



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS LICENCIATURA EN BIOTECNOLOGÍA

Diseño *in silico* de promotores de la germinación esteroidales para la producción de germinados.

Tesis para obtener el título de
LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA
Presenta:

Diana Estefanía Gabriel Sánchez

Director de tesis:

Dra. Josefina Lucina Marin Torres

Codirector de tesis:

M en C Alan Carrasco Carballo

Asesor Técnico:

M en C Carlos Sanchez Valdeolivar

Febrero 2022





El presente trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de elucidación y síntesis en química orgánica y en el Jardín botánico universitario bajo la dirección de la Dra. Josefina Lucina Marin Torres, el M en C Alan Carrasco Carballo y el M en C Carlos Antonio Sanchez Valdeolivar.

Comentado [M-TJL1]: Considero deben de ir con mayúsculas, Laboratorio y JB

Trabajo participante en Haciendo Ciencia Verano 2021 bajo la dirección de la Dra. María Laura Asunción Orea Flores y el M en C Alan Carrasco Carballo titulado “Estudios in silico de esteres orgánicos”.

A mis padres, por sus enseñanzas, su apoyo y su amor.

A mi hermano, por su inspiración, su protección, y sus experiencias,

A Hugo por dedicarme el tiempo, brindarme cariño, escuchar mis proyectos y apoyarlos, por ser mi mejor amigo, por nunca dejarme sola, y por darme los momentos más increíbles durante esta gran etapa de nuestra vida.

Agradecimientos

Quiero agradecer a mi casa de estudios BUAP por todos los recursos que me me brindo, las personas que lo conforman, a mis mentores y profesores que formaron mi educación en la licenciatura, a mis asesores como Alberto N, Guie N. Carlos S. por que sin ellos no hubiera sido posible, a mi Co-director de tesis Alan Carrasco y a mi directora Josefina M. por su paciencia, atención y brindarme un poco de su pasión hacia la ciencia.

Dio formato: Fuente: 12 pto, Sin Negrita

Con formato: Justificado, Interlineado: 1.5 líneas, Punto de tabulación: No en 4.92 cm

ABREVIATURAS

IMC- Índice de masa corporal

GABA- ácido γ -aminobutírico

CK-citoquininas

GA-giberelinas

ABA- ácido abscísico

SA-ácido salicílico

BR-brasinoesteroides

SPGP- Steroidal promoter grow plant (promotor esteroidal del crecimiento de las plantas)

Índice de tablas	8
Índice de Gráficas	8
RESUMEN	9
ABSTRACT	10
ANTECEDENTES	11
OBJETIVOS	35
Objetivo general	35
Objetivos particulares	35
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	37
CONCLUSIONES	58
METODOLOGÍA	59
BIBLIOGRAFÍA	62

Índice de figuras

Figura 1. Algunos de los germinados más consumidos en el occidente a) frijol mungo b) alfalfa c) arroz integral d) avena	12
Figura 2. Representación esquemática de sección longitudinal del grano del trigo y muestra los principales evento metabólicos durante la germinación temprana.	14
Figura 3. Intereses de beneficiar al germinación social, alimentario y económico ...	16
Figura 4. Características de compuestos bioactivos en germinados	20
Figura 5. Funciones de vitaminas incrementadas en el proceso de germinación. [15]	21
Figura 6. Estructura molecular del ácido gamma-aminobutírico.	22
Figura 7. Absorción metabólica de polifenol en el colon [18].	23
Figura 8. Estructuras de los diferentes grupos de fitohormonas.	24
Figura 9. Cambios en la acumulación de hormonas clave y expresión de reguladores clave durante la maduración de la semilla	26
Figura 10. Estructuras de los brasinoesteroides naturales	27
Figura 11. Receptores y genes activados BR1- BAK1	29
Figura 12. Reacción D-OH interacción entre D14 forma madura para transmitir la señalización de SL	31
Figura 13. Arquitectura del complejo GA-GID. Se representa en color lila la zona HSL (Hormone Sensitive Lipasa) en la que la GA se une a GID1 y las 4 hélices en la región N-terminal en azul	32
Figura 14. Regulación y unión de auxina en la caja-F TIR1, Ubiquitinación y unión de otras proteínas como CUL1, RBX1, ASK1 Y E2 Enzima conjugadora de Ub	34
Figura 15. Estructuras de las fitohormonas evaluadas	37
Figura 16. Interacción BR1 y A) Brasinolida B) SPGP11 C) SPGP19	40
Figura 17. Interacción CO1 y A) ligando natural B) SPGP18 C) SPGP10	43

Figura 18. . Interacción D14 y A) ligando natural B) SPGP16 C)SPGP19 D) SPGP11	45
Figura 19. Interacción entre GID A) ligando natural (GA4) B) SPGP4	48
Figura 20. Interacción entre TIR y A) ligando natural (IAC) B) SPGP19 C) SPGP10 D) SPGP11	50

Índice de tablas

Tabla 1. Efecto de la germinación en los componentes de semillas. [9].....	16
Tabla 2. Ejemplos de germinados usados para beneficio a la salud.	18
Tabla 3. Comparación de resultados de moléculas	51
Tabla 4. Posibles efectos de las hormonas seleccionadas	51
Tabla 5. Información obtenida en The Human Protein Atlas.....	55
Tabla 6. Proteínas y evaluación biológica	56

Índice de Gráficas

Gráfica 1. Resultados de docking de las estructuras acoplado a BR1	39
Gráfica 2. Resultados de docking de las estructuras acoplado a BR1	42
Gráfica 3. Resultados de docking de las estructuras acoplado a D14	44
Gráfica 4. Resultados de docking de las estructuras acoplado a GID	47
Gráfica 5. Resultados interaccion de promotores-TIR.....	49
Gráfica 6. Dianas moleculares con mayor frecuencia de interacción.....	54

RESUMEN

La germinación es parte esencial de las plantas para su desarrollo, además los germinados tienen un potencial en la alimentación por su uso como nutracéutico, alimento funcional, el aumento de nutrientes en cereales, y los compuestos bioactivos que nos ofrecen. En los últimos años las sequías y la falta de fertilidad del suelo han complicado la capacidad de germinación, para esto el uso de fitohormonas es necesario para potenciar el proceso, sin embargo su extracción es de gran costo y muchas veces complicado de obtener, por lo que la búsqueda de nuevas moléculas que apliquen a la germinación se ha intensificado y, en particular con el uso de herramientas bioinformáticas para el diseño dirigido para selección de nuevas alternativas. El docking molecular nos permitió conocer la energía de afinidad hacia receptores asociados al proceso de germinación y observar posibles interacciones con cada uno de estos, se realizó este estudio con un grupo de moléculas esteroidales 22-oxocolestánicas y espiroestánicas, con 5 receptores asociados a la germinación siendo Receptor a brasinoesteroides (BR1), Receptor a Giberelinas (GID), Receptor a Jasmonatos (CO1), Receptor a estrigolactonas (D14) y Receptor a auxinas (TIR) para observar por cual vía interactuarían los promotores esteroidales, comparando con los ligandos específicos de cada uno, obteniendo como una de las mejores opciones SPGP19 sin embargo tiene una gran desventaja al ser insoluble, por lo tanto se proponen SPGP11 por vía BR1 y TIR o SPGP10 por la vía TIR y CO1 para posteriormente ser utilizadas en estudios in vivo.

ABSTRACT

Germination is an essential part of plants for their development, in addition, germinated plants have potential in food for their use as a nutraceutical, functional food, increasing nutrients in cereals, and bioactive compounds that offer us. In recent years droughts and the lack of fertility of the soil have complicated the germination capacity, for this, the use of phytohormones is necessary to enhance the process, however, its extraction is very expensive and often difficult to obtain, therefore the search for new molecules that apply to germination has intensified and, in particular, with the use of bioinformatics tools for directed design for the selection of new alternatives. Molecular docking allows us to know the energy of affinity to receptors associated with the germination process and observe possible interactions with each of these, this study was performed with a group of steroidal molecules 22-oxocolestanicas and spirostanicas, with 5 receptors associated with germination being Brassinosteroid Receptor (BR1), Gibberellin Receptor (GID), Jasmonate Receptor (CO1), Strigolactone Receptor (D14) and Auxin Receptor (TIR) to observe via which steroidal promoters interact, compared with the specific ligands of each, obtaining one of the best options SPGP19, however, it has a great disadvantage to be insoluble in water, therefore SPGP11 (with a radical H) are proposed via BR1 and TIR or SPGP10 (similar to SPGP11 with the difference of the radical by a group Ac) by way of TIR and CO1 to be later used in in vivo studies.



ANTECEDENTES

La Salud y la alimentación son los principales problemas de los que la ciencia actual tiene como meta de solución, el área biotecnológica no está exenta de estos, el enfoque deberá ser integral, particularmente hacia la alimentación, se busca el diseño de productos mejorados, técnicas de cultivo novedosas y diseño de nuevos productos alimenticios, en este último aspecto sale a relucir los germinados, que se destacan por su fácil cultivo y alto valor nutritivo, pero presenta bajas tasas de éxito, es por esto que continuamente se busca el uso de fitohormonas que incrementen la tasa de germinación y reduzcan el tiempo.

1. GERMINADOS

Los germinados son alimentos que por su agradable frescura e interés nutricional son usados y acompañados en diversos platillos en la actualidad, aunque su uso está muy extendido surgen dudas sobre su denominación, desde el concepto germinado que no se define como tal en el Diccionario de la Lengua Española, donde sí aparece la palabra germinar, para la que se indica que es: “dicho de un vegetal: comenzar a desarrollarse desde la semilla”; mientras que la Asociación Europea de Semillas Germinadas (ESSA), define a los brotes como producto obtenido a partir de la germinación de semillas y su desarrollo en agua o en otro medio, recolectado antes de que aparezcan hojas verdaderas y destinado a ser consumido entero, incluida la semilla. [1] La germinación de semillas (Figura 1), principalmente frijol mungo (*Vigna radiata*) y alfalfa (*Medicago sativa*), está ampliamente extendida en los países del Este, y la frescura, las características crujientes y dulces, junto con aspectos saludables, hacen que los brotes de leguminosas sean aceptables para los consumidores occidentales [2]. Además la

germinación de estas plantas traen consigo importantes beneficios, un ejemplo es la alfalfa.



Figura 1. Algunos de los germinados más consumidos en el occidente a) frijol mungo b) alfalfa c) arroz integral d) avena .

1.1 ALFALFA

Medicago sativa L., comúnmente conocida como alfalfa, pertenece a Fabaceae, y su primera forma cultivada probablemente se origina en el oeste de Persia. Luego se extendió a muchas regiones de Asia, Europa y América. Además se ha informado que la alfalfa ocupa el cuarto lugar en términos de superficie cultivada y valor económico, después del maíz, la soja y el trigo. El potencial biológico y agronómico de la alfalfa, como todos los demás miembros de la familia de las leguminosas, es extraordinario porque requiere poco o ningún fertilizante nitrogenado para un crecimiento óptimo . Además, la alfalfa juega un papel importante como fertilizante gratuito que aporta nitrógeno a los cultivos posteriores [3]. Es un cultivo autotetraploide, cruzado, característica que ha limitado su ganancia genética. Una colección sustancial de germoplasma se mantiene en repositorios en todo el mundo, lo que brinda a los criadores materiales para ayudar a mejorar la tolerancia a numerosas enfermedades e insectos y su valor nutritivo.[4]

Comentado [M-TJL2]: Corregir la , (coma)

La alfalfa contiene varios fitoquímicos útiles, incluidos compuestos fenólicos, saponinas y medicarpin, que poseen propiedades inhibitoras contra varias plántulas de plantas. Otros fitocompuestos importantes extraídos de esta especie incluyen ácido linoleico y linolénico, vitaminas y compuestos de hierro. Aunque se han documentado las propiedades alelopáticas de la alfalfa sobre las malas hierbas, la naturaleza exacta de los fitoquímicos alelopáticos y sus mecanismos de acción siguen siendo poco conocidos. [5]

La alfafa es una hierba cultivada en nuestro país desde el siglo XVI utilizada principalmente para ganado bovino leche y otros alimentos para animales, gracias a que la alfafa es rica en calcio y vitamina D se usa como complemento alimenticio, y como nutraceútico para diversos problemas del aparato **digestivo, respiratorio** urinario y nervioso [6]. Otra cuestión médica para el colesterol alto, asma, **osteoartritis, diabetes**, además la alfalfa parece prevenir la absorción de colesterol en el intestino [7].

Comentado [M-TJL3]: espacio

Comentado [M-TJL4]: espacio

1.2 PROCESO DE GERMINACIÓN

En el proceso ocurren cambios químicos de las semillas que activan procesos enzimáticos que se mantienen en etapas posteriores de crecimiento. El proceso de germinación está constituido por tres parciales procesos, incluida la imbibición, la activación proceso y crecimiento intra-seminal que se completa con protuberancia embrionaria [8]. La germinación del grano ocurre al exponerse al agua, iniciando un extenso proceso fisiológico y bioquímico para apoyar el crecimiento de las plantas.

La germinación se desencadena en condiciones específicas para diferentes granos, incluida la temperatura, la luz y la humedad óptimas (Figura 2) **(A)** La imbibición de agua facilita la rehidratación de las semillas, lo que a su vez estimula la síntesis de giberelina embrionaria de novo que promueve la expresión génica de la enzima hidrolítica. **(B)** La giberelina se moviliza desde el embrión a la capa de aleurona, lo que indica un cambio de una actividad metabólica baja durante la latencia a una

actividad metabólica alta durante la germinación. **(C)** Enzimas como amilasas, proteasas y enzimas desramificantes se secretan en el endospermo, mientras que los inhibidores enzimáticos disminuyen la actividad. **(D)** Los sustratos de nutrientes utilizables se catabolizan a partir de moléculas de almacenamiento (almidón, proteína y triglicéridos) para **(E)** el brote en desarrollo y las raicillas dentro del germen. [9]

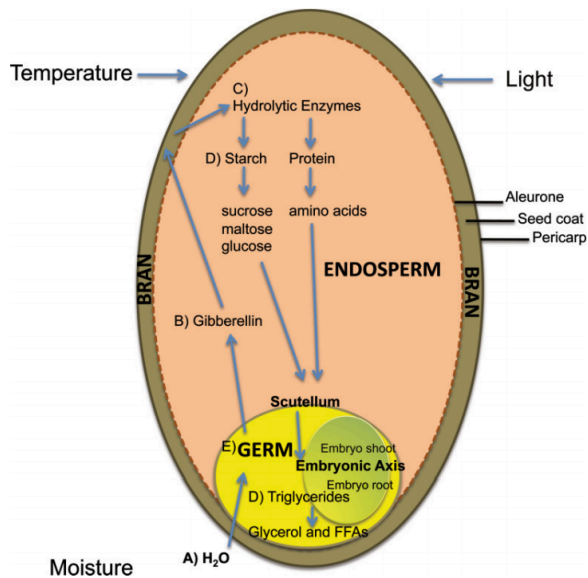


Figura 2. Representación esquemática de sección longitudinal del grano del trigo y muestra los principales evento(s) metabólicos durante la germinación temprana.

Poco después del inicio de la imbibición de la semilla seca, se restablece el metabolismo; La restitución de la integridad química y estructural de las células requiere la coparticipación de eventos sintéticos y protectores. La síntesis de proteínas y la actividad respiratoria involucran inicialmente componentes almacenados dentro de la semilla seca madura, aunque la transcripción y traducción comienzan temprano durante la imbibición, como lo demuestran los análisis de

transcriptomas y metabolomas. Los aumentos o modificaciones de las hormonas, especialmente la GA, juegan un papel importante en lograr la finalización de la germinación, al menos en semillas intactas [10].

