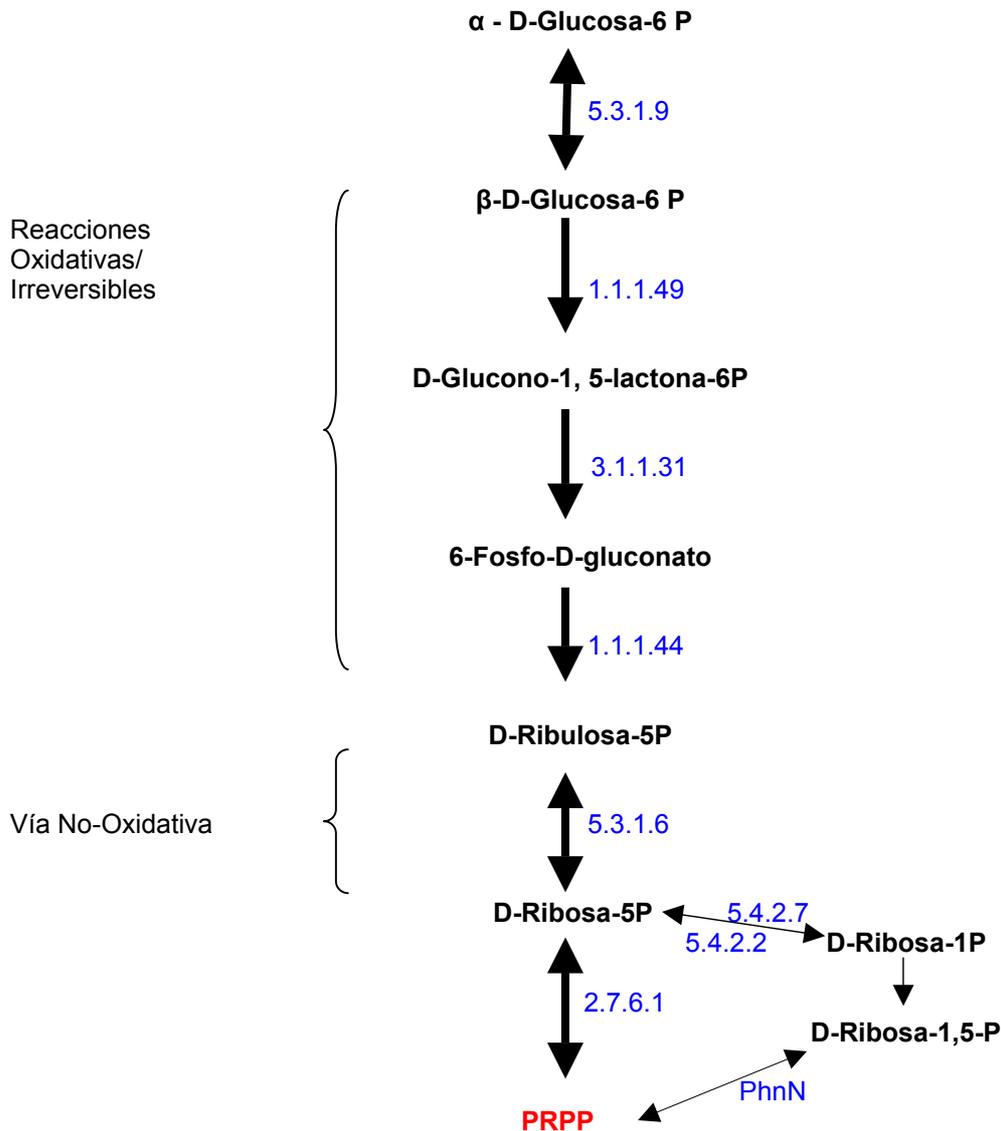


Figura 2.3 Vía Oxidativa y no-oxidativa de las Pentosas Fosfato y síntesis de PRPP; los números en azul corresponden a el numero EC. De cada enzima

2.3 Objetivos

- Estudiar la evolución de la síntesis *de novo* de 5-Fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP) a través de la ruta metabólica de las Pentosas Fosfato a la luz de las teorías de evolución de rutas metabólicas.
- Analizar la distribución filogenética de las enzimas que participan en la síntesis (de PRPP), a través de la Ruta Metabólica de las Pentosas Fosfato, para

determinar si es una ruta muy antigua y por lo tanto se encontraba en el Último Ancestro Común.

- Elaboración de árboles filogenéticos empleando las secuencias de los dominios que presentan las enzimas para determinar si pueden ser empleados como marcadores filogenéticos

3. Material y Métodos.

Se utilizaron las secuencias en aminoácidos, en formato FASTA de las enzimas que participan en la biosíntesis de PRPP a través de la ruta metabólica de las Pentosas Fosfato:

Enzima	Código EC
1. - Glucosa-6-fosfato isomerasa	[EC: 5.3.1.9]
2. - Glucosa-6-fosfato 1-deshidrogenasa	[EC: 1.1.1.49]
3. - 6-fosfogluconolactonasa	[EC: 3.1.1.31]
4. - 6-fosfogluconato deshidrogenasa	[EC: 1.1.1.44]
5. - Ribosa 5-fosfato isomerasa	[EC: 5.3.1.6]
6. - Fosfoglucomutasa	[EC: 5.4.2.2]
7. - Fosfopentomutasa	[EC: 5.4.2.7]
8. - Ribosa-fosfato pirofosfocinasa	[EC: 2.7.6.1]
9. - PhnN	

Tabla 3.1 Enzimas que participan en biosíntesis de PRPP en la PPP

Las secuencias se tomaron de la base de datos en internet del KEGG (*Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes*):

<http://www.genome.jp/kegg/pathway/map/map00030.html>

3.1 Evolución de la ruta (análisis al interior de la ruta)

Para determinar cual fue el posible mecanismo de evolución, de acuerdo a las teorías de evolución de rutas metabólicas, mediante el cual la ruta metabólica fue

ensamblada, se busco homología entre las enzimas que componen la ruta de las pentosas fosfato a través de la cual se sintetiza PRPP, mediante la comparación de los dominios que presenta cada enzima, así como también por medio de la comparación estructural (clasificación de acuerdo a SCOP) de los dominios con otras enzimas.

3.2 Distribución Filogenética (análisis al exterior de la ruta)

Se tomaron diverso número de secuencias de la misma enzima, de organismos que fueran filogenéticamente distintos, las secuencias seleccionadas deberían de tener la misma longitud y presentar los mismos dominios, para esto se realizaron análisis en línea de las secuencias en la base de datos Pfam:

<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/>

<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/search.shtml>

A continuación se muestra una lista de los organismos de los cuales se tomaron las secuencias del gen y entre paréntesis se muestra el nombre del gen que codifica cada enzima:

Glucosa-6-fosfato isomerasa [EC: 5.3.1.9]

- | | |
|---|-------------------|
| 1. - <i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655 | (eco_b4025) |
| 2. - <i>Shigella dysenteriae</i> | (sdy_SDY_4226) |
| 3. - <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> | (yps_YPTB3649) |
| 4. - <i>Mannheimia succiniciproducens</i> | (msu_MS1181) |
| 5. - <i>Sodalis glossinidius</i> | (sgl_SG2146) |
| 6. - <i>Chlorobium chlorochromatii</i> | (cch_Cag_0612) |
| 7. - <i>Rhodospirillum rubrum</i> | (rru_Rru_A2947) |
| 8. - <i>Schizosaccharomyces pombe</i> | (spo_SPBC1604.05) |
| 9. - <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | (ngo_NGO0719) |
| 10. - <i>Streptomyces avermitilis</i> | (sma_SAV6302) |
| 11. - <i>Brucella abortus</i> | (bmb_BruAb1_0311) |
| 12. - <i>Desulfotalea psychrophila</i> | (dps_DP0796) |

Glucosa-6-fosfato 1-dehidrogenasa [EC: 1.1.1.49]

- | | |
|--|------------------------------|
| 1. - <i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655 | (eco_b1852) |
| 2. - <i>Shigella dysenteriae</i> | (sdy_SDY_1138) |
| 3. - <i>Bacillus clausii</i> | (bcl_ABC1924) |
| 4. - <i>Mesorhizobium sp.</i> BNC1 | (mes_Meso_0159) |
| 5. - <i>Agrobacterium tumefaciens</i> C58 | (UWash/Dupont) (atu_Atu0600) |
| 6. - <i>Chromobacterium violaceum</i> | (cvi_CV0145) |
| 7. - <i>Rhodococcus sp.</i> RHA1 | (rha_RHA1_ro02369) |
| 8. - <i>Staphylococcus epidermidis</i> RP62A | (ser_SERP1067) |
| 9. - <i>Oceanobacillus iheyensis</i> | (oih_OB2938) |
| 10. - <i>Staphylococcus aureus</i> NCTC8325 | (sao_SAOUHSC_01599) |
| 11. - <i>Thermotoga maritima</i> | (tma_TM1155) |

6-fosfogluconolactonasa

[EC: 3.1.1.31]

- | | |
|--|----------------|
| 1. - <i>Escherichia coli</i> K-12 MG1655 | (eco_b0767) |
| 2. - <i>Shigella dysenteriae</i> | (sdy_SDY_2011) |
| 3. - <i>Sodalis glossinidius</i> | (sgl_SG0900) |
| 4. - <i>Lactobacillus plantarum</i> | (lpl_lp_2219) |
| 5. - <i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124 | (cpf_CPF_1232) |

6. - *Oceanobacillus iheyensis* (oih_OB3211)

6-fosfogluconato deshidrogenasa [EC: 1.1.1.44]

1. - *Escherichia coli* K-12 MG1655 (eco_b2029)
2. - *Shigella dysenteriae* (sdy_SDY_2212)
3. - *Yersinia pseudotuberculosis* (yps_YPTB1553)
4. - *Sodalis glossinidius* (sgl_SG1122)
5. - *Baumannia cicadellinicola* (bci_BCI_0397)
6. - *Geobacillus kaustophilus* (gka_GK2344)
7. - *Burkholderia xenovorans* (bxo_Bxe_B2210)
8. - *Oceanobacillus iheyensis* (oih_OB0185)
9. - *Cyanobacteria Yellowstone A-Prime* (cya_CYA_0947)
10. - *Bacillus licheniformis* DSM13 (bid_BLi02567)
11. - *Borrelia burgdorferi* (bbu_BB0561)
12. - *Thermotoga maritima* (tma_TM0438)
13. - *Thermoanaerobacter tengcongensis* (tte_TTE0195)
14. - *Plasmodium falciparum* (pfa_PF14_0520)

Ribosa 5-fosfato isomerasa [EC: 5.3.1.6]

1. - *Escherichia coli* K-12 MG1655 (eco_b2914)
2. - *Shigella dysenteriae* (sdy_SDY_3168)
3. - *Yersinia pseudotuberculosis* (yps_YPTB3190)
4. - *Vibrio fischeri* (vfi_VF2105)
5. - *Thiobacillus denitrificans* (tbd_Tbd_2364)
6. - *Nitrosospora multiformis* (nmu_Nmul_A0436)
7. - *Azoarcus* sp. EbN1 (eba_ebA1080)
8. - *Bacillus thuringiensis* (btk_BT9727_2554)
9. - *Shewanella* sp. MR-4 (she_Shewmr4_0974)
10. - *Picrophilus torridus* (pto_PTO0565)

Fosfoglucomutasa [EC: 5.4.2.2]

1. - *Escherichia coli* K-12 MG1655 (eco_b0688)
2. - *Shigella boydii* (sbo_SBO_0550)
3. - *Erwinia carotovora* (eca_ECA1336)
4. - *Yersinia pestis* CO92 (ype_YPO2686)
5. - *Photobacterium luminescens* (plu_plu1407)
6. - *Trichodesmium erythraeum* (ter_Tery_1084)
7. - *Francisella tularensis* subsp. *tularensis* SCHU S4 (ftu_FTT0414)
8. - *Brucella abortus* (bmb_BruAb1_0058)
9. - *Cyanobacteria Yellowstone A-Prime* (cya_CYA_1969)

Fosfopentomutasa [EC: 5.4.2.7]

1. - *Escherichia coli* K-12 MG1655 (eco_b4383)
2. - *Shigella boydii* (sbo_SBO_4445)
3. - *Yersinia pestis* Nepal516 (ypn_YPN_0310)
4. - *Sodalis glossinidius* (sgl_SG0396)
5. - *Buchnera aphidicola* APS (buc_BU542)
6. - *Agrobacterium tumefaciens* C58 (Cereon) (atc_AGR_C_219)
7. - *Roseobacter denitrificans* (rde_RD1_3978)

Ribosa-fosfato pirofosfocinasa [EC: 2.7.6.1]

1. - *Escherichia coli* K-12 MG1655 (eco_b1207)
2. - *Shigella boydii* (sbo_SBO_1860)
3. - *Shigella dysenteriae* (sdy_SDY_1256)
4. - *Helicobacter hepaticus* (hhe_HH1536)
5. - *Wolinella succinogenes* (wsu_WS1635)
6. - *Agrobacterium tumefaciens* C58 (UWash/Dupont) (atu_Atu2218)

PhnN

1. - *Escherichia coli* K-12 MG1655 (eco_b4094)
2. - *Shigella sonnei* (ssn_SSO_4270)

3. - *Pseudomonas aeruginosa* PAO1
4. - *Roseobacter denitrificans*

(pae_PA3373)
(rde_RD1_2388)

Los archivos fueron sometidos a un análisis de comparación de secuencias, utilizando BLAST, con la finalidad de encontrar secuencias homólogas, en una base de datos, construida con 397 genomas completos en aminoácidos, estos fueron obtenidos de la base de datos de internet del KEGG:

<ftp://ftp.genome.jp/pub/kegg/genomes/>

El análisis consistió en tomar una muestra de cierto número de secuencias homólogas entre sí; cada una de ellas fue comparada con la base de datos utilizando BLAST, con la finalidad de obtener el mayor número posible de secuencias homólogas y evitar así los falsos negativos, ya que de este modo al realizar diversos BLAST se identifican las mismas secuencias homólogas pero también se identifican aquellas que no hayan sido identificadas con la secuencia anterior (figura 3).

