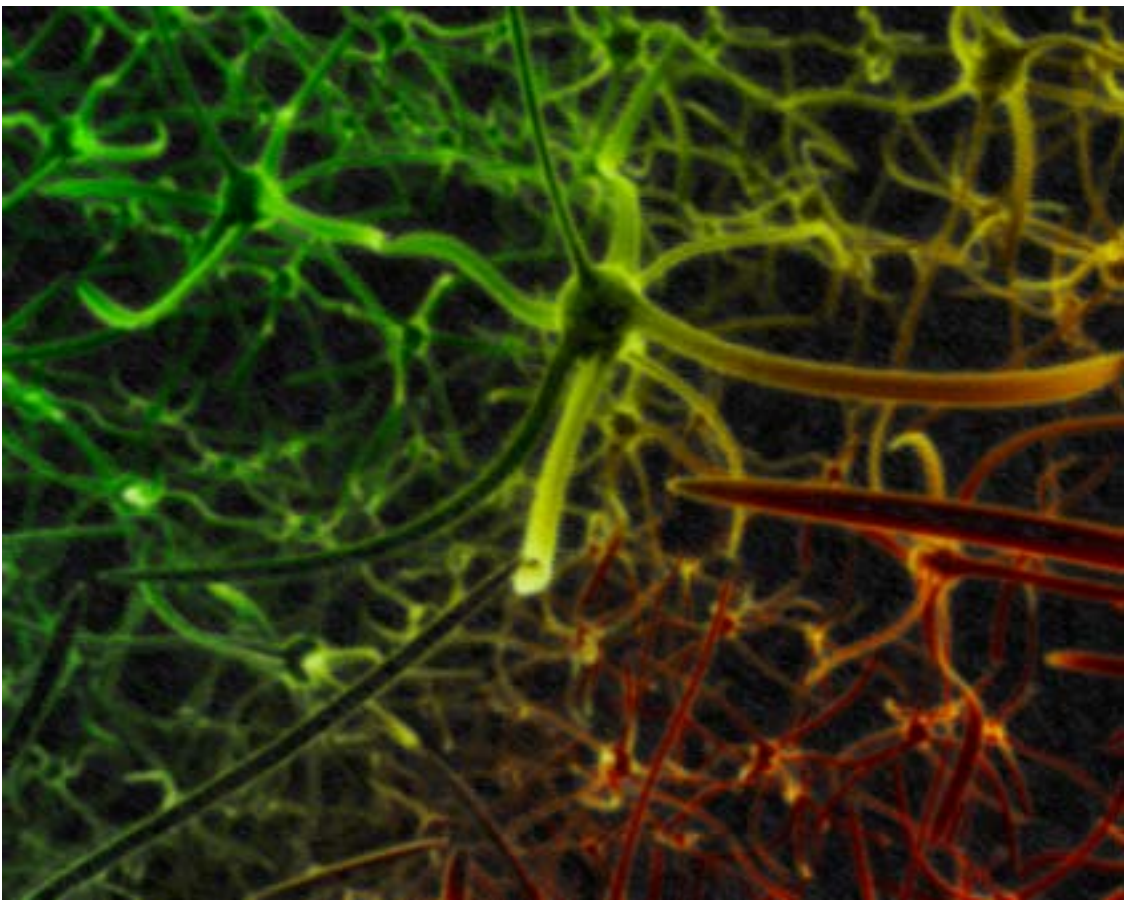


Anàlisi transcripcional de 15q24-q26:  
caracterització d'un nou gen expressat al  
sistema límbic, LRRN6A/LERN1



Laura Carim Todd  
Setembre 2004  
Departament de Genètica  
Universitat de Barcelona





Anàlisi transcripcional de 15q24-q26: caracterització  
d'un nou gen expressat al sistema límbic,  
LRRN6A/LERN1

Memòria presentada per Laura Carim Todd per optar al grau de  
Doctora en Biologia

Treball realitzat sota la direcció del Dr. Lauro Sumoy  
i el Dr. Xavier Estivill