Comentado [M-TJL5]: Después de punto, iniciar con mayuscula

1.3 INTERÉS EN LA GERMINACIÓN

Los germinados son alimentos ricos en fitonutrientes, como glucosinolatos, fenólicos e isoflavonas, adicionado a esto otros estudios han demostrado que también tienen altas concentraciones de vitaminas y minerales, además de la alta concentración de nutrientes los brotes pueden presentar una reducción de factores antinutricionales que aumentan la bioaccesibilidad de minerales [11] como taninos e inhibidores de tripsina en diferentes semillas de leguminosas el interés se está desplazando hacia las semillas de leguminosas, como la soja, el guisante amarillo (*Pisum sativum* L.), el garbanzo (*Cicer arietinum*) y la lenteja (*Lens culinaris*). [12] Por otra parte, se ha buscado mejorar la cantidad y la actividad antioxidante por medio de compuestos fenólicos presentes en germinados para incluirlos a la dieta y prevenir eficazmente la oxidación de lípidos [13]. En los últimos años, estos alimentos han sido muy demandados porque están asociados a muchos efectos positivos para la salud. Además beneficiar la germinación beneficia la agricultura, y los procesos de la obtención de nuevas moléculas que favorezcan la germinación (Figura 3).

Comentado [M-TJL6]: espacio

Comentado [M-TJL7]: Tratar deno ser tan repetitivo con una palabra, se puede cambiar la redacción para no utilizar tanto la palabra beneficiar

Comentado [M-TJL8R7]:

Comentado [M-TJL9R7]:

Comentado [M-TJL10R7]:

Comentado [DGS11R7]:

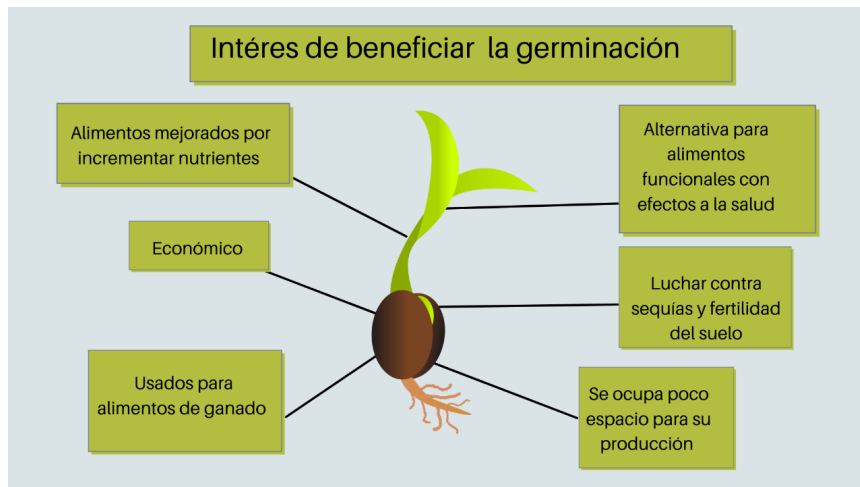


Figura 3. Intereses de beneficiar a la germinación social, alimentario y económico.

Comentado [M-TJL12]: a la

Comentado [M-TJL13]: espacio

Comentado [M-TJL14]: punto

Se ha explorado el uso de germinación principalmente para las leguminosas y así obtener una disponibilidad de nutrientes como proteínas vegetales, estas generalmente se perciben como alternativas más saludables a las proteínas animales, ciertas semillas son más ricas en proteínas en comparación con otras (Tabla 1). [12]

Tabla 1. Efecto de la germinación en los componentes de semillas. [9]

Compuesto	Cambio	Cereal reportado
Almidón	Disminuido	Trigo
Azúcares	Incrementado, variado con tejido y tiempo de germinación	Trigo
Carbohidratos	Sin cambios	Arroz
Aminoácidos	Incremento (63 proteínas)	Trigo

	Disminuido (35 proteínas) Sin cambios (28 proteínas)	
Gluten	Disminuido	Trigo
Grasa	Sin cambios	Arroz
	Incremento	Cebada, avena y sorgo
Fibra total	Incremento	Cebada
Polifenoles totales	Disminuido	Avena y centeno
	Incremento	Amaranto y quinoa
Antioxidanes	Incremento	Amaranto, arroz, alforfón
Fitatos	Disminuido	Arroz
Calcio	Disminuido	Cebada, arroz
Magnesio	Incremento	Trigo
Cobre	Incremento	Trigo
Sodio	Disminuido	Trigo
Potasio	Incremento	Trigo
Tiamina	Sin cambios	Trigo y cebada
Fósforo	Incremento	Trigo
Vitamina C	Incremento	Cbada
Riboflavina	Incremento	Trigo y cebada
Piridoxal	Incremento	Arroz
Tocoferol	Incremento	Trigo [6]
Caroteno	Incremento	Trigo [6]

Comentado [M-TJL15]: coma

Comentado [M-TJL16]: espacios

Además, la germinación es un proceso simple y económico que se puede realizar sin equipo sofisticado, tiene un ciclo de producción rápido (de dos a tres semanas como máximo), ocupa muy poco espacio en la producción de invernadero [8]. El proceso de germinación es sencillo debido a que no se necesita ni tierra ni luz y

fácilmente se puede realizar en casa sin embargo muchas veces asegurar la seguridad alimentaria es importante ya que son vulnerables a tener infecciones de patógenos, además de ser alimentos consumidos en crudo comúnmente.

Comentado [M-TJL17]: cambiar la redacción

Comentado [M-TJL18]: acento

1.4 GERMINACIÓN PARA ALIMENTOS FUNCIONALES Y BENEFICIOS POTENCIALES A LA SALUD.

Los alimentos funcionales tienen una alta relevancia actual, debido a un estilo de vida más sano y con alimentos que nos proporcionen suficiencia alimentaria y un beneficio médico, dado esto, los cereales integrales (semillas comestibles derivadas de la cariósideo fruto de las gramíneas) son una línea para abordar, son fuentes ricas de energía, principalmente a partir de carbohidratos, así como una fuente dietética útil de una multitud de otros nutrientes y fitoquímicos; La ingesta de cereales integrales se asoció con un mejor IMC, colesterol total y colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL) [14] asimismo, son fuentes ricas en fibra, vitaminas, minerales y fitoquímicos, incluidos fenólicos, carotenoides, vitamina E, lignanos, β -glucano, inulina, almidón resistente, esteroides y fitatos [15]. Sin embargo, la preferencia de alimentos de granos refinados y falta de productos han dañado la reputación de estos alimentos además los factores antinutricionales presentes en los cereales, como el ácido fítico, pueden afectar la biodisponibilidad de minerales como el hierro y el zinc al inhibir la absorción. La germinación sirve como método para mejorar la aceptación de los alimentos para aumentar los contenidos nutricionales y efectos a la salud (Tabla 2) [16].

Comentado [M-TJL19]: espacio

Comentado [M-TJL20]: tiene un espacio

Tabla 2. Ejemplos de germinados usados para beneficio a la salud.

ALIMENTO GERMINADO	EFFECTO	REFERENCIA
--------------------	---------	------------

Arroz integral	Gran potencial para un mejor control glucémico, corrección de la dislipidemia, mejora del estrés oxidativo	[9]
Arroz integral	Redujo las complicaciones de la obesidad en ratas obesas inducidas por una dieta alta en grasas, mediante la mejora de los perfiles de lípidos y la reducción del nivel de leptina y la masa de tejido adiposo blanco	[17]
Trigo sarraceno tartario	Se ha demostrado que reduce el riesgo cardiovascular y los trastornos metabólicos, como la hipertensión en ratas.	[18]
Jugo de pasto de trigo	Los pacientes alimentados con jugo de pasto de trigo durante la terapia de transfusión mostraron una reducción de hasta un 25% en el volumen requerido de transfusión, sin comprometer los niveles de hemoglobina y un aumento del 29,5% en el intervalo de tiempo medio entre transfusiones	[19]

Comentado [M-TJL21]: ¿

1.3. COMPUESTOS BIOACTIVOS EN GERMINADOS

Los estudios indican que la germinación acumula compuestos bioactivos en semillas y brotes como son vitaminas, ácido γ -aminobutírico (GABA) y polifenoles que se sintetizan o se transforman de novo en el proceso de germinación (Figura 4).

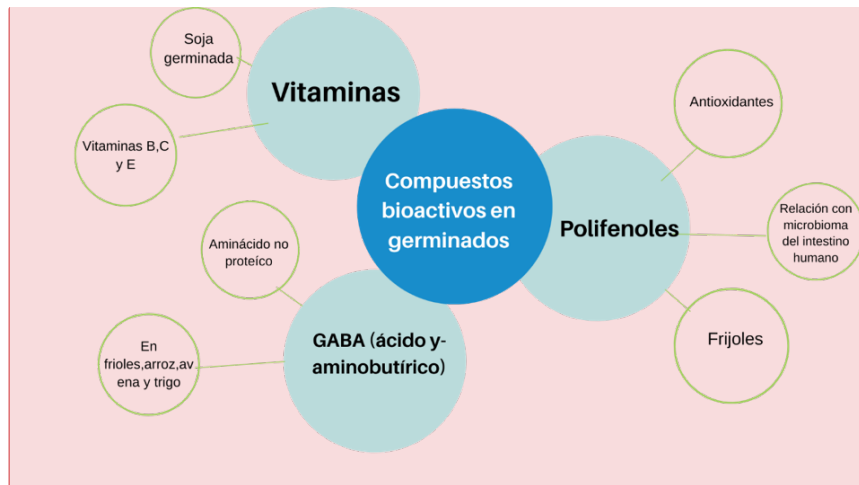


Figura 4. Características de compuestos bioactivos en germinados.

Comentado [M-TJL22]: redacción

Comentado [M-TJL23]: acento

1.3.1 Vitaminas.

Las vitaminas se consideran nutrientes necesarios para el buen funcionamiento celular del organismo (Figura 5) y a diferencia de algunos minerales, actúan en dosis pequeñas, como el cuerpo no puede fabricarlas por sí mismo es necesario consumirlas a través de los alimentos [20], se ha encontrado que la germinación aumenta el contenido de algunas vitaminas B en diferentes semillas; las vitaminas B incluyen varios miembros, que incluyen vitamina B1 (tiamina), vitamina B2 (riboflavina), vitamina B3 (niacina), vitamina B6 (piridoxina), vitamina B9 (folato) y vitamina B12 (cobalamina).

Comentado [M-TJL24]: coma

Comentado [M-TJL25]: falta la s

En cambio la vitamina C conocida como ácido ascórbico está asociada con la enfermedad del escorbuto, y la germinación aumenta significativamente el contenido de vitamina C en algunas semillas y brotes germinados como en trigo sarraceno, garbazo, frijol, etc. Por otro lado, la vitamina E o tocoferoles es el nombre colectivo de un grupo de compuestos liposolubles con actividades antioxidantes distintas; La vitamina E es un antioxidante soluble en grasa que detiene la

Comentado [M-TJL26]: espacio

Comentado [M-TJL27]: comas

producción de ROS que se forman cuando la grasa se oxida. Los científicos están investigando si, al limitar la producción de radicales libres y posiblemente a través de otros mecanismos, la vitamina E podría ayudar a prevenir o retrasar las enfermedades crónicas asociadas con los radicales libres (NIH); en varias semillas comestibles se incremento la vitamina E en soja germinada en un 1,55% -164% en comparación con semillas crudas, sin embargo se redujo en altramuz y frijol mungo.

Comentado [M-TJL28]:

Comentado [M-TJL29]: En la figura espacio en carbono y grasas

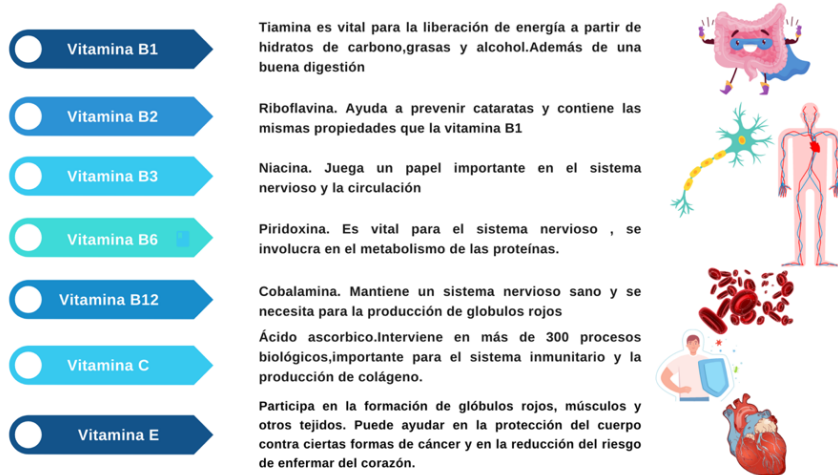


Figura 5. Funciones de vitaminas incrementadas en el proceso de germinación. [15]

Comentado [M-TJL30]: La figura tiene detalles de espacios

1.3.2 Ácido y-aminobutírico

También llamado GABA es un aminoácido no proteico que está distribuido ampliamente en la naturaleza (

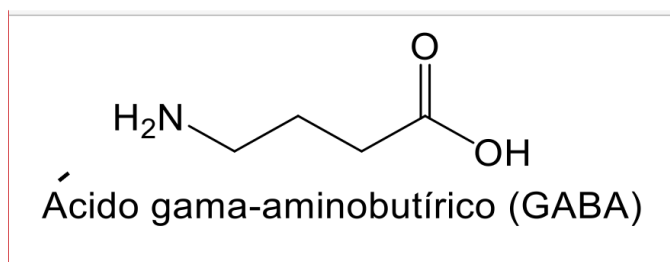
Figura 6. Estructura molecular del ácido gamma-aminobutírico) entre microorganismos, plantas y animales actúa como el principal inhibidor neurotransmisor en el sistema nervioso central de los mamíferos. Además, GABA

Comentado [M-TJL31]: espacio

tiene efectos hipotensores, tranquilizantes, diuréticos y antidiabéticos y reduce la presión arterial en animales y humanos [21].

Comentado [M-TJL32]: punto

Se ha informado que los frijoles comestibles, como el frijol adzuki, el frijol, las lentejas, el lupino, el guisante y la soja, aumentan el contenido de GABA en comparación con sus frijoles crudos. Además, los granos de cereales germinados, como el arroz integral, el trigo sarraceno, la avena y el trigo ceroso, también pueden acumular significativamente a GABA. Por ejemplo, se ha informado que los brotes de soja y trigo sarraceno germinados aumentan entre 0,50 y 2,60 y entre 0,60 y 37,5 veces el GABA en comparación con las semillas respectivas [22].



Comentado [M-TJL33]: acento en ácido

Figura 6. Estructura molecular del ácido gamma-aminobutírico

1.3.3 Polifenoles

Los polifenoles son los antioxidantes más abundantes en la dieta. Su ingesta dietética total podría ser tan alta como 1 g/día, que es mucho más alta que la de todas las demás clases de fitoquímicos y antioxidantes dietéticos conocidos, aunque las deficiencias en la ingesta de polifenoles no dan lugar a enfermedades por deficiencia específicas, la ingesta adecuada de polifenoles podría conferir beneficios para la salud, especialmente en lo que respecta a las enfermedades crónicas, normalmente se encuentran en productos como el té, el cacao, las frutas y las bayas, así como las verduras [23], sin embargo los polifenoles constituyen un gran grupo de fitoquímicos bioactivos que incluyen múltiples subclases como

Comentado [M-TJL34]: sin

flavonoides, estilbenos, ácidos fenólicos y lignanos, hay una relación bidireccional entre polifenoles y el microbioma del intestino humano (Figura 7) que imita en cierta medida la relación entre polifenoles y población microbiana patógena y simbiótica en el sistema radicular de las plantas.

