

Estudis estructurals i enzimàtics de la Uroporfirinogen III Sintasa humana. Bases moleculars de la Porfíria Eritropoiètica Congènita

Arola Fortian Bernabeu

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.tesisenxarxa.net) 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.tesisenred.net) 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.tesisenxarxa.net) 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.



**“Estudis estructurals i enzimàtics de la
Uroporfirinogen III Sintasa humana.
Bases moleculars de la Porfíria
Eritropoiètica Congènita”**

Tesi Doctoral presentada per

Arola Fortian Bernabeu

Llicenciada en Biologia

Per a optar al Grau de Doctora per la Universitat de Barcelona

Treball realitzat a l'Institut de Recerca Biomèdic (IRB)[†] de Barcelona
i al CIC bioGUNE[§] de Bilbao, sota la direcció de:

Dr. Oscar Millet Aguilar-Galindo[§]

Dr. Miquel Pons Vallès[†]

Tesi adscrita al Departament de Química Orgànica, Programa de Química Orgànica
(Bienni 2009-2010), Facultat de Química, Universitat de Barcelona

El Dr. Oscar Millet Aguilar-Galindo, investigador principal del Laboratori 7 de la Unitat de Biologia Estructural del Centre d'Investigació Cooperació en Biociències de Bilbao, CIC bioGUNE, i el Dr. Miquel Pons Vallès, Catedràtic del Departament de Química Orgànica de la Universitat de Barcelona,

CERTIFIQUEN que la Tesi Doctoral que porta per títol “**Estudis estructurals i enzimàtics de la Uroporfirinogen III Sintasa humana. Bases moleculars de la Porfíria Eritropoiètica Congènita**” ha sigut realitzada per la llicenciada Arola Fortian Bernabeu a l'Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona i al Centre d'investigació Cooperativa en Biociències de Bilbao, sota la seva direcció i que reuneix, al seu criteri, les condicions requerides per optar al Grau de Doctora per la Universitat de Barcelona.

Dr. Oscar Millet Aguilar-Galindo

Dr. Miquel Pons Vallès

Al Josep, a la Núria i a l'Àlvar

ÍNDEX GENERAL.....	1
CAPÍTOL I. INTRODUCCIÓ.....	2
Índex.....	5
I.1. La biosíntesi del grup hemo.....	7
I.2. La família de les porfíries.....	10
I.3. La Porfíria Eritropoiètica Congènita (PEC).....	14
I.4. L'enzim uroporfirinogen III sintasa.....	17
I.5. Activitat UROIIIIS en el context de la cèl·lula.....	25
Bibliografia Capítol I.....	27
CAPÍTOL II. OBJECTIUS.....	33
CAPÍTOL III. MATERIAL I MÈTODES.....	37
Índex.....	39
III.1. Clonació i obtenció de mostres pures dels enzims humans PBGD i U3S.....	41
III.2. Estudis d'interacció <i>in vitro</i> dels enzims PBGD i U3S mitjançant la RMN.....	56
III.3. Determinació de l'activitat enzimàtica de la U3S salvatge i dels enzims mutants...57	
III.4. Determinació de l'estabilitat cinètica de la U3S salvatge i dels enzims mutants.....	58
III.5. Difusió dinàmica de la llum (DLS).....	61
III.6. Cultius cel·lulars eucariotes.....	63
Bibliografia Capítol III.....	82
CAPÍTOL IV. RESULTATS I DISCUSSIÓ.....	85
Índex.....	87
IV.1. Caracterització dels dos enzims humans recombinants U3S i PBGD.....	89
IV.2. Cercant l'origen de la patogenicitat de mutants de la U3S.....	109
IV.3. Estudis <i>in vivo</i> dels enzims humans U3S salvatge i del mutant patogènic U3S-C73R.....	127
Bibliografia Capítol IV.....	149
CAPÍTOL V. CONCLUSIONS.....	155
GLOSSARI.....	161

