

ÍNDICE
CAPÍTULOS Y SECCIONES

1. RESUMEN	8
2. INTRODUCCIÓN	9
3. OBJETIVOS	11
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	12
4.1 Desarrollo Frutal de la Vid	12
4.2 Variedad Carménère	15
4.3 Poliaminas	17
4.3.1 Poliaminas en plantas	19
4.3.2 Síntesis y catabolismo de Poliaminas	19
4.4 Aminas Biogénicas en Vinos	22
4.5 Poliamino Oxidasa	24
5. MATERIALES Y MÉTODOS	29
5.1 Diseño de partidores para el aislamiento	29
5.2 Extracción y purificación de DNA genómico	29
5.3 Aislamiento de regiones promotoras de PAO mediante amplificación por PCR	29
5.4 Clonamiento y secuenciación de los fragmentos de DNA de PAO	30
5.5 Análisis in silico de los de las secuencias nucleotídicas de los promotores de genes para PAO	32

6. RESULTADOS	33
6.1 Selección de genes PAO	33
6.2 Diseño de partidores	40
6.3 Aislamiento de regiones promotoras PAOcr12 y PAOcr13 mediante PCR	42
6.4 Clonamiento de los fragmentos de DNA de PAO	44
6.5 Confirmación de Clones	45
6.6 Análisis de secuencias de las regiones promotoras aisladas	49
6.6.1 Secuencia consenso de las regiones promotoras para PAOcr12 y PAOcr13	49
6.6.2 Comparación de secuencias de variedad Carménère frente a Variedad Pino Noir	51
6.6.3 Análisis in silico de las secuencias promotoras para PAOcr12 y PAOcr13	56
7. DISCUSIÓN	62
8. CONCLUSIONES	67
9. PROYECCIONES	68
10. BIBLIOGRAFÍA	69

TABLAS Y FIGURAS

TABLA N° 1: Datos de secuencias genéticas para PAOcr12 y PAOcr13.	35
TABLA N° 2: Matriz de identidad entre PAOcr12 y PAOcr13.	35
TABLA N° 3: Composición aminoacídica de la proteína codificada por el gen PAOcr12.	36
TABLA N° 4: Composición aminoacídica de la proteína codificada por el gen PAOcr13.	38
TABLA N° 5: Características de los partidores para PAOcr12 y PAOcr13.	41

TABLA N° 6: Principales elementos regulatorios encontrados en la región promotora del gen PAOcr12.	59
TABLA N° 7: Principales elementos regulatorios encontrados en la región promotora del gen PAOcr13.	60
TABLA N° 8: Comparación del número de elementos regulatorios presentes en las regiones promotoras de PAOcr12 y PAOcr13.	61
FIGURA N° 1: Corrimiento en la variedad Carménère.	16
FIGURA N° 2: Millarandage en la variedad Carménère.	17
FIGURA N° 3: Esquema de la ruta biosintética de las principales Poliaminas.	21
FIGURA N° 4: Esquema de la reacción catalizada por PAO de mamíferos (M) y de plantas (P).	25
FIGURA N° 5: Estructura general de PAO de maíz.	27
FIGURA N° 6: Túnel catalítico en forma de U de la proteína PAO.	28
FIGURA N° 7: Secuencia aminoacídica deducida para la proteína que codifica el gen PAOcr12.	36
FIGURA N° 8: Porcentaje molecular de los distintos aminoácidos que conforman la proteína PAOcr12.	37
FIGURA N° 9: Secuencia aminoacídica deducida para la proteína que codifica el gen PAOcr13.	38
FIGURA N° 10: Porcentaje molecular de los distintos aminoácidos que conforman la proteína PAOcr13.	39
FIGURA N° 11: Esquema del diseño de partidores.	40
FIGURA N° 12: Partidores Forward y Reverse para PAOcr12 y PAOcr13.	41
FIGURA N° 13: Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% para el análisis de los fragmentos obtenidos mediante amplificación por PCR utilizando los partidores para PAOcr12.	42

FIGURA N° 14: Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% para el análisis de los fragmentos obtenidos mediante amplificación por PCR utilizando los partidores para PAOcr13.	43
FIGURA N° 15: Vector de clonación pGEM-T Easy (PROMEGA ^R).	44
FIGURA N° 16: Representación de las orientaciones del fragmento amplificado en cada clon.	46
FIGURA N° 17: Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% para producto de PCR con partidores para PAOcr12.	47
FIGURA N° 18: Electroforesis en gel de agarosa al 1,5% para producto de PCR con partidores para PAOcr13.	48
FIGURA N° 19: Secuencia consenso de la región promotora del gen PAOcr12.	49
FIGURA N° 20: Secuencia consenso de la región promotora del gen PAOcr13.	50
FIGURA N° 21: Primeros 8 bloques del alineamiento para PAOcr12 var. Carménère frente a la secuencia del cromosoma 12 var. Pinot Noir.	52
FIGURA N° 22: Últimos 10 bloques del alineamiento para PAOcr12 var. Carménère frente a la secuencia del cromosoma 12 var. Pinot Noir.	53
FIGURA N° 23: Primeros 8 bloques del alineamiento para PAOcr13 var. Carménère frente a la secuencia del cromosoma 13 var. Pinot Noir.	54
FIGURA N° 24: Últimos 10 bloques del alineamiento para PAOcr13 var. Carménère frente a la secuencia del cromosoma 13 var. Pinot Noir.	55
FIGURA N° 25: Elementos regulatorios localizadas en la región promotora para PAOcr12.	57
FIGURA N° 26: Elementos regulatorios localizadas en la región promotora para PAOcr13.	58