



CERKL, generació d'un model *knockout* de retinosi pigmentària i estudis funcionals

Alejandro Garanto Iglesias

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tdx.cat) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tdx.cat) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tdx.cat) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

CERKL, generació d'un model *knockout* de retinosi pigmentària i estudis funcionals

Memòria presentada per
Alejandro Garanto Iglesias

Per optar al grau de
Doctor

Tesi realitzada sota la direcció
de la Dra. Roser González Duarte i de la Dra. Gemma Marfany Nadal
al Departament de Genètica de la Facultat de Biologia
Universitat de Barcelona
Programa de Genètica (Bienni 2006-2008)

Roser González

Gemma Marfany

Alejandro Garanto

Barcelona, Juny de 2011

Objectius

OBJECTIUS

La retinosi pigmentària és una malaltia heterogènia causada per mutacions en més de 50 gens. Aquest fet complica la seva diagnosi i les possibles teràpies, atès que cada gen juga un paper diferent en la retina, tot i que, al final, les mutacions en cadascun d'aquests gens acaben provocant la mort dels fotoreceptors per apoptosi.

És en el tema de la teràpia on recau la importància dels estudis funcionals. Cada gen està implicat en una via o un procés concret i, per tal de poder aplicar un futur tractament, és essencial conèixer la funció del gen, ja que és impossible aplicar el mateix tractament a tots el tipus d'RP. En el grup en el qual em vaig incorporar per realitzar aquest projecte de tesi, es va identificar un nou gen causant d'RP, el gen *Ceramide Kinase-Like* (CERKL). Ens plantejarem l'estudi funcional d'aquest gen per comprendre la seva funció fisiològica, tant en la salut com en la patologia per, en un futur, dissenyar alguna teràpia efectiva. Els objectius concrets que ens proposarem van ser:

1. Caracterització del gen *CERKL/Cerkl*

- 1.1 Anàlisi de l'expressió del gen *CERKL/Cerkl* en humà i ratolí
- 1.2 Localització subcel·lular de les proteïnes que produeix el gen
- 1.3 Estudi de la disfunció de la mutació patogènica de CERKL-R257X

2. Aproximació funcional de CERKL

- 2.1 Cerca de la funció quinasa de CERKL
- 2.2 Identificació del substrat lipídic sobre el que actua CERKL
- 2.3 Estudi de CERKL en condicions d'estrès oxidatiu, apoptosi i autofàgia

3. Construcció i caracterització d'un model *knockout* per *Cerkl*.

- 3.1 Construcció d'un vector de direccionament gènic per generar un ratolí *knockout*
- 3.2 Escrutini de cèl·lules mare embrionàries
- 3.3 Generació dels ratolins *knockouts*
- 3.4 Estudi fenotípic dels ratolins *Cerkl* *-/-*
- 3.5 Lipidòmica de la retina dels animals *knockout*
- 3.6 Anàlisi estructural comparatiu de retines de murines *Cerkl* *+/+* i *Cerkl* *-/-*