

Resultats annexes al treball 1:

En aquest apartat es mostren dades que per motius d'espai limitat no es van incloure al treball 1, com l'anàlisi de Southern blot de les subunitats reguladores CK2 β de blat de moro i les seqüències nucleotídiques i aminoacídiques de les subunitats aïllades, CK2 β -1, CK2 β -2, CK2 β -3 i CK2 α -3.

I. Southern blot de les subunitats reguladores CK2 β de blat de moro.

Una vegada es disposava del cDNA complet de la subunitat CK2 β -1 es va realitzar un anàlisi de Southern blot per determinar si existia més d'una còpia d'aquest gen. 25 μ g de DNA genòmic de blat de moro es van digerir amb els enzims de restricció EcoR I, Xba I i Sac I, es van separar en un gel d'agarosa 0.8% i es va transferir a una membrana de niló amb solució desnaturalitzant, segons el mètode descrit per Southern, (1975). Com a sonda es va utilitzar el cDNA complet de CK2 β -1 i es van realitzar rentats a alta astringència de sal (0.1% SSC, 0.1% SDS). El resultat obtingut indica que CK2 β -1 forma part d'una família multigènica de com a mínim tres gens.

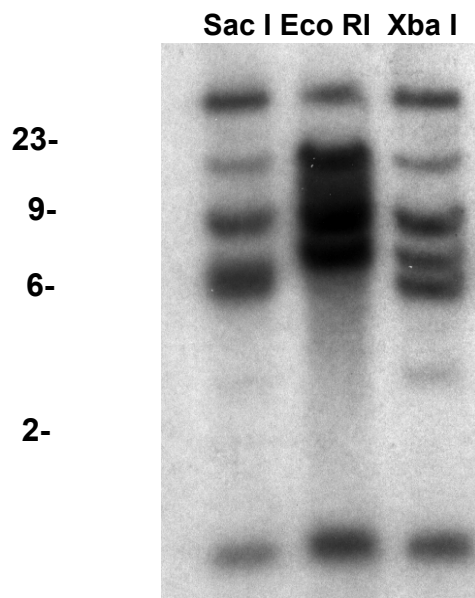


Figura 1: Southern blot realitzat utilitzant com a sonda la subunitat CK2 β -1 de blat de moro. 25 μ g de DNA genòmic de blat de moro digerit amb els enzims de restricció EcoR I, Xba I i Sac I i hibridat utilitzant el cDNA complet de CK2 β -1 com a sonda.

II. Seqüències nucleotídiques i aminoacídiques de les subunitats CK2 β -1, CK2 β -2, CK2 β -3 i CK2 α -3 de blat de moro.

El cDNA corresponent a la subunitat CK2 β -1 de blat de moro presenta 1330 pb. El codó d'inici de la traducció esta situat a la posició 208. El marc obert de lectura és de 830pb i codifica per una proteïna de 276 aminoàcids, 30.5kDa i pI=5.16. (numero d'accés: AF239816)

