

UNIVERSITAT DE BARCELONA
PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA

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

**Funció de la Reelina i l'mDab1
en processos de
migració i creixement axonal**

Lluís Pujadas Puigdomènech

Barcelona, gener del 2006

UNIVERSITAT DE BARCELONA
PARC CIENTÍFIC DE BARCELONA

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

Aquesta memòria està presentada per **Lluís Pujadas Puigdomènech**, Llicenciat en Bioquímica, per a optar al grau de Doctor en Biologia.

El estudis de tercer cicle s'han emmarcat en el programa de doctorat de Neurociències, bienni 2000-2002, de la Universitat de Barcelona; i el projecte de Tesi Doctoral està inscrit al Departament de Biologia Cel·lular de la Facultat de Biologia de la Universitat de Barcelona. El treball experimental i la redacció de la memòria que es presenten han estat dirigits pel **Dr. Eduardo Soriano García**, Catedràtic de Biologia Cel·lular de la Universitat de Barcelona.

Barcelona, Gener del 2006

Vist i plau del director de la tesis:

El candidat a doctor:

Dr. Eduardo Soriano García

Lluís Pujadas Puidomènech

***Més lluny, heu d'anar més lluny...
més lluny del demà que ara ja s'acosta.
I quan creieu que arribeu, sapigheu trobar noves sendes.***

**Itaca
(Kavafis - Carles Riba - Lluís Llach)**

ALS MEUS PARES

A L'ALFONS

AGRAÏMENTS

Hi ha moltes persones a qui vull donar les gràcies per haver-me ajudat en aquesta tesi i en la vida. I en primer lloc als meus pares, Dolors i Miquel, segur que us heu esforçat més que jo mateix a fer que arribi aquest moment. I a tu Roser, que sempre m'has ajudat i entès.

I també vull donar les gràcies al director d'aquesta tesi, el Dr. Eduardo Soriano per haver-me acceptat al seu grup de recerca i haver dirigit el treball que aquí es presenta. Al seu laboratori he après, i sobretot, he après a aprendre.

I a tots els que llegiu aquests agraïments, que m'heu demostrat que us importo; vosaltres també m'importeu a mi, i molt! Amb tots hem compartit excursions, dinars, cafès, pisos, festes, sushis, ratafies i molt més. Gràcies a tots per ser-hi!

I a tu Alfons, que sempre saps el que jo penso i per això ara saps el que estic pensant. Sense tu jo no sóc res.

Gràcies!

LA TESI

El posicionament de les neurones en el sistema nerviós central i el creixement dels seus axons són processos essencials que s'han de desenvolupar degudament per assolir un funcionament correcte del cervell (Hatten, 1999; Huber et al., 2003; Marin and Rubenstein, 2003; Song and Poo, 1999). La gran varietat de processos migratoris que es produeixen durant tot el desenvolupament desemboquen en la formació de les estructures cerebrals.

La Reelina, així com d'altres proteïnes secretables, és una senyal extracel·lular que controla els processos migratoris que es produeixen durant el desenvolupament en estructures laminades com l'escorça, l'hipocamp, el cerebel i el bulb olfatori (Rice and Curran, 2001; Tissir and Goffinet, 2003). També en el cervell adult la Reelina pot intervenir en processos de sinaptogènesi i plasticitat neuronal, a més de mantenir el control de la migració de neurones al bulb olfatori (Beffert et al., 2005; Hack et al., 2002; Weeber et al., 2002).

L'estudi detallat de la transducció de senyal que es desencadena en les neurones estimulades amb Reelina permet identificar les proteïnes que hi participen. Així, els receptors VLDLR i ApoER2, la proteïna adaptadora mDab1, les proteïnes quinasa de la família Src, la PI3K, la Akt1, la GSK3 β i la MAP1B formen part d'aquest sistema de senyalització intracel·lular que acabarà donant resposta a l'estímul originat per la Reelina (Arnaud et al., 2003b; Beffert et al., 2002; Bock and Herz, 2003; D'Arcangelo et al., 1999; Gonzalez-Billault et al., 2005; Hiesberger et al., 1999; Rice et al., 1998).

En aquesta tesi doctoral es fa un estudi descriptiu de la distribució d'mDab1, que participa en els primers passos de la transducció de la senyalització induïda per la Reelina, i s'analitza la seva implicació en axogènesi i en l'establiment del patró de projeccions que innerven l'hipocamp. A continuació s'estudien nous processos de senyalització que s'activen en resposta a Reelina, centrant l'estudi en la via de senyalització d'ERKs. També s'estudia la implicació de l'activació d'ERKs en models de migració *in vitro* de la regió SVZ i en la transcripció gènica d'*egr-1*. Finalment es genera un model animal per a l'estudi de la funció de la proteïna Reelina en animals postnatsals a través de la sobreexpressió regulada de Reelina en cervell anterior.