Comentado [M-TJL35]: bidireccional

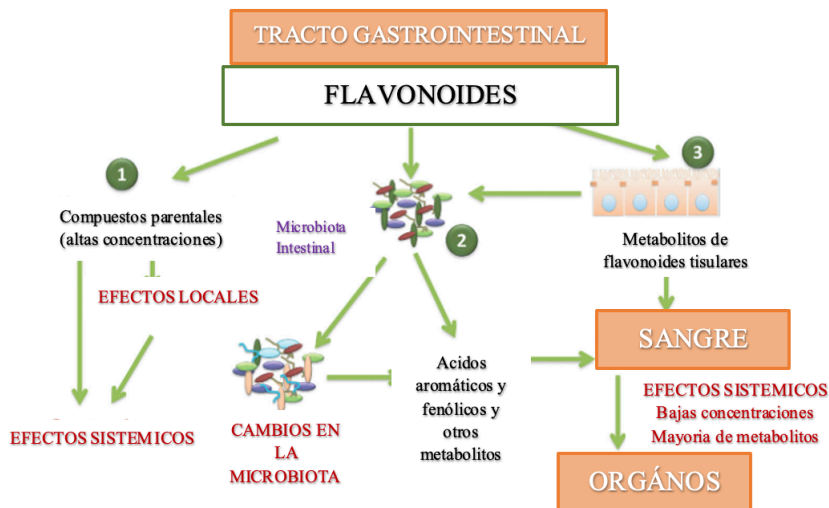


Figura 7. Absorción metabólica de polifenol en el colon

La influencia de la germinación en el contenido fenólico total se ha investigado en muchas semillas comestibles, como los frijoles comestibles y los cereales, los estudios indican que la germinación acumula gradualmente fenólicos solubles en semillas y brotes comestibles germinados en comparación con semillas crudas [24].

Comentado [M-TJL36]: punto

2. FITOHORMONAS

Las fitohormonas son un grupo de origen natural, estas sustancias orgánicas participan en procesos fisiológicos en concentraciones bajas, ya sea en fases del crecimiento y desarrollo de las plantas, división celular, formación de órganos,

Comentado [M-TJL37]: espacio

enlogación de tallos, germinación de semillas entre otros. Se acepta que las hormonas vegetales se agrupan en varias clases las cuales son auxinas, etileno, citoquininas (CK), giberelinas (GA), ácido abscísico (ABA), ácido salicílico (SA), jasmonatos, brasinoesteroides (BR) y hormonas peptídicas [25] (Figura 8).

Comentado [M-TJL38]: espacio

Comentado [M-TJL39]: espacios

Actualmente estas fitohormonas son sintetizadas químicamente y usadas para la agricultura, horticultura y viticultura para obtener ventajas específicas, disminución al estrés abiótico y biótico ya sea una sustancia para el crecimiento de plantas, también para el aumento o reducción en el crecimiento longitudinal de plantas, además otros procesos se pueden ver afectados como floración, formación de frutos, maduración calidad, etc, es por eso que se uso el término biorregulador de plantas.

Comentado [M-TJL40]: espacio

Comentado [M-TJL41]: acento

Comentado [M-TJL42]: espacios

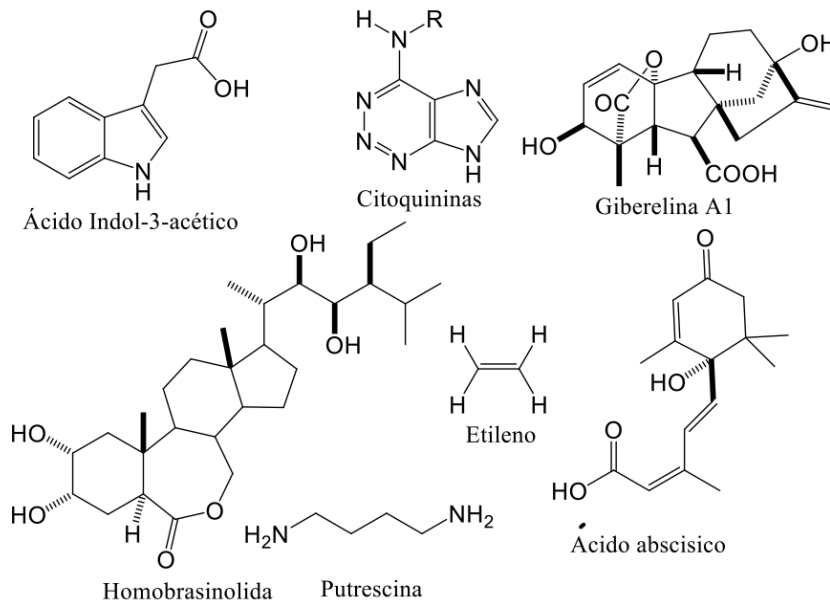


Figura 8. Estructuras de los diferentes grupos de fitohormonas.

Comentado [M-TJL43]: en la figura, ácido lleva acento

2.1 IMPLICACIÓN EN LA GERMINACIÓN

Los aumentos o modificaciones de las hormonas, especialmente la GA, juegan un papel importante en lograr la finalización de la germinación, al menos en semillas intactas. La eliminación o desactivación de ABA también es importante; las interacciones entre esto y GA juegan un papel regulador [10]. La latencia de las semillas ha asegurado que las semillas germinen en el momento adecuado; en estado de reposo, los genes que promueven la germinación no se expresan activamente, y la radícula no penetra la testa ni el endospermo. Se han informado de muchas genes relacionados con la remodelación de la cromatina [26]. En los helechos, existe una semejanza con el antagonismo GA-ABA que es el mecanismo central de la latencia de las semillas en las angiospermas [10].

Comentado [M-TJL44]:

Comentado [M-TJL45]: coma en lugar de punto

Comentado [M-TJL46]: espacio

Comentado [M-TJL47]: espacio

Comentado [M-TJL48]: la redacción esta confusa, es complicado entender

Los genes catabólicos de ABA regula negativamente a CYPJ0JA1 y CYPJ0JA3 (Figura 9) mientras que los genes de biosíntesis ABA, incluidos genes NCED están regulados positivamente por ABI4 y otros reguladores, ABA se acumula para iniciar latencia. Los otros genes reguladores clave que controlan la latencia, incluidos ABI3, ABI4, DOG1, DEP y SPT, se ha reportado que se activan durante la maduración de la semilla para inducir y mantener la latencia primaria de la semilla, y algunos de estos genes interactúan entre sí para regular los niveles de latencia de las semillas. Entre ellos, SUVH4, SUVH5, LDL1 y LDL2 regulan negativamente la transcripción de DOG1 y ABI, mientras que WRKY41 y RAF10 / 11 controlan directamente ABI3expresión [26].

Comentado [M-TJL49]: espacio

Comentado [M-TJL50]: espacios

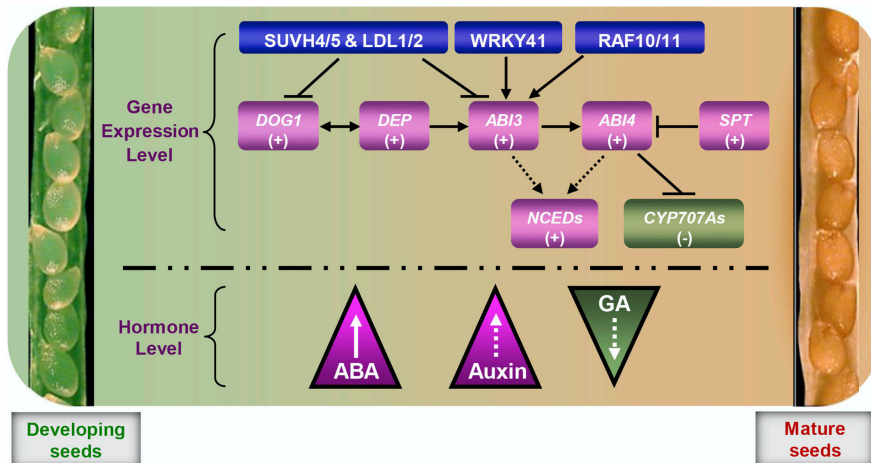


Figura 9. Cambios en la acumulación de hormonas clave y expresión de reguladores clave durante la maduración de la semilla.

La Figura 9 denota los genes implicados, las líneas activas con flechas hacia arriba indican el cambio de nivel de ABA, mientras que las líneas discontinuas indican los cambios de nivel de auxina y GA. El símbolo (+) indica el nivel de transcripción elevado, mientras que (-) indica el nivel de expresión disminuido durante la maduración de la semilla. Las flechas y barras negras indican las funciones reguladoras positivas y negativas, respectivamente.

2.2 Brasinoesteroides

Desde la investigación de los promotores de crecimiento y los extractos de polen en el siglo XX se demostró que *Brassica napus* y *Alnus glutinosa* contenía estos reguladores de crecimiento denominado brassinos [27]; se definen como un grupo de hormonas vegetales esteroides polihidroxiladas involucradas en procesos del desarrollo lo cual incluye crecimiento de las raíces, enlogación de hipocófito, germinación de polen etc. Además, de estar involucradas en adaptación de señales ambientales [28]. Las moléculas de los brasinoesteroides tienen cuatro anillos y una

cadena lateral (Figura 10) se forman a partir de la compactación en bloque de cinco átomos de carbono, denominados isopreno, poseen 28 átomos de carbono con diferentes sustituyentes en dos anillos están presentes en las plantas, así como en la cadena lateral [29]; no obstante, estudios recientes han demostrado que los BR naturales tienen una aplicación potencial en la medicina debido a su actividad antiviral, inmunomoduladora y neuroprotectora, y efectos antiproliferativos en células animales in vitro.

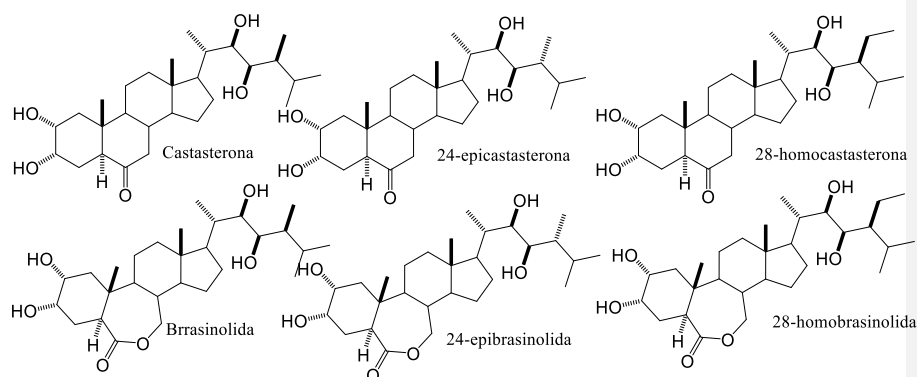


Figura 10. Estructuras de los brasinoesteroides naturales

Las hormonas esteroides también son importantes para los animales, incluidos los insectos, y los compuestos no esteroides que imitan a las hormonas esteroides son usadas en las industrias farmacéutica y agrícola; tienen la capacidad de inducir semillas a germinación siendo tan importantes como GA y ABA [29].

Comentado [M-TJL51]: punto

Los Brasinosteroides y GA interactúan con la luz en una enlogación regulada de fotomorfogénesis de las plántulas que pueden aparecer de maneras independientes [9]. Steber y McCourt (2001) informaron por primera vez que BR juega un papel en la promoción de la germinación al analizar la frecuencia de germinación de mutantes hormonales que fueron tratados con BR y ABA. Las semillas mutantes biosintéticas de GA (ga1-3, ga2-1 y ga3-1) que no pueden germinar sin la aplicación de GA

podrían germinar con el tratamiento de BR, esto sugiere que BR puede reemplazar funcionalmente a GA y promover la germinación al dirigirse a los genes de germinación descendentes de la señalización de GA. La inhibición de la germinación de semillas de tipo salvaje por ABA se reduce por la sobreexpresión del gen de biosíntesis de BR, DWF4 , que codifica una enzima del citocromo P450 que media un paso limitante de la velocidad en la biosíntesis de BR [9], la primera estructura aislada en 1970 del polen de Brassica napus se denominó Brassinolida (BL); sin embargo este compuesto natural se encuentra en las plantas en baja cantidad y tanto el aislamiento vegetal como la síntesis son extremadamente caros, según los estudios los científicos encontraron 24-epibrassinolida un estereoisomero de BL [30], no obstante sigue siendo de gran costo limitando sus aplicaciones prácticas, por ello la importancia de buscar moléculas nuevas con bajo costo y buena actividad.

Comentado [M-TJL52]: quitar la s

Es por ello, que en este trabajo nos enfocamos en la evaluación de estas moléculas en beneficio de la germinación de planta y su actividad mediante docking molecular, así como posibles efectos en consumo humano para pasar a una experimentación *in vivo* de germinados de alfalfa.

Comentado [M-TJL53]: espacio

3.3. 1 BRI1

Brasinosteroide-insensible 1 (BRI1) es una proteína de membrana que se ha establecido como el principal receptor de brasinoesteroides en plantas, pertenece a una familia de receptores repetidos ricos en leucina como las quinazas (LRR-RLK) [31]; la estructura típica de proteínas en esta familia contiene un dominio extracelular, una región transmembrana de un solo paso y un dominio quinasa intracelular. Si bien muchas LRR-RLK tienen funciones desconocidas, BRI1 y su vía de señalización están bien caracterizadas, tras la unión de los brasinoesteroides, la quinasa BRI1 se activa a un nivel basal, lo que da como resultado la fosforilación y liberación del inhibidor de la quinasa BRI11 (BKI1) de la membrana, la quinasa 1 asociada a BRI1 (BAK1), otra LRR-RLK con solo cinco LRR, interactúa y activa

Comentado [M-TJL54]: espacio

completamente BRI1, inmediatamente BRI1 desencadena una vía de señalización y regula la expresión de genes posteriores (Figura 11) [32] .