1	GGCAGAGCGCCCGGTACTGCTCCCTTCTCTCGTTGCTCCGCCCTTTTGTGCTCG	60
61	CGTCTCTCTCGAGGCTCGGCAGTCCGGCACGAGGACGCGCATCCCCGCACCGCTCAC	120
121	CTCCTTCTCCAAACTGACTCCGCTTCCCGTCCCATCCCGCTGCGCAAGATCGGGAGG	180
181	GGACGAAGAGAGGTGACCGGGAGGAGATGCACCGAGACCGAGGCGTCTCTGCGCAGCG	240
241	ATACCCGGTGACCGGAAGCGGATCGGCGAGCCTATGGACAGATCGTCTCCATCTACGTCG	300
	<u>M D R S S P S T S</u>	
301	TGGGGGTTTCTCCGGAGGGCGCGAGAAGGAGCGGATCGGCGTGGGCAAGCAGCCGGAGATG	360
	<u>W G F S G G R E K E R I G V G K Q P E M</u>	
361	CCTCGCTCCGGCGGGATCCACCGCCATGTCCAAGAGCAAGCTCTCTGACGCAGAATCA	420
	<u>P R S G G G S T A M S K S K L S D A E S</u>	
421	GAAACTGACAGCGAAGAATCAGATGTGAGTGGTTCTGATGGGGAAGATACTTCGTGGATT	480
	<u>E T D S E E</u> S D V S G S D G E D T S W I	
481	TCATGGTTCTGTAGCTTAAAGGGCAATGAATTTTTCTGTGAGGTTGATGACTACATA	540
	S W F C S L K G N E F F C E V D D D Y I	
541	CAAGATGATTTCAACCTCTGTGGGCTAAGCAACCAAGTTCCATATTATGACTATGCACTT	600
	Q D D F N L C G L S N Q V P Y Y <u>D Y A L</u>	
601	GATCTGATATTAGATGTTGAATCTTCCCATGGTGATATGTTGACAGAAGAGCAAAATGAA	660
	<u>D L I L D V E S S H G D M L T E E Q N E</u>	
661	CTTATTGAATCAGCTGCTGAGATGCTCTATGGATTGATTGATGTTTCGGTATATTATTACA	720
	L I E S A A E M L Y G L I H V R Y I I T	
721	AGTAAAGGGCTGTCCGCAATGCTGGATAAGTACAGGAACGTTGAGTTCGGCAGATGCCCT	780
	S K G L S A M L D K Y R N V E F G R <u>C P</u>	
781	CGAGTGAATGTCAGCGGCCAACCATGCCCTTCCCTGTTGGGCAATCGGATGTTCTCGTTCA	840
	<u>R V N C S G Q P C L P V G Q S D V P R S</u>	
841	AGTACGGTGAAGATTTACTGCCCTAGATGTGAAGACATCTACACTCCAAGATCCAAATAT	900
	<u>S T V K I Y C P R C</u> E D I Y T P R S K Y	
901	CTAAGCAACATCGACGGGACTTACTTTGGGACAACATTCGCCACTTGTTCCTGATGACA	960
	L S N I D G T Y F G T T F P H L F L M T	
961	TACCCGCATTTGAAGCCCCAGAAGCCGCTGCAGCAATACGTTCCAGGGTATTTGGGTTTC	1020
	Y P H L K P Q K P L Q Q Y V P R V F G F	
1021	AAAATCCGTAAGCCATGACAAATTTGAAGGTTGAATGTATAAAAGGTTCAAATAGCGCCC	1080
	K I R K P *	
1081	TGTTATCTGCTGGCCCCGAGTGTTCACACGACCGTCATCGGAATACACCTGACCCGCG	1140
1141	GCTGACCTCCCTAGTCTGGTTCTTGCTCTGGCTGAAATCTGATTGATGCTTGTGGTTT	1200
1201	GTTTAGCCTAGTGAATCAATCCATATTTTTTTACGATCATACGTATTATGGCTTTAATGG	1260
1261	TTTAAACACCATCTATATTTTTTGTGGCACGGTTCATATTCGTTTTTACTCCGGAAAAA	1320

Figura 2: Seqüència nucleotídica i aminoacídica de la subunitat CK2 β -1 de blat de moro. S'ha senyalat el domini N-terminal (vermell), la zona acidica (blau) i el domini de dit de zinc (verd).

