

**ÍNDICE**  
**CAPÍTULOS Y SECCIONES**

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

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