Comentado [M-TJL55]: espacio

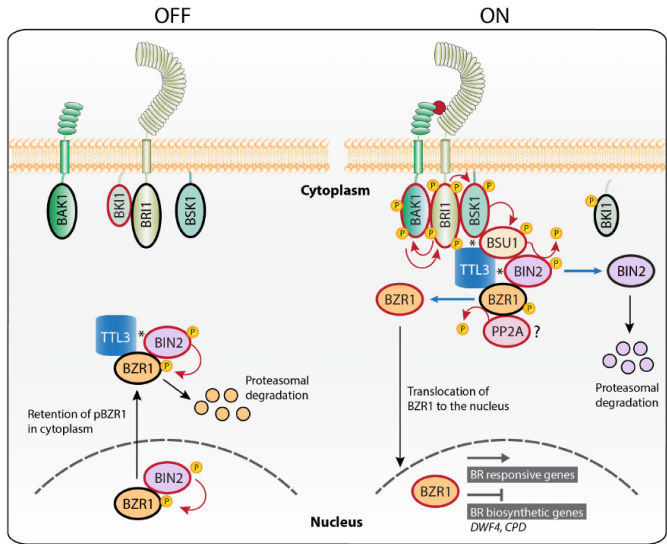


Figura 11. Receptores y genes activados BRI1- BAK1

3. PROTEÍNAS

3.1 CO1 Receptor a Jasmonatos (Ja-Ile)

La subunidad I del citocromo c oxidasa (CO1 o MTCO1) es 1 de las 3 subunidades codificadas por ADN mitocondrial (ADNmt) (MTCO1, MTCO2, MTCO3) del Complejo respiratorio IV, es una enzima transductora de energía respiratoria. Desempeña un papel en la patogenia de la anemia sideroblástica, idiopática adquirida esta enfermedad se caracteriza por la formación inadecuada de hemo y acumulación excesiva de hierro, la acumulación se atribuye a

mutaciones del ADN mitocondrial que pueden causar disfunción de la cadena respiratoria el cual altera la producción de hierro férrico a hierro ferroso [33]

Los jasmonas regulan una amplia gama de procesos de desarrollo en el crecimiento de raíces, fertilidad masculina y femenina, formación de tricomas y acumulación de antocianinas; la proteína F-box CORONATINE INSENSITIVE1 (COI1) que forma una ubiquitina ligasa E3 funcional SCF COI1 y actúa como un componente esencial de la maquinaria de percepción JA [34].

Comentado [M-TJL56]: espacio

Comentado [M-TJL57]: de

Comentado [M-TJL58]: punto

3.2 DWARF14 Receptor a estrigolactonas (Estrigolactona)

Las estrigolactonas han tenido importancia en la germinación de semillas de malezas parásitas y como inhibidor de ramificación y hormona vegetal [35]. Derivan de precursores carotenoides que se sintetizan por la ruta de los terpenos. Este precursor es el intermediario carlactona (CL) y su descubrimiento supuso un gran avance en la comprensión de la ruta de síntesis de las SLs. La percepción de los SL depende de un mecanismo novedoso que emplea un receptor enzimático DWARF14 (D14) que hidroliza los SL y se modifica covalentemente. [36]

Comentado [M-TJL59]: espacio

Comentado [M-TJL60]: espacio

Comentado [M-TJL61]: espacio

La percepción de SL depende de un mecanismo novedoso que implica la formación de una molécula intermedia unida covalentemente (CLIM) a partir de la unión de una molécula de SL al receptor D14 y su hidrolización por D14. Esta reacción promueve un cambio conformacional de D14, lo que lleva a la interacción entre D14 y D3 y desencadena la transducción de la señal SL [37].

Comentado [M-TJL62]: punto

Además, los SL activos son catabolizados por D14 y un producto de reacción D-OH queda atrapado en la cavidad de D14. Sobre la base de estos hallazgos, se propone un mecanismo molecular avanzado de D14 en el que D-OH funciona

como una forma madura de SL para transmitir la señalización de SL (Figura 12) (a) La forma vacía de D14. (b) límite SL D14. (c) SL es catabolizado por D14 y se produce D-OH. Entonces, D-OH permanece en el área de apertura de la cavidad de unión de D14. (d) La superficie hidrófoba de la estructura del casquete de D14 es reconocida por una proteína diana, como SLR1, y el complejo de proteína diana D14-SL modula la señalización corriente abajo. [38]

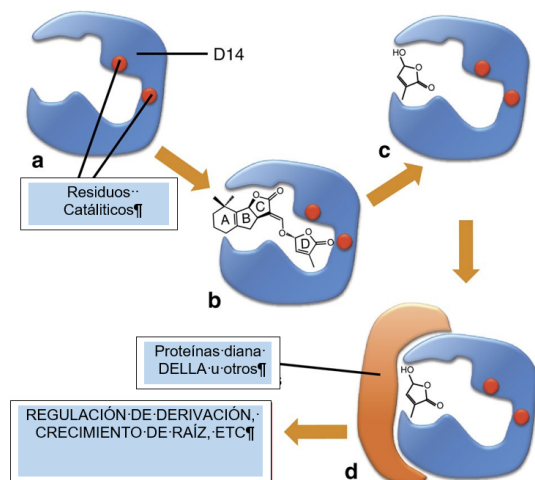


Figura 12.Reacción D-OH interacción entre D14 forma madura para transmitir la señalización de SL

3.3 GID1 3ED1- Receptor de Giberelinas GID1 (Giberelina A3)

Las Giberelinas son hormonas vegetales con un papel en el crecimiento de la planta. La identificación del gen GID1 de arroz, como un receptor soluble de GAs, constituyó un gran avance en la descripción de la ruta de señalización de estas hormonas, la Ga es percibida por el receptor soluble GID1; en Arabidopsis hay tres genes GID1s (GID1A, GID1B, GID1C) [39].

Estructuralmente, GID1 es una proteína monomérica (Figura 13) que contiene una cubierta N-terminal extendida que es flexible que consiste en dominio

Comentado [M-TJL63]: punto?

Comentado [M-TJL64]: Punto o coma

carboxi terminal α/β . La cavidad que se extiende bajo la cubierta corresponde con el sitio de sustrato de unión HSL (Hormone Sensitive Lipasa), en la que es retenida la GA bioactiva [40].

Comentado [M-TJL65]: punto

Los receptores $GID1$ activan la ruta de señalización de Gas mediante la formación del complejo $GA-GID1$ que media la rápida degradación del represor de crecimiento, las proteínas DELLA [41].

Comentado [M-TJL66]: punto

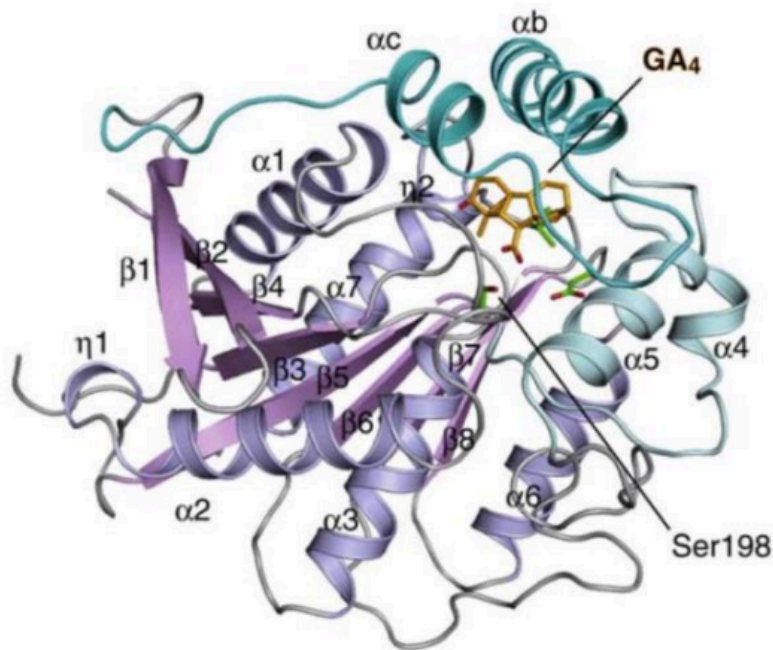


Figura 13. Arquitectura del complejo $GA-GID$. Se representa en color lila la zona HSL (Hormone Sensitive Lipasa) en la que la GA se une a $GID1$ y las 4 hélices en la región N-terminal en azul.

3.4 TIR1 2P1P- Receptor a Auxinas (IAA)

La hormona vegetal auxina regula diversos aspectos del crecimiento y desarrollo de las plantas. Estudios recientes indican que la auxina actúa promoviendo la degradación de los represores transcripcionales Aux / IAA a través de la acción de la proteína ligasa ubiquitina SCF (TIR1).

Comentado [M-TJL67]: punto

TIR1 es una proteína del tipo “caja F”, que se une a reguladores transcripcionales AUX/IAA que reprimen genes que responden a auxina y los marca para ser ubiquitinados y luego degradados por el proteasoma 26S. La unión de auxina a TIR1 activaría su interacción con AUX/IAA incitando la degradación de estos represores [42].

Los estudios demostraron que las proteínas Aux / IAA interactúan con TIR1 y que la auxina estimula esta interacción, la auxina actúa promoviendo la degradación de Aux / IAA a través de la acción de SCFTIR1 (Figura 14). La auxina regula la transcripción promoviendo la ubiquitina (Ub) mediada degradación de los represores Aux / IAA. La auxina (A) se une a la proteína F-box TIR1 en SCFTIR1 y estabiliza la interacción entre TIR1 y un Aux / IAA sustrato. El represor es poliubiquitinado y degradado por el 26S proteasoma. La pérdida de Aux / IAA permite el factor de respuesta de auxina (ARF) - transcripción dependiente de genes regulados por auxina.(auxin receptor, Keithanne).

Comentado [M-TJL68]: espacio

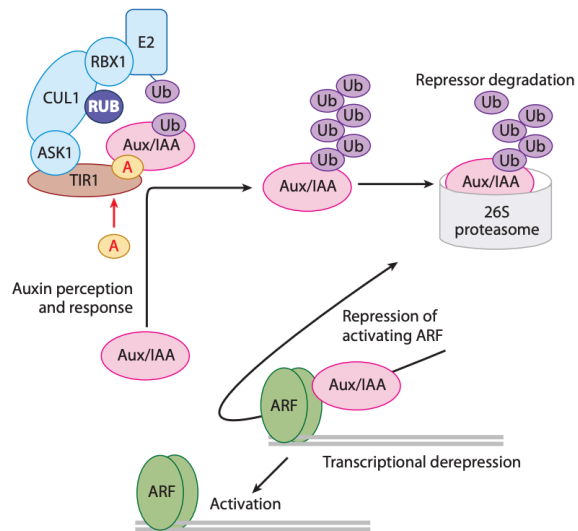


Figura 14.Regulación y unión de auxina en la caja-F TIR1, Ubiquitinación y unión de otras proteínas como CUL1,RBX1,ASK1 Y E2 Enzima conjugadora de Ub

OBJETIVOS

Objetivo general

Diseñar *in silico* fitohormonas de crecimiento que afecten positivamente la germinación.

Objetivos particulares

- Analizar la energía de acoplamiento de estructuras esteroidales en los receptores a hormonas de brasinoesteroides, auxinas, jazmonatos y giberilinas.
- Caracterizar interacciones moleculares de las dianas a partir del Docking molecular.
- Seleccionar una estructura que tenga potencial como fitohormona multidiana de crecimiento para su estudio *in vivo* de germinados de alfalfa.

Comentado [M-TJL69]: y

Comentado [M-TJL70]: punto

Comentado [M-TJL71]: punto

JUSTIFICACIÓN

Lo germinados tienen un potencial en área médica por ejemplo el Alfalfa (*Medicago sativa*) es una hierba que se puede utilizar en el campo médico para afecciones renales, de la vejiga y de la prostata, y para aumentar el flujo de orina, asimismo, para el colesterol entre otras debido a su contenido de vitaminas como A,C,E y K4 y minerales como calcio, potasio, fósforo y hierro [7], presentada una de sus aplicaciones en los suplementos; además la alfalfa es uno de los forrajes perennes más ampliamente cultivados en todas las regiones del mundo por lo cual va de la mano con la alimentación en rumiantes y a su vez con productos derivados de origen animal; la importancia de esta especie se debe a la cantidad de forraje obtenido por unidad de superficie, y al alto valor nutritivo, por ser apetecible y consumido por gran número de animales, sea en estado fresco, henificada o ensilada.

Comentado [M-TJL72]: en cursivas y la segunda no va con mayúscula

Comentado [M-TJL73]: espacio

Comentado [M-TJL74]: espacio

Factores como urbanización y cambio climático han influido negativamente en prácticas agrícolas, forzando al sector a buscar y desarrollar tecnologías que nos permitan seguir produciendo efectivamente; así mismo producir en épocas y situaciones poco favorables para el desarrollo de la planta; es por eso que la búsqueda de compuestos que ayuden al crecimiento del alfalfa es de suma importancia tanto para el área de investigación médica como el área alimenticia.

Comentado [M-TJL75]: agregar la n

Comentado [M-TJL76]: coma

Comentado [M-TJL77]: punto y coma

Comentado [M-TJL78]: Este párrafo está complicado de entender

Hoy en día la investigación de medicamentos y de moléculas con aplicaciones biotecnológicas se empieza en un estudio bioinformático que nos ayude a evaluarlas y caracterizarlas, así mismo discriminar varias que pudieran no llegar a una fase de experimentación, es por eso que en este trabajo mediante el uso de herramientas bioinformática se lleva a cabo el estudio de moléculas y sus interacciones con proteínas diana y su análisis, y así obtener una "hormona de crecimiento" factible con fines de ayudar a la germinación de la planta.

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La importancia de los germinados como alimento funcional o nutracéutico es de gran relevancia, el uso de fitohormonas es una excelente alternativa para incrementar la viabilidad y el rendimiento de la producción de estos, para lo cual en el presente trabajo se estudio un grupo de moléculas esteroidales 22-oxocolestánicas y epirostanicas, con 5 proteínas asociadas a la germinación, como se observa en la figura 15, posteriormente, se estudio a nivel estadístico la selectividad entre el efecto sobre cada proteína y/o efecto simultáneos.

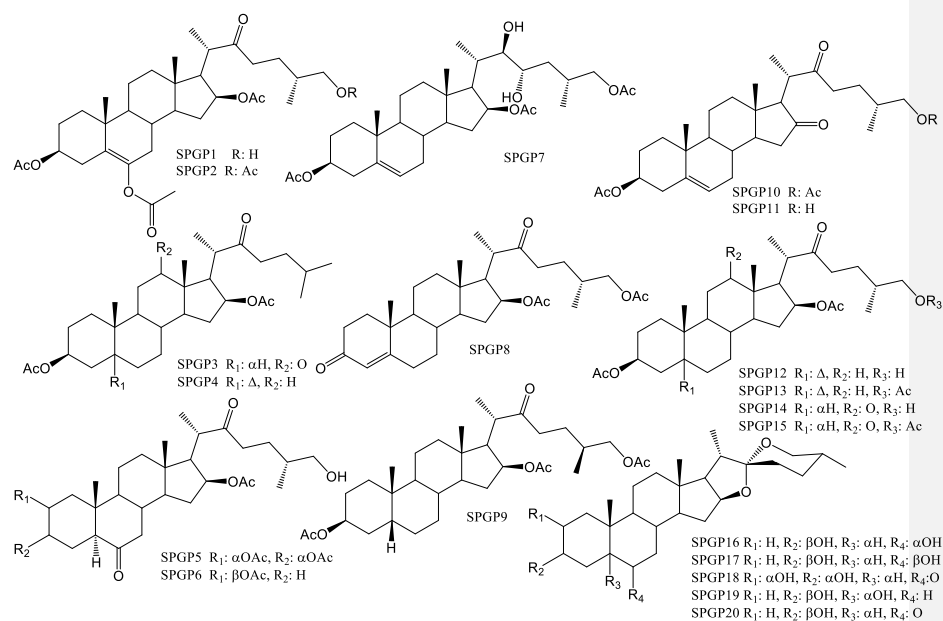
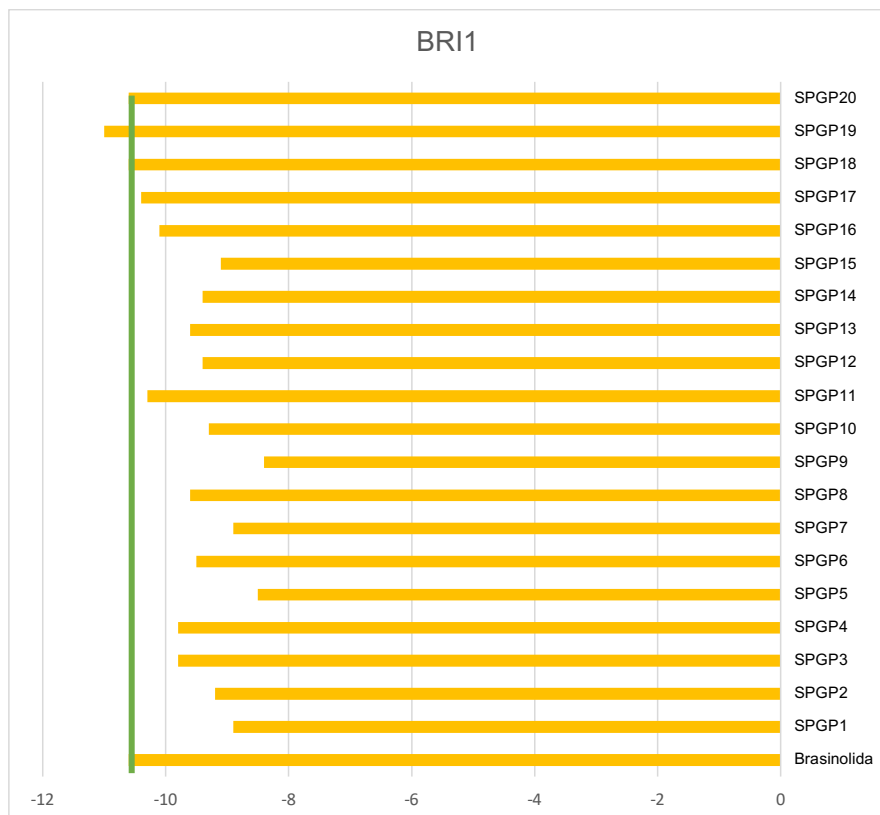


Figura 15. Estructuras de las fitohormonas evaluadas.

