

# Índice general

---

<b>Agradecimientos</b>	<b>III</b>
<b>Abreviaturas</b>	<b>VII</b>
<b>Resumen</b>	<b>IX</b>
<b>Abstract</b>	<b>X</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Factores de Transcripción . . . . .	1
1.1.1. Función de los factores de transcripción . . . . .	1
1.2. Familia de Factores de Transcripción NAC . . . . .	4
1.3. Función de las proteínas NAC . . . . .	5
1.4. Dominio NAC, senescencia y estrés salino . . . . .	5
1.5. Estructura cristalográfica del dominio NAC . . . . .	6
1.6. Dímero NAC y unión a ADN . . . . .	9
1.7. Elementos cis-regulatorios . . . . .	9
1.8. Hipótesis de trabajo . . . . .	10
1.9. Objetivos . . . . .	10
1.9.1. Objetivo General . . . . .	10
1.9.2. Objetivos Específicos . . . . .	10
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>11</b>
2.1. Fundamentos teóricos . . . . .	11
2.1.1. Modelamiento por homología . . . . .	11
2.1.2. Dinámica Molecular . . . . .	12
2.1.3. Cálculo del potencial electrostático . . . . .	15
2.1.4. 3D-DART . . . . .	16
2.1.5. Acoplamiento molecular con HADDOCK . . . . .	17
2.2. Uso de los métodos descritos . . . . .	21
2.2.1. Modelo por homología . . . . .	21
2.2.2. Simulación Molecular . . . . .	24
2.2.3. Generación elementos cis-regulatorios. . . . .	24
2.2.4. HADDOCK . . . . .	27

<b>3. Resultados</b>	<b>29</b>
3.1. Modelamiento por homología . . . . .	29
3.2. Potencial electrostático . . . . .	31
3.3. Dinámica molecular . . . . .	33
3.4. Acoplamiento molecular con HADDOCK . . . . .	37
3.4.1. Resultados HADDOCK . . . . .	37
<b>4. Discusión</b>	<b>45</b>
<b>5. Conclusiones</b>	<b>47</b>
<b>Anexo</b>	<b>48</b>
5.1. Conformaciones propuestas de unión ADN-NAC . . . . .	48
5.2. Interacción ADN-NAC a través de láminas $\beta$ . . . . .	49
5.3. Archivo de Configuración NAMD: Minimización y DM de ANAC042 . . . . .	50

# Índice de figuras

---

1.1.	Mecanismos de represión en factores de transcripción . . . . .	4
1.2.	Estructura cristalográfica del dímero ANAC019(Ernst et al., 2004). . . . .	7
1.3.	Estructura secundaria de ANAC019. . . . .	8
1.4.	Predicción de la estructura de NAC. . . . .	8
2.1.	Pasos en el modelamiento comparativo de estructura de proteínas. . . . .	12
2.2.	Condiciones periódicas de borde en un sistema bidimensional. . . . .	14
2.3.	Campo eléctrico. . . . .	15
2.4.	Representación gráfica de los vectores utilizados por 3D-DART. . . . .	17
2.5.	HADDOCK Webserver. . . . .	20
2.6.	Archivo .ali obtenido de ClustalW . . . . .	21
2.7.	Gráfico de Ramachandran para el modelo de ANAC042. . . . .	23
2.8.	Interfaz gráfica de 3D-DART. . . . .	26
2.9.	Interfaz gráfica de HADDOCK. . . . .	27
3.1.	Alineamiento estructural entre ANAC019 (1UT7) y ANAC042. . . . .	30
3.2.	Potencial electrostático de 1UT7 y ANAC042 obtenido con APBS. . . . .	32
3.3.	Gráfico de Ramachandran para ANAC042 luego de 10ns de DM . . . . .	34
3.4.	Gráfico de energía durante la trayectoria de DM . . . . .	35
3.5.	Gráfico de temperatura durante la trayectoria de DM. . . . .	35
3.6.	Gráfico de presión durante la trayectoria de DM. . . . .	36
3.7.	Gráfico de RMSD para ANAC042 luego de 10ns de DM . . . . .	36
3.8.	Gráfico de correlación entre el puntaje HADDOCK normalizado y el RBA. . . . .	39
3.9.	Visión frontal de ANAC042. . . . .	42
3.10.	Visión superior de ANAC042. . . . .	43
3.11.	Visión lateral de ANAC042. . . . .	44
5.1.	Conformaciones ADN-NAC propuestas en la literatura. . . . .	48
5.2.	Interacción ADN-NAC a través de las láminas $\beta$ de la interfase. . . . .	49