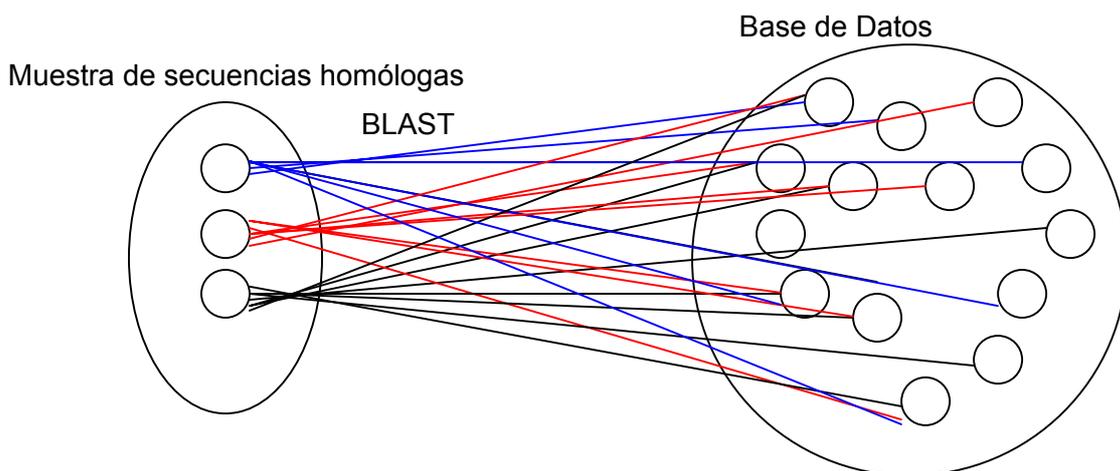


Fig. 3.1 Ilustración del análisis con BLAST

3.3 Análisis Filogenético (Elaboración de Filogenias)

Para la elaboración de filogenias se buscó los dominios que presentaran todas las secuencias homólogas encontradas, por medio de la comparación con la base de datos de dominios de Pfam, la cual fue obtenida de la siguiente dirección:

<http://www.sanger.ac.uk/Software/Pfam/>

Los dominios encontrados en todas las secuencias homólogas, fueron utilizados para hacer alineaciones múltiples, mediante el empleo del programa ClustalW, los archivos con terminación **.aln** procedentes de las alineaciones se emplearon en el programa MEGA 3.1 para la elaboración de árboles filogenéticos por el método Neighbor Joining.

El método descrito anteriormente para la distribución filogenética de las enzimas y elaboración de filogenias, se utilizo para cada enzima, y se ilustra en el diagrama siguiente.

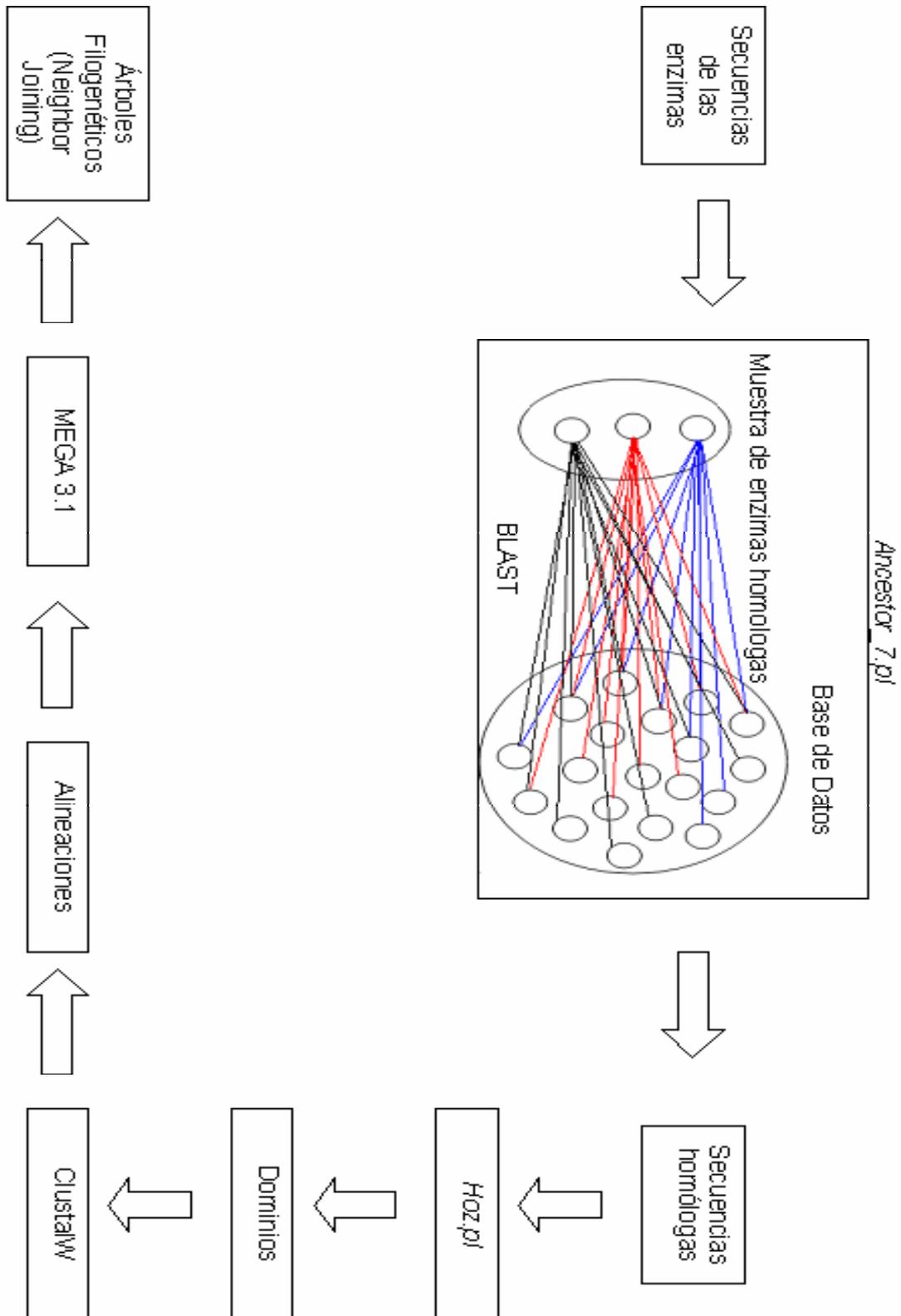


Diagrama 3.2 Método utilizado, para cada enzima

4. Resultados y discusión:

4.1 Evolución de la ruta (análisis al interior de la ruta)

Los dominios que presentan cada una de las enzimas, de acuerdo a la base de datos de Pfam (ver tabla 6.3 en el apéndice), son todos distintos, por lo tanto ninguno es homólogo; sin embargo al hacer la comparación estructural de las enzimas, por medio de la clasificación de SCOP de los dominios (ver tabla 6.4, en el apéndice), podemos observar que algunos pertenecen a la misma Superfamilia, estos son los dominios *NAD_binding2* y *G6PD_N*, los cuales pertenecen a la superfamilia de: *NAD(P)-binding Rossmann-fold domains*; por otra parte los dominios *Glucosamine_iso* y *Rib_5-P_isom_A* también pertenecen a la misma Superfamilia: *NagB/RpiA/CoA transferase-like*; al pertenecer a la misma superfamilia podemos decir que estos dominios son homólogos estructuralmente.

Dominios	Clasificación de SCOP
<i>NAD_binding2</i> <i>G6PD_N</i>	<u>Clase</u> : Alfa y beta proteínas (a/b) <u>Plegamiento</u> : Dominio de plegamiento <i>Rossmann</i> unión a NAD(P) <u>Superfamilia</u> : Dominio de plegamiento <i>Rossmann</i> unión a NAD(P)
<i>Glucosamine_iso</i> <i>Rib_5-P_isom_A</i>	<u>Clase</u> : Alfa y beta proteínas (a/b) <u>Plegamiento</u> : <i>NagB/RpiA/CoA transferase-like</i> <u>Superfamilia</u> : <i>NagB/RpiA/CoA transferase-like</i>

Tabla 4.1 Clasificación de SCOP de los dominios homólogos

A pesar de que los dominios no presenten la misma secuencia son homólogos, y por lo tanto se sugiere tiene el mismo origen, debido a que presentan la misma estructura, esto es posible ya que la presión de selección no es a nivel de secuencia si no a nivel estructural lo que le permite a la secuencia tener ciertos cambios siempre y cuando no afecten la estructura del dominio.

Los dominios de las enzimas que participan en la síntesis de novo de PRPP, de acuerdo a la clasificación de SCOP (ver tabla 6.4 en el apéndice), pertenecen a distintas superfamilias, las cuales a su vez están conformadas por una gran cantidad de enzimas que participan en diversas rutas metabólicas, por ejemplo:

La superfamilia *SIS domain*, contiene enzimas que están relacionadas con el metabolismo de azúcares fosfatados principalmente. La Superfamilia *NAD(P)-binding*

Rossmann-fold domains, presenta un gran número de familias, y por lo tanto un gran número de enzimas que participan en diversas rutas como en el ciclo del citrato, en la biosíntesis de esteroides, biosíntesis de metabolitos secundarios, biosíntesis de estreptomicina, metabolismo de aminoácidos, biosíntesis de lisina, metabolismo de arginina y prolina, metabolismo de cofactores y vitaminas, biosíntesis de CoA, metabolismo de carbohidratos, metabolismo de almidón y sacarosa. La superfamilia *6-phosphogluconate dehydrogenase C-terminal domain-like*, presenta un número de familias considerable, pero no tanto como la anterior, dentro de las enzimas que se encuentran en esta superfamilia participan también en diversas rutas como: metabolismo de aminoácidos, degradación de valina, leucina e isoleucina, metabolismo de carbohidratos, metabolismo de cofactores y vitaminas, metabolismo de arginina y prolina. La superfamilia *Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase-like, C-terminal domain* presenta 5 familias donde las enzimas pertenecientes a esta participan en rutas metabólicas muy diversas como en el metabolismo de la glucosa, en gluconeogénesis, metabolismo de piruvato, en el ciclo de la urea y en el metabolismo de grupos amino, en el metabolismo de glicina, serina y treonina, metabolismo de aminoácidos, biosíntesis y degradación de lisina, metabolismo de inositol fosfato, biosíntesis de metabolismo secundario y estreptomicina, metabolismo de clorofila y porfirina, metabolismo de cofactores y vitaminas, en metabolismo de lípidos y biosíntesis de esteroides. La superfamilia *NagB/RpiA/CoA transferase-like*, es una superfamilia que está compuesta por 5 familias; esta presenta enzimas que participan en metabolismo de carbohidratos, en la ruta de las pentosas fosfato, en la fijación de carbono, metabolismo de aminoácidos, metabolismo de metionina, metabolismo de glioxilato y dicarboxilato, metabolismo de cofactores y vitaminas. La superfamilia *PRTase-like* está compuesta por 2 familias. Las enzimas que se encuentran dentro de esta superfamilia participan en el metabolismo de nucleótidos, metabolismo de purinas y en el metabolismo de la pentosas fosfato. La superfamilia *Phosphoglucomutase, first 3 domains* está compuesta una sola familia que a su vez está compuesta por tres proteínas, donde solo dos son enzimas y participan en metabolismo de carbohidratos, metabolismo de fructosa y manosa, en glucólisis, gluconeogénesis, metabolismo de pentosas fosfato, metabolismo de galactosa, almidón, sacarosa, biosíntesis de metabolitos secundarios y estreptomicina. La superfamilia *Phosphoglucomutase, C-terminal domain* está compuesta por una sola familia, dentro de las cuales se encuentran 4 proteínas, donde tres son enzimas, estas participan en metabolismo de carbohidratos, metabolismo de amino azúcares, almidón, sacarosa, fructosa, manosa, en el metabolismo de pentosas fosfato y en la ruta metabólica de glucólisis y gluconeogénesis, así como en la biosíntesis de metabolitos secundarios y estreptomicina.

4.2 Distribución filogenética de las enzimas (análisis al exterior de la ruta)

Se analizaron 397 genomas celulares, pertenecientes a los tres dominios, en la tabla 4.2 se muestra el número de genomas de cada Dominio.

Dominio	No. De Genomas	%
Archaea	27	6.8%
Bacteria	314	79%
Eucarya	56	14.1%

Tabla 4.2 numero de genomas analizados de cada Dominio celular

A partir de las secuencias homólogas encontradas se elaboro una tabla de presencia (1)/ausencia (0) de las enzimas que participan en la síntesis *de novo* de PRPP a través de la ruta metabólica de las Pentosas Fosfato (PPP). La tabla 4.3 muestra los genomas que presenta el gen que codifica cada enzima.

