

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b>INDICE DE CONTENIDOS</b>	<b>1</b>
<b>INDICE DE TABLAS</b>	<b>4</b>
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	<b>5</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>7</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>8</b>
<b>1.- INTRODUCCIÓN</b>	<b>9</b>
<b>1.1.- Importancia del estudio del fruto de <i>Fragaria chiloensis</i></b>	<b>9</b>
<b>1.2.- El fruto de <i>Fragaria chiloensis</i></b>	<b>10</b>
<b>1.3.- La pared celular vegetal y el proceso de maduración</b>	<b>11</b>
<b>1.4.- Las Expansinas</b>	<b>17</b>
<b>1.5.- Las proteínas expansinas en el fruto de frutilla</b>	<b>20</b>
<b>1.6.- Métodos computacionales</b>	<b>22</b>
1.6.1.- Modelado de proteínas homologas	22
1.6.2.- Minimización de energía	23
1.6.3.- Simulaciones de dinámica molecular (SDM)	24
1.6.4.- Acoplamiento Molecular (Proteína – Ligando) o “Docking”	25
<b>2.- HIPOTESIS</b>	<b>27</b>
<b>3.- OBJETIVOS</b>	<b>28</b>

<b>3.1 OBJETIVO GENERAL</b>	<b>28</b>
<b>3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS</b>	<b>28</b>
<b>4.- METODOLOGÍA</b>	<b>29</b>
<b>4.1.- Obtención de secuencias FcEXPA1 y FcEXPA2</b>	<b>29</b>
<b>4.2.- Análisis filogenético de las secuencias de genes expansinas de <i>F. chiloensis</i></b>	<b>29</b>
<b>4.3.- Modelamiento comparativo</b>	<b>30</b>
4.3.1.- Identificación de templado	30
4.3.2.- Alineamiento de secuencias blanco con el templado	30
4.3.3.- Construcción del modelo	31
4.3.4.- Evaluación del modelo	31
<b>4.4.- Minimización y equilibrado termodinámico</b>	<b>32</b>
<b>4.5.- Acoplamiento molecular</b>	<b>33</b>
<b>4.6.- Simulación molecular de los complejos Proteína – Ligando</b>	<b>34</b>
<b>4.7.- Análisis de energía libre de unión Proteína – Ligando mediante MM-GBSA</b>	<b>35</b>
<b>5.- RESULTADOS</b>	<b>37</b>
<b>5.1.- Obtención de las secuencias de FcEXPA1 y FcEXPA2</b>	<b>37</b>
<b>5.2.- Análisis filogenético de distintas alfa expansinas</b>	<b>39</b>
<b>5.3.- Modelamiento comparativo</b>	<b>41</b>
5.3.1.- Identificación de templado	41

5.3.2.- Alineamiento de secuencia blanco con templado	44
5.3.3.- Construcción del modelo	45
5.3.4.- Evaluación de las estructuras obtenidas	45
5.3.5.- Análisis de los modelos obtenidos	48
<b>5.4.- Minimización, equilibrado termodinámico y re-evaluación de las estructuras.</b>	<b>50</b>
<b>5.5.- Descripción de las estructuras generadas para FcEXPA1 y FcEXPA2.</b>	<b>55</b>
<b>5.6.- Acoplamiento molecular</b>	<b>68</b>
<b>5.7.- Dinámica molecular de los complejos proteína – ligando</b>	<b>72</b>
<b>5.8.- Análisis de energía libre de unión proteína – ligando mediante MM-GBSA</b>	<b>85</b>
<b>6.- DISCUSIÓN</b>	<b>87</b>
<b>7.- CONCLUSIÓN</b>	<b>93</b>
<b>8.- IMÁGENES SUPLEMENTARIAS</b>	<b>94</b>
<b>8.- REFERENCIAS</b>	<b>95</b>

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Abundancia y tipo de Xiloglucanos en diferentes especies vegetales.	16
<b>Tabla 2.</b> Análisis de identidad de FcEXPA1	42
<b>Tabla 3.</b> Análisis de identidad de FcEXPA2	42
<b>Tabla 4.</b> Evaluación de calidad de templado por Procheck y ProSA.	43
<b>Tabla 5.</b> Valores de puntuación generados por MODELLER para FcEXPA1.	47
<b>Tabla 6.</b> Valores de puntuación generados por MODELLER para FcEXPA2.	47
<b>Tabla 7.</b> Valores de PROCHEK y ProSA de FcEXPA1.	48
<b>Tabla 8.</b> Valores de PROCHEK y ProSA de FcEXPA2.	48
<b>Tabla 9.</b> Residuos que sufrieron un cambio en su estado de protonación en FcEXPA1.	51
<b>Tabla 10.</b> Residuos que sufrieron un cambio en su estado de protonación en FcEXPA2.	51
<b>Tabla 11.</b> Energía de interacción entre las diferentes proteínas y los sustratos.	70
<b>Tabla 12.</b> Residuos del complejo FcEXPA1 – GGGG <sup>x2</sup> a una distancia menos o igual a 3 Å.	77
<b>Tabla 13.</b> Residuos del complejo FcEXPA1 – XXFG <sup>x2</sup> a una distancia menos o igual a 3 Å.	78
<b>Tabla 14.</b> Residuos del complejo FcEXPA2 – GGGG <sup>x2</sup> a una distancia menos o igual a 3 Å.	79
<b>Tabla 15.</b> Residuos del complejo FcEXPA2 – XXFG <sup>x2</sup> a una distancia menos o igual a 3 Å.	80
<b>Tabla 16.</b> Resultados de MM-GBSA calculados para FcEXPA1 y sus respectivos sustratos.	86
<b>Tabla 17.</b> Resultados de MM-GBSA calculados para FcEXPA2 y sus respectivos sustratos.	86

