

# Contenidos

<b>1. Introducción</b>	<b>11</b>
1.1. Proteínas transportadoras de membrana . . . . .	11
1.2. Transportadores activos secundarios . . . . .	12
1.3. Mecanismo de transporte de acceso alternado . . . . .	14
1.4. Repeticiones de topología invertida . . . . .	15
1.5. Modelado por homología usando repeticiones de intercambio ( <i>Repeat-swap homology modeling</i> ) . . . . .	17
1.6. Caso de estudio: estructura y función de transportadores de glucosinolatos (GTR) . . . . .	19
<b>2. Hipótesis</b>	<b>22</b>
<b>3. Objetivos</b>	<b>22</b>
3.1. Objetivo general . . . . .	22
3.2. Objetivos específicos . . . . .	22
<b>4. Materiales y Métodos</b>	<b>23</b>
4.1. Refinamiento de la estructura cristalográfica de NRT1.1 . . . . .	23
4.2. Modelado de la estructura de NRT1.1 en una conformación orientada al medio extracelular . . . . .	25
4.3. Modelado por homología de isoformas de GTR en distintos estados conformacionales . . . . .	27
4.4. Análisis estructurales de los distintos modelos . . . . .	28

4.5. Búsqueda de motivos funcionales . . . . .	29
<b>5. Resultados y Discusión</b>	<b>32</b>
5.1. Construcción del modelo de largo completo del transportador de nitrato NRT1.1 . . . . .	32
5.2. Modelado de la estructura de NRT1.1 en una conformación orientada al medio extracelular . . . . .	35
5.2.1. Identificación de las unidades repetidas . . . . .	35
5.2.2. Alineamiento estructural y de secuencia de las unidades repetidas	37
5.2.3. Preparación del archivo PDB invertido . . . . .	39
5.2.4. Construcción del modelo orientado hacia el medio extracelular . .	40
5.3. Modelado por homología de isoformas de GTR en distintos estados conformacionales . . . . .	44
5.4. Análisis estructurales de los distintos modelos . . . . .	47
5.5. Búsqueda de motivos de secuencia . . . . .	52
<b>6. Conclusiones</b>	<b>54</b>
<b>7. Referencias</b>	<b>56</b>

# Lista de Figuras

1.1.	Mecanismo de acceso alternado para un transportador de iones/sustratos.	15
1.2.	Pliegues característicos en transportadores activos secundarios. . . . .	16
1.3.	Protocolo de modelado por homología de intercambio repetido. . . . .	18
1.4.	Estructura base de glucosinolatos. . . . .	20
4.1.	Modelado de bucles de cierre cinemático (Rosetta KIC). . . . .	24
4.2.	Protocolo de modelado por homología usando repeticiones de intercambio.	27
4.3.	Etapas para la descripción de motivos funcionales en los transportadores GTRs. . . . .	30
5.1.	Modelo de largo completo del transportador de nitrato NRT1.1. . . . .	33
5.2.	Gráfico de las puntuaciones de ProQM para estimar la calidad estructural del modelo. . . . .	34
5.3.	Gráfico de Ramachandran. . . . .	35
5.4.	Identificación de las unidades repetidas. . . . .	37
5.5.	Alineación estructural de las unidades repetidas. . . . .	38
5.6.	Alineamiento de secuencia de las unidades repetidas. . . . .	39
5.7.	Esquema del archivo PDB invertido. . . . .	39
5.8.	Modelo de intercambio repetido. . . . .	41
5.9.	Gráfico de Ramachandran. . . . .	42
5.10.	Gráfico de las puntuaciones obtenidas con ProQM para evaluar la calidad estructural del modelo. . . . .	42

5.11. Comparación de las estructuras del transportador de nitrato NRT1.1 en una conformación orientada hacia el medio interno y externo. . . . .	44
5.12. Alineamientos de secuencias entre las isoformas de GTRs y el transportador de nitrato NRT1.1 usados para la generación de modelos. . . . .	46
5.13. Ruta de transporte de sustratos en la estructura de transportadores GTRs.	48
5.14. Residuos sugeridos para estar implicados en la unión a sustrato y acoplamiento de protones en las tres isoformas de transportadores GTRs. . . .	50
5.15. Análisis estructural de las tres isoformas de los transportadores de glucosinolatos. . . . .	51
5.16. Conservación de residuos en transportadores GTRs. . . . .	53

# Lista de Tablas

5.1. Residuos claves en el acoplamiento de protones y transporte de sustrato en transportadores pertenecientes a la familia NPF y POT . . . . .	49
---	----