



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE CIENCIAS

SISTEMAS DINÁMICOS, REDES  
REGULATORIAS GENÉTICAS Y  
DESTINO CELULAR

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
FÍSICA

PRESENTA:  
ITZEL ILEANA JULIO BORJA

DIRECTOR DE TESIS:  
DR. CARLOS VILLARREAL LUJÁN



2012



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**

**Tesis Digitales**

**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**

**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

---

1. Datos del alumno

Julio

Borja

Itzel Ileana

51190691

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Física

301071000

2. Datos del tutor

Dr.

Carlos

Villarreal

Luján

3. Datos del sinodal 1

Dr.

Jorge Humberto

Arce

Rincón

4. Datos del sinodal 2

Dr.

Octavio Reymundo

Miramontes

Vidal

5. Datos del sinodal 3

Dr.

David

Philip

Sanders

6. Datos del sinodal 4

Dra.

Gertrudis Hortensia

González

Gómez

---

7. Datos del trabajo escrito

Sistemas diámicos, redes regulatorias genéticas y destino celular.

81 p

2012

---

# Índice general

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1. Mecanismos del desarrollo</b>                                | <b>9</b>  |
| 1.1. Ciclo celular . . . . .                                       | 9         |
| 1.1.1. Mitosis . . . . .                                           | 10        |
| 1.1.2. Meiosis . . . . .                                           | 11        |
| 1.2. Material genético . . . . .                                   | 12        |
| 1.2.1. Empaquetamiento del ADN . . . . .                           | 14        |
| 1.3. Replicación . . . . .                                         | 17        |
| 1.4. Expresión génica . . . . .                                    | 18        |
| 1.4.1. Transcripción . . . . .                                     | 19        |
| 1.4.2. Traducción . . . . .                                        | 20        |
| 1.5. Mutaciones . . . . .                                          | 21        |
| 1.5.1. Nuevos alelos . . . . .                                     | 22        |
| 1.5.2. Nuevos genes . . . . .                                      | 23        |
| <b>2. Fenotipos celulares y desarrollo floral</b>                  | <b>25</b> |
| 2.1. Plantas florales . . . . .                                    | 25        |
| 2.2. Inflorescencias . . . . .                                     | 26        |
| 2.3. Desarrollo y mantenimiento del SAM . . . . .                  | 27        |
| 2.4. Especificación y determinación del meristemo floral . . . . . | 29        |
| 2.5. Especificación de los órganos florales . . . . .              | 33        |
| <b>3. Redes booleanas</b>                                          | <b>39</b> |
| 3.1. Redes . . . . .                                               | 39        |
| 3.2. Propiedades de redes . . . . .                                | 40        |
| 3.3. Red de estados . . . . .                                      | 41        |
| 3.4. Redes regulatorias . . . . .                                  | 42        |
| 3.5. Redes dinámicas . . . . .                                     | 43        |
| 3.6. Redes Booleanas . . . . .                                     | 44        |
| 3.6.1. Funciones Booleanas . . . . .                               | 47        |

## ÍNDICE GENERAL

---

|                                                                |           |
|----------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.7. Redes dinámicas continuas . . . . .                       | 49        |
| <b>4. Análisis de la RRG de la <i>Arabidopsis thaliana</i></b> | <b>55</b> |
| 4.1. Estructura de la RRG continua . . . . .                   | 58        |
| 4.2. Comparación con resultados experimentales . . . . .       | 71        |
| <b>5. Discusión y conclusiones</b>                             | <b>75</b> |
| <b>Apéndice A</b>                                              | <b>77</b> |

## AGRADECIMIENTOS

A Mamá, Papá y Paty en este mundo;  
y, en el otro mundo, a Lupe.

Al Dr.Carlos Villarreal por la confianza.

“Cada paso laborioso no habrá más que recordarme cuanto mundo me separa  
de las joyas que más amo”  
*Shakespeare*

## INTRODUCCIÓN

Los procesos de proliferación y diferenciación celular están determinados por una serie compleja de acciones en las cuales se encuentran involucradas una gran cantidad de entidades bioquímicas tales como enzimas, genes, factores de transcripción, etc. La interacción de estas entidades en procesos de desarrollo biológico no está completamente entendida; sin embargo, para una gran cantidad de dichos procesos se cuenta con información suficiente de cómo interactúan las entidades bioquímicas para llevar a cabo un fin común.

La información bioquímica puede englobarse en una red que puede llegar a ser muy compleja, dependiendo del número de entidades participantes y de las interacciones entre si. Esto permite definir redes regulatorias, que pueden estudiarse mediante el empleo de métodos matemáticos que cuantifican el destino del desarrollo de un sistema biológico. Mediante la aplicación de algoritmos matemáticos bien establecidos se puede identificar los elementos indispensables de cada red y reducir la complejidad de la misma. El estudio matemático de las redes regulatorias puede efectuarse estableciendo una correspondencia entre las interacciones bioquímicas y reglas lógicas descritas por funciones booleanas. Esto da lugar a mapeos dinámicos discretos que permiten describir la evolución temporal del sistema y conocer sus estados estacionarios o atractores. Estos atractores representan los fenotipos celulares, según la hipótesis propuesta por Kauffman.

Los mapeos dinámicos discretos pueden extenderse y considerar mapeos dinámicos continuos descritos por sistemas de ecuaciones diferenciales, los cuales al permitir una variación continua tanto de las variables dinámicas como de los parámetros del sistema, proporcionan una visión más detallada de la dinámica de la red. Para ello es necesario establecer reglas de correspondencia entre las variables discretas booleanas y variables continuas con un comportamiento de tipo dicotómico.

En general, el desarrollo morfogénico depende de una regulación temporal y espacial controlada por la sincronización y el nivel de expresión de genes homeóticos, de igual manera e importancia es el microambiente. Una alteración en la sincronización o en el nivel de expresión de los genes homeóticos causan cambios en los patrones del desarrollo morfogénico y algunas veces llegan a manifestarse fenotípicamente. En este trabajo se estudia la relación entre el desarrollo morfogénico y los tiempos de relajación y nivel de expresión de los genes y factores de transcripción involucrados en la

red regulatoria genética de un sistema biológico específico. En particular, se consideró la red regulatoria genética de la planta floral *Arabidopsis thaliana*. Esta es una de las redes mejor caracterizadas experimentalmente dado que se conocen tanto los genes que la integran como las interacciones que los regulan.

Durante el desarrollo de la planta con flor *Arabidopsis thaliana*, se presenta la formación de las inflorescencias y de los órganos florales; cuya secuencia temporal y espacial (de afuera hacia adentro) es: sépalos, pétalos, estambres y carpelos. En el presente estudio se muestra que la expresión temporal y espacial de dicho patrón sólo se manifiesta si existe una jerarquización en los tiempos de expresión de los genes centrales de la red regulatoria y un microambiente correcto. Este resultado puede ser general y extenderse a otros sistemas biológicos.

Para establecer las bases que nos permitan el estudio del sistema planteado, en el capítulo 1 se introducen los procesos bioquímicos fundamentales involucrados en el desarrollo y proliferación celular, así como errores cometidos por el sistema durante estos procesos que en algunos casos llegan a modificar la expresión fenotípica. En el capítulo 2 se hace un análisis detallado del desarrollo celular en la planta *Arabidopsis thaliana* y se describen las vías de señalización dirigidas por los genes centrales para el desarrollo de la planta. También se presenta el modelo de genes ABC y su importancia en la organogénesis. En el capítulo 3 se introducen las representaciones matemáticas de las redes regulatorias genéticas, tanto en el caso discreto como en el continuo. Se discuten también algunos conceptos de sistemas dinámicos relevantes para nuestro estudio enfatizando la importancia de las jerarquías de los tiempos característicos de expresión de los genes y factores de transcripción. Finalmente, en el capítulo 4 se presentan los resultados obtenidos para la *Arabidopsis thaliana*.

## *ÍNDICE GENERAL*

---

# Capítulo 1

## Mecanismos del desarrollo

Uno de los aspectos característicos de la biología evolutiva es que está enraizada en un mecanismo organizativo único, conocido como selección natural. La biología molecular propone que el ADN es el transportador de la información genética de los seres vivos y que este puede replicarse, transmitiendo la información genética a generaciones próximas. El ADN también se transcribe a ARN mensajero (ARNm) y es traducido a proteínas.

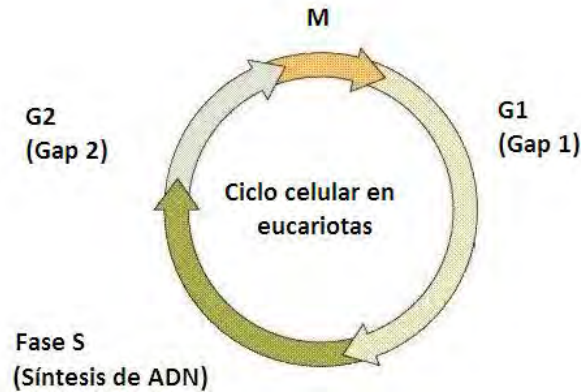
### 1.1. Ciclo celular

El ciclo celular trata del ciclo de vida de las células somáticas (aquellas que conforman el crecimiento de los tejidos y órganos, provenientes de células madre), y conduce al crecimiento de la célula y su división en dos células hijas. Comprende dos fases: la interfase y la división celular. Durante la interfase los cromosomas muestran una estructura granular y difusa; está constituida por las fases G1, S y G2.

La fase G1 (del vocablo inglés gap= hueco, intervalo) es el período que transcurre entre el fin de una mitosis y el inicio de la síntesis de ADN. Tiene una duración aproximada entre 6 y 12 horas, la célula dobla su tamaño y masa debido a la continua síntesis de todos sus componentes como resultado de la expresión de los genes que codifican a las proteínas responsables de su fenotipo particular. En la fase S (síntesis del ADN) se replica el ADN. Cada cromosoma pasa a tener dos moléculas de ADN que son copia una de la otra; tiene una duración de 6 a 8 horas. En la fase G2 las células se preparan para la separación en dos células hijas y sintetizan todas las enzimas que intervienen en la división celular y dura aproximadamente entre 3 y 4 horas. La

## 1.1. CICLO CELULAR

---

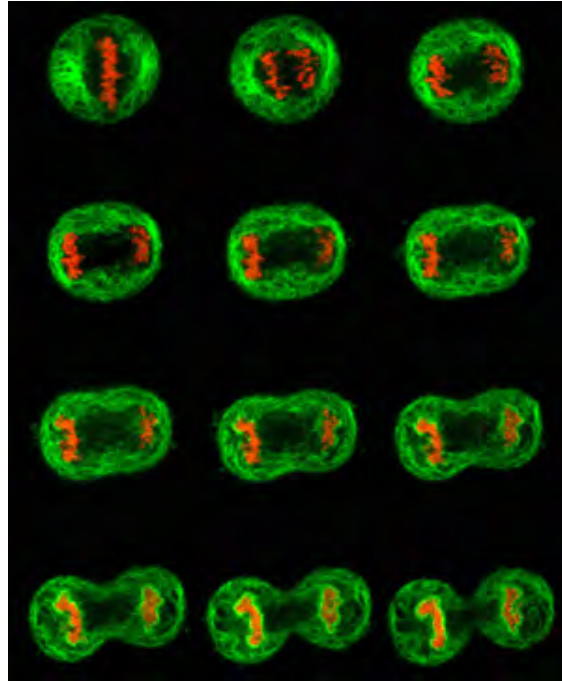


**Figura 1.1.1.1:** Diagrama que muestra las etapas que conforman el ciclo celular en eucariotas. (Adaptada de [2]).

mitosis (M) corresponde a la división celular propiamente dicha, el tiempo que dura el ciclo celular depende del tipo de célula (ver Fig. 1.1.1.1).

### 1.1.1. Mitosis

La mitosis (M) se divide en: profase, metafase, anafase y telofase. En la profase los cromosomas replicados se condensan, el nucleolo y la membrana celular desaparecen al término de esta fase. La metafase da inicio con la aparición del huso mitótico, estructura bipolar microfibrilar que se forma a expensa de los centriolos. Cada cromosoma se une a través del centrómero a las fibras del huso mitótico, esta estructura se conoce como cinetocoro. Los cromosomas se alinean en la parte medial del huso mitótico generándose una estructura que se conoce como placa ecuatorial, en este momento los cromosomas alcanzan su máximo grado de condensación. En la anafase los centrómeros se dividen longitudinalmente, las dos cromatinas hermanas empiezan a moverse hacia los polos opuestos del huso, movimiento generado por el acortamiento progresivo de las fibras del huso. Al término de la anafase cada grupo tendrá el mismo número de cromosomas y el mismo contenido de material genético que el núcleo que dio origen. Durante la telofase la membrana celular se forma alrededor de cada grupo de cromosomas, aparecen el nucleolo y el huso mitótico desaparece. Los cromosomas empiezan a descondensarse. Las dos células hijas están completamente formadas, en células que se dividen continuamente la mitosis dura menos de una hora.



**Figura 1.1.1.2:** Diagrama que muestra el procedimiento de la mitosis. En la primera imagen (esquina superior izquierda) los cromosomas están alineados en la parte medial del huso mitótico. En la imagen siguiente hacia la derecha se inicia la división de los centrómeros. En la imagen superior derecha las cromatinas hermanas ya están en los extremos del huso mitótico. En las imágenes siguientes hacia abajo la anafase llega a su término con lo que las cromatinas se separan totalmente. En la tercera línea se da fin a la anafase. En la última línea se observa la telofase, es decir, la formación de la membrana celular alrededor de cada grupo de cromosomas (Adaptada de [4]).

Durante la mitosis no hay intercambios genéticos, por lo que se asume que este tipo de división celular es esencialmente conservativo (ver Fig.1.1.1.2).

### 1.1.2. Meiosis

La meiosis es un tipo de división celular más compleja, es un proceso que puede requerir días e incluso semanas. Consiste de dos divisiones nucleares sucesivas y una sola replicación del material genético. Como resultado se forman cuatro células haploides con un solo contenido de material genético.

La meiosis I trata de la primera división meiótica y se conoce como la fase reduccional ya que el número de cromosomas se reduce a la mitad. Por

## 1.2. MATERIAL GENÉTICO

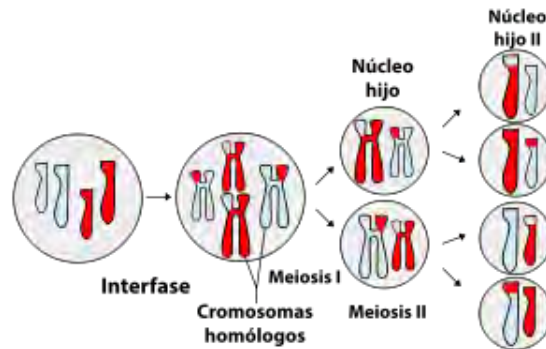
---

analogía con la mitosis las fases de la meiosis I se denominan profase I, metafase I, anafase I y telofase I. A su vez la profase consta de varias subfases: leptóteno, cigóteno, paquíteno, diplóteno y diacinesis. En el leptóteno los cromosomas se observan como fibras filamentosas, los pares de cromátidas empiezan a aparearse. La fase cigóteno se caracteriza por el apareamiento de las cromátidas hermanas de los cromosomas homólogos, estos apareamientos empiezan en los extremos de los cromosomas. Durante el paquíteno ocurre el intercambio de la información genética o recombinación homóloga. En el diplóteno los cromosomas empiezan a separarse. En la diacinesis los cromosomas continúan separándose, la membrana nuclear comienza a desaparecer y se inicia la formación del huso mitótico. En la metafase I los cromosomas empiezan a formar la placa ecuatorial, los centrómeros de los dos cromosomas homólogos se encuentran en lados opuestos de la placa. En la anafase los cromosomas homólogos cuyas cromátidas están unidas al centrómero se separan y se mueven a los polos opuestos del huso, de ahí el nombre de fase reduccional. En la telofase I las dos células hijas tienen un genoma haploide de cromosomas. El huso mitótico desaparece y, dependiendo la especie, puede formarse una membrana nuclear que rodea a cada célula, o bien, inicia la segunda división mitótica. En cualquier caso nunca ocurre una replicación entre las dos divisiones mitóticas. La segunda división meiótica o meiosis II forma cuatro células cada una haploide y es muy parecida a la mitosis.

Durante la meiosis se lleva a cabo el intercambio genético y por lo tanto los productos pueden diferir en cuanto al contenido genético. La recombinación entre cromátidas, conlleva a generar una gran variabilidad genética, los intercambios se llevan a cabo, de una meiosis a otra, en puntos diferentes a lo largo de los cromosomas, por lo que es difícil que se repita el patrón de intercambios. El número de combinaciones posibles de cromosomas es muy grande cuando el número de cromosomas en una especie también es grande, por lo que la probabilidad de que los cromosomas sexuales haploides tengan información de un solo progenitor es muy pequeña (ver Fig. 1.1.1.3).

## 1.2. Material genético

El gen es la unidad funcional fundamental de la herencia, desde el punto de vista físico es un pequeño fragmento de la doble hélice que conforma a la molécula del ácido desoxirribonucleico (ver Fig.1.1.2.1). Los genes expresan en cada generación la información hereditaria que se encuentra en las secuencias de nucleótidos del ADN, expresión que especifica la secuencia



**Figura 1.1.1.3:** Diagrama que muestra la meiosis realizada por los gametos sexuales, la combinación de colores en los cromosomas representan el intercambio genético. (Adaptada de [6]).

de los aminoácidos de las proteínas. Cada tipo de célula diferenciada produce un conjunto de proteínas específico bajo el principio de equivalencia nuclear: los núcleos de todas las células adultas contienen la misma información genética pero la expresan de forma distinta.

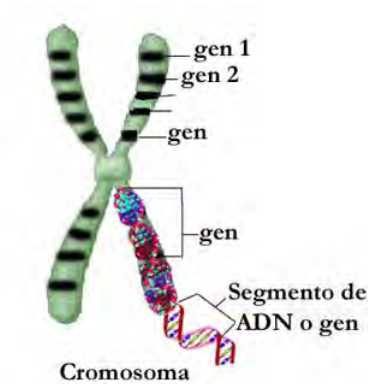
Las células deben identificarse por su localización para la diferenciación correcta de los músculos, tubo digestivo y otros tejidos. Los cambios en la especificación de los destinos celulares se lleva a cabo por los genes homeóticos y por los entornos celulares. En los animales vertebrados los genes homeóticos más importantes tienen una región de unión al DNA denominada locus Hox cuyo análogo en las flores es conocido como MADS.

Los genes se encuentran en los organismos diploides en formas alternadas denominadas alelos, en una población de organismos pueden existir diferentes alelos pero sólo un simple alelo puede estar presente en el locus de un gen en un solo cromosoma. El ADN de un organismo se encuentra depositado en el genoma. Este puede presentarse en una forma única denominada haploide (bacterias, algas, hongos y gametos sexuales) o en dos genomas denominados diploides (plantas y animales). El genoma está constituido por una sola molécula de DNA organizada en el cromosoma. En los organismos diploides los dos cromosomas de un par se llaman cromosomas homólogos.

El ADN tiene una estructura lineal en forma de doble hélice. Cada cadena de la doble hélice está formada por nucleótidos que consisten de un grupo fosfato, una molécula de azúcar desoxirribosa y una de las cuatro bases ni-

## 1.2. MATERIAL GENÉTICO

---



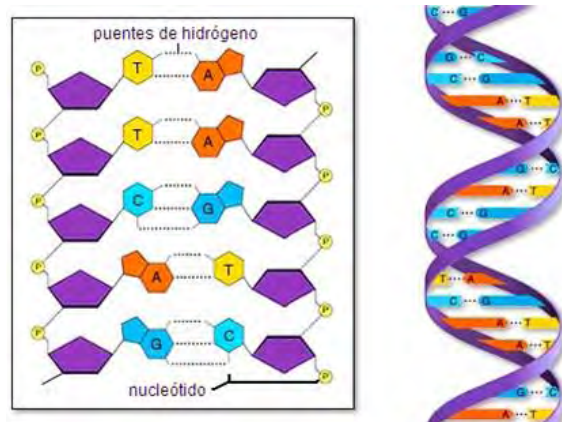
**Figura 1.1.2.1:** El gen es la unidad fundamental de la herencia, se trata de un pequeño fragmento de la doble hélice del ADN. (Adaptada de [7])

trogenadas: adenina (A), timina (T), citosina (C) y guanina (G). Las bases nitrogenadas se encuentran en el centro de la molécula de doble hélice, y se unen entre sí a través de puentes de hidrógeno, dos entre la adenina y timina y tres entre la guanina y citosina (ver Fig.1.1.2.2).