1.0 PROTEINA ASOCIADA EN GEN BRI1 (BRASINOESTEROIDES)



Gráfica 1. Resultados de docking de las estructuras acoplado a BRI1

Las hormonas acopladas a BRI1 comparando con su ligando natural (Gráfica 1) siendo Brasinolida con un valor de -10.6, la única hormona que superó el valor es SPGP19 con un valor de 11, y las que llegaron a un valor cercano fueron SPGP17, SPGP18, SPGP20 y SPGP11 con un valor de -10.4, -10.6, -10.6 y -10.3 respectivamente.

Tenemos buena respuesta de interacción desde la molécula SPGP17 hasta SPGP20, estas hormonas esteroidales tienen el problema de ser insolubles en agua, por lo tanto nos enfocamos en SPGP11 que aunque tiene un valor menor que el de referencia, puede tener un efecto por la cercanía del valor.

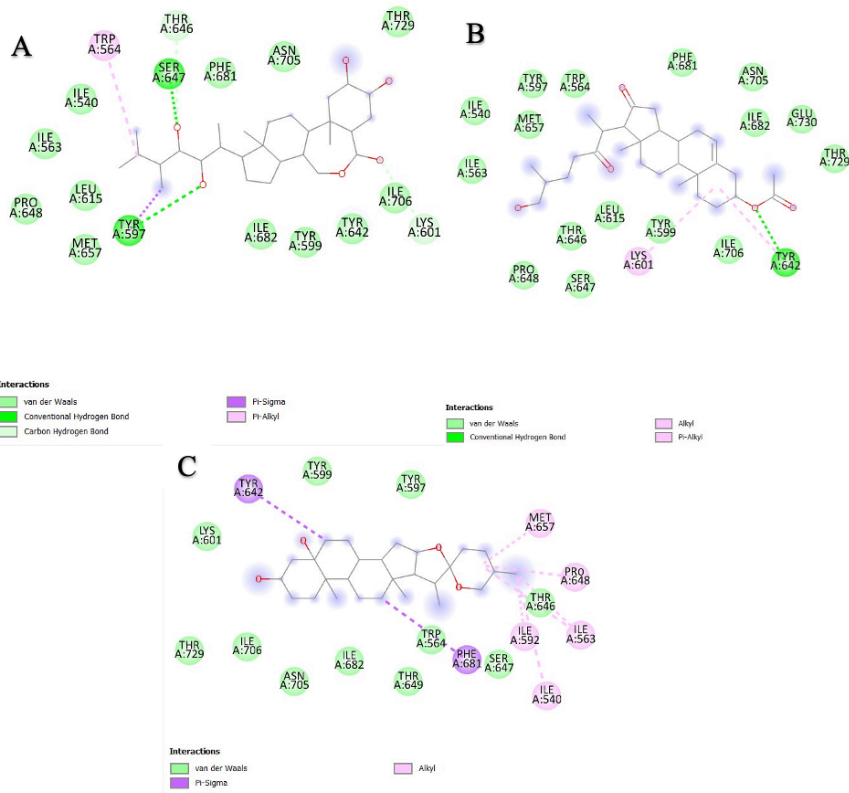


Figura 16. Interacción BRI1 y A) Brasinolida B) SPGP11 C) SPGP19

La interacción entre BRI1 y Brasinolida (Figura 16) interactúan con un enlace fuerte siendo Carbon-Hidrógeno con Ile:706, de igual forma el enlace Hidrógeno que podría ser un enlace fuerte con TYR:597, encontramos enlaces más debiles Pi-Alkyl y Pi-Sigma comparando con B) SPGP11 nos damos cuenta que no tiene enlace Carbón-Hidrógeno, muestra un enlace Hidrogeno con TYR:642 e interacciones de tipo alkyl; por otro lado SPGP19 supera las interacciones de tipo alkyl y 2 enlaces

Pi-Sigma. Esto nos indica que las interacciones de tipo alkyl llegan a superar la energía de afinidad a comparación de su ligando natural Brasinolida.

2.0 PROTEINA ASOCIADA EN GEN CO1 (JASMONATOS)



Gráfica 2. Resultados de docking de las estructuras acoplado a CO1

Para la vía de Jasmonatos comparando con su ligando natural 7JA Gráfica 2) obtuvo el valor de -7,8, observamos que se encuentra una mejor respuesta de las hormonas teniendo solo 8 moléculas que estuvieron igual o muy poco por debajo del valor, Los mejores resultados son SPGP18 y SPGP17 con -8.8 y -8.7 respectivamente, obstante dentro de las moléculas solubles en agua encontramos SPGP8 y SPGP9 con valor de -8.1, SPGP10 con un valor más alto de -8.3.

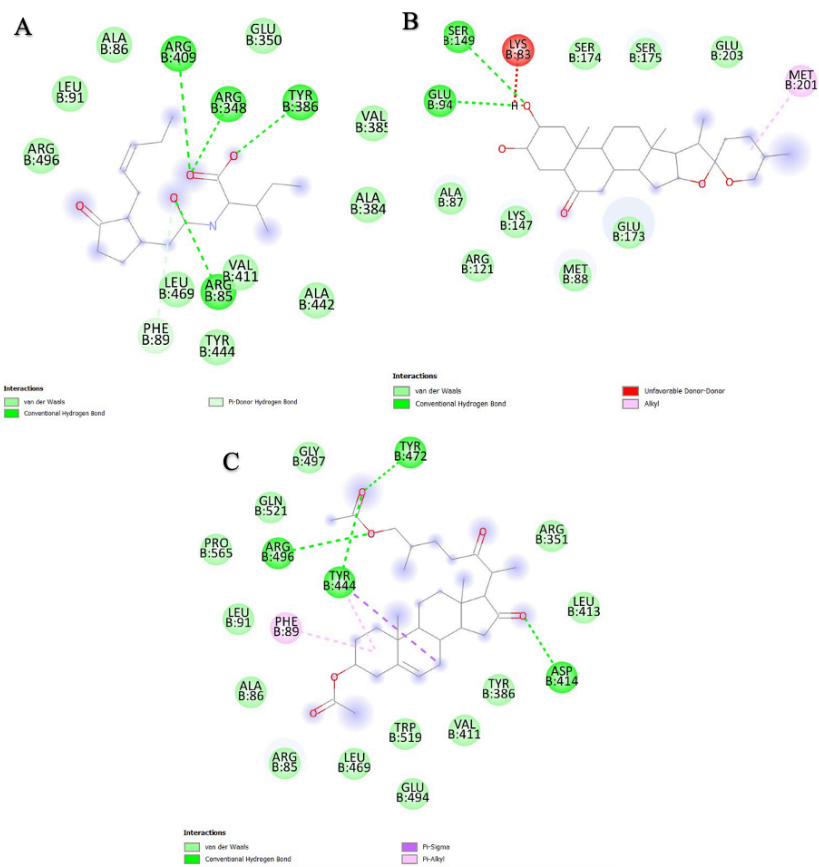


Figura 17. Interacción CO1 y A) ligando natural B) SPGP18 C) SPGP10

Entre el ligando natural y CO1 (

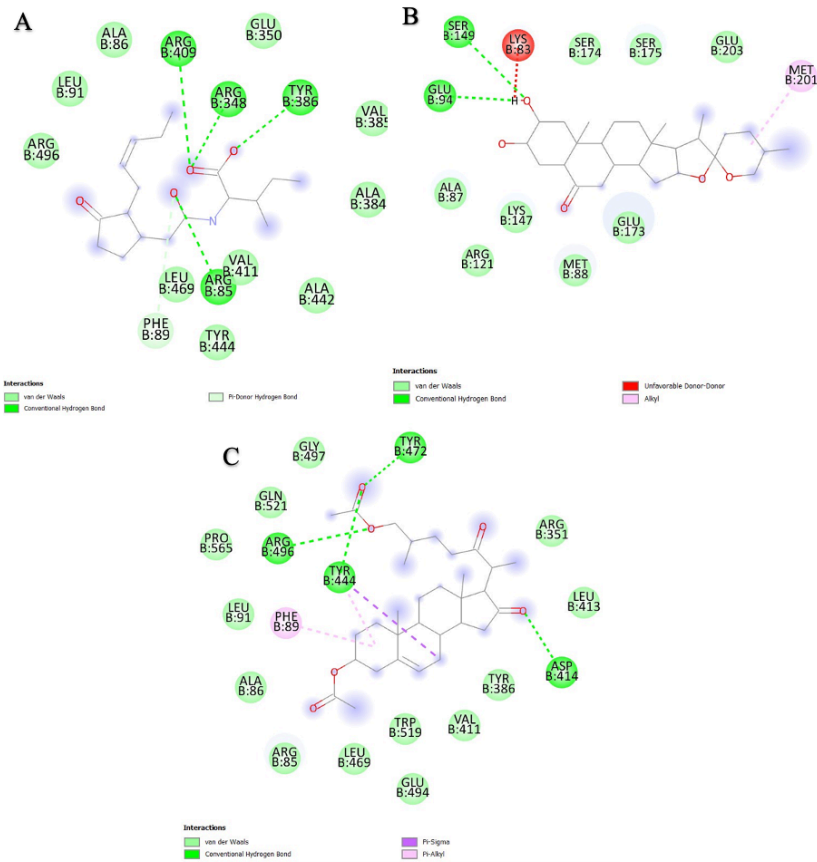
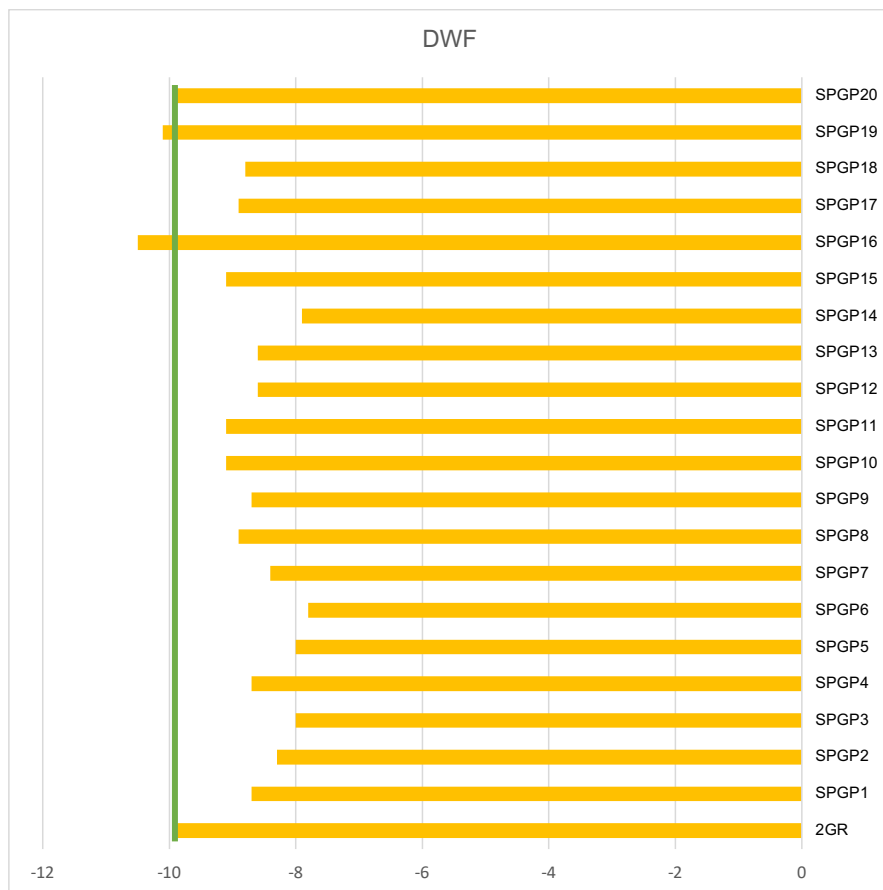


Figura 17) observamos 4 enlaces de hidrógeno con ARG: 85,348, y 409 así como TYR: 386 comparando con B)SPGP18 con 2 enlaces de hidrógeno con SER: 149 y GLU: 94; C) SPGP10 con 3 enlaces de este tipo siendo TYR:444, TYR:472 y ARG:496 e interacciones de tipo alquil, a pesar del enlace no favorable donador-donador la interacción B) es mayor que el propio ligando natural debido a las posiciones en la que se encuentra y los aminoácidos con los que forma enlace.

Comentado [M-TJL79]: acento

Comentado [M-TJL80]: acento

3.0 PROTEÍNA ASOCIADA EN GEN D14 (Estrigolactonas)



Gráfica 3. Resultados de docking de las estructuras acoplado a D14

Por la vía de estrigolactonas tenemos 3 resultados mayores a su ligando natural (Gráfica 3) con valor de -9,9; siendo SPGP16, SPGP19 y SPGP20 con valores de -10.5,-10.1 y -9.9 respectivamente; dentro de las moléculas solubles en agua el más cercano es SPGP11 con valor de -9.1.

