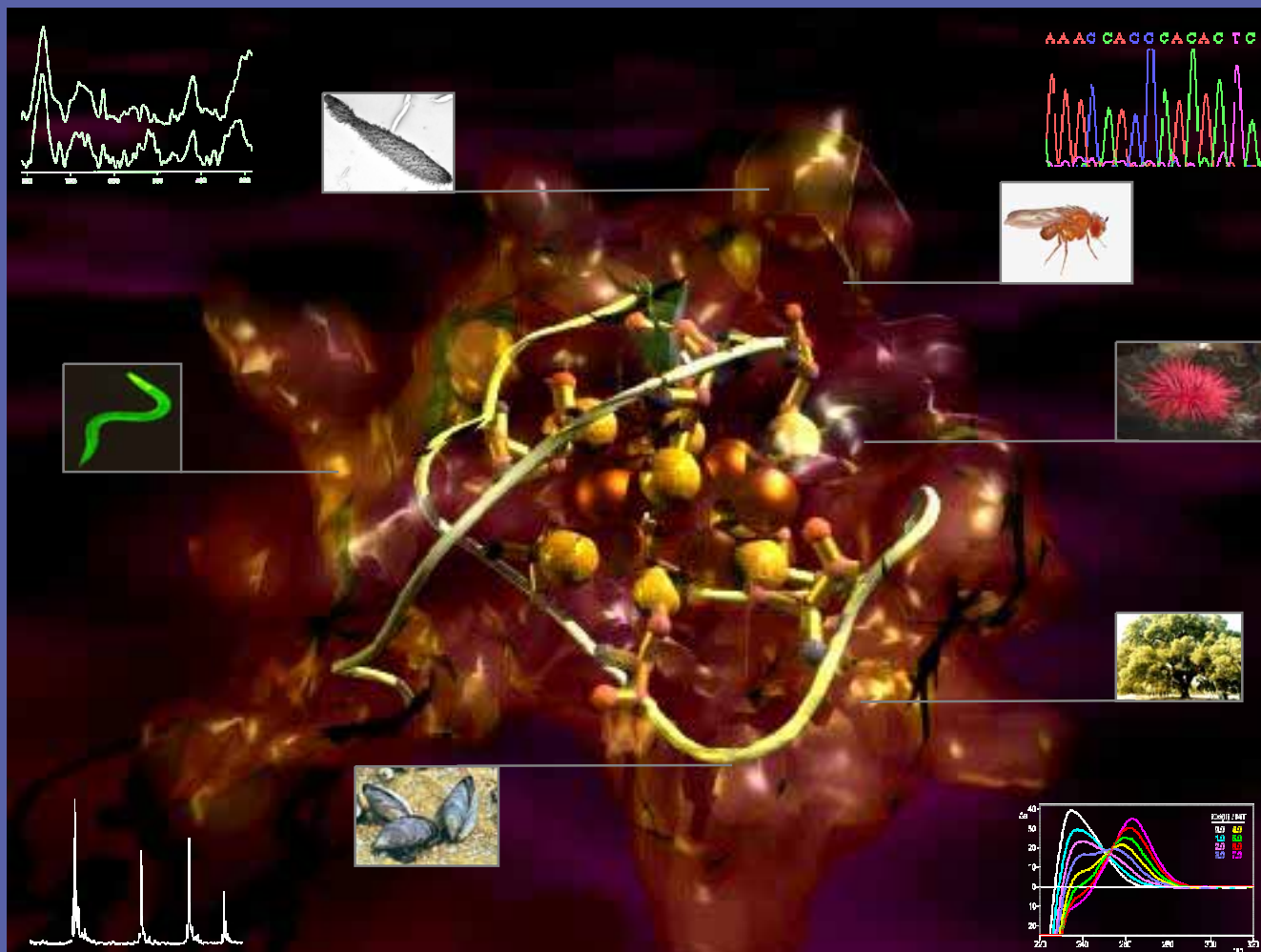


Estudi de la relació estructura/funció en Metal·lotioneïnes d'Invertebrats, Protozous i Plantes



Jordi Domènech Casal

TESI DOCTORAL

Realitzada al Departament de Genètica de la Facultat de
Biologia de la Universitat de Barcelona, sota la direcció de la
Dra. Silvia Atrian i la Dra. Mercè Capdevila
i defensada l'11 de gener de 2007.

