

**CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN DEL TIPO
MADS EN SU UNIÓN A ADN INVOLUCRADO EN LA RESPUESTA A INCLINACIÓN DE
Pinus radiata D. Don**

**VERÓNICA XIOMAR LATAPIAT GUERRA
INGENIERO EN BIOINFORMÁTICA**

RESUMEN

Pinus radiata D. Don es la conífera de mayor importancia en la producción forestal, sustentando cerca del 80% del abastecimiento industrial de la madera en Chile. El crecimiento normal de los árboles puede verse afectado por estrés abiótico, que provocan la pérdida de verticalidad de estos. La tensión física producida en coníferas, a causa de que el tronco busca reorientar su crecimiento vertical, genera madera de compresión, esta se caracteriza por altos niveles de lignina, menor contenido de celulosa y mayor ángulo de micro-fibra, factores que disminuyen la calidad de los productos obtenidos por la industria forestal.

La madera de compresión se produce por cambios en la modulación genética de la zona afectada del tronco. Para comprender este fenómeno es necesario estudiar los genes que provocan dichas modificaciones. Se ha visto que el gen xyloglucano endotransglucosilasa/hidrolasa (XTH), que participa de la expansión y formación de la madera, es sobre-expresado en respuesta a la inclinación en el lado inferior del ápice. Por otro lado, estudios previos han mostrado la activación del factor de transcripción del tipo MADS (MCM1, AG, DEFA y SRF) implicado en procesos de desarrollo y biosíntesis de la pared secundaria a tiempos tempranos de la respuesta a inclinación. A su vez, el análisis de la región promotora del gen XTH, mostró que contiene secuencias de respuesta a factores MADS. Por este motivo, se quiso establecer si el factor de transcripción de tipo MADS podría tener alguna relación en la regulación del gen XTH.

En esta tesis se estudió con dos factores de transcripción de tipo MADS: denominados PrMADBJ y PrMADBT, cuyos modelos tridimensionales fueron generados utilizando como templado la estructura PDB: 3P57, los monómeros se caracterizaron por presentar una zona coil, 2 alfa hélices y dos beta plegadas anti paralelas. Adicionalmente, se emplearon técnicas de acoplamiento molecular, con las que se pudo determinar que estos factores de transcripción MADS se unen a elementos cis-regulatorios del ADN como dímeros, a través de una zona positivamente cargada de su estructura, las técnicas de acoplamiento y dinámica

molecular mostraron que la interacción proteína-ADN era favorable, y que la secuencia denominada CARG4 posee una mejor interacción con los monómeros y homo-dímeros de los PrMADS. Con esto, se pudo demostrar que los residuos positivamente cargados K23, R26, K30 y K31 situados dentro del dominio MADS de la proteína serían los responsables en la interacción ADN-proteína.

ABSTRACT

Pinus radiata D. Don is the most important conifer in forest production, sustaining nearly 80% of the industrial wood supply in Chile. The growth of normal trees can be affected by abiotic stress, causing the loss of their verticality. Physical strain produced in conifers, which is caused by the trunk seeking to reorient its vertical growth, generates compression wood. This wood is characterized by high levels of lignin, less cellulose content and a greater angle of micro-fiber, factors that lower the quality of the products obtained by forest industry.

Compression wood is produced by changes in the genetic modulation of the affected area in the trunk. To understand this phenomenon, it is necessary to study the genes that cause such changes. It has been found that the gene xyloglucan endotransglucosylase/hydrolase (XTH), involved in the expansion and wood formation is overexpressed in response to the inclination in the lower side of the apex.

Furthermore, previous studies have shown the activation of the MADS transcription factor (MCM1, AG, DEFA and SRF), which is predominantly involved in developmental processes and secondary wall biosynthesis in the early stages of the tilt response. In turn, the analysis of the promoter region XTH gene sequences shows that it contains sequences response to MADS. Therefore, this study aims to determine whether the MADS transcription factor plays a key role in XTH gene regulation.

A three-dimensional model of two MADS transcription factors (MADBJ and MADBT) were generated using as template the structure PDB: 3P57. Docking were used using HADDOCK program, determining that these MADS transcription factors bind cis-regulatory elements. Docking and molecular dynamics showed that the interaction of a dimer protein and DNA was favorable. Moreover, the sequence CARG4 has a better interaction with the monomers and homo-dimers of PrMADS. It was demonstrated that the positively charged residues K23, R26, K30 and K31 located within the MADS domain of the protein allowed the binding specificity.