Comentado [M-TJL81]: PUNTO

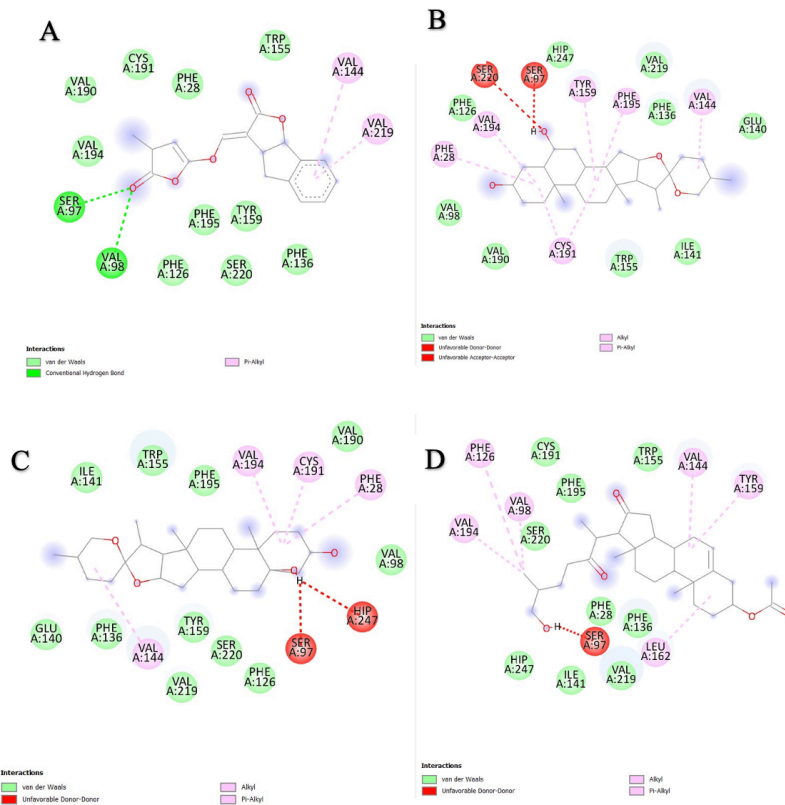


Figura 18. . Interacción D14 y A) ligando natural B) SPGP16 C)SPGP19 D) SPGP11

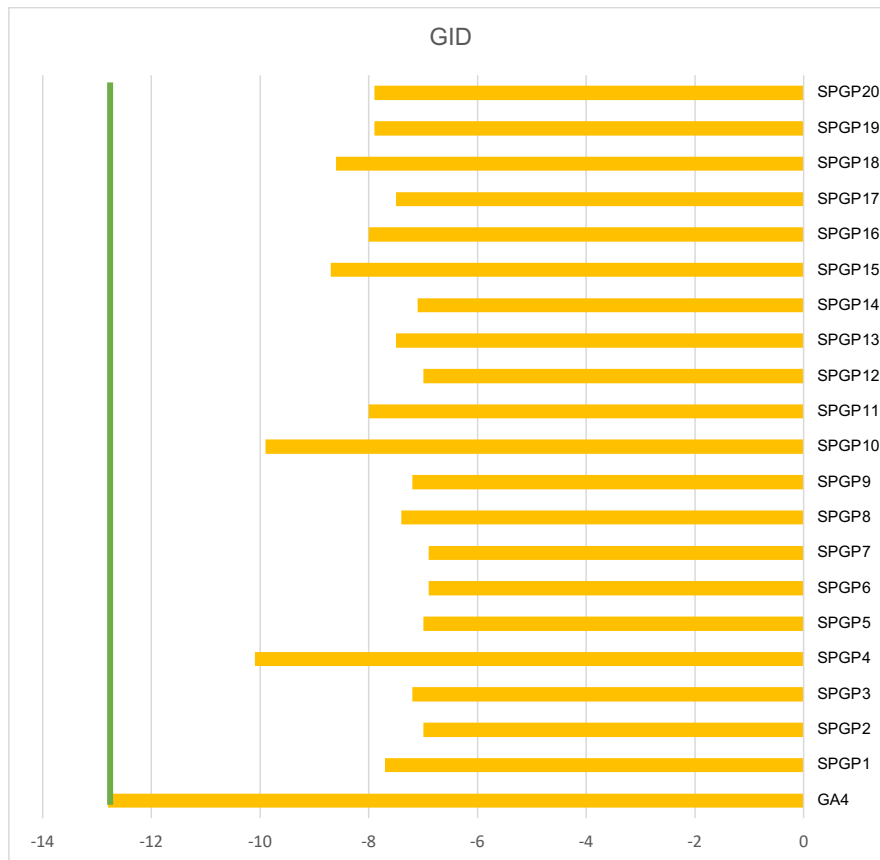
Dentro de las interacciones D14 con su ligando natural (Figura 18) observamos los enlaces convencionales de **hidrógeno** en SER:97 y VAL:98 así como interacciones de tipo alquil, dentro de las moléculas con mayor energía de afinidad es decir B) y C) notamos en su mayoría interacciones de tipo alquil y enlaces donador-donador no favorables; dentro de las moléculas solubles D) se repite el patrón con el mismo

Comentado [M-TJL82]: acento

tipo de enlaces, esto nos indica que este tipo de enlaces podrían ser más asociativos a la proteína que el mismo ligando natural.

4.0 PROTEÍNA ASOCIADA EN GEN GID (Giberilinas)

Comentado [M-TJL83]: ACENTO



Gráfica 4. Resultados de docking de las estructuras acoplado a GID

Como observamos en la Gráfica 4 la energía de afinidad del ligando natural es superior a las demás hormonas esto nos indicaría que nuestros promotores a

evaluar no funcionarían por esta vía, obtenemos una energía GA4-GID de -12.8, la molécula mas cercana fue SPGP4 con -10.1 quedando muy lejano al valor.

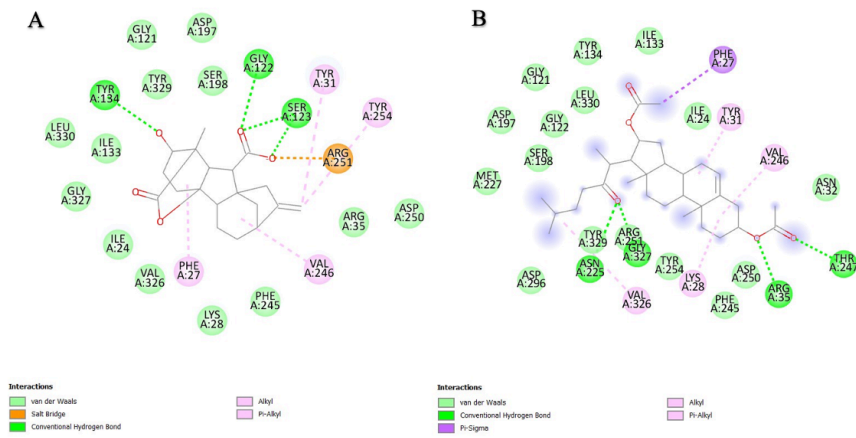
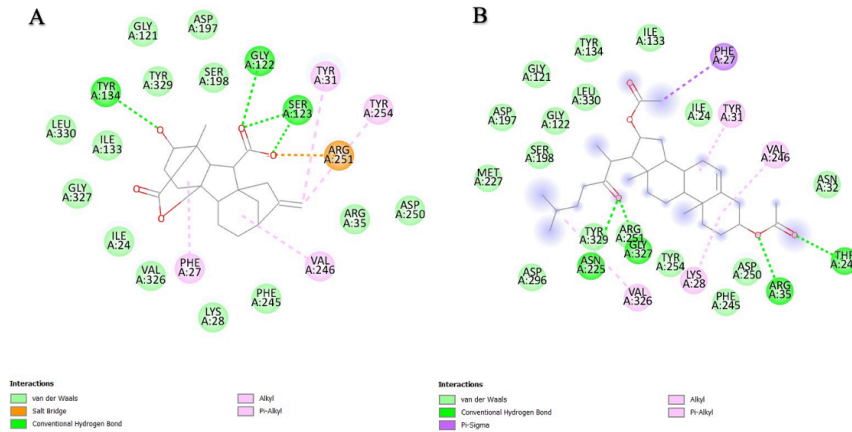


Figura 19. Interacción entre GID A) ligando natural (GA4) B) SPGP4

En este caso se analizó la interacción de GID con su ligando natural (Figura 19



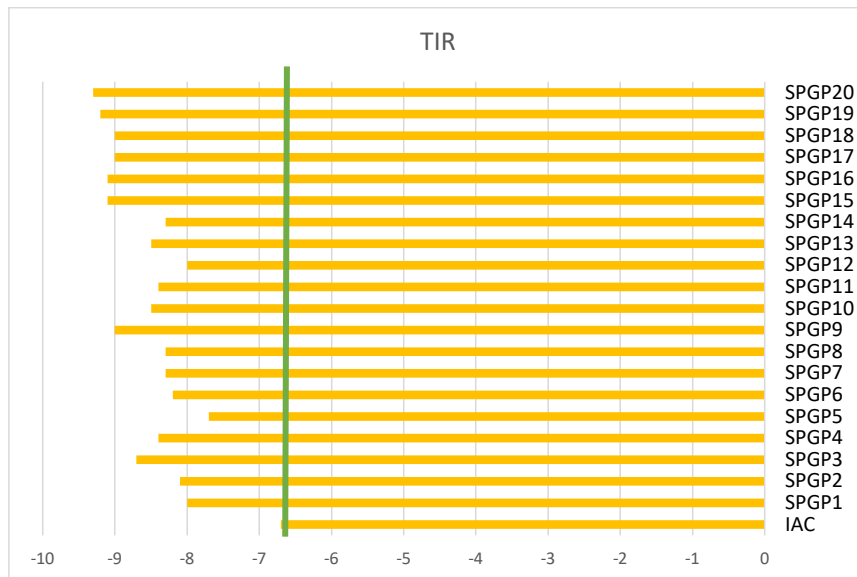
) observando enlaces desde fuerzas de van der waals, de hidrógeno, tipo alkyl y puente de sal, a comparación de la molécula con la mayor energía de afinidad mantiene interacciones de hidrógeno, fuerzas de van der waals y enlaces de tipo alkyl sin embargo, la energía no nos demuestra ser suficiente para algún efecto, descartando todas las moléculas por esta vía.

Comentado [M-TJL84]: acento

Comentado [M-TJL85]: acento

5.0 PROTEINA ASOCIADA EN GEN TIR (AUXINAS)

Comentado [M-TJL86]: ACENTO



Gráfica 5. Resultados interaccion de promotores-TIR

Contrario a la vía de giberelinas, en esta vía de las auxinas observamos (Gráfica 5) que todos los promotores podrían ser eficientes debido a que superan la energía de su ligando natural que tiene un valor de -6.7, dentro de las moléculas más destacadas se encuentran: SPGP16 al SPGP20 llegando o superando el valor de -9; para enfocarnos dentro de las solubles en agua tenemos SPGP19, SPGP3 y SPGP10 con valor de -9, -8.7 y -8.5 sin embargo SPGP11 se acerca al valor con -8.4 que podría ser importante en la elección de las 3 mejores.

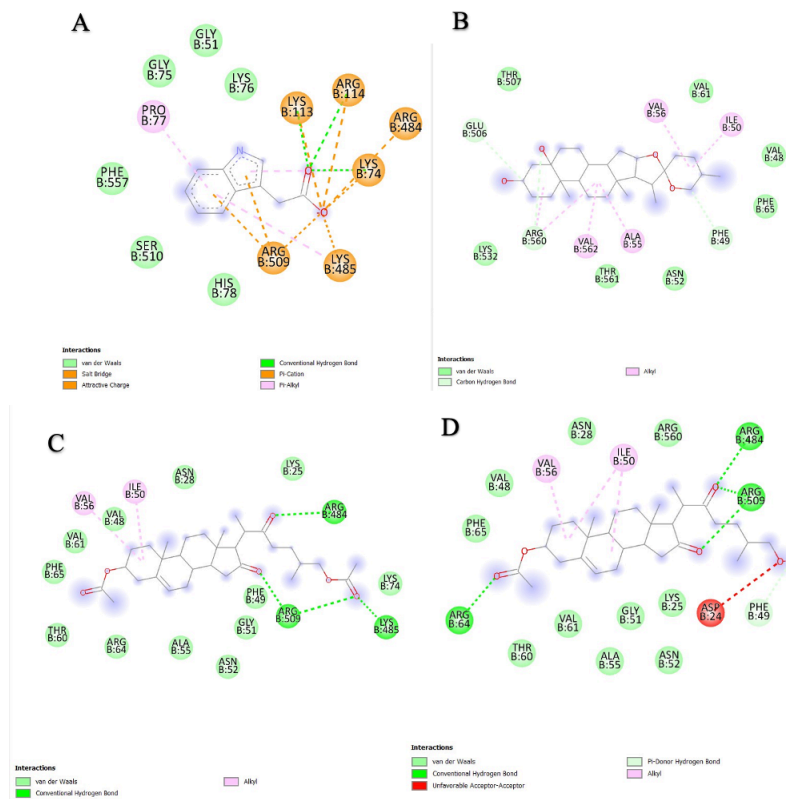


Figura 20. Comparación Interacción entre A) ligando natural B) C) D)

Para el caso de TIR comparado con el ligando natural (Figura 20) encontramos muchas interacciones como puente de sal, cargas de atracción y Cation Pi, a diferencia de las otras que contienen enlaces de hidrógeno convencionales, fuerzas de van der waals, y de tipo alquil; las primeras interacciones representadas en color naranja podrían ser la causa de la baja energía de afinidad por su ligando natural, evaluando las moléculas B), C) y D); SPGP19 tiene la mayor energía de afinidad con enlaces de tipo alquil, sin embargo, como ya antes mencionado se evalúan

Comentado [M-TJL87]: COMPARADO

Comentado [M-TJL88]: acento

moléculas solubles en agua siendo C) como la segunda mejor energía y D) en tercer lugar debido a la interacción no favorable aceptor-aceptor.

Puesto los resultados anteriores, se buscaron las siguientes moléculas para posibles predicciones de las moléculas que incluye no solo humanos sino otros organismos tomando en cuenta que los germinados se usan de forma muy importante en la alimentación animal, a pesar de obtener mejores resultados dentro de las moléculas insolubles en agua se toman en cuenta solo las 2 más relevantes de este tipo. La Tabla 3 nos muestra la comparación por las vías de interacción.

Tabla 3. Comparación de resultados de moléculas

Promotor	Vías de Interacción.	Observación
SPGP4	CO1 y TIR.	Valor más alto en GID
SPGP10	CO1 y TIR	Interacción posible en D14
SPGP11	CO1,TIR	Posible interacción en BRI1 y D14
SPGP19	BRI1,CO1,D14,TIR	Insoluble en agua
SPGP16	CO1,D14,TIR	Insoluble en agua, posible interacción BRI1

SPGP11 la tomamos en cuenta por las posibles interacciones y su solubilidad en agua, SPGP4 aunque tuvo el valor más alto en GID no llega a acercarse al valor del ligando natural por lo tanto para la elección la descartamos, SPGP10 se toma en cuenta por su solubilidad en agua, y su posible interacción con D14, del lado de insolubles en agua se toma SPGP19 por destacar ser la única con mayor energía de afinidad que Brasinolida en BRI1.