Existen tres tipos de ADN: A, B y Z. En las formas A y B las hélices giran hacia la derecha. En la forma A los puentes de hidrógeno adquieren una conformación diagonal, se forma a partir de ocho bases centrales GGTATACC. En la forma B los puentes de hidrógeno son perpendiculares, se forman a partir de 10 bases centrales CGCGAATTCGCG. En la forma Z las hélices giran hacia la izquierda, el apareamiento central se lleva a cabo entre cuatro bases CG a partir de la secuencia CGCGCG.

### 1.2.1. Empaquetamiento del ADN

El ADN está asociado a proteínas, las proteínas estructurales son las histonas y las que intervienen en funciones precisas son las no histonas. El ADN se encuentra empaquetado en un alto grado de organización, por niveles, lo que conforma la cromatina. Estos niveles de empaquetamiento de menor a mayor, son los siguientes: la doble hélice mide 2 nm. El siguiente nivel de empaquetamiento estructural está formado por un octámero de proteínas histonas H2A, H2B, H3 y H3, alrededor de las cuales se encuentran 146 pares de bases de ADN. Esta unidad básica de la cromatina es el nivel en el cual se llevan a cabo todas las funciones del ADN: replicación, expresión

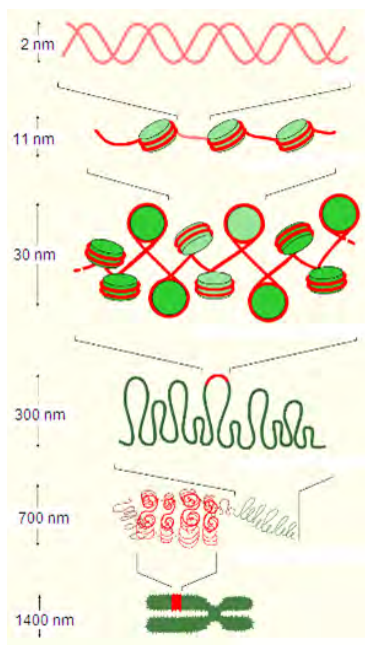


**Figura 1.1.2.2:** Esquema del ácido desoxirribonucleico (ADN), donde se muestran los nucleótidos formados por un grupo fosfato, una desoxirribosa y una base nitrogenada. También se aprecian los puentes de hidrógeno mediante los cuales se unen los nucleótidos (Adaptada de [8])

génica y reparación.

El nucleosoma está formado por octámeros, tiene el aspecto de un “collar de perlas” o un rosario pues está formado por la doble hélice del ADN enrollada sobre sucesivos octámeros y mide 11 nm. El siguiente nivel es la fibra de cromatina en la cual el nucleosoma está formando, mediante la histona H1, una estructura que se conoce como solenoide que mide 30 nm. La estructura de la cromatina después de este nivel es compleja y no se ha terminado de dilucidar, pese a ello, se piensa que el plegamiento de una fibra de nucleosomas se encuentra ensamblado en un andamio de proteínas, diferentes de las histonas, formando asas y mide 300 nm. La forma condensada de este andamio constituye el cromosoma que mide 1400 nm (ver Fig.1.1.2.3).

Los cambios en la cromatina son conocidos como regulación epigenética y se dan principalmente por el tipo de histonas y modificaciones en sus colas, esta regulación es controlada por procesos tales como: la acetilación, metilación, fosforilación, ubiquitinación, etc. Cada cambio es realizado por diferentes familias de proteínas, también existen familias de proteínas que corrigen estos cambios. Cada marca en las histonas sirve para mantener el estado activo o inactivo de transcripción.



**Figura 1.1.2.3:** Diagrama que ejemplifica el empaquetamiento del ADN. En la primera imagen se muestra la doble hélice que mide 2 nm, posteriormente se tiene al octámero, los octámeros constituyen al nucleosoma de 11 nm. La estructura siguiente es el solenoide de 30 nm. La siguiente imagen muestra la forma que se cree puede tener la cromatina a una escala de 300 nm y 700 nm, finalmente se muestra el cromosoma de 1400 nm. (Adaptada de [9])

### Metilación

La metilación es el principal mecanismo de regulación epigenética, consiste en transferir grupos metilos a algunas de las bases citosinas (C) del ADN. La función principal de la metilación es el control del proceso de transcripción, logrando alteraciones en la transcripción genética sin la necesidad de provocar alteraciones en la estructura del ADN. También pueden ser metiladas las proteínas regulando así su función.

La metilación es un proceso epigenético que participa en la regulación de la expresión génica de dos maneras, directamente al impedir la unión de factores de transcripción, e indirectamente propiciando la estructura “cerrada” de la cromatina. Del 2% al 7% de las bases citosinas del ADN de los animales están metiladas (los valores varían de acuerdo a la especie). La mayor parte de los grupos metilados son encontrados en dobletes CG, y de hecho,

la mayoría de las secuencias CG están metiladas. Por lo general los residuos C en ambas hebras están metiladas. Tal condición es descrita como “fully methylate”.

En la replicación del ADN cada hija doble (daughter duplex) tiene una hélice metilada y una hélice no metilada. Tal condición es llamada hemimetilado. La perpetuación del sitio metilado depende de lo que sucede con el ADN hemimetilado. Si la metilación de la hélice no metilada ocurre, el sitio es restaurado a la condición totalmente metilada. Sin embargo, si la replicación ocurre primero entonces la condición hemimetilada permanece en alguna de las hijas dobles y en la otra hija doble uno de los sitios llega a convertirse en no metilado (ver Fig.1.1.2.4).

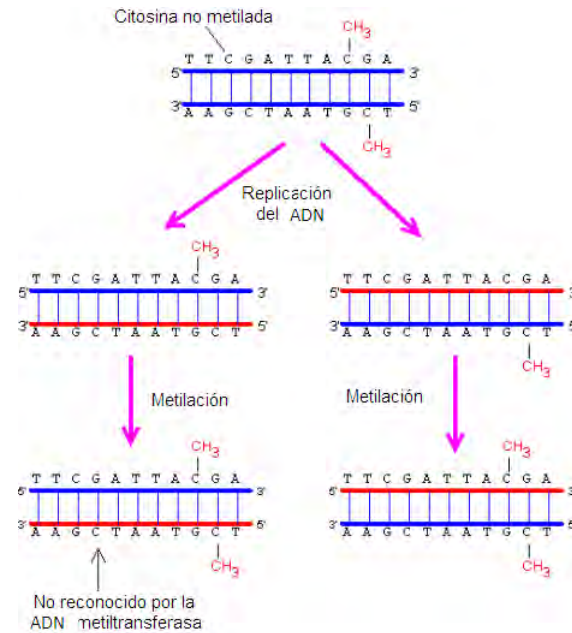
Existen dos tipos de metilación: 1) Metilación de mantenimiento que añade grupos metilo a cadenas de ADN en lugares opuestos a los metilados en la cadena madre provocando que el nuevo ADN mantenga un patrón de metilación después de la división celular. 2) La metilación de novo agrega grupos metilo en posiciones totalmente nuevas, pudiendo cambiar el patrón de metilación en una región localizada del genoma. La metilación del ADN se encuentra controlada por metilasas, que se suman a los grupos metil de la 5' posición de la citosina, y por demetilasas las cuales remueven los grupos metil (el nombre más formal para las enzimas es metiltransferasa).

## 1.3. Replicación

La replicación es un proceso semiconservativo ya que cada hebra del DNA sirve como molde para la réplica de la complementaria. Inicia con la relajación del enrollamiento de la molécula, proceso que es mediado por las enzimas topoisomerasas, además estas proteínas introducen cortes en la molécula. La topoisomerasa I corta hélices sencillas mientras que la topoisomerasa II corta la doble hélice. Estas moléculas también rehacen el enrollamiento molecular. La separación de ambas hebras es llevada a cabo por las enzimas helicasas que rompen los puentes de hidrógeno que mantienen unidas a las dos hebras, en cada hebra se une una molécula de helicasa. La proteína *estabilizadora de unión a hebra sencilla* (SSB: single strand binding protein) se une a cada una de las dos hebras lo cual impide que se vuelvan a formar los puentes de hidrógeno entre las bases complementarias.

El punto donde la doble hélice se separa se conoce como origen de la repli-

#### 1.4. EXPRESIÓN GÉNICA

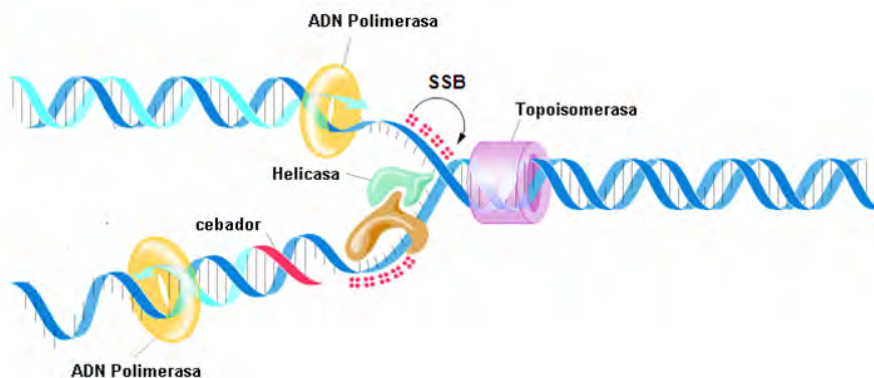


**Figura 1.1.2.4:** Diagrama que muestra el proceso de metilación en la replicación del ADN, se puede apreciar como una de las hebras de la doble hélice no llega a ser metilada. (Adaptada de [10])

cación, en los eucariontes existen varios orígenes de replicación debido a la enorme longitud de los cromosomas. Una vez que las hebras se han separado las enzimas polimerasas ocupan el lugar, las cuales están encargadas de ir incorporando los nucleótidos complementarios a la hebra en crecimiento. Para que las polimerasas puedan iniciar la polimerización se requiere que haya una pequeña pieza de RNA de 10 nucleótidos que funciona como cebador y a partir de la cual se pueden ir añadiendo a la cadena en crecimiento los nucleótidos complementarios (ver Fig.1.1.3.1).

### 1.4. Expresión génica

El primer paso en la expresión génica es la transcripción de la información contenida en el ADN a una molécula de cadena sencilla: el ácido ribonucleico (ARN) que contiene como azúcar a la ribosa. El ARN está compuesto, como el ADN, de nucleótidos, la única diferencia en cuanto a su composición es que en lugar de la base nitrogenada timina se encuentra el uracilo (U).



**Figura 1.1.3.1:** Esquema representante de la replicación del ADN. Se aprecian las enzimas participantes en dicho proceso (Adaptada de [11])

Los genes tienen en un extremo secuencias reguladoras, a las que se unen diversas proteínas que regulan la transcripción, y en el otro extremo tienen secuencias que codifican para la terminación de la transcripción. En los genes la secuencia que codifica para los dominios estructurales de la proteína, denominados exones, está interrumpida por secuencias no codificantes denominadas intrones. Estos son removidos en el núcleo del transcrito primario quedando la secuencia de ARN mensajero maduro formado únicamente por exones. El ARN mensajero (ARNm) sale del núcleo celular, la secuencia es traducida en el citoplasma donde se lleva a cabo la síntesis de proteínas en los ribosomas.

El código genético está formado por grupos de tres nucleótidos denominados codones de los cuales existen 64. Cada codón codifica para al menos un aminoácido o para una señal de terminación de la traducción. Cada aminoácido es transportado al ribosoma por un ARN de transferencia (ARNt) específico. Cada gen codifica una proteína específica.

#### 1.4.1. Transcripción

La primera fase para la expresión génica es la síntesis de una molécula de ARN a partir de un gen, las características principales de la transcripción son: 1) Cada molécula de ARN que se produce deriva de una sola hebra de ADN, 2) Los precursores para la síntesis de ARN son cuatro ribonucleósidos: adenosin trifostato (ATP), guanosin-trifostato (GTP), citidin-trifostato (CTP) y uridin-trifostato (UTP), 3) la secuencia de bases en el ARN está de-

#### 1.4. EXPRESIÓN GÉNICA

---

terminada por la secuencia de bases de la hebra que sirve como molde en el ADN y 4) la enzima que cataliza y dirige la síntesis del ARN es la ARN polimerasa.

La cadena de ADN que se transcribe es la cadena molde, la ARN polimerasa se une a la cadena molde en los sitios donde existen secuencias particulares de reconocimiento denominadas promotores y produce una desnaturalización local de la doble hélice del ADN e inicia la síntesis de una molécula de ARN. Al alcanzar los sitios de término la ARN polimerasa se disocia del ADN y la recién sintetizada molécula de ARN se libera, esta molécula recibe el nombre de transcrito primario y se produce en el núcleo celular, debe sufrir modificaciones llamadas procesamiento del ARN que dan lugar a la formación de un mRNA que sale del núcleo hacia el citoplasma donde es traducido.

En la realización de la transcripción interviene un tipo de proteínas llamadas factores transcripcionales, las cuales se unen a secuencias específicas del ADN. Algunas de las actividades de los factores de transcripción incluyen la activación y reclutamiento de la ARN polimerasa, o represoras evitando que ésta se pegue al ADN. La activación de estas proteínas varía según las señales externas o internas. Algunas sólo se encuentran en ciertos tipos celulares, controlando a los genes encargados de producir enzimas (ver Fig. 1.1.4.1).

##### 1.4.2. Traducción

La síntesis de cada una de las proteínas de un organismo se lleva a cabo en las células y es dirigida por el ARNm. La traducción del mensajero es la polimerización biológica de aminoácidos en cadenas polipeptídicas. La sintetización de proteínas incluye dos procesos: 1) La transferencia de la información en la cual la secuencia de bases en el ARNm determina la secuencia de aminoácidos en la cadena polipeptídica, 2) El proceso químico mediante el cual los aminoácidos en una cadena polipeptídica se unen a través de un enlace peptídico (unión de un grupo amino de un aminoácido y el grupo carboxilo de otro aminoácido) y su polimerización.

Los ribosomas son los organelos en los cuales se realiza la síntesis de proteínas, cuando no están participando en la traducción se disocian en dos subunidades, grande y pequeña. El proceso de iniciación requiere de un complejo formado por ARNt, GTP y factores proteicos de iniciación; la subuni-

dad pequeña del ribosoma se une a los factores de iniciación, al ARNm y al ARNt de iniciación. El codón de iniciación es AUG e indica el inicio de la cadena polipeptídica.

Otro factor de iniciación facilita la unión del ARNt de iniciación a la subunidad pequeña, paso que ajusta la lectura para que se lean correctamente todos los codones posteriores, se une la subunidad grande al ribosoma y se liberan todos los factores de iniciación. En el proceso se hidroliza una molécula de GTP que suministra la energía necesaria. La subunidad grande del ribosoma contiene tres sitios: salida (E), peptidil (P) y aminoacil (A). El ARNt de iniciación se une al sitio P.

El paso siguiente es la elongación que consiste en tres pasos que se llevan a cabo en forma reiterada: la incorporación de cada ARNt aminoacidílico, la formación de un nuevo enlace peptídico y el movimiento del ribosoma al siguiente codón del ARNm. La secuencia del segundo codón señala que molécula de ARNt cargada se va a colocar en el sitio A, después la peptidil transferasa cataliza la formación del enlace peptídico que une a los dos aminoácidos de la cadena en crecimiento.

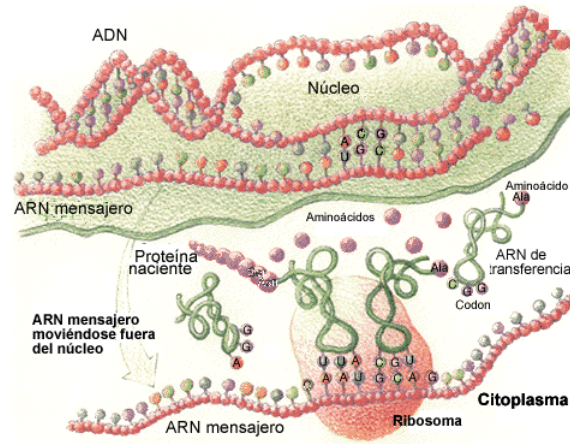
Al mismo tiempo se rompe la unión covalente que existe entre el aminoácido y el ARNt que ocupa el sitio P y antes de que este se libere pasa por el sitio E de la subunidad grande del ribosoma. El complejo ARNm-aminoácido1-aminoácido2 se mueve a los siguientes tres nucleótidos, hacia el sitio P. Finalmente se inicia la terminación que se produce cuando el ARNm contiene uno de los tres codones de terminación (UAG, UAA, y UGA), los cuales al no especificar a ningún aminoácido no atraen al sitio A a ningún ARNt. La cadena polipeptídica está unida al ARNt terminal en el sitio P mientras que el sitio A está vacío, la cadena es liberada en el sitio P (ver Fig. 1.1.4.1).

## 1.5. Mutaciones

La mutación es una de las formas que dan paso a la evolución. Sin mutación no hay nuevos genes, ni nuevos alelos con lo que no hay evolución. La mutación es la última fuente de variación heredable sobre la que actúa la selección natural. Las mutaciones se entienden como cambios en la secuencia de bases del ADN.

## 1.5. MUTACIONES

---



**Figura 1.1.4.1:** Diagrama que muestra la transcripción y traducción de la expresión génica (Adaptada de [12])

### 1.5.1. Nuevos alelos

La tasa a la que se producen nuevos alelos varía a tres niveles: entre los individuos dentro de una población, entre los genes de un individuo y entre las especies. Parece que puede haber mecanismos diferentes responsables de la variación observada en cada nivel. La tasa de mutación varía entre individuos de una población por dos razones: los alelos en la polimerasa del ADN pueden variar en su tasa de error y los alelos implicados en la reparación del daño en el ADN pueden variar en su eficacia.

La variación entre especies considera al tiempo de generación como un factor clave, por ejemplo, en plantas longevas las células que desarrollan tallos y vástagos acumulan mutaciones a lo largo de muchas divisiones celulares somáticas antes de diferenciarse como tejido germinal. Por ello, las plantas longevas presentan mayores tasas de mutación por generación que las plantas de vida corta.

En la variación entre genes se tienen dos importantes generalizaciones: las regiones codificantes se reparan de manera más eficaz que las regiones no codificantes y varios de los sistemas de reparación actúan sólo en genes activos transcripcionalmente. Por ello, la precisión parece ser mayor en aquellos casos en que las mutaciones pueden ser más perjudiciales.

### **Mutaciones puntuales**

Las mutaciones puntuales son sustituciones de una sola base en el ADN a causa de alguno de estos dos procesos: errores aleatorios en la síntesis del ADN o errores aleatorios en la reparación de los lugares dañados por agentes químicos o radiación de alta energía. Ambos tipos de cambio se producen por reacciones catalizadas por la polimerasa del ADN.

Si la polimerasa del ADN sustituye erróneamente a una purina (adenina o guanina) por otra, o a una pirimidina (timina o citosina) por otra durante la síntesis normal, o la que se da durante la reparación, la mutación puntual se denomina transición. Si se sustituye una purina por una pirimidina, o a la inversa, la mutación se denomina transversión. Si cualquiera de estos tipos de sustitución de bases se da en las regiones codificadoras de un gen, la mutación cambia el codón leído por la ARN polimerasa.

Las mutaciones puntuales que dan lugar al cambio de un aminoácido, se llaman sustituciones no sinónimas; las que no dan lugar a un cambio se llaman sustituciones sinónimas. Ambos tipos de mutaciones puntuales generan nuevos alelos. Las mutaciones sinónimas no afectan al fenotipo del organismo debido a que no modifican los productos génicos, en cambio las sustituciones no sinónimas sí cambian el fenotipo del organismo.

#### **1.5.2. Nuevos genes**

La duplicación genética es, probablemente, la fuente más importante de genes nuevos. Las duplicaciones se producen como consecuencia de un fenómeno conocido con el nombre de entrecruzamiento desigual que se trata de un error aleatorio, ocasionado por las proteínas implicadas en dirigir la recombinación (entrecruzamiento) durante la división celular.

Uno de los productos del entrecruzamiento desigual es un tramo de ADN redundante. El genoma tiene ahora una copia extra de la secuencia localizada en el segmento duplicado. Debido a que la copia original produce un producto normal, la secuencia redundante puede acumular mutaciones libremente sin consecuencias para el fenotipo. La nueva secuencia podría incluso cambiar de función con el tiempo y convertirse por ello en un nuevo gen.

Además de la duplicación, existen otros mecanismos para la obtención de

### 1.5. MUTACIONES

---

nuevos genes. Un ejemplo, llamado sobreimpresión, se produce por mutaciones puntuales que dan lugar a nuevos codones de inicio y a nuevas pautas de lectura para la traducción. En la sobreimpresión dos genes se solapan, lo que indica que se traducen a partir de diferentes pautas de lectura en el mismo fragmento de nucleótidos.

