

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Resumen	2
Abstract	3
Índice de Contenidos	4
Índice de Figuras	6
Índice de Tablas	8
1 Introducción	9
1.1 Proteínas Quinasas dependientes de Ciclina	10
1.2 Retinoblastoma	12
1.3 Regulación de las CDKs	15
1.4 Transferencia de fosfato de CDKs	16
2 Hipótesis	19
3 Objetivos.....	19
3.1 Objetivos Generales.....	19
3.2 Objetivos Especificos	19
4 Metodología.....	20
4.1 Comparación de secuencia primaria y estructura terciaria.....	20
4.2 Obtención del complejo CDK4/Ciclina-D/Rb.....	21
4.2.1 Modelado por homología:.....	21
4.2.2 Modeller.....	22
4.2.3 Obtención y evaluación estructural de los modelos.....	23
4.3 Dinámicas Moleculares.....	24
4.3.1 Análisis de Dinámicas Moleculares	27
5 Resultados y Discusión	29
5.1 Elección de base.....	29
5.2 Elección de mejores modelos	31
5.3 Modelos 3D	32
5.4 Dinámicas Moleculares.....	37
6 Conclusiones	58
7 Bibliografía	60
8 Material Suplementario	66
Material Suplementario 1. Lista de DOPE score.....	66

Material Suplementario 2: Análisis de distancia 1 y 2 del modelo 1,2 y 3 respecto al restraint 1 y 2	68
Material Suplementario 3: Listas de interacciones proteína-péptido por tipo de enlace.	69
Material Suplementario 4: Gráficos de interacción	88
Material Suplementario 5: Distancias en coordinación del ion magnesio en sitio activo	91

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fases del ciclo celular y participación de distintas CDKs.....	10
Figura 2. Mecanismos de activación e inhibición de CDKs.....	14
Figura 3. Comparación estructural de CDK4 (izquierda) y CDK2 (derecha).	15
Figura 4. Coordinación octaédrica del Mg ²⁺ en el sitio activo de CDK2.	17
Figura 5. Pasos para la obtención de un modelo mediante modelado comparativo con Modeller.	22
Figura 6. Ejemplo de formato PIR	23
Figura 7. Diagrama con la organización de simulaciones de dinámica molecular y condiciones de restricción.	27
Figura 8. Alineamiento global entre las secuencias de las proteínas CDK2 y CDK4	30
Figura 9. Alineamiento de estructura terciaria entre el cristal 1QMZ correspondiente a CDK2 (azul) y el cristal 3G33 de CDK4 (verde). Molécula de ATP de 1QZM se observa en rojo y su péptido en morado	31
Figura 10. Gráfico Ramachandran de modelos escogidos.	34
Figura 11. Gráficos de Z- score global para modelo 1 (A), modelo 2(B) y modelo 3(C).....	35
Figura 12. Perfil de energías por residuos de los modelos 1(A), modelo 2(B) y modelo 3(C)	36
Figura 13. RMSD modelo 1 para las tres condiciones evaluadas, libre (azul), restricción 1 (rojo) y restricción 2 (verde).	38
Figura 14. RMSD correspondiente al modelo 2 en sus 3 condiciones, libre (azul), restricción 1 (rojo) y restricción 2 (verde).	38
Figura 15. RMSD correspondiente al modelo 3 en sus tres condiciones de restricción, libre (azul), restricción 1 (rojo) y restricción 2 (verde).....	39
Figura 16. Distancia 1 sin restricción en el tiempo de dinámica. La línea en color azul representa al Modelo 1. La línea en color rojo representa al Modelo 2. Línea verde representa al Modelo 3.	40
Figura 17. Distancia 2 sin restricción en el tiempo de dinámica. La línea en color azul representa al Modelo 1. La línea en color rojo representa al Modelo 2. Línea verde representa al Modelo 3.	40
Figura 18. Distancia 1 con restricción 1 en el tiempo de dinámica. La línea en color azul representa al Modelo 1. La línea en color rojo representa al Modelo 2. Línea verde representa al Modelo 3	41
Figura 19. RMSF de la cadena A (CDK4) del modelo 1, en sus 3 condiciones de restricción. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo el Restricción 2 y en verde la condición libre.	42
Figura 20. RMSF correspondiente a la cadena B (Ciclina-D) del modelo 1 en las 3 condiciones de restricción. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.....	43
Figura 21. RMSF correspondiente a la cadena C (péptido de Rb) del modelo 1 en las 3 condiciones de restricción. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.....	43
Figura 22. RMSF de la cadena A (CDK4) del modelo 2. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.	44

Figura 23. RMSF de la cadena B (Ciclina-D) del modelo 2. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.....	45
Figura 24. RMSF correspondiente a la cadena C (péptido Rb) del modelo 2. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.	45
Figura 25. RMSF correspondiente a la cadena A (CDK4) del Modelo 3. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.	46
Figura 26. RMSF cadena B (Ciclina-D) del Modelo 3. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre.....	47
Figura 27. RMSF de la cadena C del Modelo 3. En azul se muestra la Restricción 1, en rojo la Restricción 2 y en verde la condición libre	47
Figura 28. Porcentaje de superficie de contacto sin restricción representado para los modelos 1(azul), modelo 2 (rojo) y modelo 3(verde).	49
Figura 29. Porcentaje de superficie de contacto de los modelos 1(azul), 2(rojo) y 3(verde) bajo condiciones de Restraint1	50
Figura 30. Porcentaje de superficie de contacto de los modelos 1(azul), 2(rojo) y 3(verde) bajo condiciones de Restraint2.....	50
Figura 31. Porcentaje de interacciones proteína-péptido entre CDK4 y Rb por residuo en el Modelo 1 sin restricciones (Libre)	53
Figura 32. Representación estructural de interacciones notorias en el Modelo 1 libre, en las 3 figuras el péptido Rb se colorea de turquesa. A) Interacción de Arg787 del Rb con Ser52 y Glu56 (en azul). B) Interacción estabilizadora de Asp140 y Lys142 (en naranja) con Ser780 y ATP. C) Interacción de TPO172 (en rosa) con Arg775 de Rb.....	54
Figura 33. Porcentaje de interacciones proteína-péptido entre CDK4 y Rb por residuo en el Modelo 1 con la Restricción 1.	54
Figura 34. Representación estructural de interacciones notorias en el Modelo 1 con restricción 1. Péptido Rb en las 2 figuras se colorea de turquesa. A) Interacción de residuos de CDK4 con el extremo Arg787 del péptido. B) Interacción de Glu219 con Arg775.....	55
Figura 35. Porcentaje de interacciones proteína-péptido entre CDK4 y Rb por residuo en el Modelo 1 con la Restricción 2.	55
Figura 36. Representación estructural de los residuos con mayor porcentaje de interacción en Modelo 1 con restricción 2. Péptido Rb en las 3 figuras se colorea de turquesa. A) Interacciones de los residuos Ser52, Thr53 y Glu56 (coloreados en gris) con el residuo Arg787 del péptido Rb. B) Interacciones de residuos TPO172 y Val174 (coloreados en verde) con el péptido Rb. C) No hay contacto entre el ATP y Ser780 del péptido.	56
Figura 37. Coordinación octaédrica del Mg ²⁺ en el sitio activo de CDK4.....	57

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Clasificación y descripción de CDKs conocidas.....	11
Tabla 2.- Puntajes DOPE resultantes de modeler.....	31