Tabla 4. Posibles efectos de las hormonas seleccionadas

Moléculas	Interacción con Pa>0.7
-----------	------------------------

Comentado [M-TJL89]: agregar la n

Comentado [M-TJL90]: agragar la

Comentado [M-TJL91]: recorrer la línea para que la s, no quede sola

Efectos adversos y tóxicos				
Pa>0.7				
	Pa	Actividad	Pa	Actividad
SPGP11	0.935	Antihipercolesterolemico	0.938	Conjuntivitis
	0.914	Antagonista colesterol	0.922	Toxicidad Ocular
	0.910	Reductasa inhibidor	0.914	Disturbación de sueño
		Prostaglandin E2	0.905	Teratogeno
	0.854	Alkenylglicerofosfocolin	0.901	Embritóxico
		a hidrolasa inhibidor	0.895	Tóxico
	0.841	Inhibidor oxidoreductasa	0.878	Distorsión del
	0.842	Substrato CYP2C		comportamiento
	0.835	Inhibidor reductasa	0.822	Disfunción
		DELTA12- esterol		reproductiva
0.826	Glucoronosyltransferasa	0.817	Somnolencia	
	substrato UDP	0.808	Neurotóxico	
0.803	Tratamiento de	0.794	Irritación	
	enfermedades			
	proliferativas			
SPGP10	0,869	Inhibidor de la	0.952	Irritación
		alquenilglicerofosfocolin	0.862	Tóxico
		a hidrolasa	0.838	Teratogeno
			0.839	Neurotóxico
	0.860	Antineoplástico	0.831	Embriotóxico
			0.832	Conjuntivitis
	0.833	Antiseborreico	0.821	Necrosis
	0.822	Inhibidor Dextranasa	0.819	Excitabilidad
	0.813	Inhibidor de	0.811	Toxicidad Ocular
		alquilacetilglicerofosfata		
	sa	0.809	Alteración del	
0.790	Inhibidor de la		comportamiento	
	acilcarnitina hidrolasa			

	0.790	Tratamiento poliposis adenomatosa	0.771	Disfunción reproductiva.
	0.771	Antagonista Colesterol		
	0.773	Analéptico respiratorio		
	0.772	Inmunosupresante		
SPGP19	0.865	Antineoplástico	0.969	Irritación
		Antagonista de la	0.925	Disfunción reproductiva
	0.822	integridad de membrana		
	0.816	Inmunosupresor	0.914	Conjuntivitis
	0.809	Inhibidor de la	0.907	Toxico
		permeabilidad de	0.889	Necrosis
		membrana	0.886	Toxicidad Ocular
	0.776	Alkenylglicerolfosfocolina hidrolasa	0.863	Teratogeno
			0.859	Embriotóxico
	0.747	Tratamiento poliposis adenomatosa	0.855	Neurotóxico
			0.853	Hepatóxico
	0.749	Sustrato UDP-glucuronosiltransferasa		
	0.727	Sustrato UGT2B		
	0.736	Inhibidor de la prostaglandina-E2 9-reductasa		

Según la Tabla 4 SPGP19 y SPGP10 comparten puntos interesantes al ser antineoplástico y beneficios en algunos casos como inmunosupresor, además SPGP10 es antagonista de colesterol, que podría ser beneficioso en un punto de tratamiento como en hipercolesterolemia donde se presentan niveles altos de colesterol, también tiene características como analéptico respiratorio y en tratamiento poliposis adenomatosa que también comparte con SPGP19, mientras que, SPGP19 tiene mayor efectividad como inmunosupresor y antineoplástico. Sin

Comentado [M-TJL92]: acento

embargo hay que tomar en cuenta los posibles efectos a la salud ya que podrían causar no solo irritación, si no problemas en la reproducción, problemas oculares, hepatotóxico, etc.

Comentado [M-TJL93]: coma

SPGP11 tiene características relevantes al ser antagonista de colesterol y usado para tratamiento de enfermedades proliferativas; y potencial como antihipercolesterolemico, además tiene efectos muy parecidos a los 2 antes mencionados como la disfunción reproductiva, conjuntivitis, irritación y tóxico; que habra que tomar en cuenta analizar en plantas principalmente para alimentación.

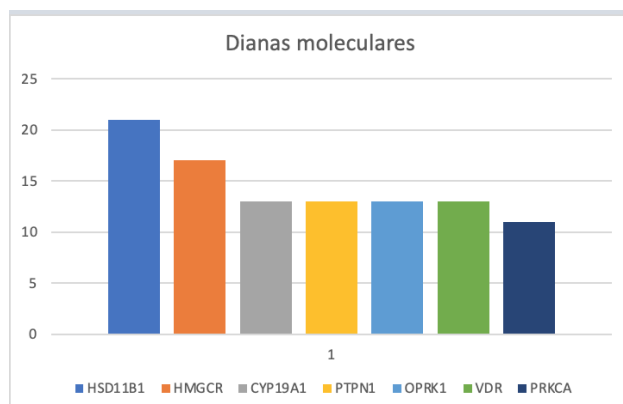
Comentado [M-TJL94]: acento

Comentado [M-TJL95]: espacio

Comentado [M-TJL96]: espacio

A partir de la lista de moléculas se obtuvo una lista de las mayores interacciones entre todas las moléculas para obtener targets moleculares para su posterior análisis. Siguiendo el criterio S+1, la máxima frecuencia siendo 21 se tomó desde una frecuencia de 11 empezando por la proteína PRKCA (Gráfica 6).

Comentado [M-TJL97]: punto



Gráfica 6. Dianas moleculares con mayor frecuencia de interacción

Posteriormente se realizó el análisis en PDB donde se tomaron en cuenta las métricas aceptables y el método de extracción preferentemente Difracción de Rayos X , además se tomó en cuenta aquellas estructuras acopladas a un ligando.

Comentado [M-TJL98]: espacio

Comentado [DGS99R98]:

de esto se obtuvieron 4 posibles dianas moleculares a analizar con los parámetros ya mencionados; se realizó una búsqueda más detallada de las proteínas en The Protein Atlas Human (

Tabla 5).

Tabla 5. Información obtenida en The Human Protein Atlas.

The Human Protein Atlas				
Proteína (nombre común)	Función Molecular	Localización	Enfermedades relacionadas	Ligandos
CYP19A1	Monooxigenasa, Oxidoreductasa	Mitocondria	Genes relacionados con el cáncer, mutación de enfermedad, dianas farmacológicas aprobadas por FDA, pseudohermafroditismo.	Hemo, hierro, unión a metales
OPRK1	Acoplador proteína G, receptor, transductor	Membrana	dianas farmacológicas aprobadas por FDA	-----
VDR	Unión DNA, receptor	Intracelular	dianas farmacológicas aprobadas por FDA, Mutación de enfermedad,	Unión metales, Zinc

			raquitismo hereditario	
PRKCA	Kinasa, serina, transferasa	Intracelular	dianas farmacológicas aprobadas por FDA, genes relacionados con cáncer, proto oncogénicos	Unión-ATO, Calcio, unión a metales, unión de nucleótidos, zinc

Consecutivamente una búsqueda detallada de la función biológica nos otorga información más específica y una justificación biológica como se reporta en la Tabla 6.

Tabla 6. Proteínas y evaluación biológica

Proteína	Justificación Biológica.
CYP19A1	Es la responsable de la conversión de andrógenos en estrógenos en una reacción secuencial de 3 pasos [43]. Hay síndromes de exceso de aromatasa, se presenta aumento de aromatización extraglandular como deficiencia se presenta hirsutismos, retraso de la pubertad, hipoplasia mamaria [44].
OPRK1	La señalización conduce a la inhibición de la actividad de la adenilato ciclasa. Inhibe la liberación de neurotransmisores al reducir corrientes de iones de calcio y aumentar la conductancia de iones de potasio. Desempeña un papel en la percepción del dolor, en la mediación de la actividad física y en la regulación de la saliva en respuesta de opioides sintéticos [45].

VDR	El VDR se une al ligando ingresa al núcleo y produce un heterodímero RXR se une a los elementos de respuesta de vitamina D y transactiva los genes diana. Si se interrumpe un paso se produce HVDR [46].
PRKCA	Participa en la regulación positiva y negativa de la proliferación celular, apoptosis, diferenciación, migración y adhesión, tumorigénesis, hipertrofia cardíaca, angiogénesis, función plaquetaria e inflamación , mediante la fosforilación directa de dianas como RAF1, BCL2, CSPG4, TNNT2 / CTNT, o activando la cascada de señalización que involucra a MAPK1 / 3 (ERK1 / 2) y RAP1GAP. Interviene en la proliferación celular y la detención del crecimiento celular mediante la regulación positiva y negativa del ciclo celular [47].

Observamos que podrían tener algún efecto ya sea positivo en el caso de CYP19A1 para tratamiento de ginecomastia y en las niñas pubertad precoz y gigantomastia o por ejemplo VDR responsable junto con su ligando la vitamina D responsable de muchos procesos fisiológicos e implicado en enfermedades como raquitismo hereditario y alopecia; así como implicaciones negativas que llegaran a tener el exceso de las hormonas.

CONCLUSIONES

El docking molecular permitió optimizar y economizar costos en la evaluación de nuevas moléculas con objetivos específicos, dentro de este trabajo se aprovecha su potencial para realizar una elección sin tener necesariamente los recursos para un experimento, o previo a una investigación in vivo; en este caso el objetivo es el uso de fitohormonas que potencien la germinación ya sea con fines de aprovechamiento de la planta, uso como alimentos funcionales o nutraceúticos, cabe destacar los probables efectos que causan el uso de fithormonas ya sean positivos o negativos; se proponen las moléculas SPGP11 y SPGP10 con mayor posibilidad de interacción, además, SPGP19 tiene un gran potencial al ser la única cercana a interactuar con BRI1 sin embargo el nuevo reto recae en su solubilidad del agua, la propuesta mantiene mientras tanto las moléculas antes mencionadas descartando efectos negativos tanto la salud, como agronómicamente, además se explora el uso de estas fitohormonas para aumentar el valor nutricional de alimentos y explotarlos como alimentos funcionales o nutraceúticos.

Sin duda alguna el uso de la bioinformática nos ha ayudado a realizar grandes avances, es importante mantenerse actualizados en los progamas y nuevas versiones que nos permitan tener resultados más confiables y veraces; buscando así un avance significativo en los estudios in silico.

Comentado [M-TJL100]: coma

Comentado [M-TJL101]: programas

METODOLOGÍA

A partir de las estructuras que se han utilizado previamente como promotores de crecimiento vegetal (Figura 21) se utilizaron 5 proteínas asociadas a la activación de vías de proceso de crecimiento vegetal y de germinación (proteína asociada en gen BRI1, la asociada en gen CO1 -jasmonatos-, asociada en gen D14 -estrigolactonas-, asociada en gen GID -giberilinas- y la asociada en gen TIR -auxinas-), iniciando con la preparación de la proteína, el diseño y preparación de ligando de referencias y SPGPs, el estudio de acoplamiento molecular y el análisis interaccional; para proceder al estudio de efecto beneficios y adversos de estas estructuras para una elección de nuevos candidatos.

Comentado [M-TJL102]: acento

Comentado [M-TJL103]: acento

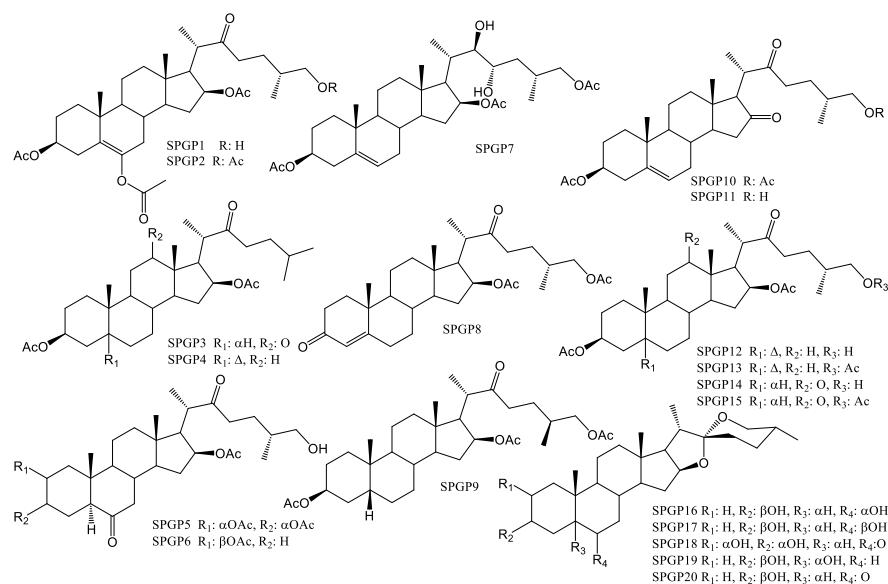


Figura 21. Promotores de crecimiento a evaluar

1. Preparación de las proteínas.

Comentado [M-TJL104]: acento

Cada uno de los receptores la proteína asociada en gen BRI1(3RGZ [48]) , la asociada en gen CO1 -jasmonatos- (3OGL[49]), asociada en gen D14 -estrigolactonas- (5DJ5 [50]), asociada en gen GID -giberilinas- (3ED1 [51]) y la asociada en gen TIR -auxinas-(2P1P [52]) se eliminaron estructuras de cristalización y ligandos de referencia, para proceder a adicionar los protones polares y minimizó la estructura para determinar el sitio activo del receptor de cada uno para generar el archivo pdbqt para los estudios de acoplamiento molecular.

Comentado [M-TJL105]: acento

Comentado [M-TJL106]: acento

2. Preparación de los ligandos de referencia y SPGP.

Los ligandos de referencia se obtuvieron de los cristales correspondientes a cada receptor, los SPGP se diseñaron en ChemDraw y optimizaron por MM2 y MOPAC a nivel APM7 en Chem3D para generar los archivos .mol2 para asignar hidrógenos polares y generar los archivos pdbqt.

Comentado [M-TJL107]: acento

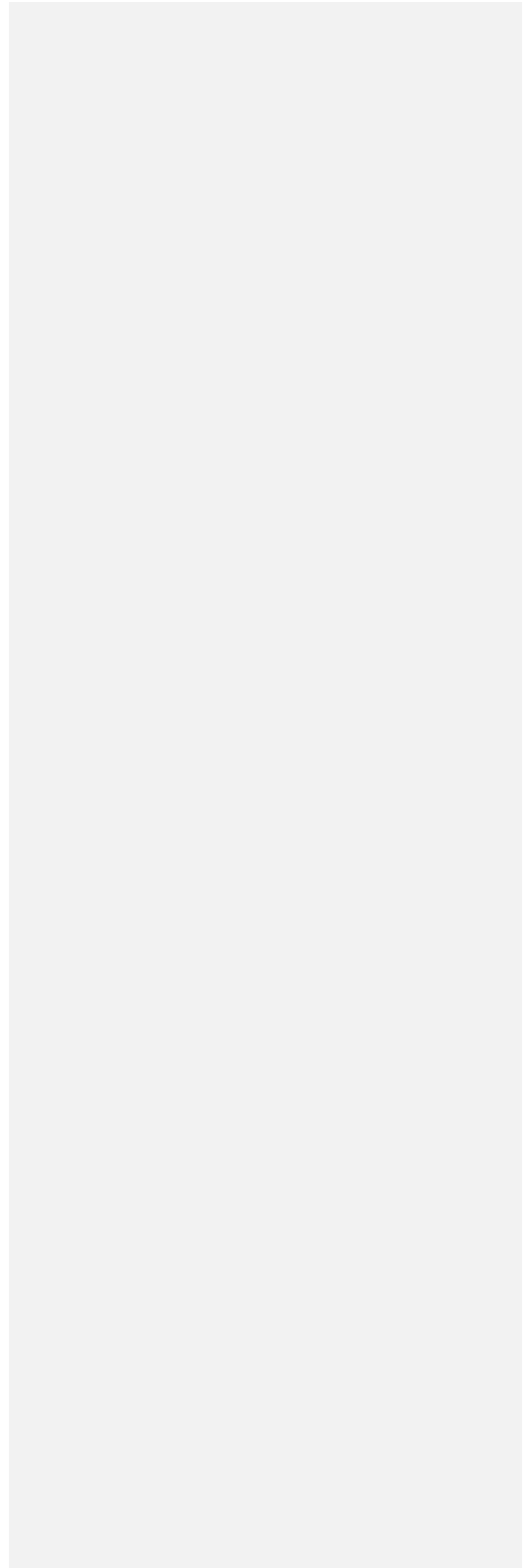
3. Docking Molecular

Con los archivos pdbqt tanto del receptor como del ligando o SPGP se realizó la interacción por docking molecular utilizando un algoritmo lacramiano en autodock Vina con una n=30, determinando la estructura óptima la de mayor energia de acoplamiento.