#### **Alteraciones cromosómicas**

En la morfología de los cromosomas se puede producir una variedad de cambios. Algunas de estas mutaciones afectan sólo al orden y organización de los genes, otras generan duplicaciones. Pueden también implicar a toda la molécula de ADN o sólo una parte. Como ejemplo tenemos, las inversiones cromosómicas que se producen como consecuencia de un proceso en varios pasos, que comienza cuando una radiación ionizante da lugar a una doble rotura de la doble cadena en un cromosoma. Después de la rotura un segmento del cromosoma puede separarse, darse la vuelta y reasociarse en su localización original.

La poliploidía es un tipo de mutación que se da a la mayor escala posible: dotaciones completas de cromosomas. En lugar de ser haploide ( $n$ ) o diploide ( $2n$ ) un organismo poliploide puede ser tetraploide ( $4n$ ), octaploide ( $8n$ ) o mayor. La poliploidía es frecuente en vegetales y rara en animales. Casi la mitad de las especies de angiospermas (plantas con flores) son poliploides.

La poliploidía se origina frecuentemente por los errores en la división celular, que dan lugar a gametos diploides. Cuando los vegetales producen gametos diploides, pueden suceder dos cosas. Si los organismos que producen gametos diploides se cruzan con organismos normales que producen gametos haploides se produce descendencia triploide. Sin embargo los organismos triploides tienen poca fertilidad. Debido a que sus cromosomas homólogos están presentes en número impar, no pueden realizar correctamente la división celular.

Si un individuo triploide se autofecunda, la mayoría de la descendencia resultante es tetraploide. Si los individuos tetraploides continúan autofecundándose o se cruzan entre ellos, se producirá descendencia tetraploide totalmente fértil. De este modo, la selección natural favorecerá a los poliploides que queden reproductivamente aislados de sus poblaciones parentales. La poliploidía es importante porque da lugar a la formación de nuevas especies.

## Capítulo 2

# Fenotipos celulares y desarrollo floral

La disposición de órganos, tejidos y sistemas se encuentra fuertemente conservada entre las especies de plantas con flores, el patrón de desarrollo mejor estudiado es el de la *Arabidopsis thaliana*, pues se conocen los genes principales involucrados en su desarrollo. A su vez se ha estudiado a detalle la sincronización y los niveles de expresión que subyacen en la interacción de ciertos genes para dirigir el desarrollo espacial y temporal de su organogénesis.

### 2.1. Plantas florales

Las angiospermas son plantas con flores, se clasifican en monocotiledónias y dicotiledóneas. Las primeras agrupan a las palmeras, gramíneas, orquídeas, y otras hierbas; en la segunda se encuentran girasoles, muchos árboles frutales, etc. Dentro de las plantas con flores encontramos plantas arbustivas, herbáceas y arbóreas.

Las plantas con flores poseen verticilos de sépalos, pétalos, estambres y carpelos, donde los carpelos encierran a los óvulos, y forman una superficie que recibe el polen. Los sépalos y pétalos son hojas estériles, brácteas que están ausentes en el resto de las plantas con semillas. Los sépalos por lo general son verdes y fotosintéticos cuya función es proteger el brote floral. Por otro lado los pétalos son coloridos y vistosos, su función es atraer agentes polinizadores

Dentro de las plantas herbáceas se encuentran la *Arabidopsis* de la fami-

## 2.2. INFLORESCENCIAS

---



**Figura 2.2.1.1:** Fotografía de la planta floral *Arabidopsis thaliana* donde se señalan los órganos florales que la integran: se=sépalos, pe=pétalos, st=estambres y car=carpelos (Adaptada de [15])

lia brasicáceas. Son hierbas de pequeño tamaño, erectas, pilosas, con roseta basal, hermafroditas, de ciclo anual o aún inferior al año. Pertenece a la familia de las crucíferas, relacionada a plantas comestibles como el brócoli, la coliflor, los rabanos, nabos y coles. La *Arabidopsis thaliana* (mala hierba) fue la primera planta cuyo genoma se secuenció por entero (ver Fig. 2.2.1.1).

El tamaño de su genoma se encuentra organizado en 5 cromosomas. Se cree que codifica para más de 33,000 genes, incluyendo genes no codificantes, más o menos el mismo número que los humanos poseen. El genoma de la *Arabidopsis thaliana* presenta varias regiones duplicadas, esto significa que la inactivación de un gen no resulta en un fenotipo alterado fácilmente (ref [13]).

## 2.2. Inflorescencias

Las hojas, los tallos y las flores se desarrollan a partir de una población de células pluripotenciales que integran el meristemo apical del tallo (SAM). La primera etapa del desarrollo de la planta consiste en la etapa germinativa de la semilla en la que se origina un plántula con sus primeras hojas, momento en el cual comienza a tener lugar la etapa vegetativa. En la fase vegetativa, el SAM desarrolla hojas con yemas auxiliares en sus flancos. Mediante las señales externas e internas apropiadas el SAM pasa a la fase reproductiva, adquiriendo una identidad inflorescente. El SAM inflorescente dará lugar a la inflorescencia, la parte donde se localizan las flores, al producir en sus flan-



**Figura 2.2.2.1:** Diagrama de diferentes tipos de inflorescencias. Las flechas representan ejes de crecimiento indeterminado. Los círculos representan flores (Adaptada de [19]).

cos meristemos laterales (meristemos florales) que acabarán convirtiéndose en flores.

Las inflorescencias se clasifican siguiendo ciertos criterios, uno de los cuales es que el SAM mantiene siempre su identidad inflorescente, con lo que el eje principal crece continua e indeterminadamente, o si, llegado el momento, el SAM adquiere identidad del meristemo floral (MF) con lo que el eje principal finaliza su desarrollo con la formación de una flor terminal. Algunas disposiciones espaciales de las inflorescencias (ver Fig. 2.2.2.1).

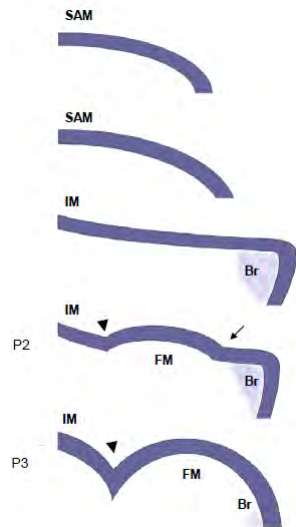
## 2.3. Desarrollo y mantenimiento del SAM

Las flores, los tallos y las hojas se forman a partir del SAM. En la *Arabidopsis thaliana* existen dos genes claves en la regulación del desarrollo del SAM, estos genes son SHOOT MERISTEMLESS (STM) y WUSCHEL (WUS). STM y WUS actúan sinérgicamente durante el desarrollo del SAM y son necesarios para el mantenimiento del mismo y de los meristemos inflorescente y floral.

El equilibrio entre las células de proliferación y las células de reclutamiento para la diferenciación de tejidos en el SAM es dependiente de mecanismos regulados por WUS. El homeodominio que contiene el factor de transcripción codificado por WUS mantiene la identidad de las células pluripotenciales

### 2.3. DESARROLLO Y MANTENIMIENTO DEL SAM

---



**Figura 2.2.3.1:** Diagrama que indica la geometría del meristemo apical del tallo inflorescente (MI) y el meristemos floral (MF) durante las primeras etapas del desarrollo de este último. En el flanco del MI una primera protuberancia corresponde a la aparición de una bráctea primordial (Br). En sus regiones axilares, una segunda protuberancia forma y continua el crecimiento engullendo el primer MF propiamente formado. La flecha y la cabeza de flecha indican el primer y segundo surcos visibles respectivamente. (Adaptada de [15])

que se encuentran debajo de la zona central del meristemo y que se conoce como centro organizador; los mutantes *wus* carecen de células pluripotenciales en el SAM.

En las células del centro organizador, WUS activa la expresión de CLAVATA 3 (CLV3). Por su parte CLV3, a través de la actividad del complejo receptor transmembrana formado por CLV1 y CLV2, limita el tamaño del centro organizador donde se expresa WUS, estableciendo un control en la población de las células pluripotenciales. Cuanto mayor sea el tamaño de la población se secretará más CLV3, de modo que el dominio de expresión de WUS disminuirá y visceversa. En mutantes *clv* existe un desequilibrio entre las células retenidas dentro del meristemo contra las reclutadas para formar los órganos florales

STM promueve la proliferación de las células pluripotenciales hasta que se alcanza una masa celular crítica suficiente para formar ya sean las brácteas o los primordios de órganos. También inhibe la expresión de los genes ASYM-

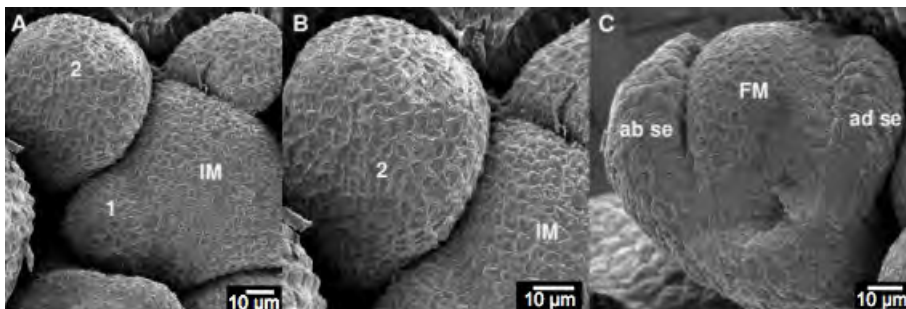
## 2.4. ESPECIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL MERISTEMO FLORAL

METRIC LEAVES 1 Y 2 (AS1, 2), previniendo a estas células de una diferenciación prematura. ULTRAPETALA 1 (UTL1) codifica una cisteína que restringe el tamaño del meristemo apical del tallo y del meristemo floral. Esto funciona antagónicamente con las funciones de proliferativas de WUS y STM durante el mayor tiempo del ciclo de vida de la *Arabidopsis thaliana* (ver 2.2.3.1).

### 2.4. Especificación y determinación del meristemo floral

El meristemo inflorescente (MI) de la *Arabidopsis thaliana* desarrolla brácteas primordiales en cuyas regiones axilares surgen los meristemas florales (ver Fig. 2.2.4.1). Los genes homeóticos STM y AINTEGUMENTA (ANT) expresan caminos correlacionados con el desarrollo de las brácteas primordiales.

Las expresiones de un factor de transcripción conocido como LEAFY (LFY) y de ANT han sido utilizadas para rastrear las células que forman el primordio del meristemo floral. En primer lugar, decenas de células son rápidamente reclutadas para que formen parte del meristemo floral. Si estas células expresan LFY entonces siguen proliferando. Esto puede ser interpretado como que las primeras células que expresan LFY son las que corresponden a las brácteas primordiales pero no de las regiones axilares (ver Fig. 2.4.2), después el dominio de la expresión de LFY podría ampliarse para incluir las células que formarán el meristemo floral primordio.



**Figura 2.2.4.1:** Desarrollo de brácteas primordiales. A) MI, meristemo inflorescente, 1 y 2 son las brácteas primordiales. B) Acercamiento de la imagen anterior y C) Desarrollo del meristemo floral (MF) a partir de las brácteas primordiales (Adaptada de [15]).

## 2.4. ESPECIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL MERISTEMO FLORAL

---

El gen CUP-SHAPED COTYLEDON2(CUC2) se expresa en la división celular que se expande en una dirección latitudinal para definir el segundo límite entre el meristemo floral primordio y el MI (ver Fig.2.2.3.1). El desarrollo floral en comparación con la formación del meristemo inflorescente está controlado por una compleja red regulatoria genética (RRG) que integra las señales externas e internas.

En el desarrollo floral, los genes del MI, tales como TERMINAL FLOWER1 (TFL1) y EMBRYONIC FLOWER1 y 2 (EMF1,2) están reprimidos en el MF, mientras que los genes identidad del meristemo floral (MFI), principalmente LFY, APETALA1 (AP1), APETALA2 (AP2) y CAULIFLOWER (CAL) están encendidos.

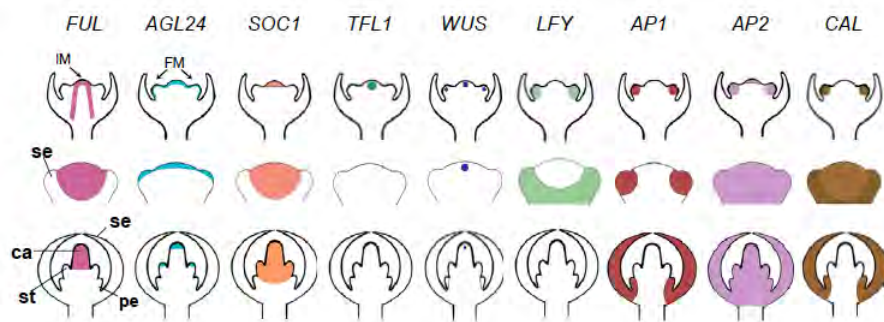
Parece ser que la coexistencia, identidad y límites de los meristemos MI y MFI es debida a la represión mutua de genes. Por ejemplo, si TFL1 o EMF1 ó 2 están encendidos, LFY y/o AP1 están expresados ectópicamente en el MI que entonces se transforma en un MF. Por el contrario, si AP1, CAL y LFY son reprimidos, el MF se convierte en MI. TFL1 es un regulador importante del desarrollo inflorescente ya que codifica una proteína fosfatidil etanolamina de unión (PEBP) que se transcribe en el centro del MI.

Los genes EMF son necesarios para el crecimiento vegetal, parece que estos regulan el tiempo de floración y el desarrollo inflorescente. Las funciones mutantes de estos genes producen flores inmediatamente después de la germinación sin pasar por la fase vegetativa. EMF1 codifica un factor de transcripción que reprime a AP1.

LFY es necesario y suficiente para especificar MFI. Cuando la expresión de LFY es inhibida se forman hojas e inflorescencias secundarias en lugar de flores. La sobre-expresión de LFY provoca la conversión de hojas y meristemos axilares a flores. LFY está expresado en las brácteas primordiales durante el crecimiento vegetativo, pero cuando este es inducido por señales externas y/o internas, se expresa fuertemente y es re-localizado en los flancos de la inflorescencia donde los meristemos florales se están formando. La expresión de LFY tiene altos niveles en el FM pero luego comienza a disminuir en el centro de la flor (ver Fig. 2.4.2).

LFY y AP1 tienen superposición de funciones en el desarrollo del MF; la mutación de ap1 tiene características inflorescentes, la doble inhibición debida a lfy y ap1 tiene una conversión casi completa de flores a inflorescencias.

## 2.4. ESPECIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL MERISTEMO FLORAL



**Figura 2.2.4.2:** Esquema de los patrones de expresión de algunos genes correspondientes a sus funciones en el meristemo inflorescente (MI) y en el meristemo floral (MF) (Adaptada de [15])

La sobre-expresión de ambos genes causa un fenotipo floral terminal lo que sugiere que cualquiera de los dos genes es capaz de determinar el IM. CAL y FRUITFULL (FUL) podrían actuar excesivamente sobre AP1 en el desarrollo de MF. Si CAL o FUL se combinan con AP1 en dobles o triples inhibiciones, el fenotipo de AP1 se intensifica.

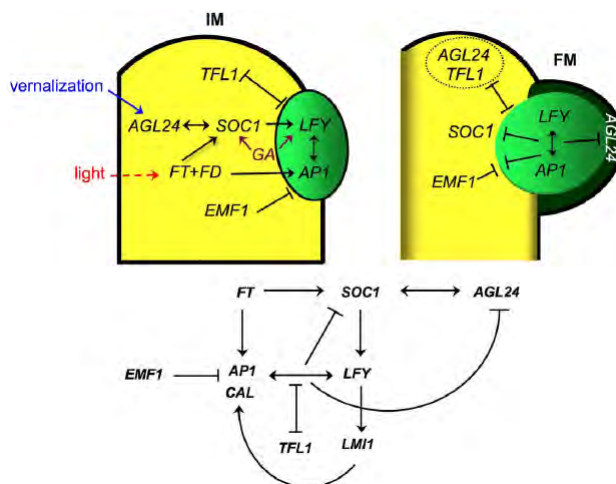
FUL se expresa al mismo tiempo que LFY durante el establecimiento del MFI, pero se encuentra más localizado en el MI (ver Fig. 2.4.2). Después durante el desarrollo de los carpelos juega un papel importante. A pesar de ser muy similar a AP1, la sobre-expresión de CAL no puede determinar el MI como lo hace la sobre-expresión de AP1.

LFY regula directamente la transcripción de AP1 y CAL mediante la secuencia CCANTG. Sin embargo, la expresión reminiscente de AP1 se observa en la inhibición de LFY, mientras esto desaparece totalmente en la mutación doble de *lfy* y *ft* (homólogo de TFL1). A su vez AP1 y CAL autoregulan positivamente a LFY, permitiendo que se ejerza una regulación transcripcional durante el desarrollo floral.

AP2 codifica un factor transcripcional de una familia genética específica (AP2/EREBP) con funciones diversas. Las mutaciones *ap2* aumentan los fenotipos mutantes de *ap1* y *lfy*, mostrando que AP1 juega un papel importante en la especificación de MFI.

Los genes MADS-box son importantes en la modulación de las vías de señalización del desarrollo de la planta, identidades del MI y del MF, y la espe-

## 2.4. ESPECIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DEL MERISTEMO FLORAL



**Figura 2.2.4.3:** Meristemo apical del tallo inflorescente (MI) comparado con el meristemo floral (MF). Modelo simplificado de una red regulatoria genética (RRG) que induce y mantiene el MF. (Adaptada de [15])

cificación de los órganos florales. En el desarrollo del MF, LFY y/o AP1 son también requeridos para regular las inducciones de genes tales como AGAMOUS-LIKE 24 (AGL24), SUPPRESSOR OF OVEREXPRESSION OF CO 1 (SOC1), SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP) Y FUL (ver Figs. 2.4.2 y 2.2.4.3). La sobre-expresión de estos genes provoca que MF se revierta a estructuras como MI cuando LFY y/o AP1 están mutados.

La reversión floral se presenta con frecuencia en plantas heterocigotas para *lfy-6* (LFY/*lfy*) y homocigotos para *agamus-1* (*ag-1*), lo que sugiere un papel importante para LFY y AG en el mantenimiento del meristemo floral. Esto se aprecia ya que al final de la organogénesis floral AG, LFY y PERIANTHIA (PAN), regulan positivamente a KNUCKLES (KNU) el cual reprime la expresión de WUS para terminar con el nicho de células madre pluripotenciales cuando ya se ha formado cierto número de órganos florales. De hecho mientras la expresión de WUS empieza a disminuir, este persiste en flores con mutaciones de *pan* y *ag*.

La reversión del MF al MI es muy rara de observar, se cree que un conjunto de genes que mantienen la identidad del MF podría ajustarse a un módulo de desarrollo floral que previene la reversión. Por ejemplo, sabemos que STM es un regulador positivo de la biosíntesis y acumulación de la citoquina CK,

y un represor de la producción de gibberellin (GA). Por otro lado, WUS mejora la actividad de CK mediante la represión de ARABIDOPSIS TYPE A RESPONSE REGULATORS (ARRs). Una alta concentración de auxinas restringe la concentración de STM y de CUC, esto también bajo regula la biosíntesis y actividad de CK, produciendo una alta concentración de auxinas, CK y GA, que inducen la formación del meristemo floral. Aumentar los niveles o respuestas de GA, es suficiente para reprimir la reversión del FM al IM en mutantes de *lfy*, *ap1*, *ap2* y *ag*.

### 2.5. Especificación de los órganos florales

Después de la especificación del MF, este se subdivide en 4 regiones. Cada una dará lugar al primordio de diferentes verticilos florales, los cuales se desarrollarán de afuera hacia adentro, estos son: sépalos, pétalos, estambres y carpelos. Los genes encargados de la especificación de los verticilos florales establecen el patrón espacio-temporal como resultado de interacciones reguladas entre ellos mismos, interacciones con genes de identidad del meristemo y con genes tales como WUS y UNUSUAL FLORAL ORGANS (UFO).

LFY es uno de los principales genes para la identidad del MF, la proteína codificada por este gen requiere de co-factores para definir los límites espaciales de expresión de los genes AP3, PI y AG que definen la identidad de los órganos florales. Por ejemplo, LFY participa con UFO en la regulación de la transcripción de AP1 y AP3, y con WUS co-regula la expresión de AG. LFY también regula la expresión de los genes SEPALLATA (SEP), SEP1, SEP2 y SEP3, adicionalmente se requieren los genes MADS-box para especificar la identidad.

