

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.

II. Objectius

II.1. Obtenció de les proteïnes recombinants humanes U3S i PBG

Es pretén clonar, expressar i establir un protocol de purificació per a la proteïna recombinant humana porfobilinogen desaminasa, així com de la proteïna uroporfirinogen III sintasa.

II.2. Estudis de la interacció entre els enzims U3S i PBGD

Mitjançant tècniques de RMN en solució es pretén estudiar la possible formació de un metaboló entre la U3S i la PBGD.

II.3. Obtenció d'un assaig enzimàtic per a la U3S

Es vol obtenir un mètode reproduïble d'anàlisi de l'activitat enzimàtica de l'enzim U3S basat en la producció enzimàtica i posterior determinació cromatogràfica del metabòlit uroporfirinogen III.

II.4. Avaluació de l'origen de la patogenicitat de diverses mutacions de la U3S

Deficiències en el funcionament de l'enzim U3S donen lloc a la porfíria eritropoiètica congènita (PEC), un tipus de porfíria també anomenada Malaltia de Gunther (veure apartat I.3.). Es pretén determinar quins residus són essencials per a l'activitat U3S. La hipòtesi de treball és que la pèrdua d'activitat en un enzim amb alteracions en la seqüència de aminoàcids pot provocar un desplegament (ja sigui parcial o global) de la proteïna. i es pretén establir la relació entre la pèrdua de l'activitat catalítica de les variants patogèniques i l'estabilitat cinètica de la proteïna a partir de la determinació de l'energia d'activació que regula el desplegament de les proteïnes esmentades.

II.5. Efectes de la mutació C73R de l'enzim U3S en el context cel·lular

La mutació C73R de l'enzim U3S s'ha trobat en un terç dels pacients de PEC. Es pretén determinar quins són els efectes de la mutació en cèl·lules humanes i de ratolí.