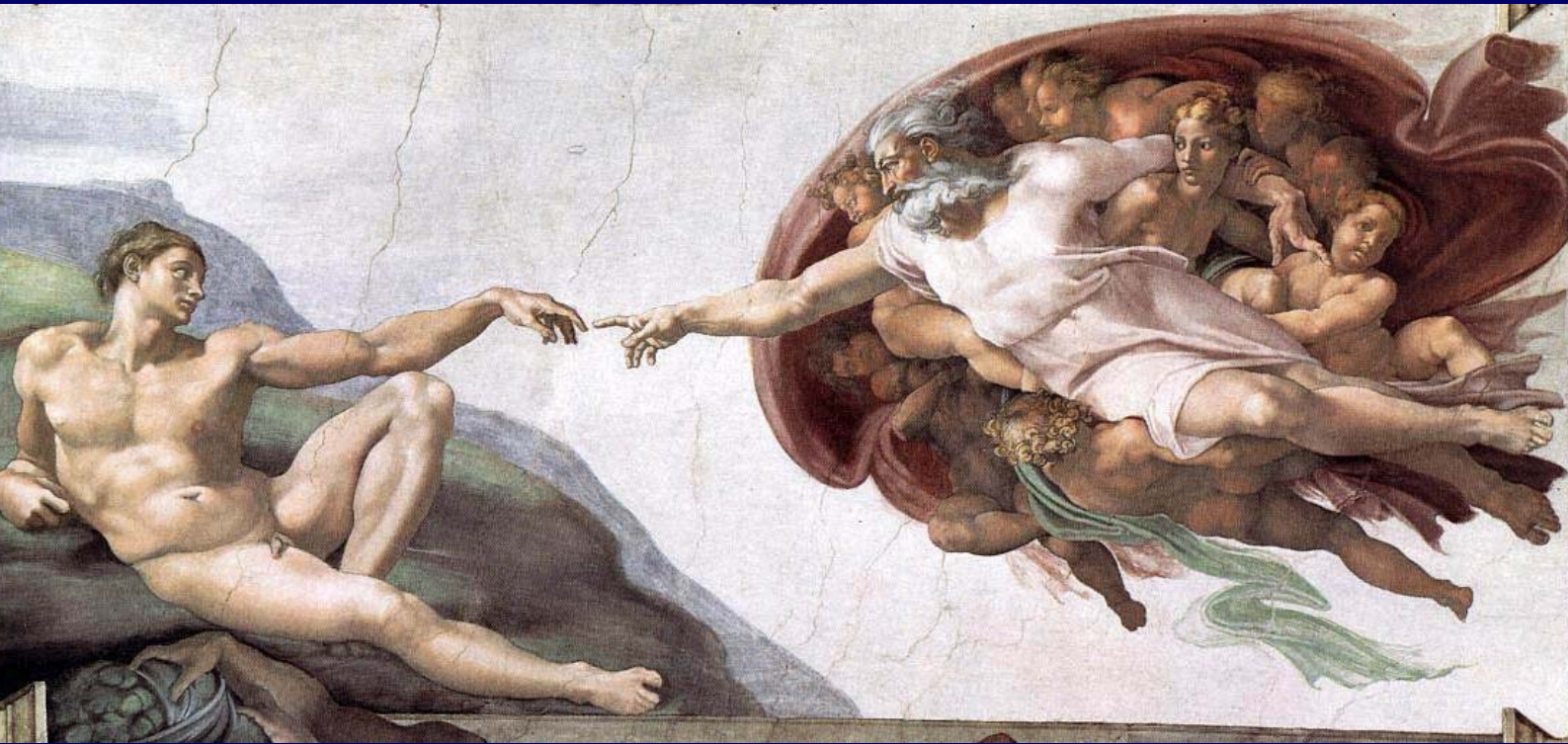


UNIVERSITAT DE BARCELONA

Departament de Biologia Cel·lular

**EXPRESSIÓ DE LA ZAC1 DURANT EL
DESENVOLUPAMENT DE RATOLÍ. PAPER DE LA ZAC1
EN EL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL**



Tony Valente

Barcelona 2005

**UNIVERSITAT DE BARCELONA
FACULTAT DE BIOLOGIA
DEPARTAMENT DE BIOLOGIA CEL·LULAR**

**EXPRESSIÓ DE LA ZAC1 DURANT EL DESENVOLUPAMENT DE RATOLÍ.
PAPER DE LA ZAC1 EN EL SISTEMA NERVIÓS CENTRAL**

Memòria presentada per el Llicenciat en Bioquímica **Tony Valente** per optar al grau de Doctor en Bioquímica.