ÍNDEX

INTRODUCCIÓ	1
1.El sistema nerviós central	3
1.1.L'estructuració funcional del SNC adult	4
1.2.Les estructures laminades dels hemisferis cerebrals	6
1.2.1. <i>El gir dentat</i>	6
1.2.2. <i>L'hipocamp propi</i>	7
1.2.3. <i>L'escorça</i>	8
1.2.4. <i>El bulb olfactori</i>	9
1.3.Les connexions principals	10
1.3.1. <i>Les connexions de la formació hipocàmica</i>	10
1.3.2. <i>Els circuits neuronals de l'escorça</i>	13
1.3.3. <i>El funcionament connectiu del sistema olfactori</i>	14
2.El desenvolupament del SNC	15
2.1.Regionalització, especialització i proliferació	16
2.2.La migració neuronal	17
2.2.1. <i>Els processos de migració radial</i>	17
2.2.2. <i>Els processos de migració tangencial</i>	19
2.2.3. <i>Les molècules implicades en la migració neuronal</i>	20
2.3.El creixement i el guiatge axonals	21
2.3.1. <i>La formació de les connexions hipocampals</i>	22
2.3.2. <i>Les molècules implicades en el creixement i el guiatge axonals</i>	24
2.4.La sinaptogènesi i la plasticitat	25
2.4.1. <i>La sinaptogènesi</i>	25
2.4.2. <i>La plasticitat sinàptica; la memòria i l'aprenentatge</i>	27
2.5.La neurogènesi a l'edat adulta	29
2.5.1. <i>La neurogènesi a la SVZ</i>	29
2.5.2. <i>La neurogènesi a la SGZ</i>	31
3.El paper de la Reelina en el desenvolupament	33
3.1.El gen i la proteïna	34
3.1.1. <i>El gen reelina</i>	34
3.1.2. <i>La proteïna Reelina</i>	35
3.1.3. <i>El patró d'expressió de reelina</i>	38
3.2.Els Receptors de la Reelina	40
3.2.1. <i>Els receptors VLDLR i ApoER2</i>	40
3.2.2. <i>$\alpha 3 \beta 1$ Integrina i CNRs</i>	41
3.3.Transducció intracel·lular de la senyal (I); la proteïna mDab1	42
3.3.1. <i>El gen mdab1</i>	42
3.3.2. <i>La proteïna mDab1</i>	42
3.3.3. <i>El paper de l'mDab1 en la senyalització de la Reelina</i>	44

INTRODUCCIÓ (cont.)

3.4. Transducció intracel·lular de la senyal (II).....	45
3.4.1. <i>L'activació de les SFKs</i>	45
3.4.2. <i>L'activació de la via de senyalització de CrkL/C3G/Rap1</i>	45
3.4.3. <i>L'activació de la via de senyalització de PI3K/Akt1</i>	46
3.4.4. <i>La part. de la GSK3β en la senyalització induïda per la Reelina</i>	47
3.4.5. <i>La part. de la MAP1B en la migració depenent de la Reelina</i>	47
3.4.6. <i>L'afectació del citoesquelet</i>	48
3.4.7. <i>Altres vies de senyalització</i>	49
3.4.8. <i>La comprensió de la senyalització intracel·lular</i>	50
3.5. La senyalització en altres sistemes.....	51
3.5.1. <i>La senyalització induïda per la Netrina-1</i>	51
3.5.2. <i>La senyalització induïda per les Semaphorines, ephrines i Slits</i>	52
3.6. Les implicacions funcionals de la senyalització de la Reelina.....	54
4. Models animals d'estudi del desenvolupament	55
4.1. Animals deficients en proteïnes discretes.....	56
4.1.1. <i>Els mutants reeler</i>	60
4.1.2. <i>Altres mutants amb fenotip reeler</i>	61
4.1.3. <i>Altres mutants amb alteracions en el desenvol. relacionades</i>	61
4.2. Transgènics d'expressió dirigida.....	64
4.2.1. <i>Els animals transgènics</i>	64
4.2.2. <i>Transgènics de reelina: ne-reelin</i>	66
OBJECTIUS	67
RESULTATS	71
Capítol 1. La Reelina i l'<i>mDab1</i> regulen el desenvolupament de les connexions hipocampals	73
Capítol 2. La Reelina indueix la desadhesió de les neurones de la zona subventricular i l'expressió de l'<i>Egr-1</i> mitjançant l'activació de les proteïnes <i>Erk1/2</i>	111
Capítol 3. Generació de ratolins transgènics que expressen la Reelina de forma condicional	153
RESUM DE RESULTATS I DISCUSSIÓ	171
CONCLUSIONS	201
BIBLIOGRAFIA	205