UFO se expresa en el segundo y tercer verticilo, probablemente restringiendo el dominio de expresión de estos verticilos, junto con LFY. Fueron encontradas recientemente interacciones de LFY con UFO para enlazar directamente el promotor de AP3. Además de que UFO regula la actividad de un proteosoma que es requerido para la activación transcripcional de AP3.

Los principales nodos de la RRG que subyacen en el modelo inicial del meristemo floral son llamados genes homeóticos ABC, tales como AP1, AP2, AP3, PI y AG, los cuales son todos factores de transcripción pertenecientes a la familia de genes MADS-box, excepto AP2.

## 2.5. ESPECIFICACIÓN DE LOS ÓRGANOS FLORALES

---

El modelo ABC fue inferido utilizando la *Arabidopsis* y las mutaciones de la flor *Antirrhinum*. En estas mutaciones dos tipos de órganos florales son reemplazados por otros dos órganos florales de la siguiente manera: A- mutaciones que presentan carpelos-estambres-estambres-carpelos, B- mutaciones que presentan sépalos-sépalos-carpelos-carpelos, y C- mutaciones que tienen sépalos-pétalos-pétalos-sépalos (ver Fig. 2.2.5.1).

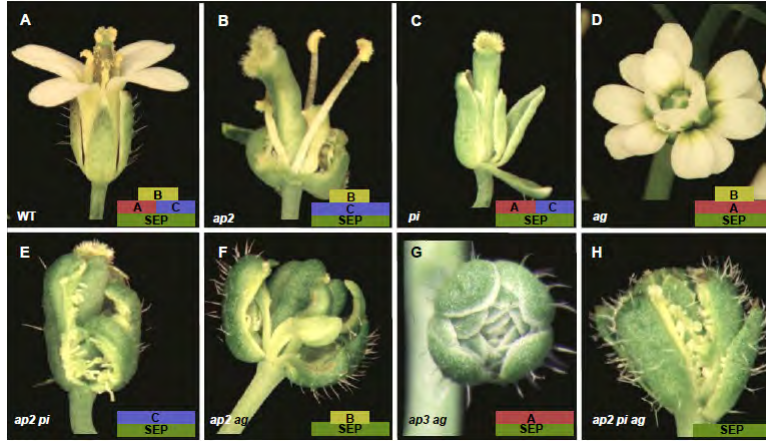
Con lo anterior fueron propuestas tres clases diferentes de genes homeóticos para la especificación de los órganos florales. La función A especifica sépalos, las funciones A y B especifican pétalos, las funciones B y C especifican estambres y la función C especifica carpelos. Las funciones A y C se regulan negativamente una sobre otra y la función B es restringida al segundo y tercer verticilo, el gen AP1 de la función A regula los genes de B y se une al promotor de AP3 (ver Fig. 2.2.5.4. AP1 puede especificar pétalos regulando el dominio espacial de los genes B junto con UFO en las primeras flores que se desarrollan, e independientemente de UFO en un tiempo más tardío.

Una vez identificado el nivel molecular, los patrones de expresión de mRNA de los genes ABC mostraron que se superponen en las regiones florales donde los mutantes correspondientes tenían un fenotipo. AP1 y AP2 son los genes de la función A. AP1 es expresado en los dos verticilos externos del meristemo floral (ver Fig. 2.4.2) y es importante para el desarrollo de sépalos y pétalos así como el MF. La expresión de AP1 primero se encuentra regulada por LFY y FT/FD, después la regulan los genes de función B. Mutaciones en los alelos fuertes de ap1 (ap1-1) hace que falten pétalos en el segundo verticilo, mientras que la falta de alelos débiles de este gen no tiene una conversión completa homeótica de los órganos florales.

El mRNA de AP2 es localizado a lo largo de el FM (ver Figs.2.4.2 y 2.2.5.2). AP2 es reprimido a nivel de traducción por un microRNA(miRNA), el cual se encuentra activado únicamente en los verticilos 3 y 4, esto explica porque la función de AP2 está restringida a los dos primeros verticilos de los órganos florales. Los mutantes ap2 muy pocas veces desarrollan pétalos y sus sépalos son transformados en estructuras carpeloides debido a la expresión ectópica de AG (ver Fig. 2.2.5.1), el cual es regulado negativamente por AP2. AP2 también está implicado en la activación de los genes B, AP3 y PI.

Los genes de la función B (AP3 y PI) son expresados en el segundo y tercer verticilo, en flores mutantes de cualquiera o de ambos de estos genes faltan los pétalos y los estambres, como lo predice el modelo ABC (ver Figs.2.2.5.1

## 2.5. ESPECIFICACIÓN DE LOS ÓRGANOS FLORALES



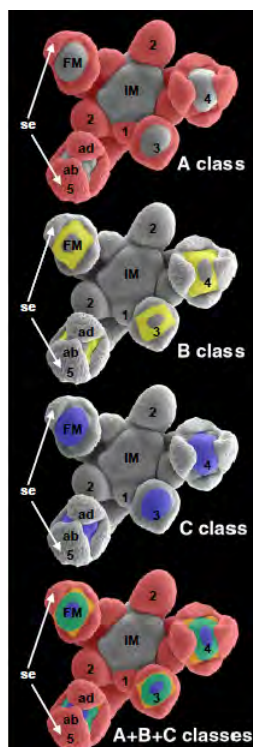
**Figura 2.2.5.1:** Mutaciones de los genes homeóticos ABC de la Arabidopsis (Adaptada de [15]). (A) Flor silvestre (WT) (B) Mutación simple de *ap2* compuesta por carpelloid sepals, estambres, estambres y carpelos (C) Mutación de *pi* presenta flores compuestas de sépalos, sépalos, carpelos y carpelos (D) Mutación que presenta los estambres transformados en pétalos y los carpelos son reemplazados por otra flor que muestra el mismo patrón (E) La doble mutación de *ap2* y *pi* genera flores compuestas únicamente de sepalloid carpels (F) La doble mutación de *ap2* y *ag* tiene hojas como órganos en el primer y cuarto verticilo y mosaicos de órganos pétalo/estambre en el segundo y tercer verticilo (G) La doble mutación de *ap3* y *ag* que produce flores compuestas de sépalos repetidos (H) La mutación de *ap2*, *pi* y *ag* tiene hojas como órganos con algunas propiedades residuales de carpelos

y 2.2.5.2). Como las dos mutaciones simples muestran el mismo fenotipo sugiere su independencia. AP3 y PI son regulados en dos pasos: primero son inducidos por LFY/UFO en respuesta a las señales de floración y después mantienen su expresión en un ciclo de autoregulación. Las proteínas codificadas por estos genes forman heterodímeros que permiten el desarrollo de pétalos y estambres (ver Fig.2.2.5.3).

AP3 y PI están regulados positivamente por AP1 y negativamente por EARLY BOLTING IN SHORT DAYS (EBS), un gen que codifica una proteína que participa en el desarrollo de pétalos y estambres y regula los tiempos de floración por represión de FT. ANT, un miembro de la familia del gen AP2, es otro regulador de la función B, induce positivamente a AP3.

AG es el único gen de la función C y pertenece a la familia MADS-box. Las flores mutantes *ag* no tienen estambres ni carpelos, también presentan flores indeterminadas reiterando sépalos y pétalos (ver Fig.2.2.5.1). AG es repri-

## 2.5. ESPECIFICACIÓN DE LOS ÓRGANOS FLORALES

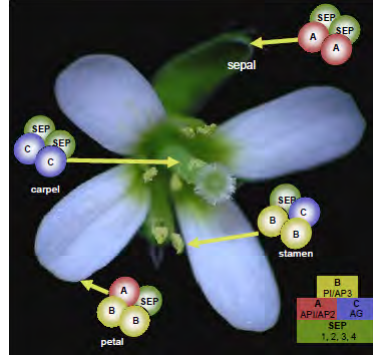


**Figura 2.2.5.2:** Vías de expresión de los genes homeóticos ABC durante las primeras etapas de desarrollo de la *Arabidopsis* (Adaptada de [15])

mido por un complejo co-represor transcripcional formado por LEUNING (LUG) Y SEUSS (SEU). Recientemente otro represor transcripcional de AG fue identificado, LEUNING-HOMOLOG (LUH). Este gen es el homólogo más cercano de LUG y su función inhibitoria de AG depende completamente de SEU.

BELLRINGER (BLG) es otro represor de AG, se trata de una proteína que se enlaza en las regiones del segundo intrón de AG y previene la expresión ectópica de AG en los dos verticilos más externos de la flor. La histona GCNS también regula negativamente a AG. Otros genes que también participan en la organogénesis floral son represores de AG, los cuales son RABBIT EARS (RBE), ANT y STERILE APETALA (SAP). AG es regulado a un nivel post-transcripcional por varios genes ENHANCER OF AG-4 (HUA) y HUA ENHANCER (HEN).

## 2.5. ESPECIFICACIÓN DE LOS ÓRGANOS FLORALES



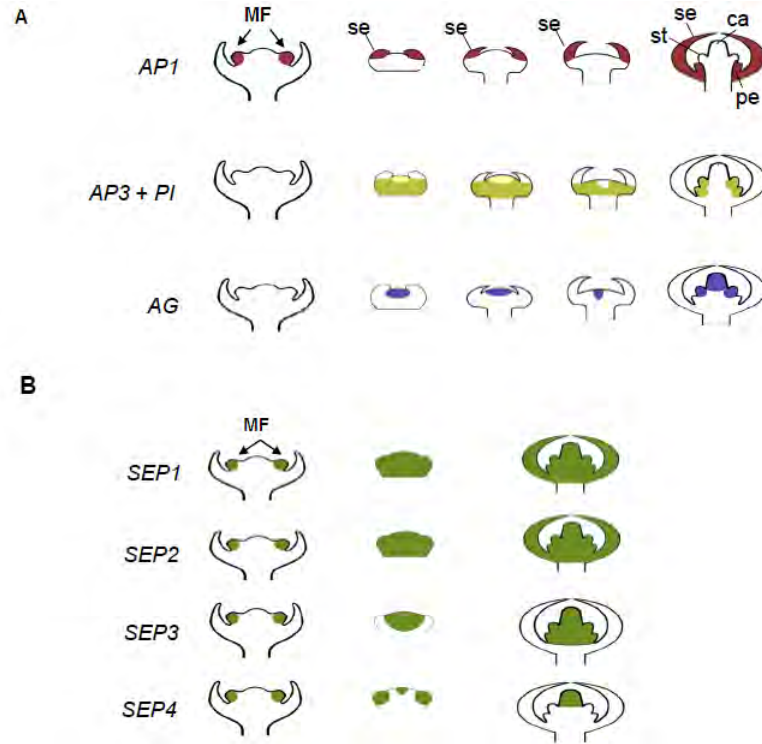
**Figura 2.2.5.3:** Representación esquemática de la interacción de los genes ABC con las proteínas SEP (Adaptada de [15]).

El hecho de que los genes ABC son necesarios pero no suficientes fue confirmado en la *Arabidopsis* utilizando un método con tres híbridos, este método mostró que SEP3 y AP1 son capaces de interactuar con el heterodímero AP3/PI pero no con AP3 Y PI por separado. Esta interacción es esencial ya que el heterodímero carece del dominio necesario para la transcripción de las funciones, este dominio posee a SEP3 y AP1. Con lo anterior se demostró que las proteínas ABC por si solas o en combinación de acuerdo al modelo ABC(A, AB, BC o C) no son suficientes para determinar los órganos florales.

Los genes sep reciben su nombre debido a que los órganos florales que se desarrollan en los cuatro verticilos en mutantes triples de sep se parecen a los sépalos. Esta mutación triple *sep1sep2 sep3* presenta un fenotipo que es muy similar a la mutación doble que carece de la clase B y C, por ejemplo *pi ag* y *ap3 ag* (ver Fig.2.2.5.1) en las cuales FM queda indefinido. Las mutaciones simples o dobles de los genes sep llegan a ser indistinguibles en la flor silvestre, esto sugiere que los tres genes sep son funcionalmente redundantes y son importantes en la determinación de tres de los cuatro órganos florales: pétalos, estambres y carpelos (ver Fig. 2.2.5.4).

Otro gen MADS-box parecido a SEP, SEP4 (previamente AGL3) ha sido caracterizado y el mutante cuádruple *sep1 sep2 sep3 sep4* produce flores con hojas como órganos en todos los verticilos, con ello se conforma que los genes SEP son importantes en la determinación de los órganos florales (ver Fig. 2.2.5.3). La expresión de los genes SEP se da en todo el MF durante el desarrollo floral, son importantes en la regulación de la expresión de los genes de

## 2.5. ESPECIFICACIÓN DE LOS ÓRGANOS FLORALES



**Figura 2.2.5.4:** (A) Patrones de expresión de los genes ABC en las distintas etapas del desarrollo. El gen AP1 de la función A está expresado (rojo) en los verticilos más externos que se desarrollarán en sépalos (se) y pétalos (pe). Los genes AP3 y PI de la función B están expresados (amarillo oscuro) en los siguientes dos verticilos internos. Interesantemente PI también se expresa (amarillo claro) en algunas etapas en el cuarto verticilo. El gen AG de la función C es expresado (azul) en los dos verticilos más internos. (B) Patrones de expresión de los genes SEP (Adaptada de [15])

la clase B y C y codifican proteínas que interactúan con las proteínas ABC.

## Capítulo 3

# Redes booleanas

El desarrollo biológico puede entenderse como una interacción entre distintos nodos, que pueden representar genes, proteínas, etc. Esta interpretación conocida como red permite analizar el desarrollo biológico desde un punto de vista matemático, cuyo enfoque logra obtener los atractores del sistema. Los atractores son asociados a los tipos celulares, con esto podemos entender el paso del genotipo al fenotipo.

### 3.1. Redes

La mayoría de los sistemas complejos de la biología, están compuestos de múltiples elementos que interactúan entre si. Estos sistemas pueden ser modelados como redes. Una red es una colección de elementos conectados que puede ser visualizada como un conjunto de nodos que corresponden a los elementos de la red y un conjunto de aristas que representan las interacciones entre los elementos.

Cada nodo tiene un valor de salida y varios de entrada además de una regla que define el valor de la salida en función de las entradas. Las entradas y las salidas están definidas por las interacciones con otros elementos de la red. Cuando el valor de los nodos cambia con respecto al tiempo se dice que la red es dinámica. Entonces la función de salida de un nodo se puede expresar mediante:

$$A_{t+\delta t} = f_t(A_t, B_t, C_t \dots) \quad (3.1)$$

Donde  $A_{t+\delta t}$  es el valor de salida,  $A_t, B_t, C_t$ , etc son los valores de entrada y  $f_t$  es la función que relaciona los valores de entrada entre si. El nodo puede autoalimentarse, es decir, ser él mismo un valor de entrada.

## 3.2. Propiedades de redes

La forma en que la red se conecta y el tipo de conexiones afectan a la red, la red puede ser clasificada según su tipo de aristas. Las trayectorias formadas por las aristas también generan estructuras y patrones dentro de la red que determinan su dinámica.

Cuando las aristas de la red sólo dicen que hay una interacción entre nodos se tiene una red no dirigida, mientras que si existe dirección en la comunicación de los nodos se trata de una red dirigida. Las redes no dirigidas son utilizadas cuando la fuente y el objetivo no están bien identificados o cuando la relación es simétrica. Estas redes se emplean para modelar relaciones proteína-proteína. Las redes dirigidas se emplean cuando un nodo tiene un efecto directo y direccional sobre otro. Estas aristas sirven para expresar activación o inhibición de genes.

Una secuencia de aristas adyacentes es conocida como trayectoria. Las aristas adyacentes son aristas que pueden ir de una a otra en un solo paso. La distancia de la trayectoria entre dos nodos es el número de aristas en uno de los caminos que los conecta. Una conexión es básica si al removerla se interrumpen todas las trayectorias entre dos nodos.

La longitud promedio para las trayectorias en redes metabólicas, transcripcionales, de proteínas y de transducción, es menor a cuatro, por lo que estas redes reponen rápidamente a perturbaciones. Por otro lado, estas redes suelen tener redundancia de trayectorias y múltiples rutas entre nodos, lo cual las hace robustas ante perturbaciones, permitiéndoles recuperar la trayectoria preferente.

Una característica importante dentro de las redes es la centralidad que determina la importación de un nodo dentro de la red y considera el grado de entrada y salida, es decir el número de aristas que entran y salen de cada

nodo.

### Estructuras de red

Ciclo cerrado, cadena o una combinación de ambas son las estructuras que pueden tener las redes según la forma en que sus aristas se conecten. En las redes con estructura de cadena un estado A se conecta a un estado B, este a un estado C y así sucesivamente. Como el nodo inicial no tiene una entrada se supone que tiene un valor constante. En esta estructura el valor de todos los nodos depende del valor del nodo inicial.

En la estructura de ciclo cerrado todos los nodos están conectados sucesivamente y la entrada del primer nodo es la salida del último. La mayoría de las redes presentan una combinación de estas dos estructuras.

Dentro de la red hay motivos de interacción, que son pequeñas subgráficas con topologías bien definidas, que forman módulos, robustos y separables o autónomos.

### 3.3. Red de estados

Una red de  $N$  nodos tiene  $2^N$  estados posibles. Las aristas de esta red se construyen tomando uno de los estados, evaluándolo de acuerdo a las funciones de la red y viendo cual es el nuevo estado obtenido. De esta manera, las redes deterministas tienen una arista de salida que lleva a un solo sucesor.

En el  $t=0$  los nodos tienen ciertos valores, estos valores son las condiciones iniciales del sistema. Cuando algún estado es revisitado, entonces la red ha alcanzado un atractor o estado estacionario. El número de estados que tarda en reencontrar un atractor determina el período del atractor. Los atractores puntuales tienen un período de uno (un solo estado) mientras que los atractores cíclicos tienen períodos más grandes (más de un estado).

Los estados visitados hasta que un atractor es alcanzado se llaman estados transitorios. El conjunto de estados transitorios forman la cuenca del atractor. La cuenca de los diferentes atractores dividen el espacio de estados.

Cabe señalar la diferencia entre la topología de la red y su red de estados. La topología de una red representa la manera en que los  $N$  nodos están conectados entre si. En la red de estados cada nodo representa un estado de

### 3.4. REDES REGULATORIAS

---

la red y la red representa las transiciones de todo el espacio de estados. Uno de los principales temas de estudio de las redes booleanas es entender como los cambios en la topología de la red afectan la red de estados.

#### **Perturbaciones en redes**

La distancia de Hamming se trata del promedio normalizado en el tiempo  $t$  de la avalancha de perturbaciones en el perfil de expresión genético producida por una perturbación de una fracción  $x(0)$  de genes en el tiempo  $t$ . El factor  $M(t)$  relaciona el tamaño  $x(t)$  de la avalancha de perturbaciones en el tiempo  $t$  con respecto a la avalancha de perturbaciones en el tiempo  $t+1$  de tal forma que  $x(t+1) = M(x(t))$  dada una perturbación inicial  $x(0)$  en  $t=0$ , las iteraciones sucesivas de  $M(x)$  convergerán a un valor  $x(\infty)$ , el cual es el tamaño final de la perturbación.

Esto en sistemas biológicos equivale a tener un patrón de expresión génica  $A_0$ , el cual llegaría a un patrón de expresión estable  $A_f$ , que corresponde a un linaje celular particular. Si se altera la expresión de una fracción  $x(0)$  de genes se generara un nuevo patrón  $B_0$  que eventualmente llegará a un patrón  $B_f$ . La distancia  $x(\infty)$  mide el porcentaje de genes distintos entre  $A_f$  y  $B_f$ .

### 3.4. Redes regulatorias

La información en la conectividad molecular se encuentra disponible, sin embargo, todavía se tienen pocos datos con respecto a la estequiometría precisa y cinética de las reacciones bioquímicas principales en redes moleculares. Esta falta de información ha provocado que el desarrollo de redes dinámicas se encuentre limitado a un pequeño número de sistemas bien caracterizados.

Para resolver este problema se han desarrollado metodologías que modelan dinámicamente redes donde las reacciones bioquímicas no son conocidas pero el flujo de información sí lo es, es decir, se conocen los aspectos relevantes del sistema y los aspectos irrelevantes pueden ser descuidados. Estas redes son llamadas redes regulatorias y en ellas la direccionalidad de las señales es suficiente para desarrollar modelos matemáticos de los patrones de activación e inhibición de los nodos en la red. Cuando los nodos de la red se tratan de genes entonces se habla de una red regulatoria genética (RRG).