Enzima	Numero EC:	No de Genomas
1).- Glucosa-6-fosfato isomerasa	5.3.1.9	353
2).- Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa	1.1.1.49	273
3).- 6-fosfogluconolactonasa	3.1.1.31	299
4).- Fosfogluconato dehidrogenasa	1.1.1.44	301
5).- Ribosa-5-fosfato isomerasa	5.3.1.6	286
6).- Fosfoglucomutasa	5.4.2.2	372
7).- Fosfopentomutasa	5.4.2.7	131
8).- Ribosa-fosfato difosfocinasa	2.76.1	380
9).- PhnN		267

Tabla 4.3. Numero de genomas que presentan las enzimas analizadas con Ancestor_7.pl

La distribución de las enzimas a través de los tres dominios celulares se muestra en la tabla 4.4; las tablas 4.5 y 4.6 muestran el número de organismos de cada grupo taxonómico que presentan las enzimas.

Enzima	Clasificación EC:	Archaea	Bacteria	Eucarya
1).- Glucosa-6-fosfato isomerasa	5.3.1.9	5	293	54
2).-Glucosa-6-fosfato dehidrogenasa	1.1.1.49	0	222	51
3).- 6-fosfogluconolactonasa	3.1.1.31	2	247	50
4).-Fosfogluconato dehidrogenasa	1.1.1.44	11	239	51
5).- Ribosa-5-fosfato isomerasa	5.3.1.6	26	215	45
6).- Fosfoglucomutasa	5.4.2.2	24	297	51
7).- Fosfopentomutasa	5.4.2.7	0	131	0
8).-Ribosa-fosfato difosfocinasa	2.7.6.1	26	302	52
9).- PhnN		0	245	22

Tabla 4.4. Distribución de las enzimas analizadas con Ancestor_7.pl en los 3 dominios celulares

La mayoría de las enzimas analizadas son codificadas principalmente por los dominios Bacteria y Eucarya, solo la Fosfopentomutasa no es codificada por genomas Eucariontes, sin embargo en el dominio Archaea solo 3 enzimas son codificadas por la mayoría de los genomas analizados que pertenecen a este dominio, y por lo tanto son codificadas por los tres dominios, estas enzimas son:

- Ribosa-5-fosfato isomerasa [EC: 5.3.1.6]
- Fosfoglucomutasa [EC: 5.4.2.2]
- Ribosa-fosfato difosfocinasa [EC: 2.7.6.1]

Los dominios Bacteria y Eucarya, presentan la vía oxidativa completa de las Pentosas Fosfato, así como la no-oxidativa por lo tanto pueden sintetizar PRPP a través de la ruta metabólica de las pentosas fosfato; en esta se puede sintetizar PRPP a partir de la D-Ribosa-5P en dos formas, principalmente para bacterias:

EUCARIONTES

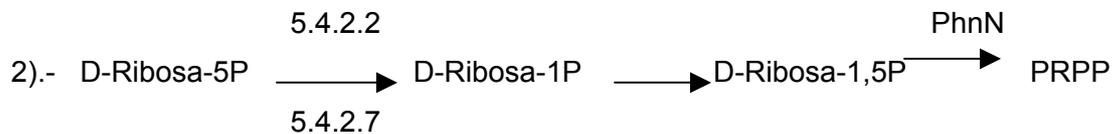
Categoría		EC: 5.3.1.9	EC: 1.1.1.49	EC: 3.1.1.31	EC: 1.1.1.44	EC: 5.3.1.6	EC: 5.4.2.2	EC: 5.4.2.7	EC: 2.7.6.1	PhnN	
Animales	Vertebrados	Mamíferos	7	6	6	6	6	6	0	6	0
		Aves	1	1	1	1	1	1	0	1	0
		Anfibios	2	2	2	2	1	2	0	2	0
		Peces	3	3	3	3	2	3	0	3	0
	Ascidian	1	1	1	1	1	1	0	1	0	
	Insectos	5	5	5	5	4	5	0	5	2	
	Nematodos	2	2	2	2	2	2	0	2	0	
Plantas	Dicotiledóneas	Familia de las plantas	1	1	1	1	1	0	1	1	
	Monocotiledóneas	Familia de las hierbas	0	0	0	0	0	0	1	0	
	Algas rojas		1	1	1	1	1	0	1	1	
Hongos	Ascomycetes	Saccharomycetes	11	11	11	11	11	11	0	11	11
		Schizosaccharomycetes	1	1	1	1	1	1	0	1	0
		Sordariomycete	1	2	2	2	2	2	0	2	2
		Eurotiales	3	3	3	3	3	3	0	3	3
	Basidiomycetes	2	2	2	2	2	2	0	2	0	
	Microsporidia	1	1	0	1	1	1	0	0	0	
Protistas	Cieno mohoso celular		1	1	1	1	1	0	1	1	
	Alveolados	Apicomplexa	7	5	5	5	5	0	5	0	
	Euglenozoa		3	3	3	3	0	2	0	3	1
	Entamoeba		1	0	1	0	0	1	0	1	0

Tabla 4.5 Número de organismos de cada grupo taxonómico que presentan las enzimas de la PPP

Procariontes

Categoría			EC: 5.3.1.9	EC: 1.1.1.49	EC: 3.1.1.31	EC: 1.1.1.44	EC: 5.3.1.6	EC: 5.4.2.2	EC: 5.4.2.7	EC: 2.7.6.1	PhnN	
Bacteria	Proteo bacteria	Gama/Entero bacteria	29	27	28	28	29	27	26	29	25	
		Otras/ Gamas	46	39	39	41	46	46	18	46	42	
		Beta	24	20	19	24	24	24	1	24	24	
		Epsilon	7	2	2	0	0	7	4	7	2	
		Delta	10	4	5	4	0	10	2	10	6	
		Alpha	29	26	26	24	22	37	8	42	30	
	Acidobacteria		0	1	1	1	0	1	0	1	1	
	Firmicutes	Bacillales	31	29	30	31	26	31	31	31	31	30
		Lactobacillales	26	9	23	9	26	26	22	26	25	
		Clostridia	6	3	4	6	1	7	7	7	7	
		Mollicutes	15	0	5	2	0	8	6	14	5	
	Actinobacteria		21	19	21	21	1	21	1	21	21	
	Fusobacteria		1	0	0	0	0	1	0	1	1	
	Planctomyces		1	1	1	1	0	1	0	1	1	
	Chlamydia		11	11	11	11	11	11	0	3	1	
	Espiroquetas		6	3	5	6	4	6	0	6	0	
	Cianobacteria		17	17	17	17	17	17	0	17	15	
	Bacteroides		5	4	5	4	4	5	0	5	0	
	Bacterias sulfurosas verdes		3	3	3	3	0	3	0	3	3	
	Bacterias no-sulfurosas verdes		0	0	0	0	0	2	0	2	2	
Deinococcus-Termus		4	2	1	4	4	4	4	4	4		
Bacterias Hipertermofilas		1	2	1	2	0	2	1	2	0		
Archaea	Euryarchaeota	5	0	2	7	21	21	0	21	0		
	Crenarchaeota	0	0	0	4	5	3	0	5	0		
	Nanoarchaeota	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

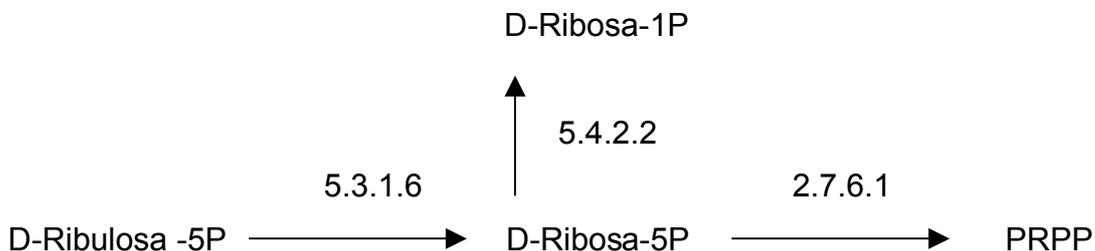
Tabla 4.6 Número de organismos de cada grupo taxonómico que presentan las enzimas de la PPP



La primera vía es la mas general, a partir de glucosa, por la cual se sintetiza PRPP, ya que implica menos paso metabólicos.

La segunda ruta enzimática es alterna en la cual no se requiere la participación de la PRPP sintasa, esta ruta, fue analizada en *E. coli* y requiere de tres enzimas: la fosfopentomutasa, ribosa1-bifosfocinasa y ribosa 1,5-bifosfocinasa. La ultima reacción es llevada acabo por el producto del gen phnN (Hove-Jensen, et al., 2003). La primera reacción la puede llevar acabo dos enzimas distintas, la Fosfopentomutasa [EC: 5.4.2.7] y la Fosfoglucomutasa [EC: 5.4.2.2], sin embargo la enzima que se presenta en los dos dominios es la Fosfoglucomutasa, a pesar que cataliza la reacción más lentamente que la Fosfopentomutasa. Una posible explicación de esto es que la Fosfoglucomutasa participa en diversas rutas metabólicas por lo tanto es codificada por la mayoría de los genomas Bacterianos y Eucariontes; aunque no participe principalmente en la reacción antes descrita.

Con respecto a los genomas pertenecientes al dominio Archaea solo presentan una enzima que participan en la vía no-oxidativa, la 5.3.1.6, y carece de las enzimas restantes. Dos de estas enzimas participan en la síntesis de PRPP a partir de la Ribulosa-5P.



Estos resultados concuerda con los obtenidos por Soderberg (2005), cuyos análisis geonómicos sugieren que la ruta convencional de las pentosas fosfato esta incompleta o faltante en su totalidad en distintos archaeas.

Análisis bioquímicas y geonómicos de Archaeas han surgido la posibilidad que la ruta de la Ribulosa Monofosfato (RuMP) esta involucrada en la síntesis de Ru5P desde F6P a través de la reacción inversa de la fijación de formaldehído por la HPS y PHI (Goenrich et al, 2005; Kato et al, 2006; Soderberg, 2005; Yurimoto et al, 2005).

La ruta metabólica de la Ribulosa Monofosfato (RuMP), fue originalmente encontrada en bacterias metilotroficas, las cuales pueden utilizar compuesto de C₁ como la única fuente de carbón y energía (Kato et al, 2006; Sakai et al, 1999; Yanase et al, 1996; Yurimoto et al 2005). En esta ruta, el formaldehído es fijado con ribulosa-5P para formar D-arabino-3-hexulosa-6P (Hu6P) mediante la 3-hexulosa-6-fosfato sintasa (HPS) y después isomerizada a fructosa-6-fosfato (F6P) por la 6-fosfo-3-hexuloisomerasa (PHI) (Orita et al 2006).

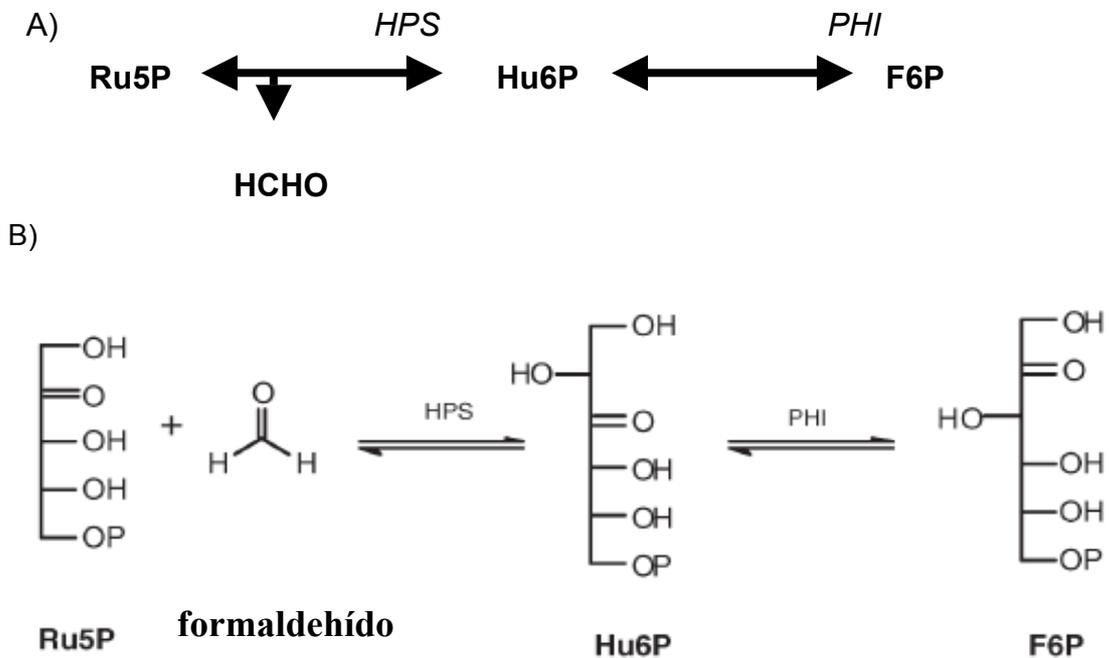


Fig. 4.1 A) Ruta metabólica de la Ribulosa Monofosfato. Ribulosa 5P (Ru5P), Hexulosa 6P (Hu6P), Fructosa 6P. B) Reacciones de la RuMP (Soderberg, 2005)

En la figura 4.2 se muestra esquemáticamente la distribución de las enzimas a través de los tres Dominios.