Aquesta tesi s'ha inscrit dins del programa de doctorat de Biologia Cel·lular, bienni 2000-2002, de la Universitat de Barcelona. El treball experimental i la redacció de la present memòria han estat realitzats sota la direcció de la **Dra. Carme Auladell**, Professora Titular del Departament de Biologia Cel·lular de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona.

Barcelona, 11 de Febrer del 2005.

Vist i plau del Director de la Tesi,

El Doctorant

Dra. Carme Auladell

Tony Valente

**Si un ser humano es libre
cuando piensa, cuando imagina, cuando fantasea,
dando existencia a las cosas que no existen,
no hay gobernante, no hay reformador
que pueda ponerle frenos**

H. D. Thoreau, 1848

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
Capítulo 1 – Sistema Límbico	3
1.1. Amígdala	5
1.1.1. Organización	5
1.1.2. Conexiones y funcionalidad	6
1.2. Bulbo Olfativo	6
1.2.1. Organización	6
1.2.2. Conexiones y funcionalidad	7
1.3. Formación Hipocámpica	8
1.3.1. Organización	8
1.3.2. Conexiones y funcionalidad	9
1.4. Hipotálamo	10
1.4.1. Organización	10
1.4.2. Conexiones y funcionalidad	12
1.4.2.1. Conexiones aferentes	12
1.4.2.2. Conexiones eferentes	13
1.4.3. Sistema tuberoinfundibular hipotalámico	13
1.4.4. Tracto neurohipofisial hipotalámico	14
Capítulo 2 – Desarrollo del SNC	15
2.1. Inducción de la placa neural y segmentación del SNC	15
2.2. Proliferación neural, precursores y determinación neural	19
2.3. Migración neuronal	21
2.4. Diferenciación y crecimiento de axones y dendritas	22
2.5. Sinaptogénesis	23
2.6. Muerte neuronal (apoptosis)	24
2.6.1. Implicación de los miembros de la familia Bcl-2 en la apoptosis embrionaria	26
2.6.2. Implicación de las caspasas y de la Apaf-1 en la apoptosis embrionaria	27
2.6.3. Implicación del AIF en la apoptosis embrionaria	28
Capítulo 3 – Desarrollo del Sistema Límbico	29
Capítulo 4 – Neurogénesis en el Cerebro Adulto	31
4.1. Neurogénesis en el sistema olfativo	33
4.1.1. Células madre en la SVZ	33
4.1.2. RMS	34
4.2. Neurogénesis en el giro dentado	37
4.3. Regulación de la neurogénesis en el cerebro adulto	38
Capítulo 5 - <i>Zac1</i>, el nuevo <i>imprinting gene</i>, que regula la apoptosis y el paro del ciclo celular	43
5.1. Características estructurales y expresión de <i>Zac1/ZAC</i>	43
5.2. <i>Splicing</i> alternativo y familia de proteínas <i>zinc-finger</i> relacionadas con <i>Zac1/ZAC</i>	46
5.3. Actividad anti-proliferativa de <i>Zac1</i>	48

5.4. <i>Zac1</i> como potencial gen supresor tumoral	50
5.5. Actividades transcripcionales de <i>Zac1</i>	54
5.6. Co-activación de p53 y relación con la vía apoptótica mitocondrial mediada por p53/Apaf-1	56
5.7. Genes inducidos o que interactúan con <i>Zac1/ZAC</i>	57
5.7.1. PACAP y PACAP-R1	57
5.7.2. Receptores nucleares	59
5.8. Diabetes mellitus neonatal transitoria (TNDM)	61
OBJETIVOS	67
RESULTADOS	71
Capítulo 1 - Expression pattern of <i>Zac1</i> mouse gene, a new zinc-finger protein that regulates apoptosis and cellular cycle arrest, in both adult brain and along development.	73
Capítulo 2 - <i>Zac1</i> is expressed in progenitor/stem cells of the neuroectoderm and mesoderm during embryogenesis. Differential phenotype of the <i>Zac1</i> -expressing cells during development.	81
Capítulo 3 - <i>Zac1</i> is up-regulated in neural cells of the limbic system of mouse brain following seizures that provoke strong cell activation.	121
Capítulo 4 - <i>Zac1</i> , a new anti-proliferative zinc finger protein, is required for neural progenitors differentiation towards restrict interneurons and glial cells.	137
RESUMEN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	177
Capítulo 1 - Expresión de <i>Zac1</i> y caracterización de las subpoblaciones celulares <i>Zac1</i>-positivas durante el desarrollo neural	179
<i>1.1. Patrón de expresión de <i>Zac1</i></i>	179
1.2. Expresión de <i>Zac1</i> en las células madre/progenitoras	180
1.3. Expresión de <i>Zac1</i> en las interneuronas GABAérgicas	183
Capítulo 2 - Expresión de <i>Zac1</i> durante la formación y el desarrollo del esqueleto y del músculo esquelético. Caracterización de las células <i>Zac1</i>-positivas durante la embriogénesis.	185
2.1. Expresión de <i>Zac1</i> durante la condrogénesis	185
2.2. Expresión de <i>Zac1</i> durante la miogénesis	187
Capítulo 3 - Regulación de la expresión de <i>Zac1</i> en modelos convulsivos	189
3.1. Inducción de <i>Zac1</i> en el sistema límbico	189
3.2. Inducción de <i>Zac1</i> en células gliales	191
3.3. <i>Zac1</i> en el daño neuronal	192
Capítulo 4 - La proteína anti-proliferativa <i>Zac1</i> está implicada en la determinación neural, en la mielinización axonal y en la resistencia al daño neuronal	195
4.1. Fenotipo del cerebro adulto del ratón mutante para <i>Zac1</i>	195