Los modelos de las RRG han servido para estudiar satisfactoriamente los módulos en los que una gran parte de la actividad celular y el desarrollo de un organismo está organizada. Un módulo se puede entender como una serie de genes corregulados que responden a diferentes condiciones y que constituyen unidades funcionales subyacentes a procesos celulares, de manera prácticamente independiente de otros módulos [16].

El análisis de la dinámica de las RRG es mediante el uso de modelos dinámicos discretos, continuos, deterministas y estocásticos. Estos modelos permiten encontrar las trayectorias seguidas por la RRG, los atractores, la robustez de la red frente a perturbaciones [16].

### 3.5. Redes dinámicas

Las redes dinámicas son representaciones importantes porque las enzimas, genes, proteínas, etc, cambian con el paso del tiempo (por ejemplo, en la expresión, concentración o actividad) como respuesta ante estímulos intrínsecos y extrínsecos [16].

Las redes dinámicas se encuentran clasificadas en discretas y continuas, y como determinísticas o estocásticas. La primera de estas clasificaciones se refiere al grado en detalle de la representación del estado del nodo, mientras que la segunda muestra si las entradas para cada nodo incorpora alguna incertidumbre o variabilidad aleatoria.

Las redes discretas se emplean cuando los datos cuantitativos no son suficientes para establecer una red continua. La red discreta describe una función con comportamiento sigmoidal que se caracteriza por comenzar en un valor e incrementar a otro suavemente con un sólo punto de inflexión. Existen varias funciones sigmoidales, algunas de las más usadas son la función escalón, la de Hill y la logística [5].

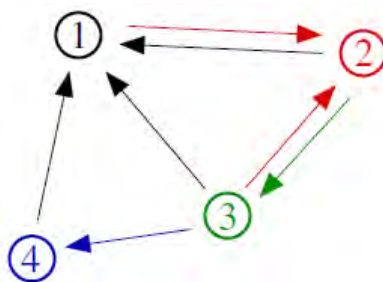
En las redes deterministas las reglas lógicas están fijas por lo que determinan con exactitud el estado del sistema en un tiempo posterior en función del estado de los nodos en un tiempo anterior. Los modelos estocásticos consideran que las reglas lógicas varían de manera aleatoria debido a estímulos externos o internos y que dan como resultado fluctuaciones aleatorias

### 3.6. Redes Booleanas

Los sistemas biológicos pueden ser modelados como redes donde las aristas representan la forma en que los nodos ayudan a la expresión o represión de otro nodo (ver Fig. 3.3.6.1). Sin embargo, dada la cantidad de elementos y la complejidad de las interacciones en los sistemas biológicos es difícil generar una descripción exacta. Es por esto que se recurren a simplificaciones como suponer tiempos discretos o que los elementos sólo pueden tener un número limitado de valores. Una de estas simplificaciones son las redes booleanas, las cuales son el mejor ejemplo de redes dinámicas discretas.

Las redes regulatorias dinámicas booleanas son útiles para recuperar los módulos responsables de las configuraciones genéticas características de cada tipo celular (idea propuesta por Kauffman en 1969). Las trayectorias morfogénicas normales dependen de una regulación temporal y espacial bien sintonizada mediante los niveles de expresión de los genes. De hecho, cuando la cantidad, locación o secuencia de expresión de ciertos reguladores clave es alterada, el fenotipo resulta profundamente alterado. El nivel de expresión de genes está determinado por los tiempos de decaimiento de expresión de los genes.

Una característica importante de las redes booleanas es que su dinámica está basada en una secuencia de pasos, una red molecular genera una señal de salida que entonces sirve como control de la secuencia, así la secuencia emerge como una trayectoria dinámica del sistema, determinada por la red. La señal de salida es una secuencia de eventos en respuesta a los parámetros de entrada.



**Figura 3.3.6.1:** Red Booleana con N=4 nodos (Adaptada de [21])

Para conocer los principios básicos sobre la generación de patrones de control de la secuencia se utilizan dinámicas de redes simples como una simplificación de redes bioquímicas. La idea es eliminar el requisito de un modelo que sea capaz de predecir la dinámica de la red en todos los tiempos exactos (lo que las ecuaciones diferenciales tienen generalmente por objetivo), para ello se generan modelos que proporcionen una “instantánea” de la mayoría de los estados de la red.

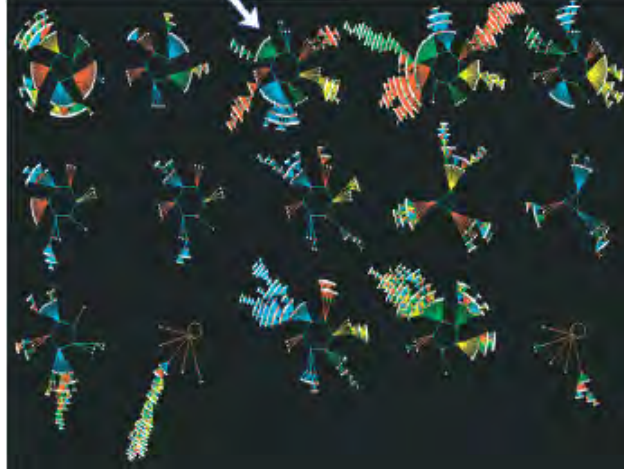
Al construir un modelo dinámico discreto, es importante considerar dos características. La elección del tipo de variables de estado es un aspecto, el segundo aspecto es el carácter de su dinámica en el tiempo. Un rasgo importante de los cambios en la concentración molecular es que a menudo son cambios rápidos.

En muchos sistemas biológicos la activación de un elemento (por ejemplo de un gen o una enzima) se mantiene en un nivel basal constitutivamente. Cuando sus factores activadores sobrepasan un umbral, entonces el elemento se incrementa rápidamente hasta alcanzar un máximo. Esto lleva a suponer que la expresión de los genes y enzimas podría ser expresada en base a funciones booleanas, con el gen inactivo (expresión basal) o activo (incremento de la función).

En una red booleana un gen puede estar activado (1) o inactivado (0). Las redes booleanas son un tipo de red dinámica discreta finita y determinista, que consiste de  $N$  nodos unidos por  $k$  conexiones cada uno. El estado del nodo en el tiempo  $t+1$  depende de los estados de sus  $k$  entradas en el tiempo  $t$  a través de una función booleana (Kauffman).

Las redes booleanas presentan un número relativamente pequeño de atractores comparado con los  $2^N$  posibles estados de la red, pueden tener uno o más atractores. Esta importante característica de las redes afirma la hipótesis de que un sistema puede estabilizar macroestados de regulación celular, por ejemplo, tipos celulares (ver Fig. 3.6.2).

Los atractores de las redes booleanas pueden representar los diferentes tipos celulares. Dada la configuración inicial de un sistema booleano y las funciones que determinan las relaciones entre los genes, se pueden aplicar las operaciones algebraicas que cumple el álgebra booleana y encontrar los atractores en forma explícita de la red, que pueden ser cíclicos o de punto fijo. Estos atractores no son estados intrínsecos de cada elemento, si no un



**Figura 3.3.6.2:** Espacio de estados de una red booleana con  $N=15$  nodos:  $2^{15} = 4192$  estados iniciales, cada uno dentro de su atractor (Adaptada de [21])

fenómeno emergente de la complejidad del sistema.

Una vez que el sistema alcanza un atractor, este se mantiene ahí; sin embargo, si se introduce ruido en las reglas lógicas, hay una probabilidad finita de que el sistema pase de un atractor a otro. La adición de ruido estocástico permite estudiar cuestiones de robustez de la dinámica de la red contra perturbaciones. Una extensión simple consiste en agregar una variable de tiempo de decaimiento  $\alpha_d$  a cada nodo, cuyo crecimiento o disminución son provocadas por los nodos vecinos. En general con esta técnica el efecto de niveles muy pequeños de ruido puede ser examinado [22]. Otro enfoque consiste en introducir diferentes niveles de incertidumbre en las reglas lógicas de actualización de la red. También se han implementado reglas continuas en la RRG, utilizando el modelo de Glass basado en ecuaciones diferenciales estocásticas [40]. Recientemente se ha estudiado un sistema de ecuaciones de Langevin para una RRG con  $n$ -nodos y en contra partida en términos de la ecuación de Fokker-Planck para la función de distribución de los valores de expresión genética [23]. En esta tesis se estudiará un sistema similar al empleado en [23] pero se limitará la discusión al caso determinista.

### 3.6.1. Funciones Booleanas

Consideramos una RRG con  $N$  nodos sujetos a la activación e inhibición de sus entradas. El estado del gen  $i$  en un tiempo dado está descrito por relaciones funcionales discretas  $q_i(t + \tau) = W_i[q_1(t), \dots, q_n(t)]$ . Usualmente se considera  $\tau = 1$ . Las cantidades  $q_i(t)$  son variables dicotómicas que representan el nivel de expresión del nodo  $i$ , dado como 0 ó 1. La entrada total  $w_i$  está determinada por las proposiciones lógicas con una estructura Booleana. De acuerdo con la proposición de Kauffman, los estados de equilibrio están dados por la condición de punto fijo  $q_i(t + 1) = q_i(t) \equiv q_i^s$  correspondientes a los fenotipos o tipos celulares determinados por una RRG.

Las proposiciones lógicas con una estructura booleana están dadas por los siguientes operadores lógicos: OR que representa la disyunción lógica y resulta verdadero si cualquiera de los dos operadores es verdadero, mientras que el operador AND representa la conjunción lógica y resulta verdadero si los dos operadores son verdaderos. La negación lógica produce un valor de verdadero cuando su operador es falso y viceversa ( $\neg A$  todo lo que no es A).

| entradas | 0 0 | 1 0 | 1 0 | 1 1 |
|----------|-----|-----|-----|-----|
| AND      | 0   | 0   | 0   | 1   |
| OR       | 0   | 1   | 1   | 1   |

**Cuadro 3.3.6.1:** Función and y or

| entradas | 0 | 1 |
|----------|---|---|
| NOT      | 1 | 0 |

**Cuadro 3.3.6.2:** Función not

Los operadores lógicos AND, OR y NOT se escriben de la siguiente manera  $\wedge, \vee$  y  $\neg$ , al aplicar estas expresiones al estado de cada nodo  $i$  en cualquier tiempo, la función puede quedar determinada, por ejemplo por una función del siguiente tipo:

$$q_i(t + 1) = (q_i^a(t) \vee q_2^a(t) \dots \vee q_n^a(t)) \wedge \neg((q_i^i(t) \vee q_2^i(t) \dots \vee q_m^i(t))) \quad (3.2)$$

Donde:

### 3.6. REDES BOOLEANAS

---

$[q_n^a]$  es el conjunto de activadores de  $q_i$

$[q_m^i]$  es el conjunto de inhibidores de  $q_i$

Las funciones discretas cumplen con operaciones algebraicas cuya manipulación permite conocer la forma explícita de los atractores de la red:

Para la disyunción lógica (operación OR):

$$A \vee (B \vee C) = (A \vee B) \vee C \quad \text{Asociatividad} \quad (3.3)$$

$$A \vee B = B \vee A \quad \text{Conmutatividad} \quad (3.4)$$

$$A \vee (A \wedge B) = A \quad \text{Absorción} \quad (3.5)$$

$$A \vee (B \wedge C) = (A \vee B) \wedge (A \vee C) \quad \text{Distributividad} \quad (3.6)$$

$$A \vee \neg A = 1 \quad \text{Complemento} \quad (3.7)$$

y para la conjunción lógica (operación AND):

$$A \wedge (B \wedge C) = (A \wedge B) \wedge C \quad \text{Asociatividad} \quad (3.8)$$

$$A \wedge B = B \wedge A \quad \text{Conmutatividad} \quad (3.9)$$

$$A \wedge (A \vee B) = A \quad \text{Absorción} \quad (3.10)$$

$$A \wedge (B \vee C) = (A \wedge B) \vee (A \wedge C) \quad \text{Distributividad} \quad (3.11)$$

$$A \wedge \neg A = \emptyset \quad \text{Complemento} \quad (3.12)$$

Además podemos emplear las leyes de Morgan:

$$\neg (A \wedge B) = \neg A \vee \neg B \quad (3.13)$$

$$\neg (A \vee B) = \neg A \wedge \neg B \quad (3.14)$$

Para inferir las funciones de una red se deben identificar los elementos del sistema, sus relaciones y tipo de interacciones. En el caso de los sistemas biológicos existen varias formas de inferir las funciones de una red de regulación booleana. Se puede utilizar la información ya existente de la expresión de los genes y proteínas. Esta información incluye la regulación transcripcional, postranscripcional, traduccional y postraduccional. También se pueden realizar inferencias de la función de una proteína específica al analizar las diferencias en las respuestas a diversos estímulos en organismos silvestres y mutantes.

### 3.7. Redes dinámicas continuas

En las redes continuas, los estados de los nodos representan concentraciones y las tasas de producción o degradación de todos los componentes. La variación en sus concentraciones y en sus tasas de producción o degradación son controladas por una serie de causas que producen acciones determinadas en la formación del fenotipo celular. Confinamos nuestro análisis al caso donde la acción descrita por una cantidad  $q$  está sujeta a la acción de una interacción externa  $F(q)$  y puede decaer proporcionalmente a la cantidad  $q$  misma  $-\alpha q$ , donde  $\alpha$  es una constante de amortiguamiento. La razón de cambio de  $q$  está dada por

$$\dot{q} = -\alpha q + F(t) \quad (3.15)$$

La solución de la ecuación (3.15) puede ser escrita de la forma:

$$q(t) = \int_0^t e^{-\alpha(t-\tau)} F(\tau) d\tau + q(0)e^{-\alpha t} \quad (3.16)$$

La cantidad  $q$  representa la respuesta del sistema con respecto a la fuerza aplicada  $F(\tau)$ . El valor de  $q$  en el tiempo  $t$  depende no únicamente de las órdenes recibidas en el tiempo  $t$  sino también de las dadas en el pasado. A continuación se desea considerar un sistema de reacción instantánea, es decir, en el que  $q(t)$  depende únicamente de  $F(t)$ . Se utiliza:

$$F(t) = ae^{-\delta t} \quad (3.17)$$

La integral (3.16) con (3.17) dan como resultado:

$$q(t) = \frac{a}{\alpha - \delta} (e^{-\delta t} - e^{-\alpha t}) \quad (3.18)$$

Ahora expresamos cuantitativamente la condición bajo la cual  $q$  actúa instantáneamente. Este es el caso si  $\alpha \ll \delta$ , a saber

$$q(t) \approx \frac{a}{\alpha} e^{-\delta t} \equiv \frac{1}{\alpha} F(t) \quad (3.19)$$

o, en otras palabras, la constante de tiempo  $t_0 = \frac{1}{\alpha}$  inherente a los sistemas debe ser mucho más corta que la constante de tiempo  $t' = \frac{1}{\delta}$  inherente a la fuerza externa. A esta suposición se le denomina aproximación adiabática.

Si se considera a la fuerza externa como parte del sistema total, entonces estas fuerzas se encuentran obedeciendo por si mismas ecuaciones de movimiento. En el caso más simple tenemos únicamente una fuerza y un subsistema. Identificando a  $\mathbf{F}$  con  $q_1$ , y la primera variable  $\mathbf{q}$  con  $q_2$ , se puede estudiar un ejemplo explícito cuyas ecuaciones son:

### 3.7. REDES DINÁMICAS CONTINUAS

---

$$\dot{q}_1 = -\alpha_1 q_1 - a q_1 q_2 \quad (3.20)$$

$$\dot{q}_2 = -\alpha_2 q_2 + b q_1^2 \quad (3.21)$$

Se asume otra vez que el sistema representado por la ecuación (3.21) está amortiguado en ausencia del sistema (3.20), el cual requiere que  $\alpha_2 > 0$ . Para establecer la conexión entre el caso presente y el actual se quiere asegurar la validez de la aproximación adiabática. Para este fin se requiere:

$$\alpha_2 \gg \alpha_1 \quad (3.22)$$

Como consecuencia de asumir la condición (3.22), se puede resolver la ecuación (3.21) haciendo  $\dot{q}_2 = 0$ , lo que da como resultado:

$$q_2(t) \approx \alpha_2^{-1} b q_1^2(t) \quad (3.23)$$

De la ecuación (3.23) se deduce que el sistema (3.21) sigue inmediatamente al sistema (3.20), lo que nos dice que el sistema (3.21) es esclavizado por el sistema (3.20). Se puede sustituir (3.23) en (3.20), obteniendo:

$$\dot{q}_1(t) = -\alpha_1 q_1 - \frac{ab}{\alpha_2} q_1^3 \quad (3.24)$$

Lo cual tiene la estructura de la ecuación de movimiento de un oscilador armónico sobreamortiguado (es decir  $m d^2 q / dt^2 = 0$ ) descrita por:

$$\dot{q} = F(q) = -kq - k_1 q^3 \quad (3.25)$$

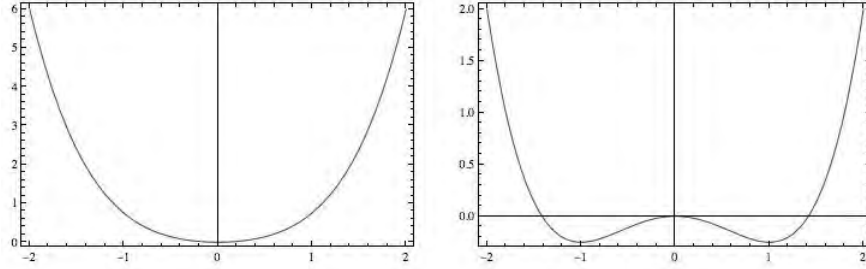
En donde  $F(q)$  representa una fuerza efectiva. Es claro que la fuerza anterior se puede obtener de un potencial efectivo

$$U(q) = \frac{1}{2} k q^2 + \frac{1}{4} k_1 q^4 \quad (3.26)$$

De modo que  $F(q) = -dU/dq$ . La ecuación (3.25) tiene puntos de equilibrio, los cuales representan los mínimos del potencial (ver Fig. 3.3.7.1). Estos se encuentran mediante la siguiente condición

$$\dot{q} = 0 \quad (3.27)$$

El sistema (3.25) tiene dos tipos completamente diferentes de soluciones que ocurren dependiendo si  $\alpha_1 > 0$  o  $\alpha_1 < 0$ . Para  $\alpha_1 > 0$ ,  $q_1 = 0$ , y así también



**Figura 3.3.7.1:** Potencial efectivo. Lado izquierdo:  $\alpha_1 > 0$ . Lado derecho:  $\alpha_1 < 0$ .

$q_2 = 0$ , es decir, ninguna acción se produce en absoluto. Por otro lado, si  $\alpha_1 < 0$  el estado estacionario es:

$$q_1 = \pm(|\alpha_1| \alpha_2 / ab)^{1/2} \quad (3.28)$$

Por lo tanto  $q_2 \neq 0$ , de acuerdo con la ecuación (3.23). Así el sistema consistente de los dos subsistemas (3.20) y (3.21) produce una cantidad finita que es  $q_2$ , es decir, no desaparece la acción ocurrida. Partiendo de que  $q_1 \neq 0$  o  $q_1 = 0$  son una medida si ocurre o no ocurre una acción, se puede llamar a  $q_1$  un parámetro de acción.