Tesi adscrita al Departament de Genètica de la  
Facultat de Biologia, Universitat de Barcelona  
Programa de Genètica, bienni 1998-2000  
Tutor: Dr. Daniel Grinberg

Dr. Lauro Sumoy Van Dyck  
Director de tesi

Dr. Xavier Estivill i Pallejà  
Director de tesi

Dr. Daniel Grinberg Vaisman  
Tutor

Laura Carim Todd

Setembre 2004



-Hoy vas a descubrir que el  
mundo es sólo para tí, que nadie  
puede hacerte daño.  
Hoy vas a conquistar el cielo sin  
mirar lo alto que queda del  
suelo-

Bebe



To Ya-ya  
To Mummy i Papa  
Als meus angels de la guarda  
Across the ocean to my wise man  
I a nosaltres, les supervivents





I vull agrair de tot cor a tots els que, tot i que no us  
mencioní amb noms i cognoms, sabeu i sentiu que heu  
format part d'aquest treball i de tot el que l'ha  
envoltat durant aquests últims anys.

My thanks go to all those who, although not  
mentioned by name, feel and know they are part of  
this work and of the many circumstances that have  
surrounded it.







# ÍNDEX

*Pròleg* pàg. 17

## **PART I**

### *Introducció PART I*

- Heretabilitat, trets genètics i genoma humà pàg. 21
- Context històric: Projecte Genoma Humà pàg. 22
- Anàlisi transcripcional del genoma humà pàg. 26
- Consorci IMAGE. Projecte EUROIMAGE pàg. 29
- Aïllament de gens *in silico* pàg. 31

*Objectius PART I* pàg. 39

### *Resultats PART I*

*I. Cloning, expression, and mapping of PDCD9, the human homolog of Gallus gallus pro-apoptotic protein p52.* Cytogenet Cell Genet. 1999;87(1-2):85-8 pàg. 45

*II. Cloning, mapping and expression analysis of VPS33B, the human orthologue of rat Vps33b.* Cytogenet Cell Genet. 2000;89(1-2):92-5 pàg. 47

*III. Identification and expression analysis of C15orf3, a novel gene on chromosome 15q21.1-q21.2.* Cytogenet Cell Genet. 2000;88(3-4):330-2 pàg. 49

*IV. Identification of C15orf5, a heart-enriched transcript on chromosome 15q23-q24.* DNA Seq. 2001 Jul;12(1):67-9 pàg. 51

## **PART II**

### *Introducció PART II*

- Cromosoma 15 humà. Reordenaments cromosòmics. Inestabilitat genòmica pàg. 55
- Origen i significació dels fenòmens de paralogia pàg. 57
- Duplicacions segmentàries pàg. 59
- Transtorn d'ansietat associat a 15q24-q26 pàg. 63

*Objectius PART II* pàg. 67

### *Resultats PART II*

*I. Cloning, mapping and expression analysis of C15orf4, a novel human gene with homology to the yeast mitochondrial ribosomal protein Yml30 gene.* DNA Seq. 2001;12(2):91-6 pàg. 73

II. *HMG20A and HMG20B map to human chromosomes 15q24 and 19p13.3 and constitute a distinct class of HMG-box genes with ubiquitous expression.* Cytogenet Cell Genet. 2000;88(1-2):62-7

**pàg. 75**

III. *Cloning of the novel gene TM6SF1 reveals conservation of clusters of paralogous genes between human chromosomes 15q24-q26 and 19p13.3-p12.* Cytogenet Cell Genet. 2000;90(3-4):255-60

**pàg. 77**

IV. *Identification and characterization of BTBD1, a novel BTB domain containing gene on human chromosome 15q24.* Gene. 2001 Jan 10;262(1-2):275-81

**pàg. 79**

V. *Identification and characterization of UBXD1, a novel UBX domain-containing gene on human chromosome 19p13, and its mouse ortholog.* Biochim Biophys Acta. 2001 Jan 26;1517(2):298-301

**pàg. 81**

VI. *Characterization of human FSD1, a novel brain specific gene on chromosome 19 with paralogy to 9q31.* Biochim Biophys Acta. 2001 Mar 19;1518(1-2):200-3