4.2. Zac1 regula la proliferación en los nichos germinativos del cerebro adulto	196
4.3. Zac1 en la diferenciación de los progenitores neurales	196
4.4. Papel de la Zac1 en el daño neuronal	199

CONCLUSIONES	201
---------------------	------------

BIBLIOGRAFIA	205
---------------------	------------

Abreviaturas

ACTH, hormona adrenocorticotrófica
AIF, factor inductor de la apoptosis
AK, ácido kaínico
Apaf1, *apoptotic protease-activating factor-1*
Bcl, *cell lymphoma/leukaemia*
BDNF, *brain-derived neurotrophic factor*
bHLH, *basic helix-loop-helix transcription factors*
BL, núcleo amigdalino basolateral
BMPs, *bone morphogenetic proteins*
BrdU, bromodeoxiuridina
BST, *bed nucleus of the stria terminalis*
CBP, *CREB-binding protein*
Cdk, quinasas dependientes de ciclina
Ce-M, núcleo amigdalino centromedial
CFR, *corticotropin-releasing factor*
CNTF, *ciliary neurotrophic factor*
CREB, *cAMP-response element binding*
E, ácido glutámico
Emx, homeobox genes
ERKs, quinasas reguladas por señales extracelulares
EGF, factor de crecimiento epidermal
EGFR, receptor del factor de crecimiento epidermal
EGL, capa granular externa del cerebelo
FGF, factor de crecimiento fibroblástico
FORSE, *forebrain-surface-embryonic antibody*
FSH, hormona folículo-estimulante
GABA, ácido gammaaminobutírico
GAD, *glutamic acid decarboxylase*
GFAP, glial fibrillary acidic protein
GH, hormona de crecimiento
Gln, glutamina
Glu, ácido glutámico
GRIP1, *glucocorticoid receptor interacting protein-1*
Hes, enhancer of split
IC, imprinting centres
IG, imprinting genes
IGF, factor de crecimiento insulínico
IGI-1, factor de crecimiento insulínico del tipo 1
JNK, quinasas activadas por anisomicina
L, leucina
LH, hormona luteinizante
LHRH, *luteinizing hormone-releasing hormone*
LIF, *leukemia inhibitory factor*
LOT or lot1, *loss in transformations*

M, metionina
MBP, *myelin basic protein*
MAP2, *microtubule-associated protein*
MAPKs, *mitogen-activated protein kinase*, también llamadas ERKs
Mash1, *mammalian achaete-scute homologue 1*
Mfb, *medial forebrain bundle*
MK-801, dizocilpine
NCAM, *neural cell adhesion molecule*
NGF, factor de crecimiento nervioso
NMDA, N-metil-D-aspartato
NPY, neuropéptido Y
NT-3, neurotrofina 3
OB, bulbo olfativo
P, prolina
PACAP, *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide*
PACAP_{1-R}, *pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide receptor*
Pax, *paired box*
PCNA, *proliferating cell nuclear antigen*
PET, tomografía con emisión de positrones
PKC, proteína quinasa C
PLAG, *pleomorphic adenoma gene*
PLAGL1, *pleomorphic adenoma gene like 1*
PRL, prolactina
PSA-NCAM, *polysialylated form of the neural cell adhesion molecule*
PTZ, pentylenetetrazol
Q, glutamina
RB, retinoblastoma
RMS, *rostral migratory stream*
S100B, astrogial protein
SAPKs, proteínas quinasas activadas por stress
SGZ, zona subgranular
SN, sistema nervioso
SNC, sistema nervioso central
Shh, sonic hedgehog
Sox, *Sry-like high-mobility group box*
SVZ, zona subventricular
TGF- α , factor de crecimiento transformante alfa
TH, tirosina hidroxilasa
TNDM, diabetes mellitus neonatal transitoria
TSG, genes supresores tumorales
TSH, hormona tiroide-estimulante
VIP, *pleomorphic adenoma gene*
VZ, zona ventricular
Wnt, *wingless-type proteins*
ZF, *zinc-finger*