

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE CONTENIDOS	1
ÍNDICE DE TABLAS	3
ÍNDICE DE FIGURAS	4
RESUMEN	7
ABSTRACT	9
INTRODUCCCIÓN	10
1. PROCESO DE FORMACIÓN DE LA MADERA	10
1.1. LA CELULOSA, COMPONENTE PRINCIPAL DE LA PARED CELULAR	10
1.2. HEMICELULOSAS	11
1.3. LIGNINA	12
1.4. PECTINAS	12
1.5. PROTEINAS ASOCIADAS A LA PARED	12
2. IMPORTANCIA DEL ESTUDIO EN PINUS RADIATA D. DON	13
3. EL GEN <i>XYLOGLUCANO ENDOTRANSGLUCOSILASA/HIDROLASA 1 (XTH)</i>	17
4. FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DE TIPO MADS	19
HIPÓTESIS	25
OBJETIVO GENERAL	26
MATERIALES Y MÉTODOS	26
1. MODELAMIENTO COMPARATIVO	27
2. DINÁMICA MOLECULAR Y RELAJACIÓN DEL SISTEMA	28
3. ACOPLAMIENTO MOLECULAR PROTEÍNA-PROTEÍNA CON HADDOCK	29
4. MINIMIZACIÓN Y EQUILIBRADO TERMODINÁMICO DE LOS HOMO-DÍMEROS MADBT Y MADBJ	31
5. CÁLCULO DE POTENCIAL ELECTROSTÁTICO EN DÍMEROS DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN	31
6. GENERACIÓN DE ELEMENTOS CIS-REGULATORIOS	32
7. ACOPLAMIENTO MOLECULAR PROTEÍNA-ADN CON HADDOCK	33
8. DESCRIPCIÓN DEL SISTEMA PARA DINÁMICA MOLECULAR PROTEÍNA-ADN	35
9. CÁLCULO DE POTENCIAL ELECTROSTÁTICO PROTEÍNA-ADN	35
RESULTADOS	36

1. MODELADO COMPARATIVO Y VALIDACIÓN DE LAS ESTRUCTURAS TRIDIMENSIONALES DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DE TIPO MADS.....	36
1.1. BÚSQUEDA DE TEMPLADOS.....	36
1.2. OBTENCIÓN Y ANÁLISIS DE MODELOS ESTRUCTURALES.....	37
1.3. REFINAMIENTO Y VALIDACIÓN DE LOS MODELOS OBTENIDOS	38
1.3.1. MINIMIZACIÓN DE ENERGÍA Y EQUILIBRADO DEL MONÓMERO DE FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN DE TIPO MADS	38
1.3.2. ANÁLISIS DE SEMEJANZAS Y SIMILITUDES ESTRUCTURALES	40
1.3.3. EVALUACIÓN ESTEREOQUÍMICA DE LAS ESTRUCTURAS GENERADAS	41
1.3.4. EVALUACIÓN ENERGÉTICA DE LAS ESTRUCTURAS GENERADAS	43
1.3.5. EVALUACIÓN DE LA COMPATIBILIDAD 1D-3D DE LOS MODELOS GENERADOS	44
2. ACOPLAMIENTO MOLECULAR PROTEÍNA-PROTEÍNA MEDIANTE HADDOCK.....	45
2.1. DINÁMICA MOLECULAR PARA LOS COMPLEJOS PROTEÍNA- PROTEÍNA	48
2.2. ANÁLISIS DE POTENCIAL ELECTROSTÁTICO COMPLEJO PROTEÍNA-PROTEÍNA	50
3. ACOPLAMIENTO MOLECULAR FACTOR DE TRANSCRIPCIÓN-ADN MEDIANTE HADDOCK	53
4. DINÁMICA MOLECULAR PROTEÍNA-ADN	61
5. CÁLCULO DE POTENCIAL ELECTROSTÁTICO EN SISTEMAS PROTEÍNA-ADN	76
DISCUSIÓN	79
CONCLUSIÓN	89
REFERENCIAS	91
ANÉXOS	100
FUNDAMENTOS TEÓRICOS	100
1. PREDICCIÓN DE ESTRUCTURA TERCIARIA.....	100
1.1. MODELAMIENTO COMPARATIVO	100
1.2. VALIDACIÓN DE ESTRUCTURAS	102
2. MODELAMIENTO DE ESTRUCTURA DE ADN	102
3. SIMULACIONES DE DINÁMICA MOLECULAR	104
4. CONDICIONES PERIÓDICAS DE BORDE.....	105
5. ACOPLAMIENTO MOLECULAR.....	106
6. POTENCIAL ELECTROSTÁTICO.....	107