<u>INTRODUCCIÓ</u>	1-30
1- Metal·lotioneïnes: descripció general	1
2- La coordinació metàl·lica i les metal·loproteïnes	2
2.1- Els metalls pesants	2
2.2- La coordinació metàl·lica en proteïnes	2
2.3- Propietats funcionals dels agregats metàl·lics	5
3- Estructura i classificació de les MT	5
3.1- Estructura primària	5
3.2- Estructura secundària	9
3.3- Estructura terciària	10
3.4- Estructura quaternària	13
3.5- Classificació Funcional	14
4- Regulació de l'expressió de les MT	16
5- Funció de les MT	17
6-Descripció de casos model	18
6.1-El sistema MT en l'insecte <i>Drosophila melanogaster</i>	19
6.2- El sistema MT en l'equinoderm <i>Strongylocentrotus purpuratus</i>	20
6.3- El sistema MT en el mol·lusc <i>Mytilus edulis</i>	22
6.4- El sistema MT en el nemàtode <i>Caenorhabditis elegans</i>	24
6.5- El sistema MT en el protozou <i>Tetrahymena pyriformis</i>	25
6.6- El sistema MT en la planta <i>Quercus suber</i>	27
<u>OBJECTIUS</u>	31-32
<u>COMPENDI METODOLÒGIC</u>	33-41
1- El clonatge, la síntesi heteròloga i les valoracions	33
2- Espectroscòpia d'Emissió Atòmica de Plasma Acoblat per Inducció (ICP-AES), anàlisi d'aminoàcids i Mètode Ellmann	34
3- Espectroscòpies UV i CD	35
4- Espectrometria de Masses	37
5- Determinació del contingut en sulfurs de les mostres metall-MT	39
6- Espectroscòpies vibracionals: Raman i IR	40
<u>RESULTATS</u>	43-234
<u>Capítol 1: El sistema MT de <i>Drosophila melanogaster</i></u>	43-68
Article 1- MTO: the second member of a <i>Drosophila</i> dual copper-thionein system.	45-54
Article 2- The four members of the <i>Drosophila</i> metallothionein family exhibit distinct yet overlapping roles in heavy metal homeostasis and detoxification.	55-68
<u>Capítol 2: MT d'invertebrats i protozou, quatre casos clau en l'estudi funcional de les MT</u>	69-144
Article 3- Aprofundiment en el coneixement de les característiques coordinants de la metal·lotioneïna SpMTA de l'equinoderm <i>S.purpuratus</i> .	71-88
Article 4- <i>In vivo</i> and <i>in vitro</i> Zn(II), Cd(II) and Cu(I) coordination abilities of <i>M.edulis</i> MT-10-IV.	89-110

Article 5- La histidina C-terminal de la metal·lotioneïna CeMT2 de <i>C.elegans</i> juga un paper determinant en el seu comportament coordinant envers Zn, Cd i Cu. Estudi del model bidominal per a CeMT2.	111-126
Article 6- Insight into the structural and functional properties of protozoan metallothionein: <i>Tetrahymena pyriformis</i> TpMT1 Zn(II), Cd(II) and Cu(I)-binding behavior.	127-144
<u>Capítol 3: Les MT de planta.</u> <u>Caracterització funcional i estructural d'una MT de <i>Quercus suber</i>, (OsMT)</u>	145-222
Article 7- A plant type 2 metallothionein (MT) from cork tissue responds to oxidative stress.	147-160
Article 8- Plant metallothionein domains: functional insight into physiological metal binding and protein folding.	161-174
Article 9- The Cd-binding abilities of <i>Quercus suber</i> metallothionein, QsMT.	175-204
Article 10- Structural characterization of the Zn- and Cd- complexes of a type 2 plant metallothionein (<i>Quercus suber</i>) by FT-Raman and FT-IR spectroscopy.	205-222
<u>Capítol 4: Novetats estructurals en les MT</u>	223-234
Article 11- Zn- and Cd-metalllothionein recombinant species from the most diverse phyla may contain sulfide (S ²⁻) ligands.	223-234
<u>DISCUSSIÓ</u>	235-247
1- Un estudi <i>funcional</i> de les metal·lotioneïnes	235
2- La relació estructura-propietats coordinants en MT	235
2.1- L'estructura primària i les preferències de coordinació metàl·lica	235
2.1.1- La mida del pèptid MT i la quantitat de cisteïnes	236
2.1.2- Els patrons de cisteïnes	236
1.1.2- Les histidines	237
2.2- Altres lligands: lligands exògens	238
2.3- L'estructura secundària, una característica funcional?	241
2.4- L'estructura terciària al llarg de les MT	242
2.5- Les estructures quaternàries en les MT	243
3- Les propietats coordinants i l'especialització funcional	245
4- El paper dels sulfurs en les MTs	246
5- Aportacions a la metodologia de caracterització d'agregats metall-MT	247
<u>CONCLUSIONS</u>	249-250
<u>ABREVIATURES I GLOSSARI</u>	251
<u>BIBLIOGRAFIA</u>	253-264