

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	i
ÍNDICE GENERAL	ii
ÍNDICE FIGURAS.....	v
ÍNDICE DE TABLAS	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUCCIÓN	1
Transgénesis.....	12
HIPÓTESIS	13
OBJETIVO GENERAL.....	13
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
Análisis bioinformático.....	13
Análisis experimental.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS	15
ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO	15
Obtención del genoma completo	17
Obtención de la anotación del genoma y de los genes ortólogos	18
Obtención bases de datos de motivos	20
Búsqueda de motivos conservados y procesamiento de datos	21

Construcción de módulos	23
Corroborar módulos en el genoma	25
Búsqueda de módulos en distintos genes	25
ANÁLISIS EXPERIMENTAL.....	27
Diseño de partidores	29
PCR (Reacción en Cadena de la Polimerasa)	30
Estrategia de clonamiento de las secuencias a los vectores de inyección	32
Vector de expresión pH-Stinger	32
Materiales biología molecular	33
Inmunohistoquímica	35
Anticuerpos.....	36
Anticuerpo primario	36
Cepas de <i>Drosophila melanogaster</i>	36
<i>Yw (yellow-white)</i>	36
Líneas transgénicas.....	36
RESULTADOS	38
Búsqueda de motivos	38
Construcción módulos	39
Búsqueda de motivos en el genoma de <i>Drosophila melanogaster</i>	43
PCR para cada uno de los módulos regulatorios	46
Clonamiento de los módulos regulatorios de la transcripción de <i>dlg</i>	48

Visualización de expresión de los módulos en microscopio de fluorescencia en líneas transgénicas de <i>Drosophila melanogaster</i>	49
Expresión del módulo 1 en cerebro de mosca adulta de <i>Drosophila melanogaster</i>	50
DISCUSIÓN	52
Estrategia bioinformática	53
CONCLUSIONES	54
REFERENCIAS	56
ANEXOS	63

ÍNDICE FIGURAS

1.1. Red de regulación.	1
1.2. Esquema del complejo multiproteico formado por DLG en la sinapsis neuromuscular de <i>Drosophila melanogaster</i>	44
1.3. Composición exónica de dlgs97 y dlgA que se observó en tejidos de embrión, larva y adulto..	5
1.4. Estructura y función de promotores.....	7
3.1. Búsqueda de motivos y construcción de módulos.	15
3.2. Matriz de frecuencia y logo de secuencia..	20
3.3. Diagrama de herramientas bioinformáticas.	23
3.4. Diagrama de flujo módulos..	24
3.5. Diagrama flujo genes.....	26
3.6. Procedimientos de biología molecular.....	29
3.7. Vector pH-Stinger.....	33
3.8. Esquema del ciclo de vida de <i>Drosophila melanogaster</i>	37
4.1. Organización de los motivos encontrados en la predicción <i>ab-initio</i> con la herramienta MEME, y de las bases de datos JASPAR y PDB.	38
4.2. Visualización de los módulos predichos.....	48
4.3. Inmunofluorescencia módulo 1 en cerebro de mosca adulta de <i>Drosophila melanogaster</i>	50

ÍNDICE DE TABLAS

1.1. Herramientas bioinformáticas para descubrimiento de SU a FTs.	8
3.1. Análisis comparativo.	16
3.2. Ejemplo tabla anotación genes BIOMART.	18
3.3. Genes ortólogos.	19
3.4. Secuencia partidores.	30
4.1. Módulo y posición dentro del genoma.	39
4.2. Motivos Módulo 1.	40
4.3. Motivos Módulo 2.	41
4.4. Motivos Módulo 3.	41
4.5. Motivos Módulo 4.	41
4.6. Posibles genes regulados de la misma forma que <i>dlg</i>	43
4.7. Genes con motivos del Módulo 1..	44
4.8. Genes con motivos del Módulo 2..	46
4.9. Genes con motivos del Módulo 3..	46
4.10. Genes con motivos del Módulo 4..	46
4.11. Reactivos para el inicio de PCR.	47
4.12. Protocolo de amplificación.	47