El cDNA corresponent a la subunitat CK2 β -2 de blat de moro presenta 1088 pb. El marc obert de lectura codifica per una proteïna de 260 aminoàcids, 29.5 kDa i pI=4.8. (numero d'accés: AF239817)

```

1 GCACGAGCCGTTCTGCGAGGCTCTCGGCAGCGGATAACTCAACCTGTCGCGCAAGGATCG 60
61 GGGGAGAGAAACCAGCGGCAACTTACGTGGATCGGGGTGTTTGGTGTCTGCTGCGGCGGC 121
    M D R K R I K D A L E K H L E R S S
121 CCGTCTACCTCCAGGGGCGTGTGTCCAAGGAGAGGGAGCGCCTCGCTGCCGGGAAGCTG 180
    P S T S R G V V S K E R E R L A A G K L
181 CCGTCTGCTGTTGGCAAGGGGAGGTGTCTGATGGTGAGGAATTTGAAACTGACAGTGAA 240
    P S S L G K A E V S D G E E F E T D S E
241 GATTCTGATGTGAGTGGTTCCGAGGGAGAGGACACGTCCTGGATTTTCATGGTTCTGTACA 300
    D S D V S G S E G E D T S W I S W F C T
301 TTGCGAGGCAATGAATCTTTTGTGAGATCGATGATGACTATATACAGGATGATTTAAC 360
    L R G N E F F C E I D D D Y I Q D D F N
361 CTGTGTGGTCTGAGTAATCAGGTGCCATATTATGATATGCACTTGATCTCATCTTAGAC 420
    L C G L S N Q V P Y Y D Y A L D L I L D
421 ATTGAGTCTTCTAATGATGACGGATTTACCGAGGAGCAAAATGAACTAATCGAGTCGTCT 480
    I E S S N D D G F T E E Q N E L I E S S
481 GCAGAGATGCTGTACGGTTTAAATTCATGCACGATACATTTTAAACCAGCAAGGGTCTAGCT 540
    A E M L Y G L I H A R Y I L T S K G L A
541 GCAATGTTGGAGAAGTTCAAGAACTATATGACTTTGGTAGATGCCCCAGGGTGTACTGC 600
    A M L E K F K N Y Y D F G R C P R V Y C
601 TGTGGCCAGCCCTGCCTTCCAGCAGGGCAATCAGATGTTCTTAGATCGAGCACGGTGAAG 660
    C G Q P C L P A G Q S D V P R S S T V K
661 ATATATGTCCAAAATGCGAAGAACTTAACTATCCAAGATCCAAGTACCAAGGCAACATC 720
    I Y C P K C E E L N Y P R S K Y Q G N I
721 GATGGATCATACTTTGGGACGACATTCCTCATCTTTTCTGATGACTTATCCGCACTTG 780
    D G S Y F G T T F P H L F L M T Y P H L
781 AAGCCGCAGAAGCCGTCACAGCAATACACTCCAAGGGTTTTTCGGCTTCAAACCTCACAAG 840
    K P Q K P S Q Q Y T P R V F G F K L H K
841 CCGTCATGACAGATTTGTAGCTTCCGCCAGAAGCACCCCTGTCACCTAGGTTTTAGGGAG 900
    P S *
901 AGCATCGTGCCCTTCAAATACTGTTGTACTATTGATGTACGAATTCGCGAGCTTGGGCCT 960
961 CGCTGTAAACTATTGTGAAATGTATCTGTTTTCCGATATTATTACTGTTGTGTANCCCTT 1020
1021 TTCTCTAAAAAA 1088

```

Figura 3: Seqüència nucleotídica i aminoacídica de la subunitat CK2 β -2 de blat de moro. S'ha senyalat el domini N-terminal (vermell), la zona acidica (blau) i el domini de dit de zinc (verd).

El cDNA corresponent a la subunitat CK2 β -3 de blat de moro presenta 1482 pb. El marc obert de lectura codifica per una proteïna de 273 aminoàcids, 30.5 kDa i pI=5.4. (numero d'accés: AF239818)