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Distintos estadios de maduración del fruto de <i>Fragaria chiloensis</i> .	10
<b>Figura 2.</b> Estudio de la firmeza en distintos estadios de desarrollo del fruto de <i>F. chiloensis</i> .	11
<b>Figura 3.</b> Esquema de la estructura de la pared celular primaria.	13
<b>Figura 4.</b> Estructura de algunos componentes de la pared celular	14
<b>Figura 5.</b> Diagrama del posible mecanismo de acción de las expansinas.	16
<b>Figura 6.</b> Esquema de la estructura proteica de las distintas familias de expansinas: EXPA, EXPB, EXLA y EXLB.	18
<b>Figura 7.</b> Estructura de la proteína $\beta$ expansina EXP1.	19
<b>Figura 8.</b> Niveles de expresión relativos de los genes codificantes para las distintas expansinas, tanto en <i>F. chiloensis</i> como en <i>F. ananassa</i> .	21
<b>Figura 9.</b> Energía potencial de un sistema en dos o tres dimensiones.	24
<b>Figura 10.</b> Secuencia nucleotídica y aminoacídica de FcEXPA1 y FcEXPA2	38
<b>Figura 11.</b> Análisis filogenético	39
<b>Figura 12.</b> Evaluación de la calidad del templado.	43
<b>Figura 13.</b> Alineamiento entre FcEXPA1 y el templado 2HCZ	44
<b>Figura 14.</b> Alineamiento entre FcEXPA2 y el templado 2HCZ	45
<b>Figura 15.</b> Modelos de las estructuras tridimensionales	49
<b>Figura 16.</b> Gráfico de RMSD durante la trayectoria de la simulación molecular de ambas proteínas.	51
<b>Figura 17.</b> Gráfico de Ramachandran para ambas proteínas.	52
<b>Figura 18.</b> Gráfico de la calidad del modelo por el programa ProSA de ambas proteínas	53
<b>Figura 19.</b> Grafico energía ProSA.	54
<b>Figura 20.</b> Ilustración de los diferentes dominios de FcEXPA1 y FcEXPA2	56
<b>Figura 21.</b> Loop de unión entre los dominios (Linker) de FcEXPA1 y FcEXPA2	57
<b>Figura 22.</b> Hendidura en FcEXPA1 y FcEXPA2	58
<b>Figura 23.</b> Puentes disulfuros de FcEXPA1 y FcEXPA2	59

<b>Figura 24.</b> Dominio 1 FcEXPA1	61
<b>Figura 25.</b> Sitio activo FcEXPA1.	62
<b>Figura 26.</b> Residuos involucrados en el posicionamiento del ligando en ambos dominios de FcEXPA1.	63
<b>Figura 27.</b> Dominio 1 FcEXPA2	64
<b>Figura 28.</b> Sitio Activo FcEXPA2	65
<b>Figura 29.</b> Residuos involucrados en el posicionamiento del ligando en ambos dominios de FcEXPA2.	66
<b>Figura 30.</b> Representación del dominio 2 de FcEXPA1 y FcEXPA2	67
<b>Figura 31.</b> Posicionamiento de los diferentes sustratos con las diferentes proteínas	70
<b>Figura 32.</b> Residuos importantes en FcEXPA1	71
<b>Figura 33.</b> Residuos importantes en FcEXPA2	71
<b>Figura 34.</b> Gráfico RMSD de la trayectoria de los complejos FcEXPA1	73
<b>Figura 34.</b> Gráfico RMSD de la trayectoria de los complejos FcEXPA2	74
<b>Figura 35.</b> Gráfico de trayectoria de los complejos de FcEXPA2.	74
<b>Figura 36.</b> Gráficos de RMSD de los ligandos.	75
<b>Figura 37.</b> Residuos involucrados en la formación de puentes de Hidrógeno en FcEXPA1-GGGG <sup>x2</sup>	80
<b>Figura 38.</b> Residuos involucrados en la formación de puentes de Hidrógeno en FcEXPA1-XXFG <sup>x2</sup>	81
<b>Figura 39.</b> Residuos involucrados en la formación de puentes de Hidrógeno en FcEXPA2-GGGG <sup>x2</sup>	82
<b>Figura 40.</b> Residuos involucrados en la formación de puentes de Hidrógeno en FcEXPA2-XXFG <sup>x2</sup>	83
<b>Figura 41.</b> Gráfico de energía total calculada durante la simulación molecular para los diferentes complejos.	84