Ahora tratamos con un conjunto formado de subsistemas que son descritos por muchas variables, para todas estas variables usamos un simple tipo de funcionamiento que va desde 1 hasta  $n$ . Asumimos ecuaciones de la forma:

$$\begin{aligned} \dot{q}_1(t) &= -\alpha_1 q_1 + g_1(q_1, \dots, q_n), \\ \dot{q}_2(t) &= -\alpha_2 q_2 + g_2(q_1, \dots, q_n), \\ &\vdots \\ \dot{q}_n(t) &= -\alpha_n q_n + g_n(q_1, \dots, q_n). \end{aligned} \quad (3.29)$$

Ahora imaginemos que se han arreglado los subíndices de tal manera que ahora hay dos grupos distintos en los que  $i = 1, \dots, m$  se refiere a los modos con un pequeño amortiguamiento los cuales incluso pueden ser inestables (es decir,  $\alpha \leq 0$ ) y otro grupo con  $s = m + 1, \dots, n$  referente a modos estables. Esto da a entender que las funciones  $g_j$  son funciones no lineales de  $q_1, \dots, q_n$  por lo que en una primera aproximación estas funciones pueden ser ignoradas comparadas con los términos lineales del lado derecho de la ecuación

### 3.7. REDES DINÁMICAS CONTINUAS

---

(3.29). Porque

$\alpha_i \rightarrow 0$ , pero  $\alpha_s > 0$  y finito,  $i = 1, \dots, m$ ;  $s = m + 1, \dots, n$  sostiene que puede volverse a involucrar el principio de aproximación adiabática colocando  $\dot{q}_s = 0$ . Además asumimos que los  $|q_s|'$  son mucho más pequeños que los  $|q_i|'$  que están motivados por el tamaño de los  $\alpha_s$ . Como una consecuencia podemos poner todas las  $q_s = 0$  en  $g_s$ . Esto nos permite resolver (3.29) para  $s = m + 1, \dots, n$  con  $q_1, \dots, q_m$  como cantidades dadas

$$\alpha_s(q_s) = g_s(q_1, \dots, q_n), s = m + 1, \dots, n \quad (3.30)$$

donde  $q_{m+1}, \dots, q_n$  se debe poner igual a cero en  $g_s$ . Reinsertando (3.30) en las primeras m-ecuaciones de (3.29) nos lleva a ecuaciones no lineales solo para las  $q_i'$ s

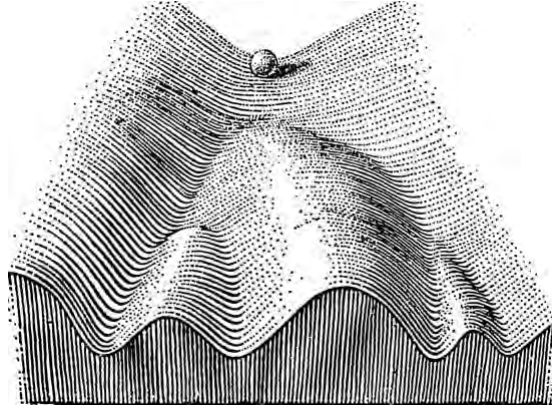
$$\dot{q}_1(t) = -\alpha_i q_i + g_i(q_1, \dots, q_m; q_{m+1}(q_i), \dots) \quad (3.31)$$

Las soluciones de estas ecuaciones determinan si la acción distinta de cero es posible o no. El ejemplo más simple de (3.31) nos lleva de regreso a una ecuación del tipo (3.24) o por ejemplo del tipo

$$\dot{q}_1(t) = -\alpha_1 q_1 + a q_1^2 + b q_1^3 \quad (3.32)$$

Hay que hacer notar que la discusión respecto a la implementación de un potencial efectivo es válida en el caso unidimensional. La existencia de una función potencial no está garantizada para casos más generales n dimensionales, ya que es necesario que se cumpla la condición  $\partial F_i / \partial q_j = \partial F_j / \partial q_i$ , en donde  $F_i$  representa la fuerza efectiva asociada a la variable i-ésima. Esta condición puede cumplirse de manera aproximada recurriendo a la aproximación adiabática para obtener una fuerza unidimensional.

En el caso de las RRG el concepto de potencial efectivo se ha relacionado con la definición de paisajes epigenéticos (descritos por Waddington). El paisaje epigenético representa procesos de desarrollo según la metáfora propuesta inicialmente por Waddington, en la cual un proceso de morfogénesis está representado por una canica rodando hacia abajo a lo largo de un paisaje con cuencas y valles definidos por las distintas configuraciones asociadas a la expresión de los distintos genes que conforman la RRG (ver Fig.3.3.7.2). En el paisaje epigenético, los perfiles multigenéticos están determinados por el fondo de las cuencas de atracción. Estos perfiles caracterizan cada tipo de células o condición celular, con tantas dimensiones en los paisajes como



**Figura 3.3.7.2:** Representación del paisaje epigenético descrito por Waddington (Adaptada de [11])

número de genes considerados en la RRG. El tamaño, forma y distribución de las cuencas restringe los caminos por los que el sistema transitará de un atractor a otro. Se supone que las fluctuaciones aleatorias mueven la bola a lo largo de diferentes vías hasta que esta alcanza el fondo de una cuenca. El potencial efectivo permite en principio cuantificar los paisajes epigenéticos, estableciendo que una baja o alta probabilidad de aparición de algún atractor se traduce inversamente en la elevación o disminución del potencial efectivo. Sin embargo, la aplicación de un potencial efectivo al paisaje epigenético no es posible en general ya que para muchos sistemas biológicos  $n$ -dimensionales dado que la forma explícita de las interacciones no garantiza la existencia de una función potencial.

### *3.7. REDES DINÁMICAS CONTINUAS*

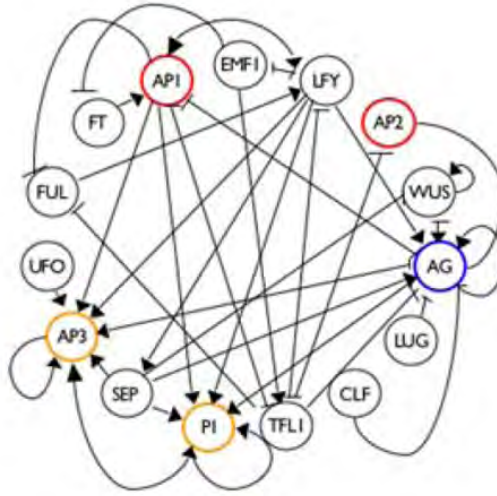
---

## Capítulo 4

# Análisis de la RRG de la *Arabidopsis thaliana*

El formalismo discutido anteriormente se aplicó a un sistema que involucra un número relativamente grande de genes o factores de transcripción cuyas interacciones están bien caracterizadas experimentalmente. Se estudió la red regulatoria genética de la planta floral *Arabidopsis thaliana* la cual se considera un sistema prototípico dado que se conocen tanto los genes que codifican la organogénesis como las interacciones que la regulan. Su información genética se encuentra contenida en 5 cromosomas y codifica para más de 33,000 genes, incluyendo genes no codificantes. La red estudiada está basada en datos experimentales para 15 genes con interacciones que quedan descritas formalmente mediante funciones lógicas booleanas. Entre los 15 genes, 5 están agrupados en tres clases denominadas tipo A, B y C, cuyas combinaciones son necesarias para la especificación de los órganos florales. Los genes tipo A (AP1 y AP2) caracterizan la identidad de sépalos; los genes tipo A en conjunción con aquellos tipo B (A3 y PI), la identidad de pétalos; los tipo B junto con el tipo C (AG), la identidad de estambres; el gene tipo C la identidad de carpelos. Este modelo, llamado ABC, describe el desarrollo de los órganos florales mediante la actividad combinatoria de estos genes (ver Figs. 2.2.5.3 y 4.4.1.1).

El propósito de este análisis es mostrar que la secuencia con la que los genes ABC y el resto de los genes involucrados en el proceso del desarrollo floral se activan en el modelo continuo siguiendo la secuencia resultante en estudios experimentales de la *Arabidopsis thaliana*. Las interacciones genéticas se han modelado anteriormente en términos de un mapeo dinámico discreto



**Figura 4.1:** Red regulatoria de la *Arabidopsis thaliana* donde las flechas indican activación y las rayas indican inhibición, los colores en los nodos indican al grupo de genes que participan, es decir, el color rojo indica los genes del grupo A, el color amarillo el grupo B y el color azul el grupo C. En relación con el modelo de los genes ABC (Adaptada de [11]).

con una estructura del tipo  $q_i(t+1) = w_i(q_1(t), \dots, q_n(t))$ , en donde las entradas  $w_i$  satisfacen reglas booleanas. Este mapeo se presenta en el Apéndice A. El mapeo discreto permite definir un sistema de ecuaciones diferenciales que describen las interacciones de la RRG en el límite continuo. En lo que sigue se realizará inicialmente una exploración del conjunto de atractores resultantes de la dinámica del sistema discreto para posteriormente estudiar la dinámica temporal con la que se alcanzan estos atractores en el límite continuo, la cual está influida por los tiempos de expresión correspondientes a cada gen.

Como se mencionó anteriormente, los atractores asociados al mapeo que describe la RRG determinan la expresión fenotípica. Estos se encuentran mediante la condición  $q_i(t) = w_i(q_1(t), \dots, q_n(t))$ , lo cual convierte al mapeo dinámico en un mapeo algebraico booleano. La expresión explícita de los atractores se obtiene usualmente empleando métodos numéricos; sin embargo, en este trabajo se implementó un método analítico que consiste en resolver el sistema algebraico booleano aplicando las reglas del álgebra booleana de forma directa. Como resultado se obtiene una tabla que establece los posibles atractores del sistema los cuales están determinados por los va-

---



---

|     |   |                      |  |      |           |
|-----|---|----------------------|--|------|-----------|
| LFY | = | LFY                  |  |      |           |
| FUL | = | AG and LFY           |  | FT   | = LFY     |
| AP1 | = | not AG and LFY       |  | AP2  | = LFY     |
| WUS | = | WUS and not AG       |  | TFL1 | = not LFY |
| AG  | = | LFY and (AG or WUS)  |  | EMF1 | = not LFY |
| PI  | = | LFY and (AG or AP3)  |  | SEP  | = LFY     |
| AP3 | = | LFY and (AP3 or UFO) |  | UFO  | = UFO     |
| CLF | = | 1                    |  | LUG  | = 1       |

---



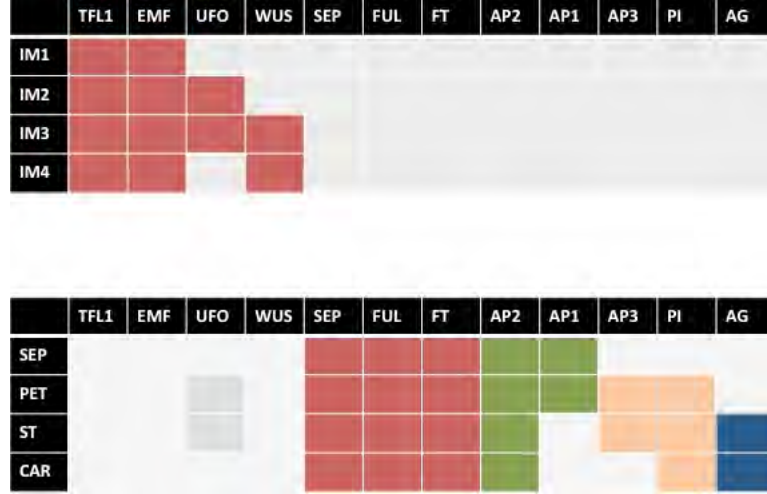
---

**Cuadro 4.1:** Valores de los atractores de la RRG obtenidos mediante la aplicación de reglas lógicas booleanas, al sistema mostrado en el Apéndice A.

lores de expresión de un número reducido de genes, los cuales juegan un papel central en el proceso de desarrollo de la flor (ver tabla 4.1). En dicha tabla la sustitución en el lado derecho de los valores de entrada posibles (0 ó 1) determina el estado de los genes del lado izquierdo.

Un resultado importante del análisis discreto es que el gen LFY determina la expresión de los demás genes de la red, lo cual permite la formación de dos subconjuntos independientes, determinados por la expresión de LFY, es decir  $LFY = 0$  o  $LFY = 1$ . Los dos subconjuntos están controlados por UFO y WUS, y AP3 y AG, respectivamente. Cuando  $LFY = 0$  el subconjunto asociado al MI se encuentra determinado por UFO y WUS, cuyos valores posibles determinan la formación de cuatro atractores  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$  e  $I_4$  (ver Fig. 4.4.1.1). Por otro lado, cuando  $LFY = 1$  el subconjunto asociado al MF está determinado por AP3 y AG. Dentro de este subconjunto existen dos posibilidades: si  $UFO = 0$  los atractores presentes son se, pe2, st2, car; si  $UFO = 1$  los atractores son se, pe1, st1 y car. Los atractores pe2 y st2 tienen cuencas de atracción muy pequeñas [40] por lo que son muy poco probables, por lo tanto nos concentraremos en los cuatro atractores derivados de la expresión de UFO los cuales corresponden a sépalos, pétalos, estambres y carpelos (ver Fig. 4.4.1.1). La discusión anterior permite concluir que el desarrollo de los cuatro órganos florales puede caracterizarse por la expresión o inhibición de únicamente dos genes: AP3 y AG. Sus valores posibles de expresión permiten formar cuatro combinaciones asociadas con la expresión fenotípica de los cuatro órganos florales (ver Fig. 4.4.1.1).

#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA



**Figura 4.2:** La primera tabla muestra los atractores del IM y los genes que lo determinan, aquí ya se ha evaluado el lado derecho de las reglas lógicas mostradas en el Apéndice A, cada color indica que un gen está expresado (tiene valor de 1); el tono gris indica que el gen está inhibido en ese atractor. En la tabla siguiente se presentan los atractores del FM donde los colores denotan nuevamente la expresión de genes, se aprecia que los atractores pet y st tienen un sombreado un poco más intenso en el gen wus; ya que este gen puede valer 1 ó 0.

#### 4.1. Estructura de la RRG continua

Los resultados derivados del estudio de la RRG en la aproximación discreta nos plantean preguntas que pueden ser abordadas en el límite continuo con una mayor versatilidad, en particular el análisis de la dinámica temporal con la que se alcanzan los atractores de la RRG en el límite continuo. Para ello se empleó una representación continua de la dinámica discreta booleana reemplazando el conjunto original  $q_i$  en términos de un conjunto de variables continuas. Estas reglas se muestran a continuación

$$\begin{aligned} a \vee b &= a + b - ab \\ a \wedge b &= ab \\ \neg a &= 1 - a \end{aligned}$$

La definición de los operadores NOT y AND se cumplen de manera natural, mientras que la definición del operador OR tiene su fundamentación en las leyes de Morgan. La correspondencia del sistema discreto al continuo queda establecida como se muestra en la tabla siguiente:

$$\begin{aligned}
FUL(t+1) &= (1 - AP1(t))(1 - TFL1(t)) \\
FT(t+1) &= 1 - EMF1(t) \\
AP1(t+1) &= (1 - AG(t))(1 - TFL1(t)(1 - LFY(t)FT(t))) \\
EMF1(t+1) &= 1 - LFY(t) \\
LFY(t+1) &= 1 - EMF1(t)TFL1(t) \\
AP2(t+1) &= 1 - TFL1(t) \\
WUS(t+1) &= WUS(t)(1 - AG(t)SEP(t)) \\
AG(t+1) &= LFY(t)(1 - EMF1(t))(1 - ((AP1(t)AP2(t) \\
&\quad (1 - WUS(t))(1 - AG(t)SEP(t)(1 - TFL1(t)))) \\
&\quad + (1 - EMF1(t))(1 - TFL1(t))(1 - AP2(t)) - (LFY(t) \\
&\quad (1 - EMF1(t))(1 - ((AP1(t)AP2(t)(1 - WUS(t)) \\
&\quad (1 - AG(t)SEP(t)(1 - TFL1(t))))((1 - EMF1(t)) \\
&\quad (1 - TFL1(t))(1 - AP2(t))) \\
PI(t+1) &= (LFY(t)(AG(t) + AP3(t) - AG(t)AP3(t))) + \\
&\quad (PI(t)SEP(t)AP3(t)(AG(t) + AP1(t) - AG(t)AP1(t))) - \\
&\quad (LFY(t)(AG(t) + AP3(t) - AG(t)AP3(t))) \\
&\quad (PI(t)SEP(t)AP3(t)(AG(t) + AP1(t) - AG(t)AP1(t))) \\
SEP(t+1) &= LFY(t) \\
AP3(t+1) &= (LFY(t)UFO(t)) + (PI(t)SEP(t)AP3(t) \\
&\quad (AG(t) + AP1(t) - AG(t)AP1(t))) - (LFY(t)UFO(t)) \\
&\quad (PI(t)SEP(t)AP3(t)(AG(t) + AP1(t) - AG(t)AP1(t))) \\
UFO(t+1) &= UFO(t)
\end{aligned}$$

#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA

---

**Cuadro 4.4.1.1:** Valores de expresión que determinan la formación de los cuatro atractores del MF : sépalos (sep), pétalos (pet), estambres (st) y carpelos (car)

|     | sep | pet | st | car |
|-----|-----|-----|----|-----|
| AP3 | 0   | 1   | 1  | 0   |
| AG  | 0   | 0   | 1  | 1   |

Con el fin de generar funciones de entrada con una estructura de tipo dicotómico se utilizaron funciones de tipo escalón (funciones sigmoidales). Una función con comportamiento sigmoidal se caracteriza por comenzar en un valor e incrementar suavemente a otro valor, con un solo punto de inflexión (ver Fig. 4.4.1.2). Esto puede asemejarse a la activación de un nodo (1) cuando la función crece y a la inhibición de algún nodo (0) cuando ésta decrece. La siguiente función sigmoidal es la que se utilizó para caracterizar la representación continua

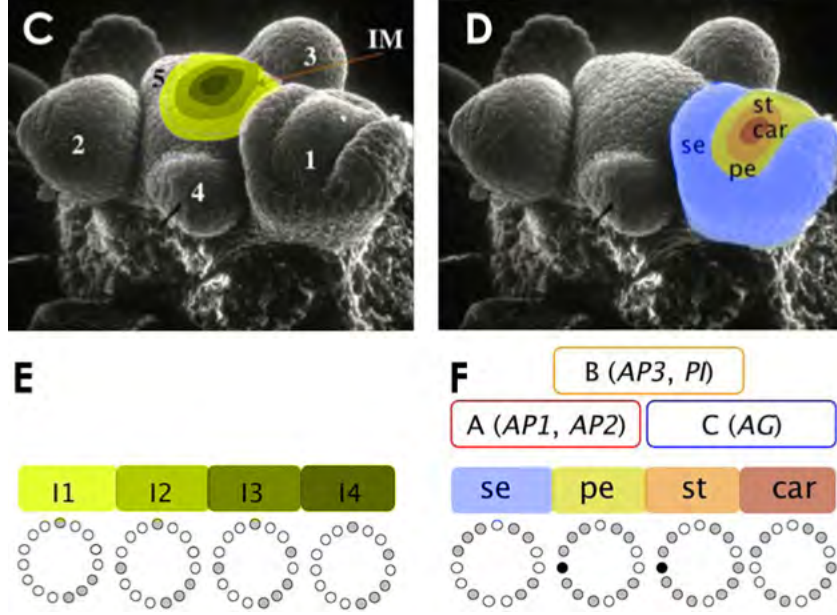
$$\Theta(w_i) = \frac{1}{\exp[2b(w_i(\mathbf{q}) - w_i^{thr})] + 1}, \quad (4.1)$$

donde  $w_i^{thr}$  es un umbral de activación, y el parámetro  $b$  mide la razón de saturación de entrada. De la gráfica 4.4.1.2 se observa que para valores grandes de  $b$ , es decir,  $b \geq 20$  la gráfica presenta un comportamiento de tipo escalón, mientras que para valores pequeños se tiene un comportamiento logístico. En este trabajo se fijaron los valores de  $b = 40$  y  $w_i^{thr} = 0,5$ . Mediante el empleo de este tipo de funciones de entrada se puede determinar la dinámica de la RRG continua descrita por un sistema de ecuaciones diferenciales de la siguiente forma:

$$\frac{dq_i}{dt} = \Theta[w_i(\mathbf{q})] - \alpha_i q_i, \quad (4.2)$$

Donde  $\alpha_i$  representa el parámetro de expresión del gen  $i$ -ésimo, es decir, el gen decae en un tiempo  $\tau_i = 1/\alpha_i$ . Para determinar las soluciones del sistema de ecuaciones diferenciales se utilizó el software *Mathematica*. En las distintas gráficas se puede apreciar que los niveles de expresión genética presentan un comportamiento de tipo sigmoidal en el tiempo. En contraste con el modelo discreto el cual implícitamente involucra tiempos de decaimiento del orden de uno, el modelo continuo permite explorar un espectro amplio para los valores posibles de los tiempos de expresión.

