

Conclusions

La cerca del gen causal d'una malaltia, com la que es presenta en aquest treball, necessita de l'aplicació d'un ventall divers d'aproximacions experimentals que condueixin a la seva identificació. Aquestes inclouen la definició d'una regió cromosòmica candidata per lligament genètic, la caracterització i anàlisi de gens candidats, i l'escrutini en profunditat de la regió mitjançant marcadors polimòrfics.

- (1) Al locus RP26, hem caracteritzat un nou gen, el gen *ORMDL1*, i hem descrit que forma part d'una família gènica eucariòtica, reconeguda des del llevat fins a mamífers, que no havia estat identificada anteriorment. Els gens *ORMDL* codifiquen proteïnes transmembrana de funció conservada, relacionades amb els processos de plegament de proteïnes del reticle endoplasmàtic. Tot i que el plegament incorrecte de proteïnes ha estat implicat en la patogènesi de certes distròfies retinals, el gen *ORMDL1* va ser descartat per seqüenciació com a gen *RP26*.
- (2) Prenent com a punt de partida les dades del lligament, l'anàlisi de 16 microsatèl·lits addicionals i 101 SNP ens ha permès acotar el locus RP26 –en primer terme– a un interval de 12 Mb de cosegregació, entre D2S2261 i D2S273, i, més tard, a una regió d'homozigotitat de 2.5 Mb, entre D2S2261 i rs7510. La seqüenciació dels 9 gens descrits en aquesta regió va evidenciar que cap d'ells era el responsable de la malaltia i que la regió havia de contenir altres gens.
- (3) A la regió candidata, hem identificat un nou gen, el gen *CERKL* que codifica una proteïna similar a ceramida quinasa. La seqüenciació d'aquest gen a la família P2, ha revelat la presència d'una mutació (R257X) en homozigosi als pacients. La mutació cosegrega amb la malaltia a la família P2, trunca la proteïna *CERKL* al bell mig del domini catalític, i no ha estat identificada en població control. L'anàlisi del gen *CERKL* en una altra família (E1), en la qual la malaltia cosegrega amb el locus RP26, ha revelat la mateixa mutació. Per tant, la mutació R257X és responsable de la malaltia en les famílies P2 i E1 i *CERKL* és el gen *RP26*.
- (4) En humans, el gen *CERKL* s'expressa a la retina adulta, així com, en altres teixits adults i fetals. A la retina del ratolí, el gen ortòleg *Cerkl* s'expressa a la capa de neurones ganglionars i als fotoreceptors. La proteïna *CERKL* conté un domini catalític DAGK homòleg al de la ceramida quinasa, i presenta un patró dinàmic de localització subcel·lular compatible amb la topologia del metabolisme de la ceramida. Tot i que, no hem pogut demostrar l'activitat catalítica de *CERKL* com

a ceramida quinasa, el paper de la ceramida i la ceramida-1-fosfat –substrat i producte de les ceramida quinases– en la regulació de l'estrès cel·lular i l'apoptosi, suggereix un mecanisme pel qual l'alteració de *CERKL* podria causar la degeneració retinal.

- (5) A la retina, s'expressen 4 isoformes de *CERKL*, produïdes per empalmament alternatiu. Altres teixits expressen alguna/es de les isoformes, però la retina és l'únic teixit on són presents les quatre. Les isoformes curtes de *CERKL*, que no contenen el domini catalític, podrien constituir un mecanisme regulador de la funció de la proteïna. La mutació R257X es troba situada en l'exó 5, un dels exons diferencials presents en les isoformes llargues.