## Indice de tablas

---

2.1. RMSD y porcentaje de residuos en zonas altamente favorecidas obtenidos en la evaluación de los modelos. . . . .	22
2.2. Número y porcentaje de residuos pertenecientes a cada región del gráfico de Ramachandran . . . . .	23
2.3. Secuencias de ADN derivadas de F17d127. . . . .	25
3.1. Estadísticas de los resultados obtenidos en Procheck . . . . .	33
3.2. Residuos activos de ANAC042 separados por cadena. . . . .	38
3.3. Resultados del acoplamiento molecular con HADDOCK que correlacionan positivamente con el RBA. . . . .	39
3.4. Resultados del acoplamiento molecular con HADDOCK que correlacionan negativamente con el RBA. . . . .	40

# Abreviaturas

---

- 3D-DART: **3**DNA-Driven **D**N**A** Analysis and **R**ebuilding **T**ool, herramienta para la generación de estructuras tridimensionales de ADN utilizando su secuencia.
- ADN: Ácido desoxirribonucleico.
- AIR3: AUXIN-INDUCED IN ROOT CULTURES 3, una proteasa tipo subtilisina.
- AIRs: *Ambiguous Interaction Restraints*, restricciones ambiguas de interacción. De esta forma se introduce la información en los *docking* con HADDOCK.
- ANAC: Proteína NAC de *Arabidopsis thaliana*.
- APBS: *Adaptive Poisson-Boltzmann Solver*, herramienta para el cálculo del potencial electrostático.
- ARIA29: Programa que genera datos automatizados de experimentos de RMN.
- ATAF: Equivalente a ANAC002 (ARABIDOPSIS NAC DOMAIN CONTAINING PROTEIN 2).
- AtNAM: Gen NAM aislado de *Arabidopsis thaliana*.
- BLAST: *Basic Local Alignment Search Tool*, programa de alineamiento de tipo local capaz de realizar búsquedas de secuencias problema en una base de datos.
- Caja TATA: Secuencia de ADN (secuencia consenso) encontrada en la región promotora de genes.
- CHARMM: Química en mecánica molecular de Harvard (*Chemistry at Harvard Macromolecular Mechanics*).
- CNS: *Crystallography and NMR System*.
- CUC: Cotiledon en forma de copa (*cup shaped cotyledon*).
- DBP: DNA BINDING PROTEIN, proteína de unión a ADN.
- DM: Dinámica molecular.

- FT: Factor de transcripción.
- GUS: Gen reportero GUS, es una beta-glucuronidasa utilizada en biología molecular de plantas como reportero de la expresión de un gen de interés, medido a través de la expresión del mismo gen GUS y de la coloración obtenida.
- HADDOCK: **H**igh **A**mbiguity **D**riven biomolecular **D**OCKing.
- NAC: NAM, ATAF1,2 y CUC2.
- NAM: *No Apical Meristem*, sin meristema apical.
- NAMD: Dinámica molecular a nanoescala (*Nanoscale Molecular Dynamics*).
- RBA: Corresponde a la afinidad relativa de unión. Para obtener estos valores se midió la afinidad entre F17d127 y ANAC042, luego se realizó esta medición entre las secuencias mutadas y ANAC042 asignándose puntajes en relación a la interacción F17d127-ANAC042.
- RMN: Resonancia Magnética Nuclear.
- RMSD: Desviación del valor cuadrático medio.
- SAM: *Shoot apical meristem*, brote del meristema apical.
- TFIID: Factor de transcripción II D, es uno de los diversos factores de transcripción generales que constituyen el complejo de pre-iniciación de la ARN polimerasa II.
- VND6, VND7: VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN6 y VASCULAR-RELATED NAC-DOMAIN7.