**pàg. 83**

## **PART III**

### **Introducció PART III**

- El sistema límbic **pàg. 87**
- Gens candidats i models animals per als transtorns neurològics humans **pàg. 90**
- Els dominis rics en leucina (LRR) i els dominis immunoglobulina (Ig) en proteïnes del sistema nerviós **pàg. 92**

**Objectius PART III pàg. 97**

### **Resultats PART III**

I. *LRRN6A/LERN1 (leucine-rich repeat neuronal protein 1), a novel gene with enriched expression in limbic system and neocortex.* Eur J Neurosci. 2003 Dec;18(12):3167-82 **pàg. 103**

II. *Estudis funcionals preliminars sobre LERN1: doble-híbrid, pull-down i generació d'anticossos*

- A. LERN1 interacciona *in vitro* amb el factor de transcripció Myt1-like **pàg. 119**
- B. Patró d'expressió de Myt1-like **pàg. 121**
- C. Producció d'anticossos antiLERN1 **pàg. 123**
- D. Caracterització dels anticossos antiLERN1 **pàg. 124**
- E. Purificació per afinitat dels anticossos antiLERN1 i caracterització preliminar **pàg. 130**

**Annex: Materials i mètodes pàg. 133**

## ***Discussió***

- El projecte Genoma Humà i els projectes d'anàlisi d'expressió gènica **pàg. 141**
- Anàlisi d'expressió gènica en el cas del sistema nerviós central **pàg. 145**
- Estat actual del gens identificats durant la primera fase d'aquest treball **pàg. 146**
  - PDCD9 **pàg. 146**
  - VPS33B **pàg. 147**
  - C15orf3 **pàg. 148**
  - C15orf5 **pàg. 148**
  - C15orf4 **pàg. 149**
- Paralògia i evolució del genoma. Els cromosomes 15 i 19: HMG20A/B, TM6SF1/2 i BTBD1/2 **pàg. 149**
- Inestabilitat genòmica: reordenaments a 15q24-q26 **pàg. 154**
- LRRN6A/LERN1, un nou gen d'expressió al sistema límbic i localitzat a 15q24 **pàg. 159**
- LRRN6A/LERN1 com a candidat per a trastorns d'origen neurològic (I): trastorns epilèptics **pàg. 161**
- LRRN6A/LERN1 com a candidat per a trastorns d'origen neurològic (II): trastorns d'ansietat **pàg. 165**
- Epilèpsia i trastorns d'ansietat **pàg. 169**
- LERN1 interacciona *in vitro* amb Myt1-like **pàg. 171**
- Iniciant l'estudi de la proteïna LERN1 endògena **pàg. 176**
- Conclusions*** **pàg. 183**
- Bibliografia*** **pàg. 185**





## *PRÒLEG*

La tesi doctoral presentada a continuació ha estat dividida en tres parts o blocs amb l'objectiu d'aconseguir una bona comprensió de cada una. L'intenció és facilitar al lector el seguiment del treball de recerca realitzat, la seva cronologia i el context històric científic en el que s'ha desenvolupat. Les tres parts es presenten per ordre cronològic i estan estretament relacionades. En conjunt i en un sentit global, aquest treball constitueix un exemple d'estratègia d'identificació de gens cada vegada més freqüent, especialment amb la creixent disponibilitat de la seqüència genòmica dels organismes vius. S'utilitza com a punt de partida, la seqüència crua genòmica de l'organisme amb l'objectiu d'identificar gens nous mitjançant una anàlisi transcripcional basada en l'informació present a les bases de dades públiques (Part I d'aquesta tesi). Aquesta aproximació pot usar-se per a la caracterització del contingut genètic d'una regió genòmica concreta d'interès, per exemple, per la seva associació a patologia o pel seu interès evolutiu (Part II). Finalment, per diferents raons com una funció predita determinada o un potencial paper com a causant d'alteracions patològiques, el gen o gens identificats poden ser caracteritzats en profunditat a nivell individual amb la finalitat d'establir-ne la seva funció (Part III).