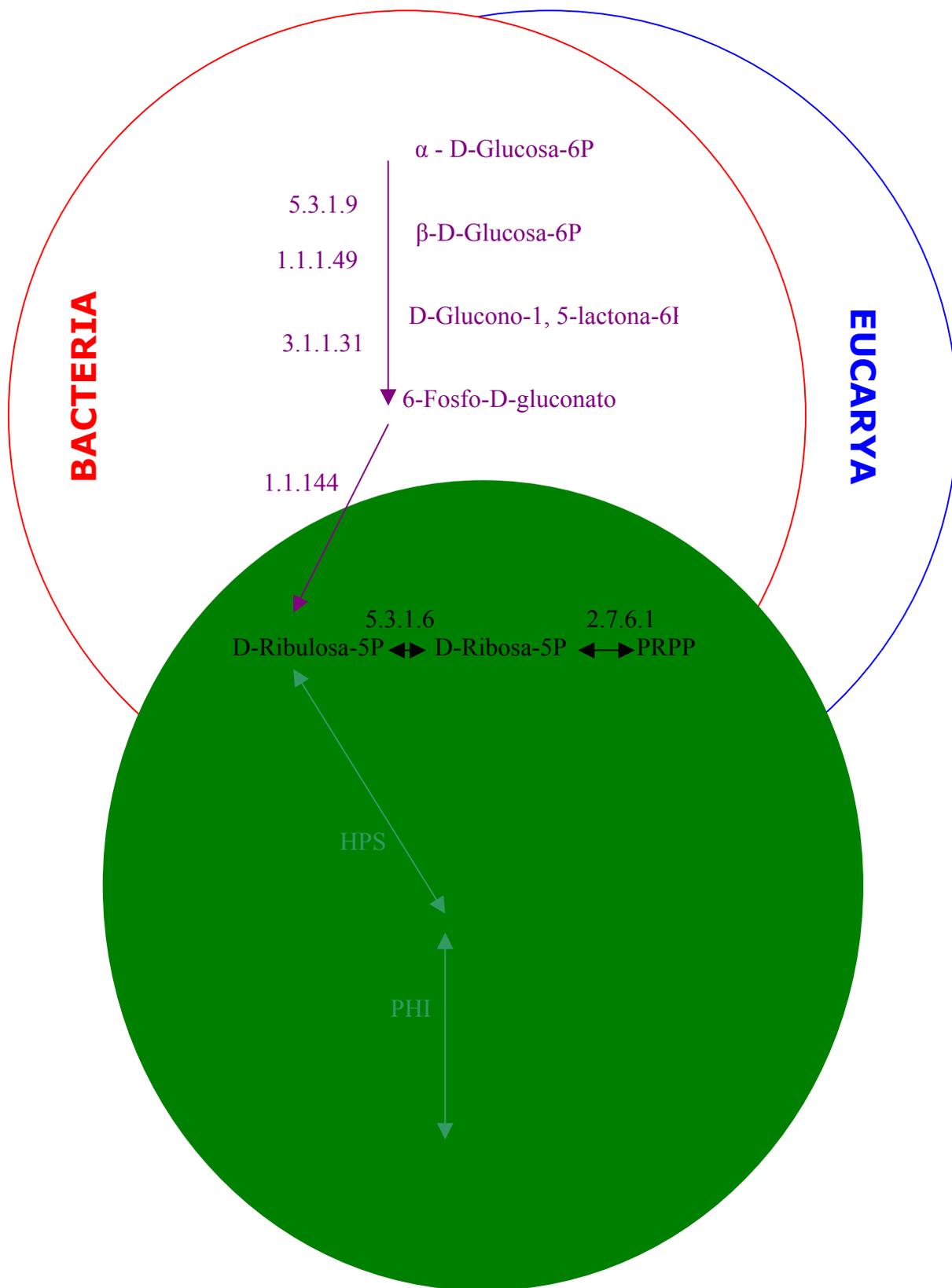


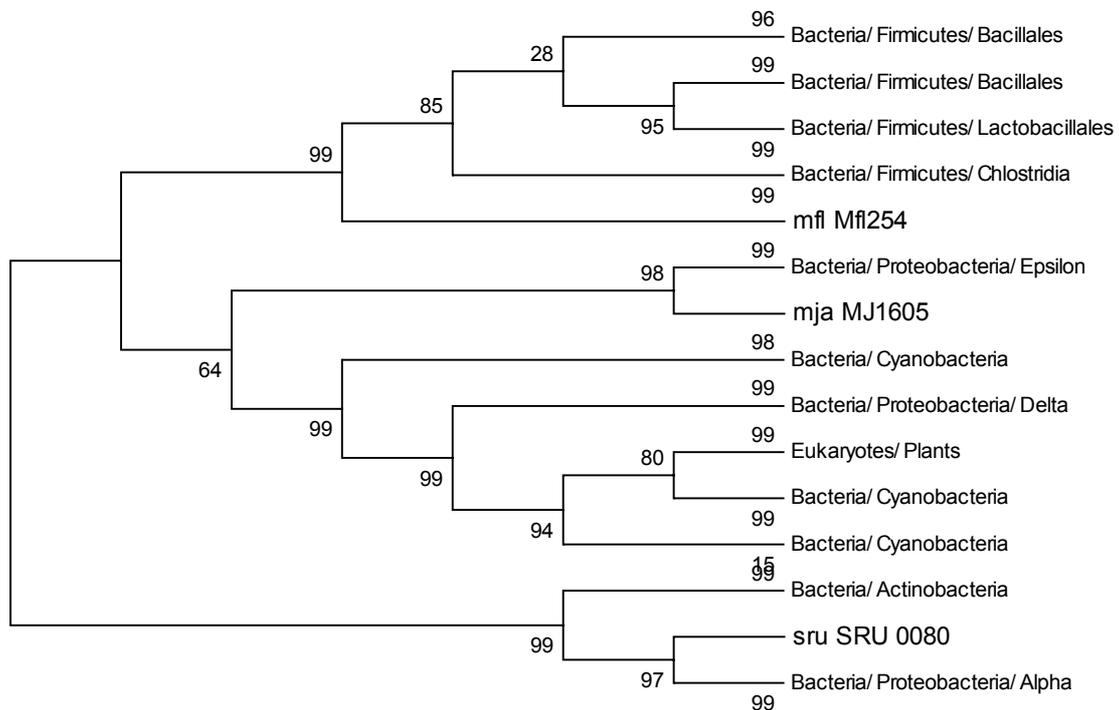
Figura 3.2 Distribución de las enzimas en los tres Dominios

4.3 Análisis de filogenético

Los árboles filogenéticos obtenidos a partir de los dominios no reflejan una filogenia clara, no hay una marcada división en los tres dominios universales; esto se debe a que los dominios presentan muy pocos sitios conservados, y demasiados sitios variables.

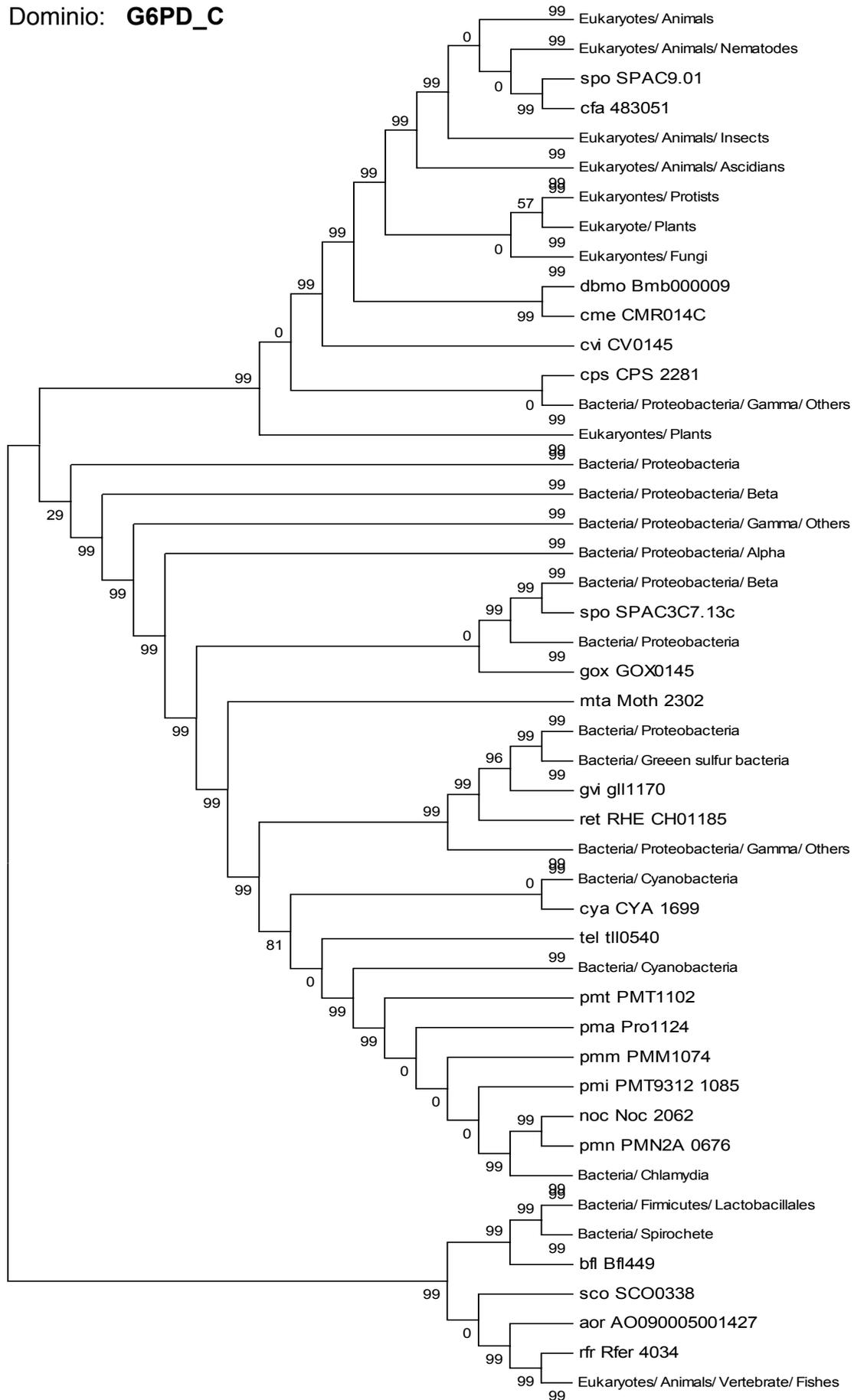
La glucosa 6 fosfato isomerasa presenta un solo dominio, el árbol filogenético obtenido a partir de este es el siguiente:

Dominio: **PGI**

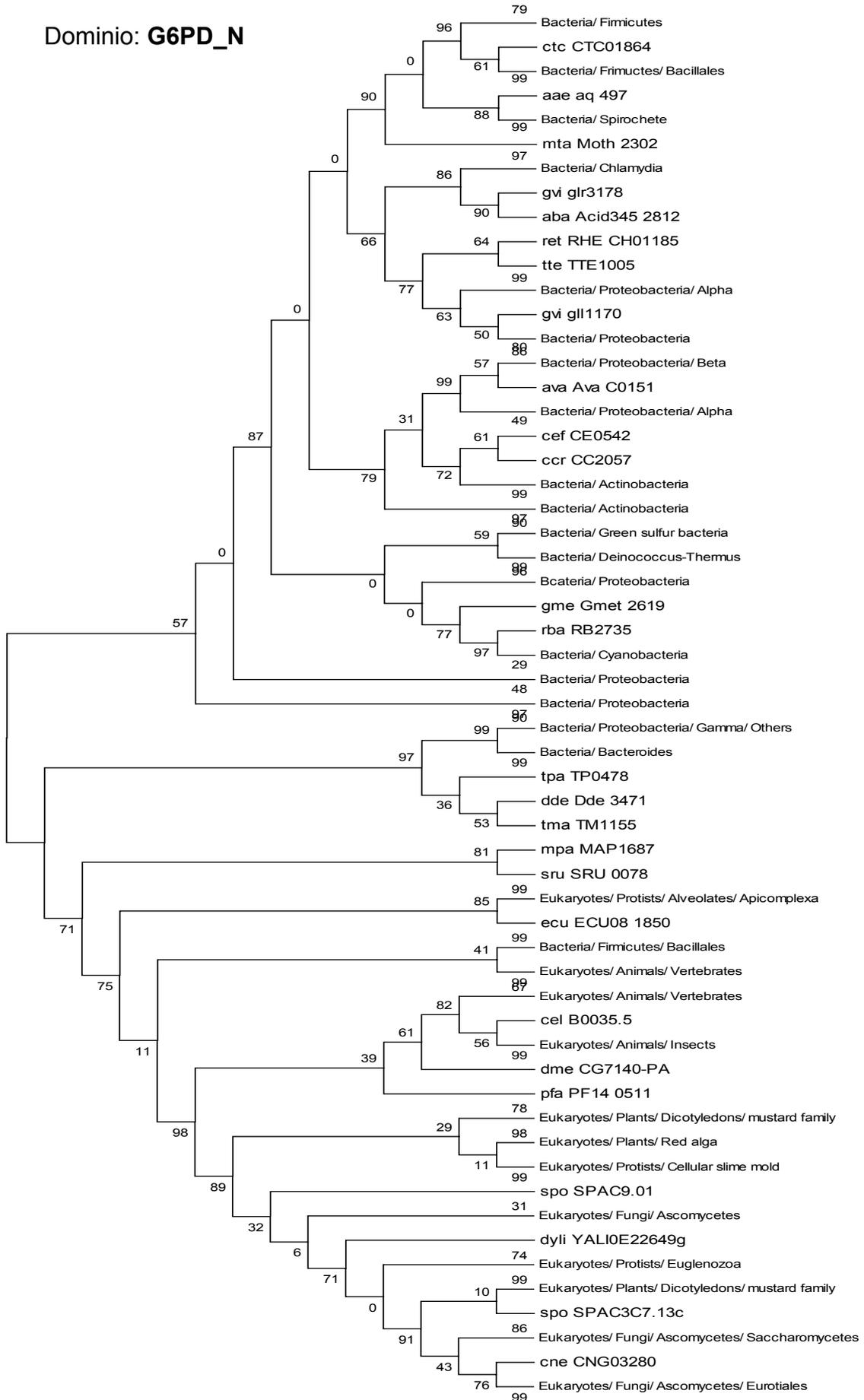


La enzima Glucosa-6 fosfato dehidrogenasa presenta dos dominios el **G6PD_C** y el **G6PD_N**. Los árboles filogenéticos obtenidos al utilizar cada dominio son los siguientes:

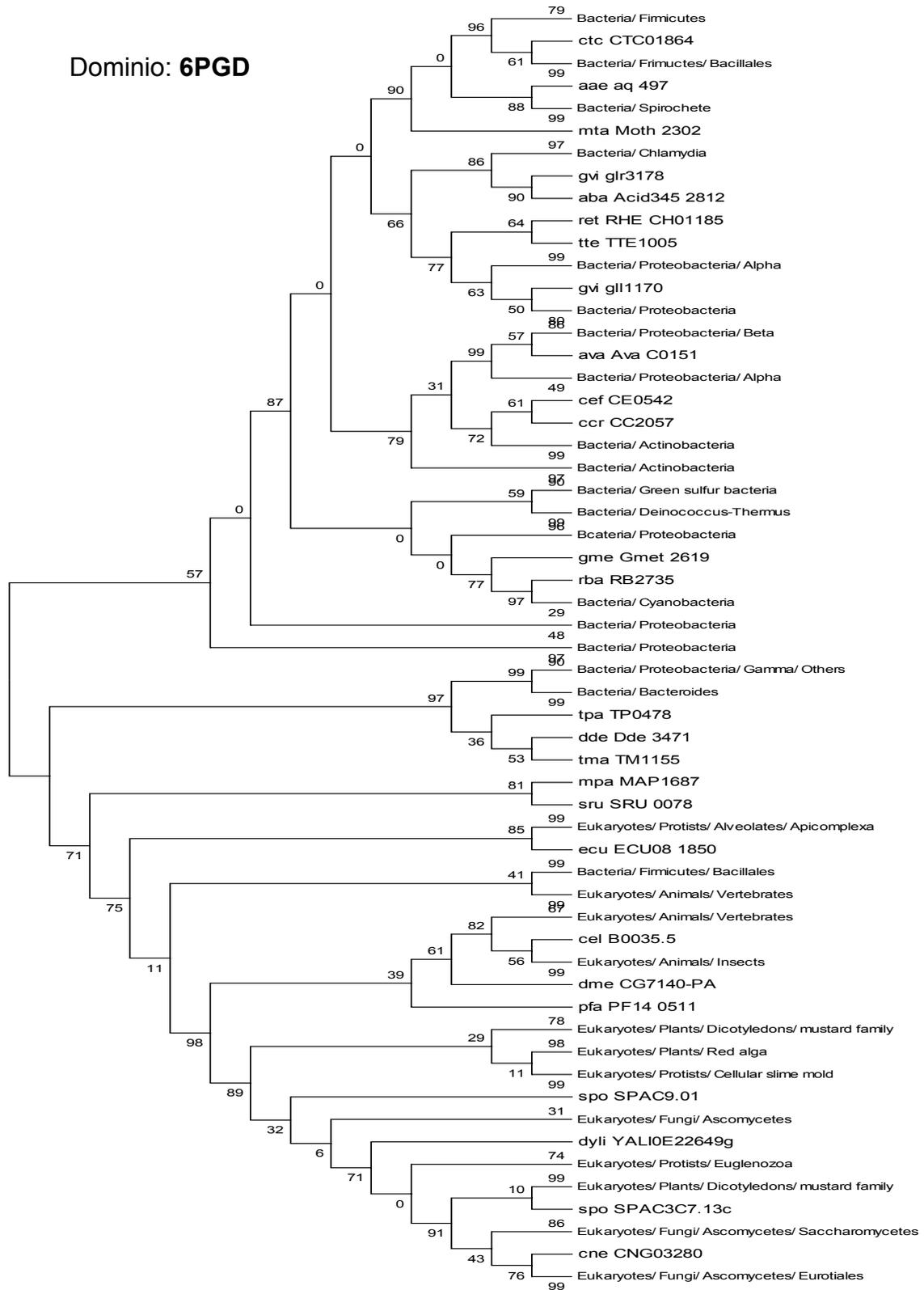
Dominio: **G6PD_C**



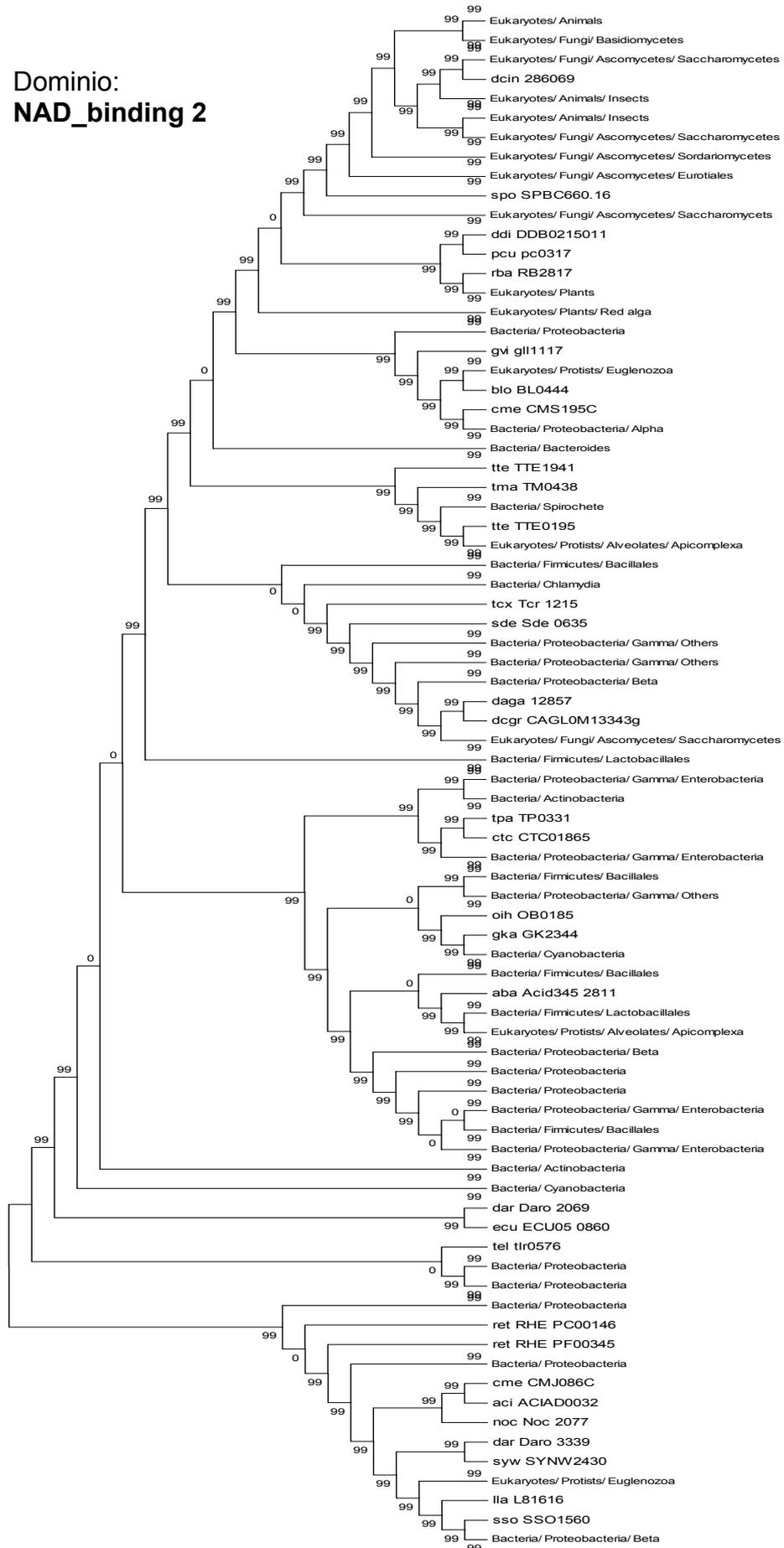
Dominio: **G6PD_N**



La enzima Fosfogluconato dehidrogenasa presenta dos dominios el **6PGD** y el **NAD_binding_2**, los árboles obtenidos de estos dos dominios son los siguientes:

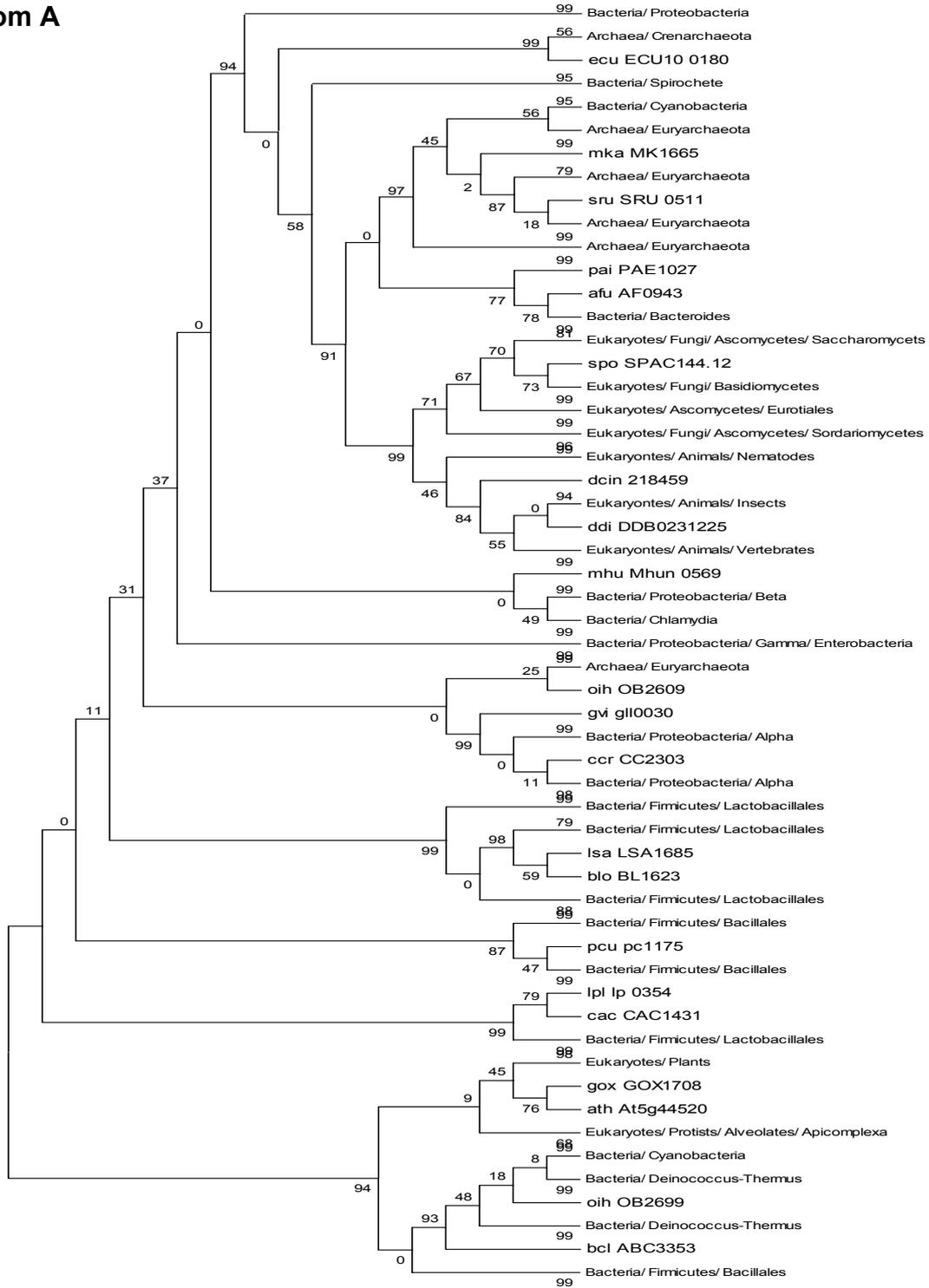


Dominio:
NAD_binding 2



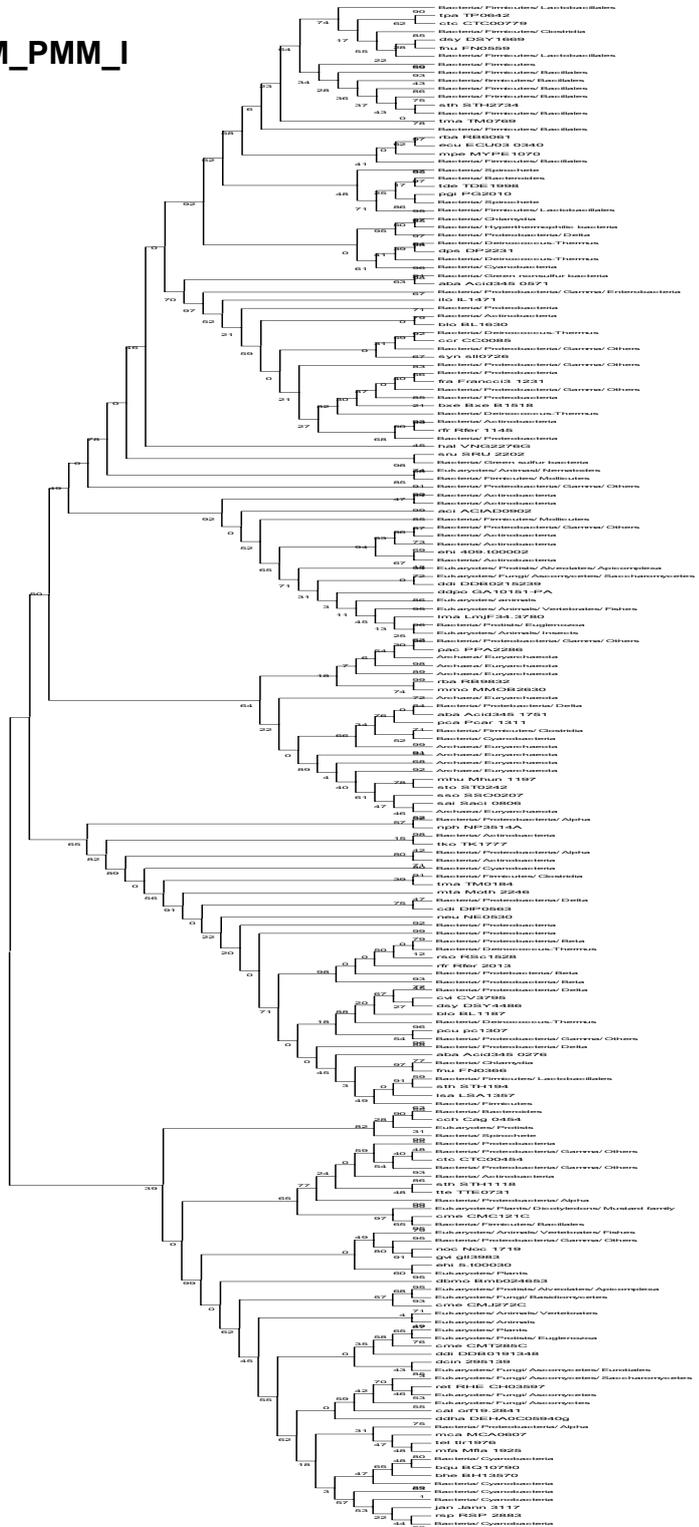
La enzima ribosa -5-fosfato isomerasa presenta un solo dominio el **Rib 5-P isom A**, el árbol construido a partir de este es el siguiente

Dominio: Rib 5-P - isom A

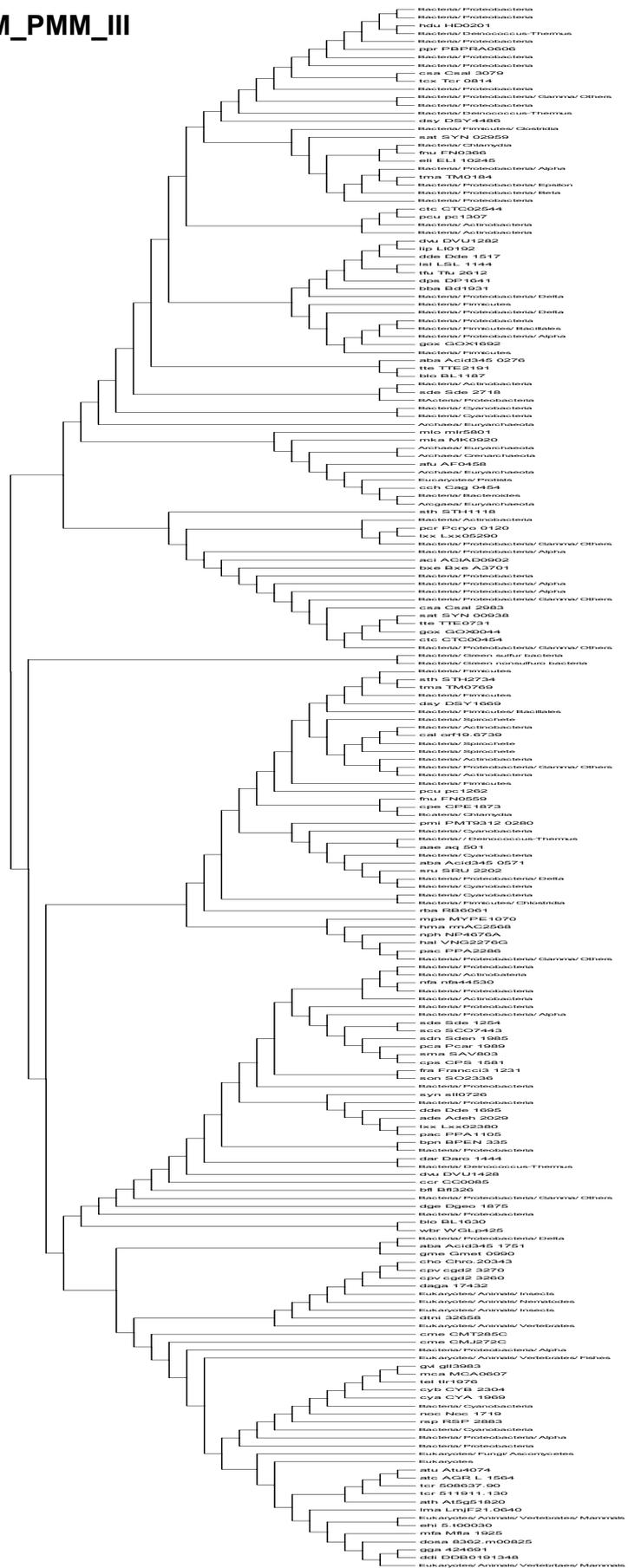


La enzima Fosfoglucomutasa presenta 4 dominios: PGM_PMM_I, PGM_PMM_II, PGM_PMM_III, PGM_PMM_IV, los árboles construidos a partir de estos dominios son los siguientes:

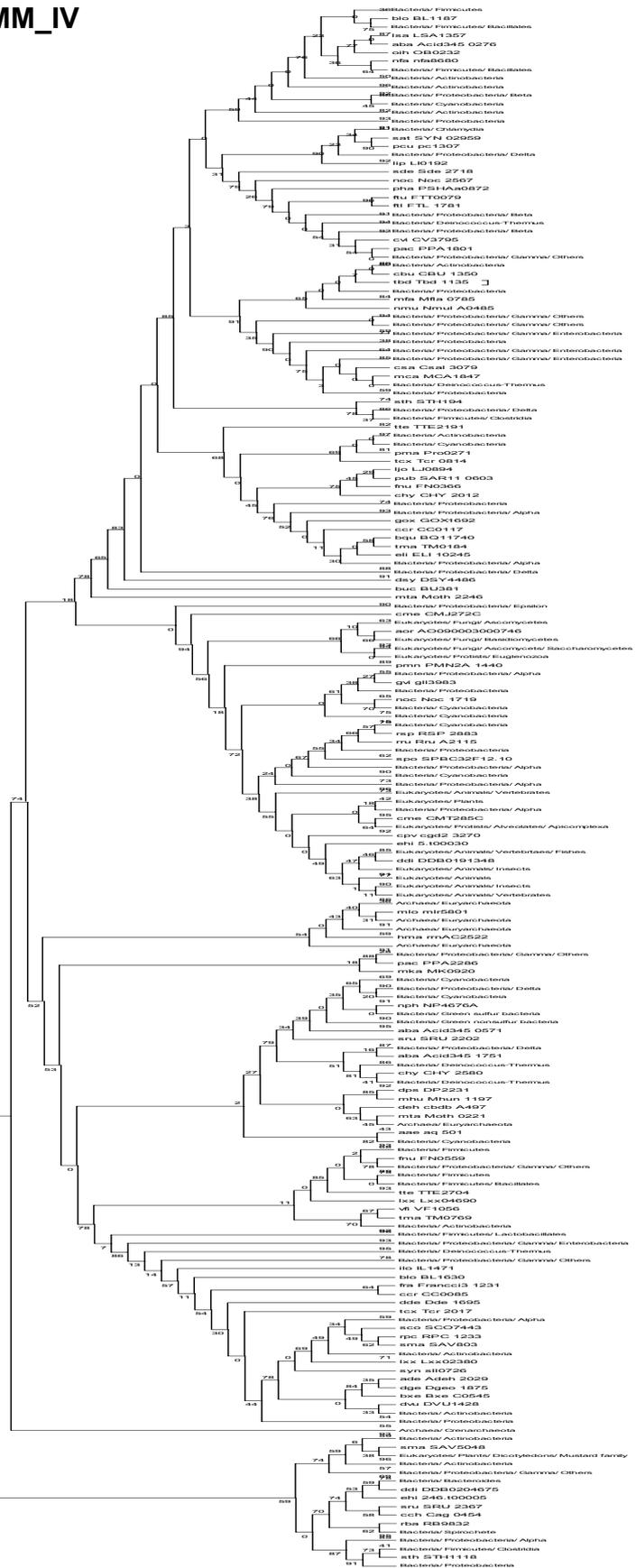
Dominio: PGM_PMM_I



Dominio: PGM_PMM_III

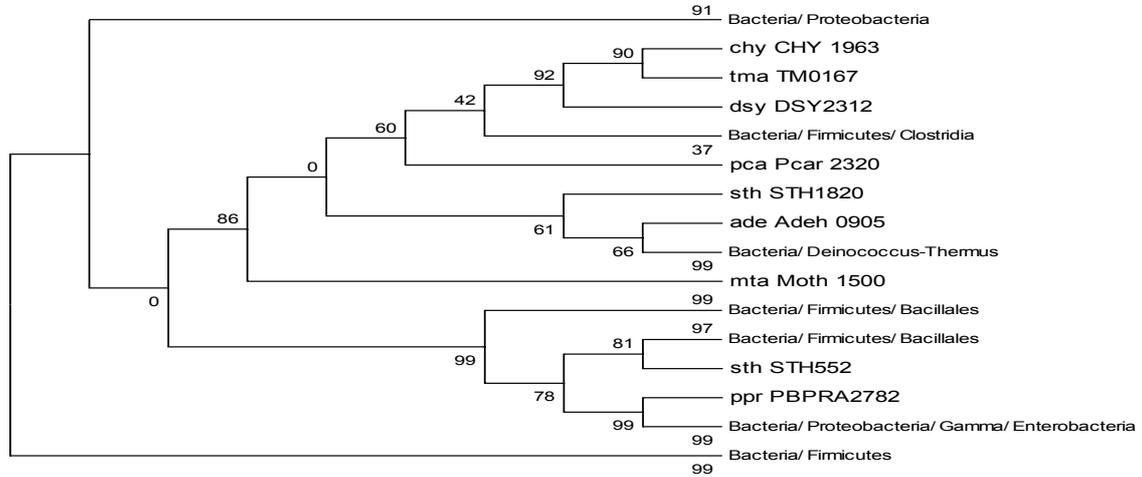


Dominio: PGM_PMM_IV

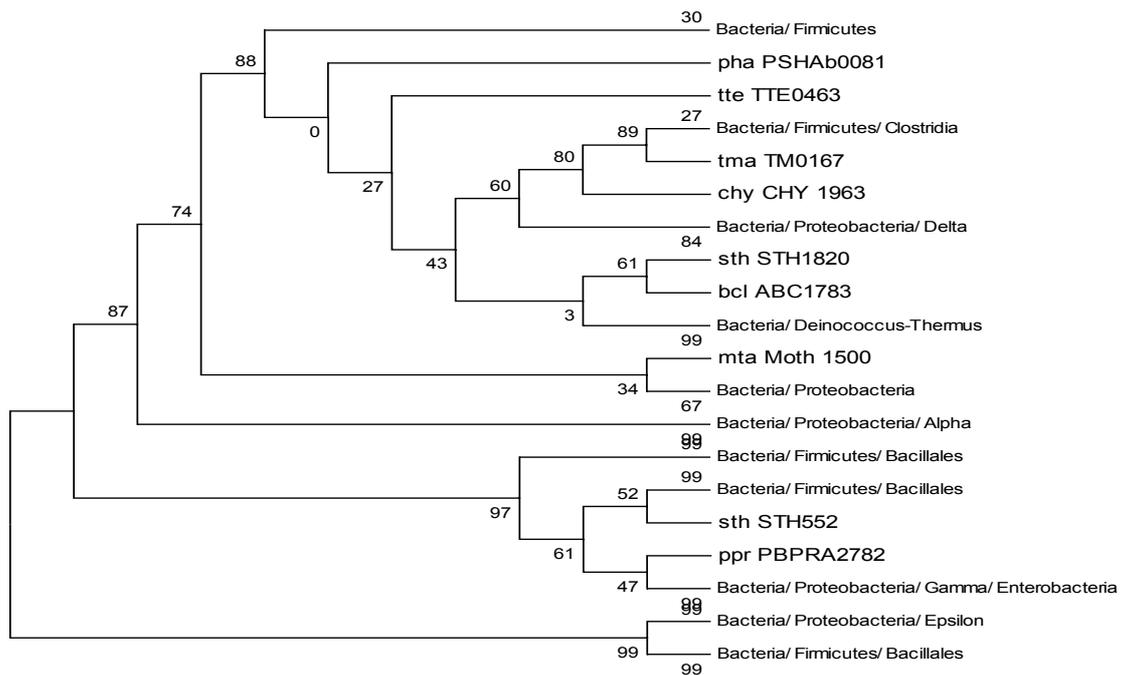


La Fosfopentomutasa presenta dos dominios el **PPM_N** y el dominio **Metalloenzyma**, a partir de estos dos dominios se construyeron los siguientes árboles filogenéticos:

Dominio: PPM_N

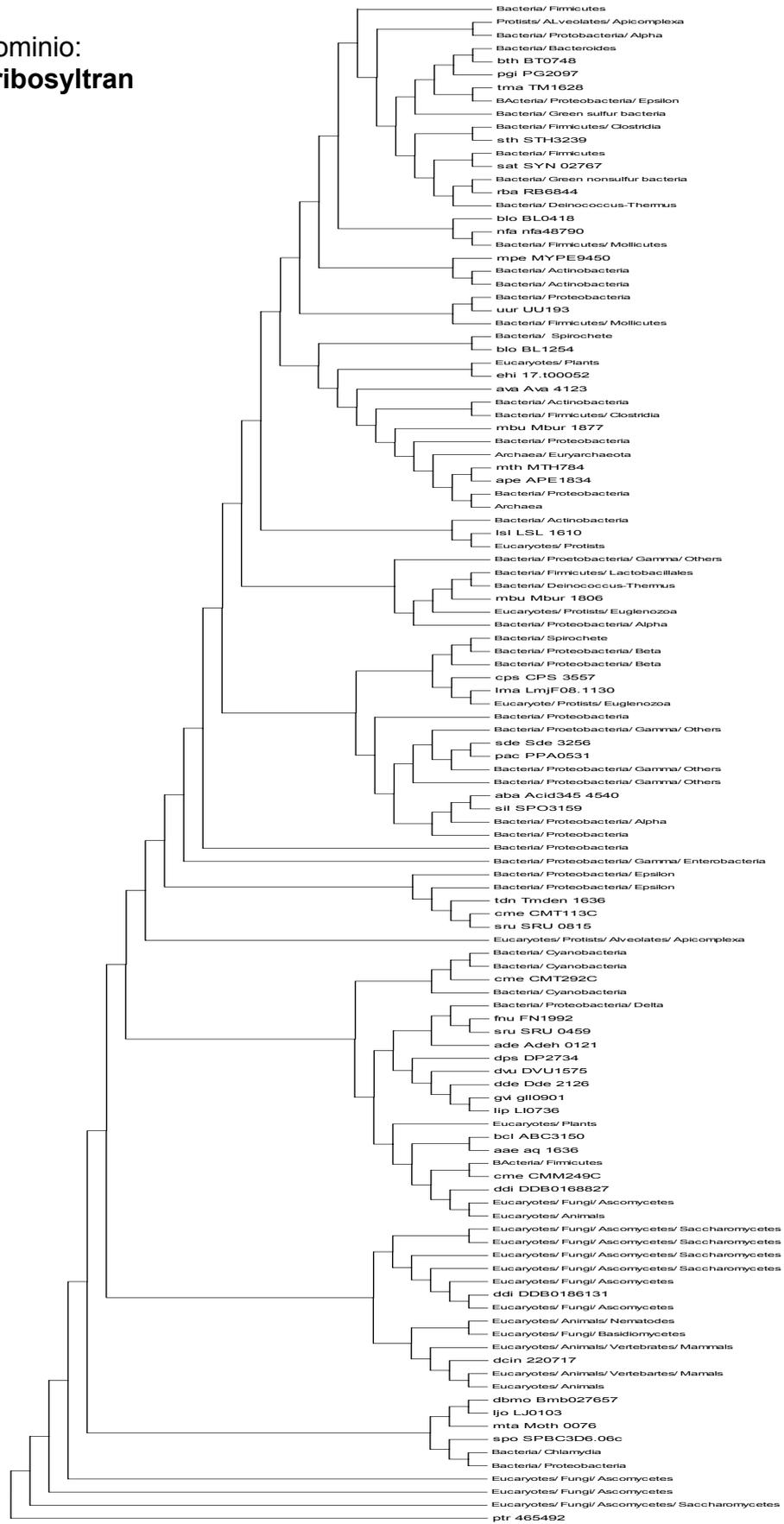


Dominio: Metalloenzyma



La enzima Ribosa-fosfato difosfocinasa, presenta un solo dominio el **Pribosyltran**

Dominio:
Pribosyltran



5. Conclusiones:

Evolución de la ruta.

La comparación estructural de las proteínas nos permiten inferir el posible mecanismo de evolución de la síntesis de PRPP a través de la ruta de las pentosas fosfato, de acuerdo a las distintas teorías de evolución de rutas; el origen polifilético de las enzimas que participan en la síntesis, nos parece indicar que el principal mecanismo de evolución que tomo parte en el ensamble de la ruta fue tipo *patchwork*, donde las enzimas fueron reclutadas a partir de distintas rutas metabólicas ya existentes. Además la homología que presentan las enzimas que participan, en la vía oxidativa de la ruta de las pentosas fosfato, la Glucosa-6-fosfato 1-deshidrogenasa [EC: 1.1.1.49] con la 6-fosfogluconato deshidrogenasa [EC: 1.1.1.44] y la 6- fosfogluconolactonasa [EC: 3.1.1.31] con la Ribosa 5-fosfato isomerasa [EC: 5.3.1.6] parecen fortalecer la idea que la ruta fue ensamblada por un mecanismo tipo *patchwork*. Sin embargo no se puede saber que enzima surgió primero y dio origen a la otra.

Por otra parte la ausencia de evidencia de homología entre enzimas que catalicen pasos secuenciales no permite que el mecanismo de evolución haya sido tipo Horowitz o Granick; así como tampoco puede ser un mecanismo semi-enzimático debido a que no se presentan reacciones espontáneas,

Distribución filogenética de las enzimas

El 5-fosforribosil-1-pirofosfato (PRPP) es el precursor común en la síntesis de salvamento y *de novo* de nucleótidos. La síntesis de PRPP a través de la rutas de las pentosas, constituye una de las vías por la cual los dominios Bacteria y Eucarya pueden sintetizar PRPP a partir de glucosa, como se muestra en los resultados; sin embargo para el dominio Archaea, no lo es así, los integrantes de este dominio no presentan la ruta completa de las Pentosas fosfato, carecen de las enzimas que participan en la vía oxidativa, por lo tanto no pueden sintetizar Ribulosa 5P, para ello emplean una ruta alterna a través de la ruta de la Ribulosa -monofosfato. Considerando, que la descripción del ultimo ancestro común puede ser inferida por la distribución de los caracteres homólogos en los tres linajes celulares, en otras palabras las características de éste estarían definidas por las propiedades que se comparten en todos los organismo vivientes, y tomando en cuenta que el ultimo ancestro común era un organismo complejo, posiblemente muy parecido a las

bacterias actuales, podríamos tratar de inferir si la síntesis de PRPP a través de la ruta de las pentosas fosfato ya estaba presente en este; sin embargo, la distribución de todas las enzimas que participan en esta vía de síntesis, no presentan una distribución universal, solo aquellas pertenecientes a la vía no-oxidativa, debido a esto no podemos establecer que la ruta completa de las pentosas fosfato se encontraba ya presente en el último ancestro común; así como tampoco podemos determinar si la vía oxidativa de la ruta de las pentosas, por la cual se sintetiza ribulosa 5-P, surgió antes que la de la ribulosa monofosfato, esto se debe a que el árbol universal está sin raíz, debido a esto no podemos determinar si el dominio Bacteria es más antiguo que el Archaea o por lo contrario, el Archaea es más antiguo que el Bacteria.

Elaboración de Filogenias

Con respecto a la elaboración de filogenias a partir de los dominios que presentan las enzimas, los árboles obtenidos no reflejan una relación clara, ya que diversos organismos pertenecientes a linajes celulares distintos aparecen como grupos hermanos, con lo cual el empleo de estos para la elaboración de filogenias no es adecuado.

6. Referencias

Alves, R. Chaleil, R.A.G. and Sternberg, M. J. (2002). Evolution of Enzymes in Metabolism: A Network Perspective. *J. Mol. Biol.* 320: 751-770.

Beadle, G. W. and Tatum, E. L. (1941) Genetic control of biochemical reactions in *Neurospora*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 27: 299-506.

Becerra Bracho, A. C. (1997) Tesis de Maestria. Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.

Canovas, J. L., Ornston, L. N. and Stanier, R. Y. (1967). Evolutionary significance of metabolic control systems. *Science.* 156: 1695-1699.

Eicks, M., Maurino, V., Knappe, S., Flügge, U. and Fischer, K. (2002) The plastidic pentose phosphate traslocator represents a link between the cytosolic and the plastidic pentose phosphate pathways in plants. *Plant Fisiology.* 128: 512-522.

Goenrich, M., Thaver, R.K., Yurimoto, M. and Kato, N. (2005). Formaldehyde activating enzyme (Fae) and hexulose-6-phosphate synthase (Hps) in *Methanosarcina barkarei*: a possible function in ribulose-5- phosphate biosynthesis. *Arch. Microbiol.* 184: 41-48

Granick, S. (1957). Speculations on the origins and evolution of photosynthesis. *Ann NY. Acad. Sci.* 69: 292-308.

Graick, S. (1965). Evolution of heme and chlorophyll. In: Bryson V, Vogel H (eds) *In Evolving genes and proteins.* Academic Press, New York, pp 67-88.

Gumma, K.A. and MacLeand, P. (1969). The pentose phosphate pathway of glucose metabolism: enzyme profiles and transient and steady-state content of intermediates of alternative pathways of glucose metabolism in Krebs ascites cells. *Biochem. J.* 115: 1009

Horowitz, N. H. (1945). On the evolution of biochemical synthesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 31: 153-157.

Horowitz, N. H. (1965). The evolution of biochemical synthesis. Retrospect and prospect. In: Bryson V, Vogel H (eds). *Evolving genes and proteins.* Academic Press, New York, pp 15-23.

Hove-Jensen, B., Rosendkrantz, T.J., Haldimann, A and Wannera, B.L. (2003). *Escherichia coli phnN*, Encoding Ribose 1,5-Bisphosphokinase Activity (Phosphoribosyl Diphosphate Forming): Dual Role in Phosphonate Degradation and NAD Biosynthesis Pathways. *Journal of Bacteriology.* 185: 2973-2801.

Jensen, R. A. (1976). Enzyme recruitment in the evolution of new function. *Annu Rev Microbiol.* 30:409-425.

Kato, N., Yurimoto, H. and Thaver, R.K. (2006). The physiological of the ribulose monophosphate pathway in bacterial and archaea. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 70: 10-21.

Kleijn, R., van Widen, W.A., Ras, C., van Gulik, W.M., Schipper, D. and Heijnen, J.J. (2006). ¹³C-labeled gluconate tracing as a direct and accurate method for determining the pentose phosphate pathways split ratio in *Penicillium chrysogenum*. *Applied and environmental Microbiology.* 72: 4743-4754.

Koch, A. L. (1972). Enzyme evolution. The importance of unstranalatable intermediates. *Genetics*. 72: 297-316.

Lazcano, A. and Miller, S. L. (1999). On the origin of the metabolic pathways. *J. Mol. Evol.* 49: 424-431.

Lewis, E. B. (1951). Pseudoallelism and gene evolution. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol.* 16: 159-174.

Nelson, D. L. and Cox, M. M. (2005). *Lehninger: principles of biochemistry*. 4a ed. USA. 1119pag.

O'Brien, P. J. and Herschlag, D. (1999). Catalytic promiscuity and the evolution of new enzymatic activities. *Chem. Biol.* 6: R91-R105.

Oparin, A. I. (1938). *The origin of life*. Macmillan. New York.

Orita, I., Sato, T., Yurimoto, H., Kato, N., Atomi, H., Imanaka, T. and Saka, Y. (2006). The ribulose monophosphate pathway in the archaeon *Thermococcus Kodakaraensis*. *Journal of Bacteriology*. 188: 4698-4704

Ornston, L. N. (1971). Regulation of catabolic pathways in *Pseudomonas*. *Bacteriol. Rev.* 35: 87-116.

Pereto, J., Fani, R., Leguina, J. I. and Lazcano, A. (1997). Enzyme evolution and the development of metabolic pathways. In: Cornish-Bowden, A. (ed). *In: new beer in an old bottle: Eduar Buchner and growth of biochemical knowledge*. Universitat de Valencia, valencia, Spain, pp 173-198.

Rison, S. C. G. and Thornton, J. M. (2002). Pathway, structurally speaking. *Current Opinion in Structural Biology*. 12: 374-382.

Sakai, Y., Mitsui, R., Katayama, Y., Yanase, H. and Kato, N. (1999) Organization of genes involved in the ribulose monophosphate pathway in an obligate methylotrophic bacterium, *Methylomonas aminofaciens* 77a. *FEMS. Microbial. Lett.* 176: 125-130.

Schmidt, S., Sunyaev, S., Bork, P. and Dandekar, T. (2003). Metabolites: a helping hand for pathway evolution ?. *Trends in Biochemical Sciences*. 28: 336-341.

Soderberg, T. (2005). Biosynthesis of ribose-5-phosphate and erythrose-4-phosphate in arhcaea: a phylogenetic analysis of archaeal genomes. *Archaea* 1: 347-352.

Velasco Velasco, A. M. (2002). Tesis de maestría, Biología. Facultad de Ciencias, UNAM.

Waley, S. G. (1969). Some aspects of the evolution of metabolic pathways. *Comp. Biochem. Physiol.* 30: 1-11.

Yanase, H., Ikeyama, R., Mitsui, R., Kita, K., Sakai, Y. and Kato, N. (1996). Cloning and sequence analysis of gene encoding 3-hexulose-6-phosphate synthase from the methylotrophic bacterium, *Methylomonas aminofaciens* 77^a and its expression in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol. Lett.* 135: 201-205.

Ycas, M. (1974). On the earlier states of the biochemical system. J. Theor. Biol. 44: 145-160.