A continuación se enlistan algunos de los resultados más significativos. Para ello inicialmente se consideró que los tiempos de expresión son cercanos a



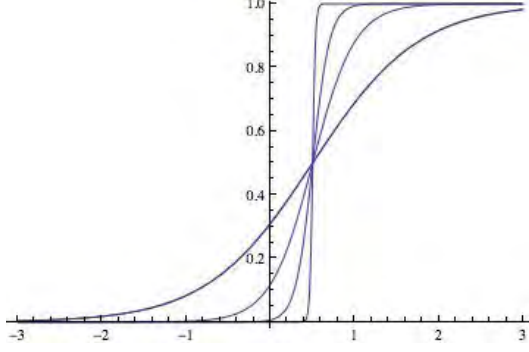
**Figura 4.4.1.1:** Del lado izquierdo se muestran los atractores del IM, cada color representa a los respectivos atractores. Debajo se muestra la RRG indicando los genes que se encuentran encendidos mediante círculos sombreados y los genes apagados se dejan en blanco. Del lado derecho se muestran los atractores del FM, cada color representa cada uno de los atractores y debajo de estos se tiene la RRG con los genes que se encuentran expresados o inhibidos. Se tiene un caso especial para UFO ya que este puede encontrarse expresado o inhibido. Se hace una mención especial de los genes ABC (Adaptada de [11])

aquellos implícitos en el caso discreto, que son de orden uno, para posteriormente explorar las situaciones en que los valores de expresión difieren de este valor:

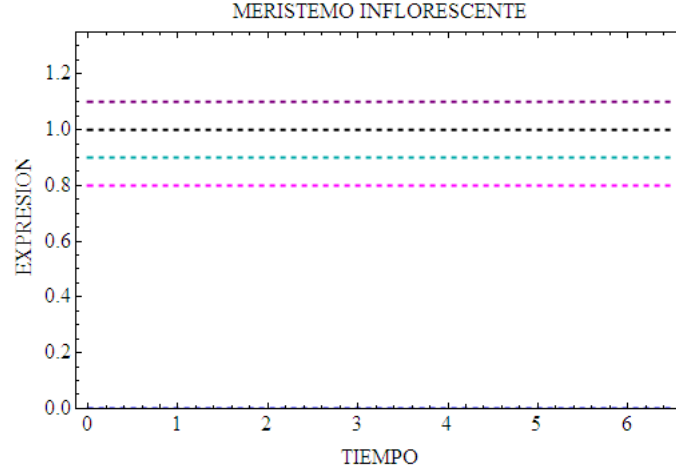
$$i) \alpha_{ag} = 1, \alpha_{ap1} = 1, \alpha_{ful} = 1, \alpha_{ft} = 1, \alpha_{emf1} = 1, \alpha_{lfy} = 1, \alpha_{ap2} = 1, \alpha_{wus} = 1, \alpha_{sep} = 1, \alpha_{ufo} = 1, \alpha_{pi} = 1, \alpha_{ap3} = 1, \alpha_{tf11} = 1.$$

Estas condiciones nos conducen a una sobreexpresión de los genes del MI lo cual se traduce en la inhibición de los genes del MF (ver Fig. 4.4.1.3). Esto difiere del caso discreto en el que los genes relacionados con ambos meristemos sí desarrollan una dinámica en condiciones equivalentes.

#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA



**Figura 4.4.1.2:** Gráfica que muestra el comportamiento de la función 4.1 haciendo variar el parámetro  $b$

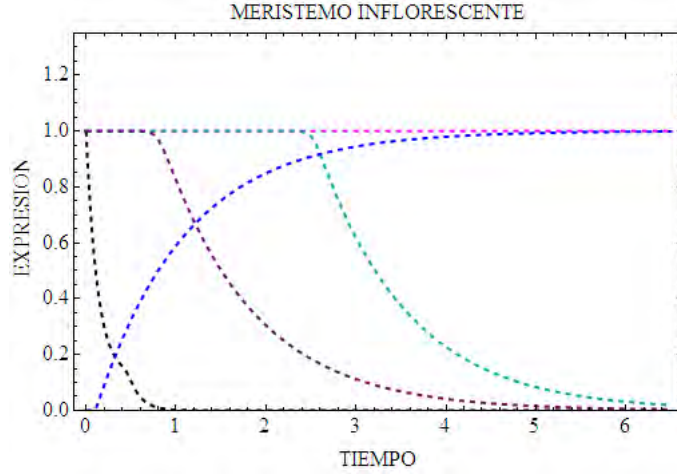


**Figura 4.4.1.3:** Gráfica que muestra la expresión temporal de los genes del MI cuando los valores de los parámetros de decaimiento son todos iguales a uno, es decir,  $\tau_i = 1/\alpha_i = 1$ . Aunque los valores de expresión de todos los genes graficados es igual a uno, se multiplicó este valor por un factor de escala que permite distinguir las curvas asociadas a cada gen: TFL1 (negro), EMF1 (púrpura), UFO (magenta), WUS (cian) y LFY (azul)

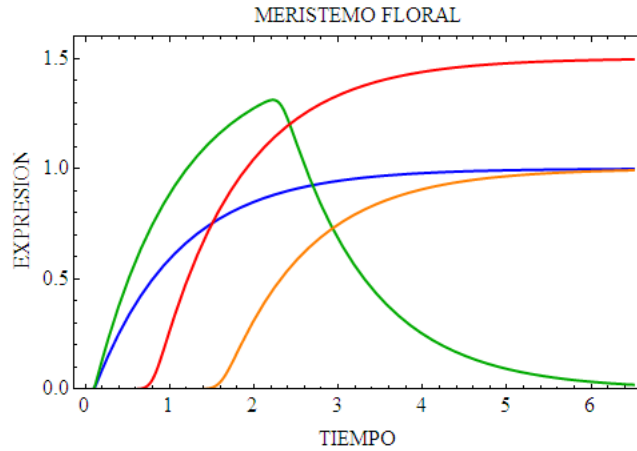
ii)  $\alpha_{ag} = 1$ ,  $\alpha_{ap1} = 1$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 1$ ,  $\alpha_{lfy} = 1$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$ .

En la Fig. 4.4.1.4 se observa que la expresión de los genes TFL1, EMF1 y WUS se inhibe sucesivamente, mientras que UFO se sobreexpresa. También inicia la expresión de LFY, dando lugar a la activación sucesiva de los genes del MF. Por otro lado, la figura 4.4.1.5 muestra que conforme transcurre el tiempo, AP1 inhibe su expresión mientras que AP3 y AG se mantienen

activados. Según el cuadro 4.4.1.1 esto conduce a la manifestación de tres atractores: sépalos, pétalo y estambres, notándose la ausencia de carpelos, dado que AP3 no se inhibe.



**Figura 4.4.1.4:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MI cuando el tiempo de decaimiento de TFL1 ( $\tau_{tfl1} = 1/\alpha_{tfl1}$ ) es mucho menor al del resto de los genes. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: TFL1 (negro), EMF1 (púrpura), UFO (magenta), WUS (cian) y LFY (azul)

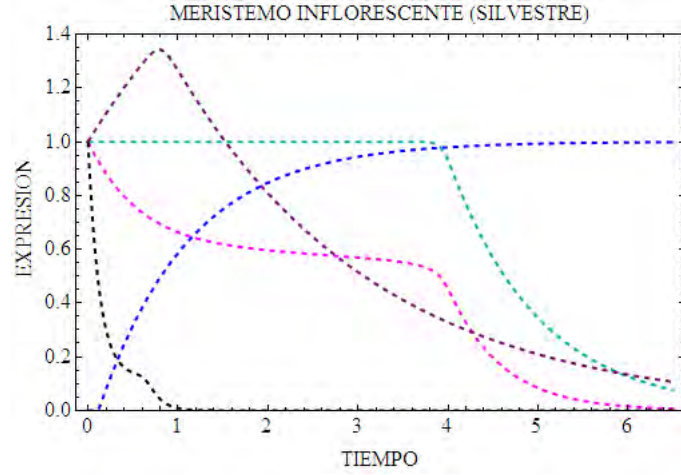


**Figura 4.4.1.5:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MF cuando el tiempo de decaimiento de TFL1 ( $\tau_{tfl1} = 1/\alpha_{tfl1}$ ) es mucho menor al del resto de los genes. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul), AP3 (rojo) y AG (naranja)

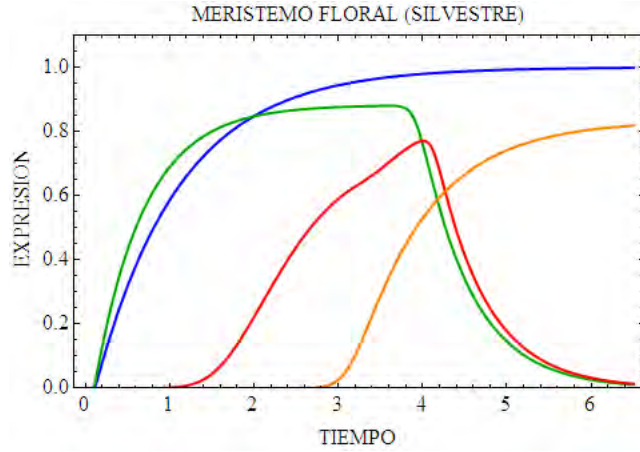
#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA

iii)  $\alpha_{ag} = 1,2$ ,  $\alpha_{ap1} = 1,7$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 0,5$ ,  $\alpha_{lfy} = 1$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1,7$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1,7$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$ .

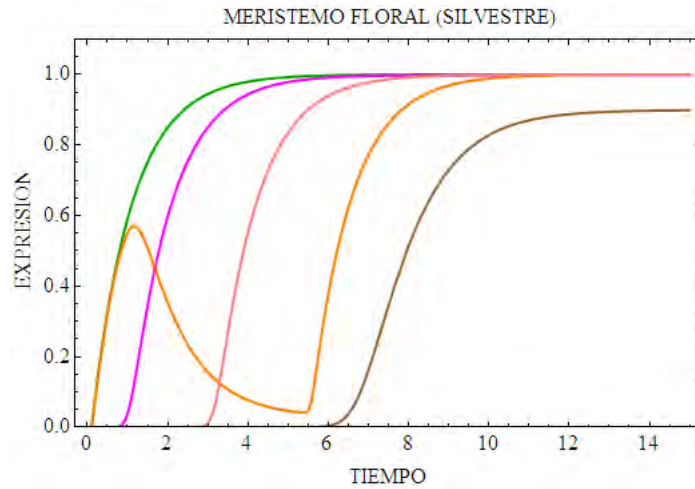
Esta selección de parámetros fue motivada para recuperar el comportamiento observado en el desarrollo natural de los órganos florales, por lo que la denominaremos *silvestre*. Una particularidad notable es la gran diferencia entre los tiempos de expresión de los genes TFL1 y EMF1 del MI (ver Fig. 4.4.1.6), los cuales actuarían como precursores de expresión de los genes que definen al MF (ver Fig. 4.4.1.7). Con esta elección de parámetros los genes del MF se expresan de tal manera que se generan en forma sucesiva los sépalos, pétalos, estambres y carpelos, de acuerdo a los atractores definidos en el cuadro 4.4.1.1. Por otro lado, los parámetros de decaimiento de los genes que se expresan transitoriamente tienen valores mayores a la unidad. En la Figura 4.4.1.8 se presenta el comportamiento del resto de los genes pertenecientes a la RRG. Se expresan de manera sucesiva AP2 y FUL y posteriormente SEP, FT y PI. Nótese que FUL decae de manera transitoria y posteriormente se recupera su expresión durante la etapa correspondiente a la formación de los carpelos.



**Figura 4.4.1.6:** Gráfica que muestra los tiempos de expresión de los genes involucrados en el desarrollo *silvestre* del MI. En este caso, el tiempo de expresión de TFL1 es mucho menor que el de EMF1; por otro lado, UFO decae en dos pasos sucesivos, mientras que WUS permanece expresado y es el último de los genes de este meristemo en decaer. Se observa que el decaimiento de TFL1 da lugar a la expresión de LFY, en concordancia con las reglas lógicas. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: TFL1 (negro), EMF1 (púrpura), UFO (magenta), WUS (cian) y LFY(azul)



**Figura 4.4.1.7:** Gráfica que muestra la expresión de los genes en el desarrollo *silvestre* del MF. Se observa que la expresión de LFY da lugar a la expresión simultánea de AP1, es decir, a la expresión de sépalos. Posteriormente se expresa AP3 originando pétalos. Subsecuentemente se expresa AG determinando la formación de estambres. Finalmente AP1 y AP3 decaen mientras AG se mantiene activado. Esto último conlleva a la expresión de carpelos (ver cuadro 4.4.1.1). Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul), AP3 (rojo) y AG (naranja)

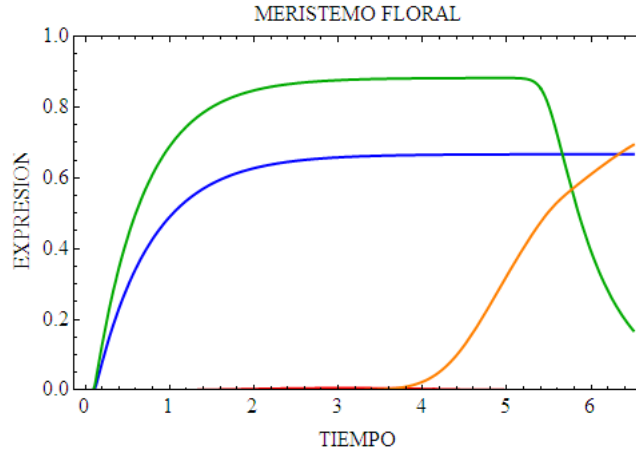


**Figura 4.4.1.8:** Gráfica que muestra los tiempos de decaimiento del resto de genes que forman parte de la RRG. Se observa inicialmente la expresión de AP2 y FUL. Posteriormente se expresan SEP, FT y PI. Es notable el decaimiento transitorio de FUL para recuperarse en un tiempo que corresponde al desarrollo de carpelos. Las curvas correspondientes a cada gen son: PI (café), AP2 (verde), SEP (magenta), FUL (naranja) y FT (rosa)

#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA

iv)  $\alpha_{ag} = 1,2$ ,  $\alpha_{ap1} = 1,7$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 0,5$ ,  $\alpha_{lfy} = 1,5$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1,7$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1,7$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$

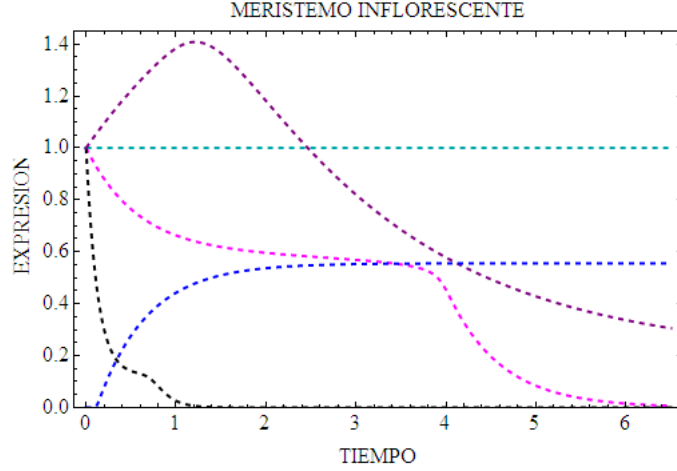
En este caso el tiempo de expresión de LFY es menor que el asociado al caso *silvestre*,  $\tau_{lfy} = 0,67$ . Esto da lugar a la no expresión de AP3 y a la expresión tardía de AG en el MF (ver Fig 4.4.1.9). Se manifiestan los atractores correspondientes a sépalos y carpelos y desaparecen los asociados a pétalos y estambres. No se observan cambios significativos en el MI.



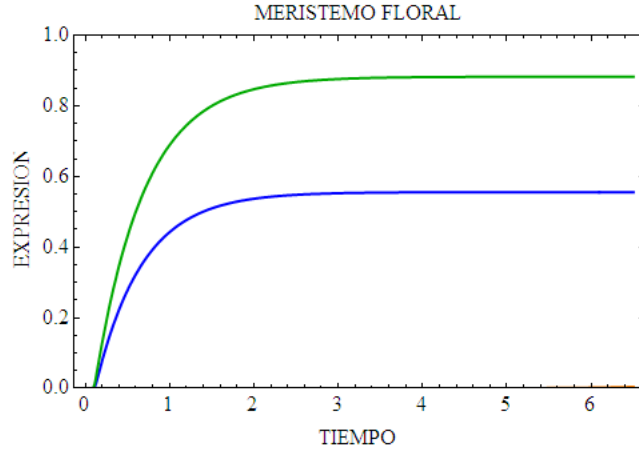
**Figura 4.4.1.9:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MF, cuando el tiempo de expresión de LFY es menor al caso *silvestre*. En este caso no se expresa AP3 y no se desarrollan pétalos ni estambres. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul) y AG (naranja)

v)  $\alpha_{ag} = 1,2$ ,  $\alpha_{ap1} = 1,7$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 0,5$ ,  $\alpha_{lfy} = 1,8$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1,7$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1,7$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$

El parámetro de decaimiento de LFY es mayor que en el caso *silvestre*,  $\alpha_{lfy} = 1,8$ , lo que ocasiona una subexpresión de este gen con consecuencias en el fenotipo. Se observa que WUS se mantiene expresado en el MI (4.4.1.10) lo cual provoca la no expresión de AP3 y AG en el MF (ver Fig. 4.4.1.11), por lo que los atractores correspondientes a pétalos, estambres y carpelos no llegan a formarse.



**Figura 4.4.1.10:** Gráfica que muestra los tiempos de expresión de los genes involucrado en el desarrollo del MI, cuando existe subexpresión de LFY. En este caso WUS se mantiene permanentemente activado. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: TFL1 (negro), EMF1 (púrpura), UFO (magenta), WUS (cian) y LFY (azul)



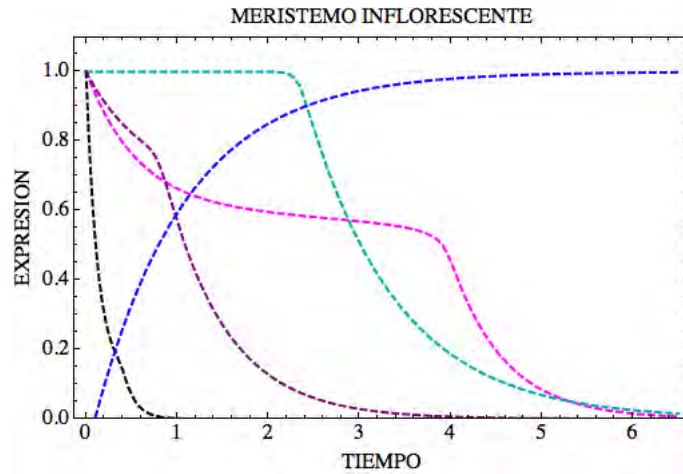
**Figura 4.4.1.11:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MF, cuando existe subexpresión de LFY. En este caso se inhibe tanto la expresión de AP3 como de AG perdiéndose pétalos, estambres y carpelos. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul)

vi)  $\alpha_{ag} = 1,2$ ,  $\alpha_{ap1} = 1,7$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 1,5$ ,  $\alpha_{lfy} = 1$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1,7$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1,7$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$

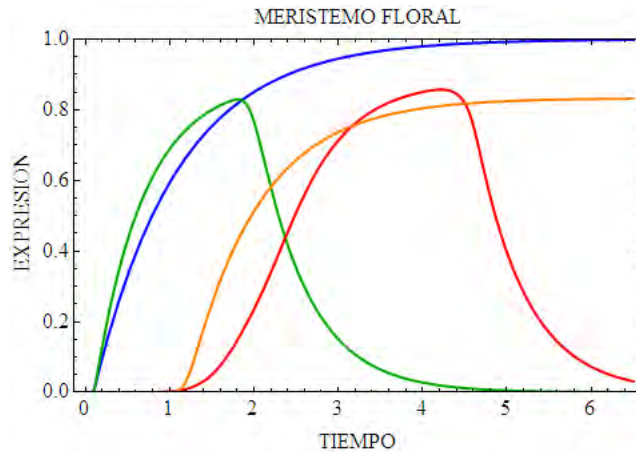
En este caso el valor del parámetro de decaimiento del EMF1 aumenta respecto del caso silvestre,  $\alpha_{emf1} = 1,45$ . En el MI observamos que el tiempo

#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA

de expresión de EMF1 es relativamente corto comparado con la situación *silvestre*, lo mismo que el de WUS (ver Fig. 4.4.1.12) Esto invierte el orden de expresión de los genes AP3 y AG (ver Fig. 4.4.1.13). En otras palabras, se tienen los atractores correspondientes a sépalos, estambres y carpelos y no se da el desarrollo de los pétalos.