Resultats

```

1   GGCACGAGCTCCCCCAGGCTCCTCTCCTCGCTTTCCCTCCACCCCGGGCGCAAACCT    60
61  AACCCCTACCGTCGCTCGCCCCGCGCGTCTGCCAATGGCGCGCCCGTGTGAGTGTGCGC    120
121 GAGAGAGGGGTAGACCTTGAGGCCGTACCCGGGGAGGAGCGAGAGATGTATAAACAG    180
      M Y K Q

181  GGGGGAGCGGGGGAGGGGCTGGGCTGGACCGGAAGCGGATCAACGACGCGCTGGATAAG    240
      G G A G G G A G L D R K R I N D A L D K

241  CATCTCGAGAAGGCGGTGCGCTCGCCGTCCACGTGAGGGGGTCCGGCGGGCGGGCGGC    300
      H L E K A V A S P S T S R G S A G G G R

301  GACCACCACCGCTCGTGTGCCGTCTCCGTGTCGTCATCCCCAAGGGCCGCTGCTCC    360
      D H H R L V V P S S V S S I P K G R C S

361  GAAGGGGAGTCTGATTCTGATAGTGAAGCATCGGATGTTAGCGGCTCTGATGGAGAAGAC    420
      E G E S D S D S E A S D V S G S D G E D

421  ACCTCATGGATTTTCATGGTATTGCAACTTAAGAGGGAATGAGTTCTTCTGTGAAGTCGAC    480
      T S W I S W Y C N L R G N E F F C E V D

481  GATGATATATATCAAGACGACTTCAACCTTTTGGTCTCAGCAGCCAAGTTCCTTATTAT    540
      D D Y I Q D D F N L C G L S S Q V P Y Y

541  GATTATGCTCTCGATCTCATTTTAGATATCGAGTCATCTCATGGTGATATGTTCACTGAG    600
      D Y A L D L I L D I E S S H G D M F T E

601  GAACAAAATGAGCTCGTAGAATCAGCTGCAGAGATGCTTTATGGGCTGATCCATGCACGA    660
      E Q N E L V E S A A E M L Y G L I H A R

661  TACATTCTGACCAGTAAAGGGCTGGCTGCAATGCTGGAGAAGTATAGGAACATGACTTT    720
      Y I L T S K G L A A M L E K Y R N Y D F

721  GGGCGGTGCCCGGTGTTTACTGCTGTGGTCAACCATGCCTGCCAGTTGGACAATCAGAC    780
      G R C P R V Y C C G Q P C L P V G Q S D

781  ATCCATCGATCTAGTACCGTGAAGATATACTGCCCAAGTGTGAAGACATCTACTACCCA    840
      I H R S S T V K I Y C P K C E D I Y Y P

841  CGGTCCAAGTACCAAGGCAACATCGACGGCGCATACTTTGGGACAACGTTCCCTCATCTG    900
      R S K Y Q G N I D G A Y F G T T F P H L

901  TTCCTGATGACATACGAGCACCTCAAGCCACAGAAGCTCTCGCAGCGCTATGTTCCCTCGT    960
      F L M T Y E H L K P Q K L S Q R Y V P R

961  GTCTTTGGCTTCAAGCTCCACAAGCCATGAACCTCATGTATTTGCTTTTTAAACTCCTCA    1020
      V F G F K L H K P *
1021 AGACGTGGCACTGGGGCATGCGGGAGTTTTCGAATCCTTGAAGACTTGCATATAAGAGC    1180
1181 GCCATTGGCAGGTCAGTGGATTGGTAAAATTCATATCATGCTGCAGCGTGTGTACCTTA    1240
1241 GCTGGCTGGCACCTATCCAACATTTGAATGTAGCTCTAAGGATATCAATGTTGTAACCTA    1300
1301 ACTGCTATTGTCTTTGATTAGTAAACCAGGAGCCCCCTACAATGTAGAATATGGCAA    1360
1361 TTATTTATGGCTTTGCAGAAAATAACAACCCCTTCATCTGCTTGGTTCTCGTAAGATGGCC    1420
1421 CTTTAAATTTTGTAGTTTGCGAACCTTCTATTTTGAAATGTGATTTGCAAAGGTGCGTCATC    1480
1481 TCAAAA    1482

```

Figura 4: Seqüència nucleotídica i aminoacídica de la subunitat CK2 β -3 de blat de moro. S'ha senyalat el domini N-terminal (vermell), la zona àcida (blau) i el domini de dit de zinc (verd).

