

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	7
2.1. <i>Catharanthus roseus</i>	7
2.2. 3-Hidroxi-3-metilglutaril CoA reductasa (HMGR)	8
2.3. Estudios de la HMG-CoA reductasa en mamíferos	11
2.4. HMGR en plantas	12
2.5. Caracterización de la HMG-CoA reductasa a nivel molecular	15
2.5.1. Características del dominio N-terminal	16
2.5.2. Características del dominio membranal	17
2.5.3. Características de la región de unión	17
2.5.4. Características del dominio carboxilo terminal	18
2.6. La vía del mevalonato en <i>Catharanthus roseus</i>	19
	23
3. OBJETIVOS	24
4. MATERIALES Y MÉTODOS	24
4.1 Material biológico	24
4.2. Modificación de la metodología para el ensayo enzimático de la HMGR	24
4.3. Caracterización del cultivo	25
4.4. Extracción y cuantificación de alcaloides totales	25
4.5. Cuantificación de ajmalicina, catharantina y vincamina	26
4.6. Determinación del peso molecular	26
4.7. Protocolo seguido para la purificación parcial de la HMGR	27
4.8. Determinación de proteínas	29
	31
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
5.1. Modificación de la técnica para la determinación de la actividad de la HMGR	31
5.2. Caracterización del cultivo.	34
5.3. Determinación de la actividad enzimática de la HMGR a través del ciclo de cultivo	37
5.4. Cuantificación de alcaloides a lo largo del ciclo de cultivo	39
5.5. Purificación parcial de la HMGR	40
5.6. Elución de marcadores de peso molecular	43
5.7. Elución de la columna de permeación	43
5.8. Elución de la columna de intercambio aniónico	45
6. CONCLUSIONES	47
8. BIBLIOGRAFÍA	48