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Secuencias de los monómeros MADBJ y MADBT que se utilizaron para la formación de homo-dímeros	30
TABLA 2: Secuencias de ADN utilizadas para evaluar la posible unión de los factores de transcripción.....	33
TABLA 3: Residuos utilizados como activos de las secuencias MADBT y MADBJ	34
TABLA 4: Secuencias obtenidas mediante el servidor 3D-DART.	34
TABLA 5: Energías de interacción obtenidas en el <i>docking</i> de MADBJ y MADBT.	46
TABLA 6: Extracto de los resultados del acoplamiento de los monómeros de MADBJ, MADBT y templado con las secuencias de ADN.	53
TABLA 7: Extracto de los resultados del acoplamiento de los dímeros de MADBJ, MADBT y templado con las secuencias de ADN.	54

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1: Estructura química de la celulosa.....	11
FIGURA 2: Capas de la pared secundaria.....	13
FIGURA 3: Muestras obtenidas para la realización de biblioteca de cADN supresiva sustractiva (SSH).....	15
FIGURA 4: Clasificación funcional de genes de pino radiata expresados diferencialmente en cada librería de respuesta gravitrópica	16
FIGURA 5: Clasificación de biogénesis de componentes celulares	17
FIGURA 6: Representación esquemática de factor de transcripción MADS box de tipo I y tipo II	19
FIGURA 7: Clasificación transcripción obtenida a partir de la técnica SSH	20
FIGURA 8: Región promotora del gen XTH.....	20
FIGURA 9: Alineamiento de secuencia de motivos MADS-box	22
FIGURA 10: Sistema minimizado y equilibrado mediante dinámica molecular	29
FIGURA 11: Extracto de los resultados obtenidos desde la herramienta web PSI-PRED.....	36
FIGURA 12: Estructuras de los monómeros de PrMADS	37
FIGURA 13: Energía de minimización v/s Time Step.....	38
FIGURA 14: Energía obtenida a partir de la minimización y equilibrado v/s Time Step	39
FIGURA 15: Gráfico de RMSD durante la simulación de dinámica molecular	40
FIGURA 16: Alineamiento estructural de PrMADS con su templado 3P57	41
FIGURA 17: Valores de RMSD obtenidos del alineamiento de los FT con el templado	41
FIGURA 18: Gráfico de Ramachandram obtenido con Procheck para los modelos PrMADS	42
FIGURA 19: Resultado del análisis con ProSA en PrMADS	43
FIGURA 20: Resultado del análisis con ProSA en PrMADS	44
FIGURA 21: Resultado del análisis con Verify3D en PrMADS.....	45

FIGURA 22: Estructuras diméricas de los factores de transcripción PrMADS	47
FIGURA 23: Desviación de la media cuadrática (RMSD) del backbone del complejo proteína-proteína	49
FIGURA 24: Estructuras en forma de homodímero de MADBT y MADBJ	50
FIGURA 25: Representación del potencial electrostático de MADBJ.....	51
FIGURA 26: Representación del potencial electrostático de MADBT	52
FIGURA 27: Conformaciones obtenidas de los FT de transcripción	57
FIGURA 28: Conformaciones obtenidas de los FT de transcripción	57
FIGURA 29: Puentes de hidrogeno monómero de proteína-ADN.....	59
FIGURA 30: Puentes de hidrogeno dímero de proteína-ADN.....	60
FIGURA 31: Energía total de monómero-MADBJ.....	62
FIGURA 32: Energía total de dímero-MADBJ.....	63
FIGURA 33: Energía total de monómero-MADBT	64
FIGURA 34: Energía total de dímero-MADBT	64
FIGURA 35: Energía electrostática de los diferentes complejos proteína-DNA	65
FIGURA 36: Energía electrostática de los diferentes complejos proteína-DNA	66
FIGURA 37: Gráficos de RMSD de la trayectoria de 10 ns de MADBJ.....	67
FIGURA 38: Gráficos de RMSD de la trayectoria de 10 ns de MADBT.	68
FIGURA 39: Cantidad de enlaces de hidrógeno presentes en el monómero MADBJ	69
FIGURA 40: Cantidad de enlaces de hidrógeno presentes en el dímero MADBJ	70
FIGURA 41: Cantidad de enlaces de hidrógeno presentes en el monómero MADBT	71
FIGURA 42: Cantidad de enlaces de hidrógeno presentes en el dímero MADBT.....	72
FIGURA 43: Orientación de residuos dentro de las α -hélices pertenecientes a PrMADS	73
FIGURA 44: Distancias obtenidas en la Dinámica Molecular de 10 ns del dímero MADBJ... ..	74
FIGURA 45: Distancias obtenidas en la Dinámica Molecular de 10 ns del dímero MADBT ..	75

FIGURA 46: Mapa de densidad electrónica de los complejos MADBT-CARG4.....	77
FIGURA 47: Mapa de densidad electrónica del complejos MADBT-CARG4	78
FIGURA 48: Alineamiento de secuencia realizado entre MADBJ, MADBT y 1EGW	86
FIGURA 49: Diagrama de los principales aminoácidos interactuantes en PrMADS.....	87
FIGURA 50: Distribución de cargas de la secuencia CARG4 que favorece la interacción con los residuos lisina y arginina de MADBT	88