

CONCLUSIONS ESPECÍFIQUES

- 1- Les metal·lotioneïnes MtnA, MtnB, MtnC i MtnD de *Drosophila melanogaster* presenten cert grau d'especialització en la seva funció d'enllaç de metalls, encara que totes són Cu-tioneïnes. MtnA està optimitzada per a la coordinació de Cu(I), mentre les tres restants isoformes ho estan per a la unió de metalls divalents.
- 2- Les isoformes MtnC i MtnD de *D.melanogaster* són menys eficaces que MtnB, de la qual semblen derivar per duplicació/mutació. Les característiques de coordinació metàl·lica de les 4 isoformes de MT de *D.melanogaster* es correlacionen perfectament amb els fenotips de sensibilitat a intoxicació per metall dels respectius *knock-outs*, així com amb els patrons d'inducció gènica dels respectius gens per nivells elevats dels diferents metalls estudiats (Zn, Cd, Cu).
- 3- La MT SpMTA de l'equinoderm *S.purpuratus* presenta característiques de Cu-tioneïna. El seu comportament coordinant és compatible amb la seva especialització en l'homeòstasi de metalls fisiològics en l'eriçó de mar, abans que un paper detoxificador de metalls tòxics (p.e.:Cd(II)).
- 4- La MT MT-10-IV del mol·lusc bivalve *M.edulis* ha estat classificada com una Zn-tioneïna, amb una clara especificitat per aquest metall. Aquests resultats estan d'acord amb el seu possible paper en homeòstasi de metalls que els patrons d'inducció dels gens Mt en el músculo suggereixen.
- 5- La MT CeMT2 del nematode *C.elegans* presenta preferències de coordinació de Zn, atribuïbles de manera inequívoca a la presència d'una residu histidina en el seu extrem C-terminal.
- 6- La MT TpMT1 del protozou ciliat *T.pyriformis* és una Zn-tioneïna amb una excepcional capacitat quelatant d'ions divalents (11 ions/MT). Les seves preferències de coordinació es corresponen amb l'especialització que suggereixen els patrons d'inducció dels gens Mt descrits en aquest gènere.
- 7- La MT QsMT de *Q.suber*, una típica MT de planta fanerògama, és capaç d'actuar com a agent detoxificant de Cd i Cu en cèl·lules de llevat transformades, propietat per a la qual és indispensable la presència de la seva regió espaïadora, que no conté cisteïnes.
- 8- Els nostres resultats recolzen la hipòtesi d'un plegament en forma de pinça per a QsMT, amb els tres metalls estudiats, Zn, Cd i Cu, i la participació de l'espaïador en l'estructuració dels agregats amb Zn i Cd, però no amb Cu.

CONCLUSIONS GENERALS

- 9- Els pèptids MT de longitud reduïda presenten de manera global, caràcter de Cu-tioneïna, però necessiten com a mínim 7 Cys en constituir agregats metàl·lics estables i monomèrics, en un entorn fisiològic.
- 10- El possible caràcter de Zn-tioneïna s'estableix en polipèptids que inclouen 9 o més cisteïnes. Això no pressuposa que totes les MT amb aquestes característiques siguin Zn-tioneïnes.

- 11- No hi ha cap relació unívoca entre els patrons en què es disposen les cisteïnes en la cadena polipeptídica d'una MT (aïllades o en doblet) i la seva preferència de coordinació metàl·lica, encara que, com a regla general, els doblets es presenten com a una característica adquirida en l'evolució, així com ho sembla ser el caràcter de Zn-tioneïna. La presència de triplets de Cys no sembla tampoc condicionar el caràcter de Zn- o Cu-tioneïna d'una MT.
- 12- La presència d'histidina en la seqüència d'una MT juga sempre un paper clau en les seves propietats coordinants, bé sigui participant en l'estructuració del corresponent agregat (Cd-QsMT), promovent processos de dimerització (*C.elegans*) o determinant el caràcter de Zn- o Cu-tioneïna (*C.elegans*).
- 13- Al llarg de tota l'escala filogenètica sembla que les MT han explotat diverses característiques d'estructura primària per a produir pèptids que exhibeixen propietats coordinants assimilables a Zn- o Cu-tioneïnes, encara que provinguin de seqüències diferents (origen polifilètic de les MT).
- 14- Es compleix com a regla general que la funció molecular d'una MT, entesa com el seu caràcter de Zn- o Cu-tioneïna o de preferència de coordinació metàl·lica, es correspon amb la seva possible funció fisiològica, si aquesta és deduïda a partir dels patrons d'inducció dels seus gens (resposta a inducció per un o altre metall).
- 15- Totes les MT estudiades en aquesta tesi inclouen ions sulfur com a lligands en els seus agregats amb metalls divalents, obtinguts de manera recombinant. El contingut de S^{2-} /MT depèn del metall considerat (Cd>Zn>Cu) i de la MT estudiada. Excepte en QsMT, la presència d'ions sulfur no incrementa la capacitat coordinant de les MT, si bé es disposa de dades suficients que evidencien que aquests participen en la coordinació metàl·lica (resultats d'espectroscòpies de DC i Raman).
- 16- La presència de S^{2-} en els agregats Metall-MT apropa les característiques de les MT a aquelles descrites fins ara per a les nanopartícules tipus *crystallites* presents en els agregats metall- S^{2-} -fitoquelatines. La presència de sulfur en agregats metall-MT obre grans expectatives en quant a la funcionalitat d'aquestes metal·loproteïnes i la seva possible aplicació en els camps biomèdic i biotecnològic.