Comentado [M-TJL108]: acento

4. Analisis de STP y PassOnline.

Con los Smile obtenidos en el programa ChemDraw se colocaron en las plataformas SwissTargetPrediction y en PassOnline de Way2Drug obteniendo para el primero las interacciones positivas y para el segundo las que presentan una interaccion con Pa>0.7.



BIBLIOGRAFÍA

- [1] P. de León De Lama, T. Isasa, M. González, P. García, Interest of sprouts and their Food Security, *Nutr. Clin. y Diet. Hosp.* 40 (2020) 62–73. <https://doi.org/10.12873/401ponce>.
- [2] R. Fernandez-Orozco, M.K. Piskula, H. Zielinski, H. Kozłowska, J. Frias, C. Vidal-Valverde, Germination as a process to improve the antioxidant capacity of *Lupinus angustifolius* L. var. Zapaton, *Eur. Food Res. Technol.* 223 (2006) 495–502. <https://doi.org/10.1007/s00217-005-0229-1>.
- [3] M. Hrbáčková, P. Dvořák, T. Takáč, M. Tichá, I. Luptovciak, O. Šamajová, M. Ovečka, J. Šamaj, Biotechnological Perspectives of Omics and Genetic Engineering Methods in Alfalfa, *Front. Plant Sci.* 11 (2020). <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00592>.
- [4] C. Hongwei, Y. Toshihiko, K. Chittaranjan, Genetics Genomics and Breeding of Forage, (2016) 322.
- [5] J. Kang, T. Zhang, T. Guo, W. Ding, R. Long, Q. Yang, Z. Wang, Isolation and functional characterization of MsFTa, a FLOWERING locus T homolog from Alfalfa (*Medicago sativa*), *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019) 1–14. <https://doi.org/10.3390/ijms20081968>.
- [6] Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Alfalfa: la planta que nos alimenta a todos, (2019). <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/alfalfa-la-planta-que-nos-alimenta-a-todos>.
- [7] Medline Plus, Alfalfa, (2020) 1. <https://medlineplus.gov/druginfo/natural/19.html>.
- [8] P. Benincasa, B. Falcinelli, S. Lutts, F. Stagnari, A. Galieni, Sprouted grains: A comprehensive review, *Nutrients.* 11 (2019) 1–29. <https://doi.org/10.3390/nu11020421>.
- [9] K. Nelson, L. Stojanovska, T. Vasiljevic, M. Mathai, Germinated grains: A superior whole grain functional food?, *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 91 (2013) 429–441. <https://doi.org/10.1139/cjpp-2012-0351>.
- [10] H. Nonogaki, G.W. Bassel, J.D. Bewley, Germination—Still a mystery, *Plant Sci.* 179 (2010) 574–581. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2010.02.010>.
- [11] R.F. Miyahira, J. de O. Lopes, A.E.C. Antunes, The Use of Sprouts to Improve the Nutritional Value of Food Products: A Brief Review, *Plant Foods Hum. Nutr.* 76 (2021) 143–152. <https://doi.org/10.1007/s11130-021-00888-6>.
- [12] I.C. Ohanenye, A. Tsopmo, C.E.C.C. Ejike, C.C. Udenigwe, Germination as a bioprocess for enhancing the quality and nutritional prospects of legume proteins, *Trends Food Sci. Technol.* 101 (2020) 213–222. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.003>.
- [13] M. Xu, J. Rao, B. Chen, Phenolic compounds in germinated cereal and pulse seeds: Classification, transformation, and metabolic process, *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 60 (2020) 740–759. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1550051>.
- [14] R.C. Masters, A.D. Liese, S.M. Haffner, L.E. Wagenknecht, A.J. Hanley, Whole and Refined Grain Intakes Are Related to Inflammatory Protein Concentrations in Human Plasma, *J. Nutr.* 140 (2010) 587–594. <https://doi.org/10.3945/jn.109.116640>.
- [15] O.N. Donkor, L. Stojanovska, P. Ginn, J. Ashton, T. Vasiljevic, Germinated grains - Sources of bioactive compounds, *Food Chem.* 135 (2012) 950–959. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.05.058>.
- [16] M. Samtiya, R.E. Aluko, T. Dhewa, Plant food anti-nutritional factors and their reduction strategies: an overview, *Food Prod. Process. Nutr.* 2 (2020) 1–14. <https://doi.org/10.1186/s43014-020-0020-5>.

- [17] K.P. Shen, C.L. Hao, H.W. Yen, C.Y. Chen, B.N. Wu, H.L. Lin, Pre-germinated brown rice prevents high-fat diet induced hyperglycemia through elevated insulin secretion and glucose metabolism pathway in C57BL/6J strain mice, *J. Clin. Biochem. Nutr.* 56 (2015) 28–34. <https://doi.org/10.3164/jcbrn.14-50>.
- [18] N. Merendino, R. Molinari, L. Costantini, A. Mazzucato, A. Pucci, F. Bonafaccia, M. Esti, B. Ceccantoni, C. Papeschi, G. Bonafaccia, A new “functional” pasta containing tartary buckwheat sprouts as an ingredient improves the oxidative status and normalizes some blood pressure parameters in spontaneously hypertensive rats, *Food Funct.* 5 (2014) 1017–1026. <https://doi.org/10.1039/C3FO60683J>.
- [19] S. Padalia, S. Drabu, I. Raheja, A. Gupta, M. Dhamija, Multitude Potential of Wheatgrass Juice (Green Blood): An Overview, *Chronicles Young Sci.* 1 (2010) 23–28.
- [20] G.F. Combs, J.P. McClung, *The Vitamins: Fundamental Aspects in Nutrition and Health*, Elsevier Science, 2016.
- [21] R. Dhakal, V.K. Bajpai, K.H. Baek, Production of GABA (γ -aminobutyric acid) by microorganisms: A review, *Brazilian J. Microbiol.* 43 (2012) 1230–1241. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400001>.
- [22] J.-G. Xu, Q.-P. Hu, Changes in γ -aminobutyric acid content and related enzyme activities in Jindou 25 soybean (*Glycine max* L.) seeds during germination, *LWT - Food Sci. Technol.* 55 (2014) 341–346. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.08.008>.
- [23] C.G. Fraga, K.D. Croft, D.O. Kennedy, F.A. Tomás-Barberán, The effects of polyphenols and other bioactives on human health, *Food Funct.* 10 (2019) 514–528. <https://doi.org/10.1039/C8FO01997E>.
- [24] R.Y. Gan, W.Y. Lui, K. Wu, C.L. Chan, S.H. Dai, Z.Q. Sui, H. Corke, Bioactive compounds and bioactivities of germinated edible seeds and sprouts: An updated review, *Trends Food Sci. Technol.* 59 (2017) 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.11.010>.
- [25] Y. Bai, F. Du, Y. Bai, H. Liu, Determination strategies of phytohormones: recent advances, *Anal. Methods.* 2 (2010) 1867. <https://doi.org/10.1039/c0ay00471e>.
- [26] K. Shu, X.D. Liu, Q. Xie, Z.H. He, Two Faces of One Seed: Hormonal Regulation of Dormancy and Germination, *Mol. Plant.* 9 (2016) 34–45. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.08.010>.
- [27] A.L.G.L. Peres, J.S. Soares, R.G. Tavares, G. Righetto, M.A.T. Zullo, N.B. Mandava, M. Menossi, Brassinosteroids, the sixth class of phytohormones: A molecular view from the discovery to hormonal interactions in plant development and stress adaptation, *Int. J. Mol. Sci.* 20 (2019). <https://doi.org/10.3390/ijms20020331>.
- [28] W. Rozhon, S. Akter, A. Fernandez, B. Poppenberger, Inhibitors of brassinosteroid biosynthesis and signal transduction, *Molecules.* 24 (2019). <https://doi.org/10.3390/molecules24234372>.
- [29] E. Hernández Silva, I. García-Martínez, Brassinosteroids in agriculture. I, *Rev. Mex. Ciencias Agrícolas.* 77 (2016) 441–450.
- [30] B. Lei, J. Liu, X. Yao, Unveiling the molecular mechanism of brassinosteroids: Insights from structure-based molecular modeling studies, *Steroids.* 104 (2015) 111–117. <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2015.09.002>.
- [31] J. She, Z. Han, B. Zhou, J. Chai, Structural basis for differential recognition of brassinolide by its receptors, *Protein Cell.* 4 (2013) 475–482. <https://doi.org/10.1007/s13238-013-3027-8>.
- [32] Z.X. Wang, J. Wang, J. Jiang, J. Wang, L. Chen, S.L. Fan, J.W. Wu, X. Wang, Structural insights into the negative regulation of BRI1 signaling by BRI1-interacting protein BKI1, *Cell Res.* 24 (2014) 1328–1341. <https://doi.org/10.1038/cr.2014.132>.

- [33] B. Kadenbach, J. Jarausch, R. Hartmann, P. Merle, Separation of mammalian cytochrome c oxidase into 13 polypeptides by a sodium dodecyl sulfate-gel electrophoretic procedure, *Anal. Biochem.* 129 (1983) 517–521. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(83\)90586-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(83)90586-9).
- [34] Q. Zhai, X. Zhang, F. Wu, H. Feng, L. Deng, L. Xu, M. Zhang, Q. Wang, C. Li, Transcriptional Mechanism of Jasmonate Receptor COI1-Mediated Delay of Flowering Time in Arabidopsis, *Plant Cell.* (2015) tpc.15.00619. <https://doi.org/10.1105/tpc.15.00619>.
- [35] P.B. Brewer, H. Koltai, C.A. Beveridge, Diverse roles of strigolactones in plant development, *Mol. Plant.* 6 (2013) 18–28. <https://doi.org/10.1093/mp/sss130>.
- [36] Q. Hu, Y. He, L. Wang, S. Liu, X. Meng, G. Liu, Y. Jing, M. Chen, X. Song, L. Jiang, H. Yu, B. Wang, J. Li, DWARF14, a receptor covalently linked with the active form of strigolactones, undergoes strigolactone-dependent degradation in rice, *Front. Plant Sci.* 8 (2017) 1–11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01935>.
- [37] R. Yao, Z. Ming, L. Yan, S. Li, F. Wang, S. Ma, C. Yu, M. Yang, L. Chen, L. Chen, Y. Li, C. Yan, D. Miao, Z. Sun, J. Yan, Y. Sun, L. Wang, J. Chu, S. Fan, W. He, H. Deng, F. Nan, J. Li, Z. Rao, Z. Lou, D. Xie, DWARF14 is a non-canonical hormone receptor for strigolactone, *Nature.* 536 (2016) 469–473. <https://doi.org/10.1038/nature19073>.
- [38] L.H. Zhao, X.E. Zhou, W. Yi, Z. Wu, Y. Liu, Y. Kang, L. Hou, P.W. De Waal, S. Li, Y. Jiang, A. Scaffidi, G.R. Flematti, S.M. Smith, V.Q. Lam, P.R. Griffin, Y. Wang, J. Li, K. Melcher, H.E. Xu, Destabilization of strigolactone receptor DWARF14 by binding of ligand and E3-ligase signaling effector DWARF3, *Cell Res.* 25 (2015) 1219–1236. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.122>.
- [39] L.M. Hartweck, N.E. Olszewski, Rice GIBBERELLIN INSENSITIVE DWARF1 is a gibberellin receptor that illuminates and raises questions about GA signaling, *Plant Cell.* 18 (2006) 278–282. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.039958>.
- [40] K. Murase, Y. Hirano, T. Sun, T. Hakoshima, Gibberellin-induced DELLA recognition by the gibberellin receptor GID1, *Nature.* 456 (2008) 459–463. <https://doi.org/10.1038/nature07519>.
- [41] T.P. Sun, The molecular mechanism and evolution of the GA-GID1-DELLA signaling module in plants, *Curr. Biol.* 21 (2011). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2011.02.036>.
- [42] N. Dharmasiri, S. Dharmasiri, M. Estelle, The F-box protein TIR1 is an auxin receptor, *Nature.* 435 (2005) 441–445. <https://doi.org/10.1038/nature03543>.
- [43] C.D. Sohl, F.P. Guengerich, Kinetic Analysis of the Three-step Steroid Aromatase Reaction of Human Cytochrome P450 19A1, *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 17734–17743. <https://doi.org/10.1074/jbc.M110.123711>.
- [44] Uniprot, UniProtKB - P11511 (CP19A_HUMAN), UniProtKB - P11511. (2022). <https://www.uniprot.org/uniprot/P11511>.
- [45] Uniprot, P41145 (OPRK_HUMAN), (2021). <https://www.uniprot.org/uniprot/P41145>.
- [46] J. Wu-Wong, Potential for vitamin D receptor agonists in the treatment of cardiovascular disease, *Br. J. Pharmacol.* 158 (2009) 395–412. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5381.2009.00171.x>.
- [47] Uniprot, Protein kinase C alpha type - Homo sapiens (Human) - PRKCA gene & protein, PRKCA. (2021). <https://www.uniprot.org/uniprot/P17252>.
- [48] J. She, Z. Han, T.-W. Kim, J. Wang, W. Cheng, J. Chang, S. Shi, J. Wang, M. Yang, Z.-Y. Wang, J. Chai, Structural insight into brassinosteroid perception by BRI1, *Nature.* 474 (2011) 472–476. <https://doi.org/10.1038/nature10178>.
- [49] L.B. Sheard, X. Tan, H. Mao, J. Withers, G. Ben-Nissan, T.R. Hinds, Y. Kobayashi, F.-F. Hsu, M. Sharon, J. Browse, S.Y. He, J. Rizo, G.A. Howe, N. Zheng,

- Jasmonate perception by inositol-phosphate-potentiated COI1–JAZ co-receptor, *Nature*. 468 (2010) 400–405. <https://doi.org/10.1038/nature09430>.
- [50] L.-H. Zhao, X.E. Zhou, W. Yi, Z. Wu, Y. Liu, Y. Kang, L. Hou, P.W. de Waal, S. Li, Y. Jiang, A. Scaffidi, G.R. Flematti, S.M. Smith, V.Q. Lam, P.R. Griffin, Y. Wang, J. Li, K. Melcher, H.E. Xu, Destabilization of strigolactone receptor DWARF14 by binding of ligand and E3-ligase signaling effector DWARF3, *Cell Res.* 25 (2015) 1219–1236. <https://doi.org/10.1038/cr.2015.122>.
- [51] A. Shimada, M. Ueguchi-Tanaka, T. Nakatsu, M. Nakajima, Y. Naoe, H. Ohmiya, H. Kato, M. Matsuoka, Structural basis for gibberellin recognition by its receptor GID1, *Nature*. 456 (2008) 520–523. <https://doi.org/10.1038/nature07546>.
- [52] X. Tan, L.I.A. Calderon-Villalobos, M. Sharon, C. Zheng, C. V. Robinson, M. Estelle, N. Zheng, Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase, *Nature*. 446 (2007) 640–645. <https://doi.org/10.1038/nature05731>.