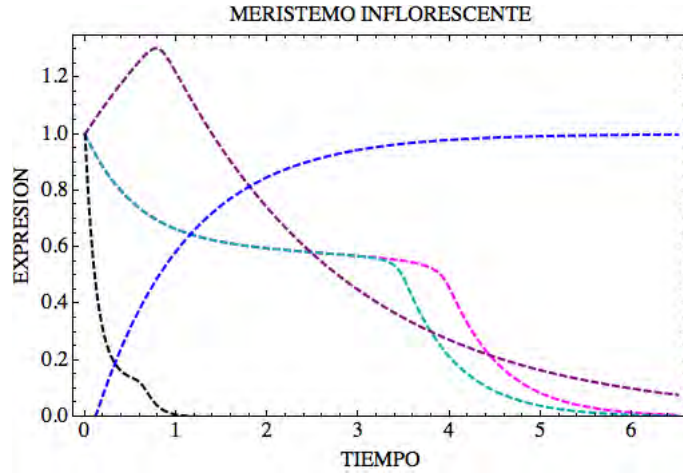


**Figura 4.4.1.12:** Gráfica que muestra los tiempos de expresión de los genes involucrado en el desarrollo del MI, cuando el tiempo de expresión de EMF1 es menor que en el caso *silvestre*. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: TFL1 (negro), EMF1 (púrpura), UFO (magenta), WUS (cian) y LFY (azul)



**Figura 4.4.1.13:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MF, cuando el tiempo de expresión de EMF1 es menor que en el caso *silvestre*. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul), AP3 (rojo) y AG (naranja)

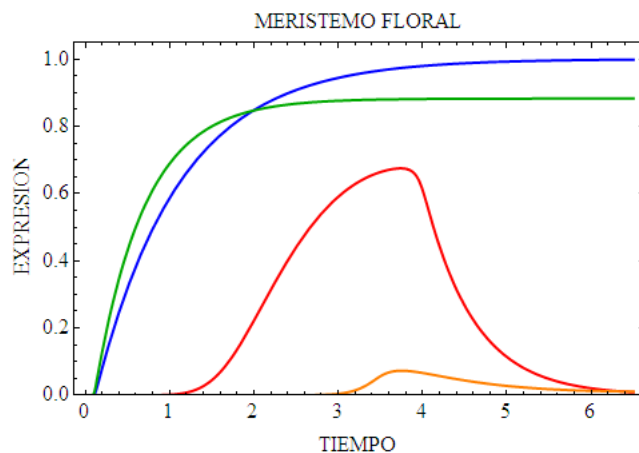
vii)  $\alpha_{ag} = 1,2$ ,  $\alpha_{ap1} = 1,7$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 0,5$ ,  $\alpha_{lfy} = 1$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1,7$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1,7$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1,7$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$   
 En el MI, WUS y UFO siguen dinámicas de decaimiento paralelas (ver Fig. 4.4.1.14). En el MF se observa una inhibición en la expresión de AG debido al tiempo corto de expresión de WUS (ver Fig. 4.4.1.15) en comparación con el caso *silvestre*. Esto daría lugar a la ausencia de estambres y carpelos.



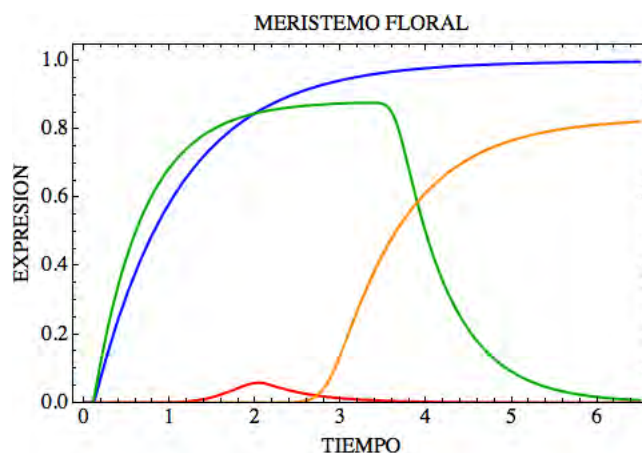
**Figura 4.4.1.14:** Gráfica que muestra los tiempos de expresión de los genes involucrado en el desarrollo del MI, cuando el tiempo de expresión de WUS es menor que en el caso *silvestre*. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: TFL1 (negro), EMF1 (púrpura), UFO (magenta), WUS (cian) y LFY(azul)

viii)  $\alpha_{ag} = 1,2$ ,  $\alpha_{ap1} = 1,7$ ,  $\alpha_{ful} = 1$ ,  $\alpha_{ft} = 1$ ,  $\alpha_{emf1} = 0,5$ ,  $\alpha_{lfy} = 1$ ,  $\alpha_{ap2} = 1$ ,  $\alpha_{wus} = 1$ ,  $\alpha_{sep} = 1$ ,  $\alpha_{ufo} = 1,8$ ,  $\alpha_{pi} = 1$ ,  $\alpha_{ap3} = 1,7$ ,  $\alpha_{tfl1} = 8$   
 En este caso el tiempo de decaimiento de UFO es mayor que en el caso *silvestre*, lo que ocasiona la inhibición de la expresión de AP3 (ver Fig. 4.4.1.16). Esto se traduce en la ausencia de pétalos y estambres. No se presenta alteración apreciable en el MI.

#### 4.1. ESTRUCTURA DE LA RRG CONTINUA



**Figura 4.4.1.15:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MF, cuando el tiempo de expresión de WUS es menor que en el caso *silvestre*. En este caso AG es fuertemente inhibido. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul), AP3 (rojo) y AG (naranja).



**Figura 4.4.1.16:** Gráfica que muestra la expresión de genes en el MF, cuando el tiempo de expresión de UFO es menor que en el caso *silvestre*. En este caso AP3 es fuertemente inhibido. Las curvas asociadas a la expresión de cada gen: AP1 (verde), LFY (azul), AP3 (rojo) y AG (naranja).

Estos resultados nos muestran que los tiempos relativos de expresión genética de la RRG determinan en buena medida la dinámica del desarrollo tanto de los meristemos como de los órganos florales. La variación de los tiempos de decaimiento conduce a la subexpresión o sobreexpresión de algunos genes lo cual se puede interpretar en términos de mutaciones efectivas. En las ta-

## 4.2. COMPARACIÓN CON RESULTADOS EXPERIMENTALES

blas siguientes se muestra en forma resumida las mutaciones presentes en cada uno de los meristemas dependientes de los tiempos de expresión.

| MI                       | EMF1             | TFL1             | WUS              | UFO              |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $\alpha_{lfy} = 1$       | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> |
| $\alpha_{lfy} \geq 1,8$  | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | no se inhibe     | <i>silvestre</i> |
| $\alpha_{emf1} \geq 1,5$ | se inhibe        | <i>silvestre</i> | se inhibe        | <i>silvestre</i> |
| $\alpha_{wus} \geq 1,7$  | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | se inhibe        | se inhibe        |

**Cuadro 4.4.1.2:** Mutaciones efectivas presentes en el desarrollo de la *Arabidopsis thaliana* provocadas por alteraciones en los tiempos de expresión de genes del MI

| MF                       | LFY              | AP1              | AP3              | AG               |
|--------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|
| $\alpha_{emf1} = 0,45$   | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> |
| $\alpha_{lfy} \geq 1,5$  | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | se inhibe        | <i>silvestre</i> |
| $\alpha_{lfy} \geq 1,8$  | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | se inhibe        | se inhibe        |
| $\alpha_{emf1} \geq 1,5$ | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | **               | **               |
| $\alpha_{wus} \geq 1,7$  | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | se inhibe        |
| $\alpha_{ufo} \geq 1,8$  | <i>silvestre</i> | <i>silvestre</i> | se inhibe        | <i>silvestre</i> |

**Cuadro 4.4.1.3:** Mutaciones efectivas presentes en el desarrollo de la *Arabidopsis thaliana* provocadas por alteraciones en los tiempos de expresión de los genes pertenecientes al modelo ABC, \*\* El orden de aparición de los genes AP3 y AG se invierte

## 4.2. Comparación con resultados experimentales

A continuación se presentará una comparación de las predicciones del modelo con los resultados experimentales de aquellos genes de los que se cuente con información suficiente:

**TFL1:** Según nuestro modelo para que ocurra la expresión genética tanto en el MI como en el MF es necesario que TFL1 decaiga en un tiempo muy corto comparado con el tiempo de decaimiento de EMF1 así como con los tiempos característicos del resto de los genes que conforman la RRG. Esto es consistente con los resultados experimentales representados en la Fig. la cual muestra que TFL1 se expresa en el MI en la primera etapa del desarrollo floral y dura únicamente 24 horas.

#### 4.2. COMPARACIÓN CON RESULTADOS EXPERIMENTALES

---

EMF1: Como se menciona en el capítulo 2 Los genes EMF son necesarios para el crecimiento vegetal y al parecer regulan el tiempo de floración y el desarrollo inflorescente. Esto es consistente con el decaimiento paulatino de este gen a lo largo de todo el tiempo del desarrollo floral, según se muestra en las gráficas del MI.

UFO: Además de que UFO regula la actividad necesaria para la transcripción de AP3 (ver cuadro 4.4.1.1). Se expresa en el segundo y tercer verticilo, probablemente restringiendo el dominio de expresión de estos verticilos, junto con LFY. Este comportamiento es consistente con el presentado en las gráficas para la dinámica del MI y del MF.

WUS: En combinación con los genes encargados de la especificación de los verticilos florales establece el patrón espacio-temporal y con LFY co-regula la expresión de AG. Esto está de acuerdo con el comportamiento observado en las gráficas para el MI y MF en donde se aprecia que la disminución en la expresión de WUS coincide justamente con la elevación en el nivel de activación de AG.

LFY: Es un factor de transcripción necesario y suficiente para especificar el MF. Y requiere de co-factores para definir los límites espaciales de expresión de los genes AP3, PI y AG que definen la identidad de los órganos florales. También participa con UFO en la regulación de la transcripción de AP1 y AP3, y con WUS co-regula la expresión de AG. Además regula la expresión de los genes SEPALLATA (SEP), SEP1, SEP2 y SEP3. Estas regulaciones son reproducidas por las curvas de expresión de los genes en todas las gráficas presentadas.

AP1: Es un gen de la función A expresado en los dos verticilos externos del meristemo floral; es importante para el desarrollo de sépalos y pétalos así como el MF. Tiene superposición de funciones con LFY en el desarrollo del MF y regula positivamente al mismo. Este comportamiento se puede apreciar en las gráficas para el MF, en las cuales se observa que ambos genes se activan simultáneamente y siguen dinámicas casi paralelas hasta que AP1 decae.

AP3: Es un gen de la función B y se expresa en el segundo y tercer verticilo. Su función es necesaria para la expresión de pétalos y estambres, los cuales se expresan posteriormente a los sépalos. Este comportamiento se reproduce correctamente en las gráficas del MF.

#### *4.2. COMPARACIÓN CON RESULTADOS EXPERIMENTALES*

---

AG: Es el único gen de la función C que determina la formación de carpelos, esta función se expresa posteriormente a la función B. Este comportamiento también se recupera correctamente en las gráficas del MF.

FUL: Se expresa al mismo tiempo que LFY durante el establecimiento del MF, pero se encuentra más localizado en el MI. Después, durante el desarrollo de los carpelos juega un papel importante. Esta dinámica es observada en la Fig. 4.4.1.8.

#### *4.2. COMPARACIÓN CON RESULTADOS EXPERIMENTALES*

---

## Capítulo 5

# Discusión y conclusiones

i) En este trabajo se ha mostrado que es posible describir los aspectos esenciales del desarrollo y expresión fenotípica mediante modelos matemáticos que describen una RRG. Un aspecto fundamental es que los tiempos de expresión genética influyen de manera determinante en el patrón de expresión temporal establecido biológicamente.

ii) Los atractores asociados a patrones de expresión fenotípica pueden obtenerse empleando métodos algebraicos analíticos booleanos, los cuales permiten determinar de manera unívoca los nodos centrales de la RRG.

iii) Se ha mostrado que los tiempos característicos de decaimiento controlan la expresión epigenética del sistema biológico. Así mismo estos tiempos determinan la sobreexpresión o subexpresión de los genes durante el desarrollo. Esto da lugar a la generación de mutaciones efectivas capaces de alterar el fenotipo.

iv) La inhibición de la expresión de los órganos florales puede ocurrir por pares de verticilos contiguos, tal como se establece en el modelo ABC. Sin embargo, el modelo es capaz predecir mutaciones en órganos florales no contempladas por el modelo ABC.

v) Los resultados del modelo concuerdan cualitativamente con observaciones reportadas experimentalmente sobre los aspectos genéticos que regulan la morfogénesis en plantas florales.

vi) El enfoque presentado en esta tesis permite caracterizar adecuadamen-

---

te las interacciones genéticas de una RRG y sus consecuencias fenotípicas, los métodos empleados no involucran hipótesis específicas sobre el sistema biológico en consideración, por lo que es posible extenderlos para estudiar otros sistemas tanto del área de la Biología como de la Medicina.



---

# Apéndice A

## Reglas lógicas de la *Arabidopsis thaliana*

Las interacciones entre los nodos que conforman la red regulatoria genética de la *Arabidopsis thaliana* se presentan a continuación

$$FUL(t+1) = \neg AP1(t) \wedge \neg TFL1(t) \quad (5.1)$$

$$FT(t+1) = \neg EMF1(t) \quad (5.2)$$

$$TFL1(t+1) = \neg AP1(t) \wedge (EMF1(t) \wedge \neg LFY(t)) \quad (5.3)$$

$$\begin{aligned} AP1(t+1) = & (\neg AG(t) \wedge \neg TFL1(t)) \vee (FT(t) \wedge LFY(t)) \quad (5.4) \\ & \wedge \neg AG(t) \vee (FT(t) \wedge \neg AG(t) \wedge \neg PI(t)) \vee (LFY(t) \\ & \wedge \neg AG(t) \wedge \neg PI(t)) \vee (FT(t) \wedge \neg AG(t) \wedge \neg AP3(t)) \\ & \vee (LFY(t) \wedge \neg AG(t) \wedge \neg AP3(t)) \end{aligned}$$

$$EMF1(t+1) = \neg LFY(t) \quad (5.5)$$

$$LFY(t+1) = \neg EMF1(t) \vee \neg TFL1(t) \quad (5.6)$$

$$AP2(t+1) = \neg TFL1(t) \quad (5.7)$$

$$WUS(t+1) = WUS(t) \wedge (\neg AG(t) \vee \neg SEP(t)) \quad (5.8)$$

$$\begin{aligned} AG(t+1) = & (\neg EMF1(t) \wedge \neg TFL1(t) \wedge \neg AP2(t)) \vee \quad (5.9) \\ & (\neg EMF1(t) \wedge LFY(t) \wedge \neg AP1(t)) \vee \\ & (\neg EMF1(t) \wedge \neg AP2(t) \wedge LFY(t)) \vee \\ & (\neg EMF1(t) \wedge \neg TFL1(t) \wedge LFY(t) \wedge (AG(t) \\ & \wedge SEP(t))) \vee (\neg EMF1(t) \wedge (LFY(t) \wedge WUS(t))) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} PI(t+1) = & (LFY(t) \wedge (AG(t) \vee AP3(t))) \vee \quad (5.10) \\ & ((PI(t) \wedge SEP(t) \wedge AP3(t) \wedge (AG(t) \vee AP1(t))) \end{aligned}$$

$$SEP(t+1) = LFY(t) \quad (5.11)$$

$$\begin{aligned} AP3(t+1) = & (LFY(t) \wedge UFO(t)) \vee ((PI(t) \wedge SEP(t) \wedge \quad (5.12) \\ & AP3(t) \wedge (AG(t) \vee AP1(t))) \end{aligned}$$

$$UFO(t+1) = UFO(t). \quad (5.13)$$

# Bibliografía

- [1] Rosario Rodríguez Arnaiz et al.,. *Conceptos básicos de genética*, Cap. Mecanismos de la división celular. Mitosis y Meiosis. Las prensas de ciencias (2004).
- [2] <http://www.google.com.mx/imgres?q=ciclo+celular>
- [3] Scott Freeman y Jon C. Herron. *Análisis evolutivo*, Cap. Los mecanismos del cambio evolutivo. Prentice Hall (2002).
- [4] <http://www.google.com.mx/imgres?q=mitosis&num=10&hl=es&biw>
- [5] Mariana Esther Martínez Sánchez. Tesis de Licenciatura *Dinámica de la diferenciación de células Th: Modelación con redes booleanas*(2010).
- [6] <http://www.google.com.mx/imgres?q=meiosis+celular>
- [7] <http://www.google.com.mx/imgres?q=gen&hl=es&biw=1280&bih>
- [8] <http://www.google.com.mx/imgres?q=nucleotidos&hl=es>
- [9] <http://www.google.com.mx/imgres?q=empaquetamiento+>
- [10] <http://www.google.com.mx/imgres?q=methylation+dna>
- [11] <http://www.google.com.mx/imgres?q=replicacion+de+>
- [12] <http://www.google.com.mx/imgres?q=transcripcion+y+>
- [13] Nayelli Marsch Martínez y Stefan de Folter. *Arabidopsis thaliana: un pequeño gran genoma*. Genómicas (2010).
- [14] Pedro Fernández Nohales. Tesis Doctoral *Papel de la TERMINAL FLOWER1 en el control de la arquitectura vegetal. Análisis de los genes que regulan su expresión* (2011).

## BIBLIOGRAFÍA

---

- [15] Elena R. Alvarez-Buylla et al., *The Arabidopsis Book*, Ch. Flower Development, American Society of Plant Biologist (2010).
- [16] Yara Elena Sánchez Corrales. Tesis de Licenciatura *Revisitando el modelo de red de regulación genética que subyace la determinación de los órganos florales de Arabidopsis thaliana* (2009).
- [17] <http://es.wikipedia.org/wiki/Arabidopsis>
- [18] Richard A. Jorgensen. *A window on the Sophistication of Plants*. Science 333, 1103 (2011)
- [19] <http://www.ugr.es/mcasares/Organografia/Flor/Inflorescencias20texto.htm>
- [20] Luis Mendoza y Ioannis Xenarios. *A method for the generation of standardized qualitative dynamical systems of regular networks*. BioSystems, 84:101-114 (2006).
- [21] C. Gershenson. *Guiding the self-organization of random boolean networks*. Manuscript (2010).
- [22] Stefan Bornholdt. *Boolean network models of cellular regulation: prospects and limitations*. Journal of the Royal Society Interface (2008).
- [23] Carlos Villarreal et al. *A general theory of gene to phenotype mapping: derivation of epigenetic landscapes from N-node complex gene regulatory networks*. Physics Review (en revisión) 2012.
- [24] Jin Wang et al. *Quantifying the waddington landscape and biological paths for development and differentiation*. Proceedings of the National Academy of Sciences (2010).
- [25] Hermann Haken. *Synergetics. An introduction*. Springer-Verlag Berlin (1977).
- [26] Sudin Bhattacharya et al. *A deterministic map of Waddington's epigenetic landscape for cell fate specification*. BMC Systems Biology, 5:85 (2011).
- [27] Rafael A. Barrio et al. *Flower Development as an Interplay between Dynamical Physical Fields and Genetic Networks*. PlosOne, 5:10 (2010).
- [28] Elena R. Alvarez-Buylla et al. *From ABC genes to regulatory networks, epigenetic landscape and flower morphogenesis: Making biological sense of theoretical approaches*. ELSEVIER, 21:108-117 (2010).

- [29] Leon Glass y Stuart A. Kauffman. *The Logical Analysis of Continuous, Non-linear Biochemical Control Networks*. J. theor. Biol. (1972).
- [30] Leon Glass. *Classification of Biological Networks by their Qualitative Dynamics of Physics and Astronomy*. J. theor. Biol. (1975).
- [31] Martin Hoffman et al. *Noise Driven Stem Cell and Progenitor Population Dynamics*. PlosOne, 3:8 (2008).
- [32] Kuniyiko Kaneko. *Relationship among phenotypic plasticity, phenotypic fluctuations, robustness, and evolvability; Waddington's legacy revisited under spirit of Einstein*. J. Biosci 34:4 (2009).
- [33] Kuniyiko Kaneko. *On the Strength of Attractors in a High-dimensional System: Milnor Attractor Network, Robust Global Attraction, and Noise-induced selection* (1998).
- [34] Kuniyiko Kaneko. *Characterization of stem cells and cancer cells on the basis of gene expression profile. Stability, plasticity, and robustness*. Bioessays (2011).
- [35] René Thomas et al. *Dynamical behaviour of biological regulatory networks- I. Biological role of feedback loops and practical use of the concept of the concept of the loop-characteristic state*. ELSEVIER, 57:2 (1995).
- [36] Eugenio Azpeitia et al. *Single Cell and Coupled GRN models of Cell patterning in the Arabidopsis thaliana root stem cell niche*. PMC Systems Biology, 4:134 (2010).
- [37] Alessandro Di Cara et al. *Dynamic Simulation of regulatory networks using SQUAD*. BioMed Central (2007).
- [38] Jin Wang. *The Potential Landscape of Genetic Circuits Imposes the Arrow of Time in Stem Cell Differentiation*. Biophysical Journal, 99:29-39 (2010).
- [39] Joseph Xu Zhou et al. *Predicting Pancreas Cell Fate Decisions and Reprogramming with Hierarchical Multi-Attractor Model*. PlosOne, 6:3 (2011).
- [40] Elena R. Alvarez-Buylla et al. *Floral Morphogenesis: Stochastic Explorations of a Gene Network Epigenetic Landscape*. PlosOne 3:11 (2008).