El cDNA corresponent a la subunitat CK2 α -3 de blat de moro presenta 1624 pb. El marc obert de lectura codifica per una proteïna de 332 aminoàcids, 39.3 kDa i pI=8.6 (numero d'accés: AF239819)

```

1   AGCGAAAGTTGAAACCCCTAGCCCCGCTCACCGCCGGTGGTGGCAGCCTCAGCACCG   60
61  GCACACAGCCCGCCGTACCTCTCCTCGTACGCTCCCTCCCGGTGTGCCGTCGCCCCCTCG   120
121 ACCGGTCCATCGTTCGTTCGGCTCGGTAGCCGCCGATCGGGATCGGCCGGCCCATGTCC   180
      M S

181 AAGGCCAGGGTCTACACCGACGTCAACGTGCTGCGCCCCAAGGAGTACTGGGACTACGAG   240
      K A R V Y T D V N V L R P K E Y W D Y E

241 GCGCTACCCGTTCAATGGGGTGGAGCAGGATAACTATGAAGTTGTTAGGAAAGTTGGGAGA   300
      A L T V Q W G E Q D N Y E V V R K V G R

301 GGGAAATACAGTGAAGTCTTTGAGGGTATTAATGTTAACAATAATGAGAAATGCATCATT   360
      G K Y S E V F E G I N V N N N E K C I I

361 AAGATCCTCAAGCCTGTGAAGAAAAAGAAGATCAAAAGAGAAATTAATAATTCTTCAGAAT   420
      K I L K P V K K K K I K R E I K I L Q N

421 CTTTATGGAGGCCCTAACATTGTGAAGCTGCTTGATATTGTAAGAGATCAACATTCAAAA   480
      L Y G G P N I V K L L D I V R D Q H S K

481 ACACCAAGCTTGATCTTTGAGTATGTCAACAACACAGATTTCAAAGTGTGTACCCGACA   540
      T P S L I F E Y V N N T D F K V L Y P T

541 CTAACAGATTATGACATTCGATATTACATCTACGAGTTACTGAAGGCATTAGATTACTGC   600
      L T D Y D I R Y Y I Y E L L K A L D Y C

601 CATTACAAGGTATTATGCACCGAGATGTGAAGCCCCACAATGTTATGATAGATCACGAG   660
      H S Q G I M H R D V K P H N V M I D H E

661 CTTGCGAAACTCCGGCTGATAGACTGGGGCCTTGCTGAATTCTATCATCCTGGCAAGGAA   720
      L R K L R L I D W G L A E F Y H P G K E

721 TATAATGTCGGTGTGCCTCCAGGTAAGGCTCAAGGCTCCTGAGCTTCTTGTGACTTGCAA   780
      Y N V R V A S R Y F K G P E L L V D L Q

781 GATTATGATTACTCTCTGGACATGTGGAGTCTGGGCTGCATGTTTGCTGGAATGATTTTT   840
      D Y D Y S L D M W S L G C M F A G M I F

841 CGTAAGGAGCCATTTTTTTACGGTCATGACAACCATGATCAACTTGTTAAGATAGCCAAG   900
      R K E P F F Y G H D N H D Q L V K I A K

901 GTACTTGGAACAGATGGGCTGAATGTCTATTTGAACAAGTACAGAATTGAGCTTGACCCT   960
      V L G T D G L N V Y L N K Y R I E L D P

961 CAGCTCGAAGCCCTTGTGGAAAGCATAGCAGGAAACCCTGGACAAAGTTTATTAATGCA   1020
      Q L E A L V G R H S R K P W T K F I N A

1021 GACAACCAACACCTAGTGTCTCATGAGGCCATAGATTTTCTCGACAAGCTTTTGC GTTAT   1180
      D N Q H L V S H E A I D F L D K L L R Y

1181 GATCATCAGGACAGGCTTACTGCACGTGAAGCTATGACACACCATACTTCCAACAAGTG   1240
      D H Q D R L T A R E A M T H P Y F Q Q V

241 AGGGCTGCAGAGAACAGCACGACGCGGGCATGAGAGGCCAAAGACCAAGACTGGTGCTA   1300
      R A A E N S T T R A *

1301 ACCCTGGATCAGATCATCTGCTCTGGTGGAGCCATGCTCTTACCAGTGACTTGCTTCAG   1360
1361 TCGTATGTGATGAATAGTGGTTTGGGGTTTACTTGGCAAAAACAACAGGTAGCTATGG   1420
1421 CGCCTGTTGTGCCCTTAACCGCGTCGAGACGTGACTGAATTACTCAGGTCATCGGCTTGT   1480
1481 GGGACGTGATTGCGAACGAGATTATTCATGTAAGATGTTTGTGATAAAAAGGTTGTCGTTG   1540
1541 GCTGATTGTCTGCTTGTATTGTTGAGCTTGTAAGAATATCCAACATTTGTTTGGACTT   1600
1601 CATCGAGCTCTCCAGGTTTATTTAAA   1624

```

Figura 5: Seqüència nucleotídica i aminoacídica de la subunitat CK2 α -3 de blat de moro. S'ha senyalat el domini d'unió a ATP (vermell) i el domini bàsic (blau).