Yurimoto, H., Kato, N. and Sakai, Y. (2005). Assimilation, dissimilation, and detoxification of formaldehyde, a central metabolic intermediate of methylotrophic metabolism. Chem. Rec. 5: 367-376.

Zamboni, N., Fischer, E., Laudert, D., Aymerich, S., Hohmann, H-P. and Saver, U. (2004). The *Bacillus subtilis* *ygjI* gene encodes the NADP⁺-dependent 6-P-gluconate dehydrogenase in the pentose phosphate pathway. Journal of Bacteriology. 186: 4528-4534.

7. Apéndice

7.1 Enzimas que participan en la síntesis de PRPP a través de la OPPP

Es muy común encontrar enzimas que son conocidas con diversos nombres, debido a esto se utiliza un esquema de clasificación de la comisión de enzimas EC (Enzyme Commission), este esquema se basa sobre un número jerárquico de cuatro dígitos. El primer dígito describe la clase de la enzima, dígitos subsecuentes definen futuros detalles de su función y reactantes; en la siguiente tabla se muestra los sinónimos de cada enzima y su número EC

Numero EC:	sinónimos
5.3.1.9	Glucosa-6-fosfato isomerasa; fosfohexosa isomerasa; fosfohexomutasa; oxoisomerasa; hexosafosfato isomerasa; fosfosacaromutasa; fosfoglucoisomerasa; fosfohexoisomerasa; fosfoglucosa isomerasa; glucosa fosfato isomerasa; hexosa fosfato isomerasa; D-glucosa-6-fosfato ceto I-isomerasa
1.1.1.49	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; NADP-glucosa-6-fosfato deshidrogenasa; Zwischenferment; D-glucosa 6-fosfato deshidrogenasa; glucosa 6-fosfato deshidrogenasa (NADP); glucosa 6-fosfato deshidrogenasa dependiente de NADP; 6-fosfoglucosa deshidrogenasa; enzima Entner-Doudoroff; glucosa-6-fosfato1-deshidrogenasa; G6PDH; GPD
3.1.1.31	6-fosfogluconolactonasa; Fosfogluconolactonasa; 6-PGL
1.1.1.44	Fosfogluconato deshidrogenasa (descarboxilando); ácido fosfogluconico deshidrogenasa; 6-fosfogluconico deshidrogenasa; 6-fosfogluconico carboxilasa; 6-fosfogluconato dehidrogenasa (descarboxilando); 6-fosfo-D-gluconato deshidrogenasa
5.3.1.6	Ribosa-5-fosfato isomerasa; fosfopentoisomerasa; fosforriboisomerasa; ribosa fosfato isomerasa; 5-fosforribosa isomerasa; D-ribosa 5-fosfato isomerasa; D-ribosa-5-fosfato ceto-isomerasa
5.4.2.2	Fosfoglucomutasa; glucosa fosfomutasa; fosfoglucosamutasa
5.4.2.7	Fosfopentomutasa; fosfodesoxirribomutase; desoxirribosa fosfomutasa; desoxirribomutasa; fosforribomutasa; alpha-D-glucosa-1,6-bifosfato:desoxi-D-ribosa-1-fosfato; fosfotransferasa; D-ribosa 1,5 fosfomutasa
2.7.6.1	ribosa-fosfato difosfocinasa; ribosa-fosfato pirofosfocinasa; PRPP sintetasa; fosforribosilpirofosfato sintetasa; PPRibP sintetasa; PP-ribosa P sintetasa; 5-fosforribosil-1-pirofosfato sintetasa; 5-fosforribosa pirofosforilasa; 5-fosforribosil-alpha-1-pirofosfato

	sintetasa; fosforribosil-difosfato sintetasa; fosforribosilpirofosfato sintetasa; pirofosforribosilfosfato sintetasa; ribofosfato pirofosfocinasa; ribosa-5-fosfato pirofosfocinasa
	PhnN

Tabla 7.1. Sinónimos de las enzimas de la OPPP

7.1.1 Clasificación de las enzimas

De acuerdo al esquema de jerárquico de cuatro dígitos de la comisión de enzimas el primer dígito describe la clase de enzima:

- 1 es asignado para las oxidorreductasas
- 2 para transferasas
- 3 para hidrolasas
- 4 para liasas
- 5 para isomerasas
- 6 para ligasas.

De acuerdo a lo anterior, la clasificación de las enzimas es la siguiente, esta fue tomada de la base de datos PDB:

<http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>

<http://www.rcsb.org/pdb/browse/browse.do?t=3&useMenu=no>

1: Oxidorreductasas.

1.1: Actuando sobre el grupo CH-OH de donadores

1.1.1: Con NAD⁽⁺⁾ o NADP⁽⁺⁾ como aceptor.

1.1.1.44: Fosfogluconato dehidrogenasa (descarboxilando).

1.1.1.49: Glucosa-6-fosfato 1-dehidrogenasa.

2: Transferasas.

2.7: Transfiriendo grupos que contienen fósforo.

2.7.6: Difosfotransferasas

2.7.6.1: Ribosa-fosfato difosfocinasa

3: Hidrolasas.

3.1: Actuando sobre enlaces ester.

3.1.1: Hidrolasas de ester carboxílicos.

3.1.1.31: 6-fosfogluconolactonasa.

5: Isomerasas.

5.3: Intramolecular oxidorreductasas.

5.3.1: Interconversión de adosas y celosas.

5.3.1.6: Ribosa-5-fosfato isomerasa.

5.3.1.9: Glucosa-6-fosfato isomerasa.

5.4: Intramolecular transferasas (mutasas).

5.4.2: Fosfotransferasas (fosfomutasas).

5.4.2.2: Fosfoglucomutasa.

5.4.2.7 Fosfopentomutasa

7.1.2 Rutas en las que participan

Generalmente las enzimas pueden participar en distintas rutas metabólicas, debido a que los sustratos que utilizan pueden formarse en distintas rutas o pueden utilizar distintos sustratos químicamente relacionados. En la tabla 7.2 se muestran las rutas en las que participan las enzimas de la OPPP (vía oxidativa de la ruta metabólica de las pentosas fosfato)

Numero EC	Enzima	Ruta en las que participa
5.3.1.9	Glucosa-6-fosfato isomerasa	Glucólisis / Gluconeogénesis; Ruta de las Pentosas Fosfato y en el metabolismo del almidón y sacarosa.
1.1.1.49	Glucosa-6-fosfato 1-dehidrogenasa	Ruta de las Pentosas Fosfato; Metabolismo del Glutation
3.1.1.31	6-fosfogluconolactonasa	Ruta de las Pentosas Fosfato
1.1.1.44	6-fosfogluconato dehidrogenasa	Ruta de las Pentosas Fosfato
5.3.1.6	Ribosa 5-fosfato isomerasa	Ruta de las Pentosas Fosfato; Fijación de Carbono
5.4.2.2	Fosfoglucomutasa	Glucólisis/Gluconeogénesis; Ruta de las Pentosas Fosfato; Metabolismo de la Galactosa; Metabolismo de Almidón y Sacarosa; biosíntesis de estreptomycin
5.4.2.7	Fosfopentomutasa	Ruta de las Pentosas Fosfato; Metabolismo de Purinas
2.7.6.1	Ribosa-fosfato pirofosfocinasa	Ruta de las Pentosas Fosfato; Metabolismo de las Purina
	PhnN	Ruta de las pentosas Fosfato

Tabla 7.2. Ruta(s) en que participan las enzimas

7.1.3 Reacciones que catalizan

Glucosa-6-fosfato isomerasa [EC: 5.3.1.9]

- D-Glucosa 6-fosfato = D-fructosa 6-fosfato;
- α -D-Glucosa 6-fosfato = β -D-Glucosa 6-fosfato

Glucosa-6-fosfato 1-dehidrogenasa [EC: 1.1.1.49]

- D-glucosa 6-fosfato + NADP⁺ = D-glucono-1,5-lactona-6-fosfato + NADPH + H⁺

6-fosfogluconolactonasa [EC: 3.1.1.31]

- D-glucono-1,5-lactona-6-fosfato + H₂O = 6-fosfo-D-gluconato

6-fosfogluconato dehidrogenasa [EC: 1.1.1.44]

- 6-fosfo-D-gluconato + NADP⁺ = D-ribulosa 5-fosfato + CO₂ + NADPH

Ribosa 5-fosfato isomerasa [EC: 5.3.1.6]

- D-ribulosa 5-fosfato = D-ribosa 5-fosfato

Fosfoglucomutasa [EC: 5.4.2.2]

- D-ribosa 5-fosfato = α -D-ribosa 1-fosfato, esta ínter conversión es realizada mas lentamente.
- α -D-glucosa 1-fosfato = D-glucosa 6-fosfato

Fosfopentomutasa [EC: 5.4.2.7]

- D-ribosa 5-fosfato = α -D-ribosa 1-fosfato

Ribosa-fosfato pirofosfocinasa [EC: 2.7.6.1]

- ATP + D-ribose 5-phosphate = AMP + 5-phospho- α -D-ribose 1-diphosphate

7.2 Programas empleados

Los programas empleados en el análisis son los siguientes:

El programa *Ancestor_7.pl*, realiza el análisis de comparación de secuencias mediante el empleo de BLAST y produce distintos archivos, los cuales se distinguen por la terminación: **.genes**, **.secBLAST**, **.lista**, **.outPSI**, **.dominios**, **.alineación**.

El programa *compara_genes.pl*, toma todos los archivos con terminación **.genes** y crea dos archivo consenso, en distintos formatos: homólogos.faa (todas las secuencias homologas en formato FASTA) y homólogos.xls (los genes homólogos en una hoja de calculo).

El programa *compara_lista.pl*, toma todos los archivos con terminación **.lista** y lo resume en un solo archivo denominado: homólogos.lista.

El programa *hoz.pl*, busca dominios en las secuencias homologas por medio de la comparación con la base de datos de dominios de Pfam.

7.3 Clasificación de los dominios de las enzimas

7.3.1 Clasificación de los dominios de acuerdo a la base de datos de Pfam

Numero EC	Dominios	
1.1.1.44	<i>NAD_binding 2</i> <i>6PGD</i>	 [468 residuos]
1.1.1.49	<i>G6PD_N</i> <i>G6PD_C</i>	 [491 residuos]
2.7.6.1	<i>Pribosyltran</i>	 [300 residuos]
3.1.1.31	<i>Glucosamine_iso</i>	 [219 residuos]
5.3.1.6	<i>Rib_5-P_isom_A</i>	 [219 residuos]
5.3.1.9	<i>PGI</i>	 [549 residuos]
5.4.2.2	<i>PGM_PMM_I</i> <i>PGM_PMM_II</i> <i>PGM_PMM_III</i> <i>PGM_PMM_IV</i>	 [546 residuos]
5.4.2.7	<i>PPM_N</i> <i>Metalloenzyme</i>	 [407 residuos]

Tabla 7.3.1 Clasificación de los dominios de acuerdo a Pfam

7.3.2 Clasificación de los dominios de acuerdo a la base de datos de SCOP

Dominio	Clasificación
	SCOP
PGI	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> dominio SIS <u>Superfamilia:</u> dominio SIS <u>Familia:</u> Fosfoglucosa isomerasa, PGI
NAD_binding2	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> Dominio de plegamiento Rossman de unión a NAD(P) <u>Superfamilia:</u> Dominio de plegamiento Rossman de unión a NAD(P) <u>Familia:</u> Dominio N-terminal como 6-fosfogluconato deshidrogenasa
6PGD	<u>Clase:</u> Toda alfa proteína <u>Plegamiento:</u> Dominio C-terminal como 6-fosfogluconato deshidrogenasa <u>Superfamilia:</u> Dominio C-terminal como 6-fosfogluconato deshidrogenasa <u>Familia:</u> Hidroxi isobutirato y dominio 6-fosfogluconato deshidrogenasa
G6PD_N	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> Dominio de plegamiento Rossman de unión a NAD(P) <u>Superfamilia:</u> Dominio de plegamiento Rossman de unión a NAD(P) <u>Familia:</u> Dominio N-terminal como gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa
G6PD_C	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a+b) <u>Plegamiento:</u> Dominio C-terminal como gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa <u>Superfamilia:</u> Dominio C-terminal como gliceraldehido-3-fosfato deshidrogenasa <u>Familia:</u> como glucosa 6-fosfato deshidrogenasa
Pribosyltran	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> como PRTase <u>Superfamilia:</u> como PRTase <u>Familia:</u> Fosforribosilpirofosfato sintetasa
Rib_5-P_isom_A	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> como NagB/RpiA/CoA transferasa <u>Superfamilia:</u> como NagB/RpiA/CoA transferasa <u>Familia:</u> dominio catalítico D-ribosa-5-fosfato isomerasa (RpiA),
PGM_PMM_I PGM_PMM_II PGM_PMM_III	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> Primeros tres dominios, Fosfoglucomutasa <u>Superfamilia:</u> Primeros tres dominios, Fosfoglucomutasa <u>Familia:</u> Primeros tres dominios, Fosfoglucomutasa
PGM_PMM_IV	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a+b) <u>Plegamiento:</u> como TBP <u>Superfamilia:</u> Dominio C-terminal, Fosfoglucomutasa <u>Familia:</u> Dominio C-terminal, Fosfoglucomutasa
PPM_N	n/a
Metalloenzyme	n/a
Glucosamine_iso	<u>Clase:</u> Alfa y beta proteína (a/b) <u>Plegamiento:</u> como NagB/RpiA/CoA transferasa <u>Superfamilia:</u> como NagB/RpiA/CoA transferasa <u>Familia:</u> como NagB

Tabla 7.3.2. Clasificación de los dominios de acuerdo a SCOP