

Genética Molecular de los Receptores

Estudios directos e indirectos para el diagnóstico patologías.

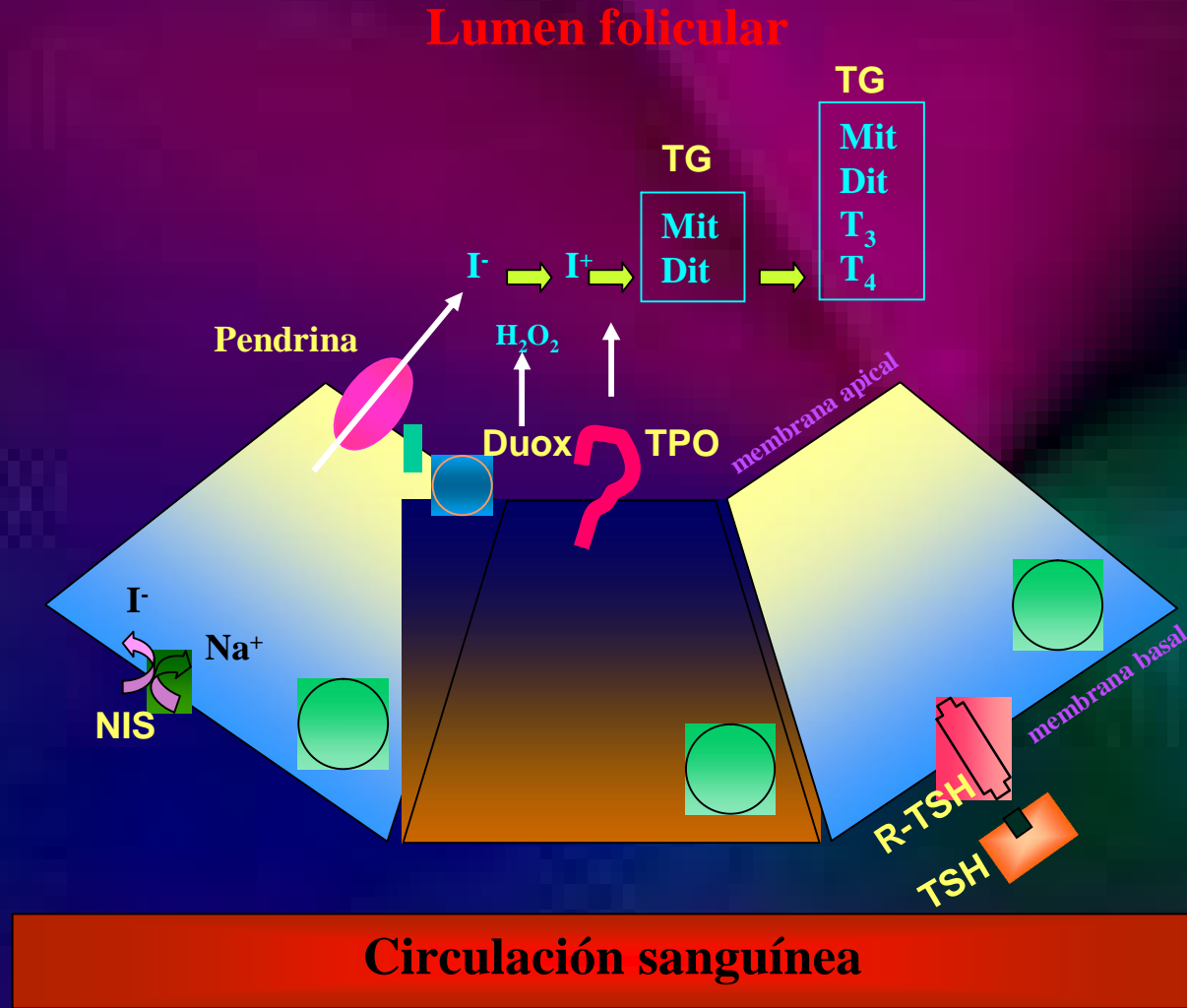


Prof. Dra. Carina M. Rivolta

Cátedra de Genética y Biología Molecular
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Universidad de Buenos Aires

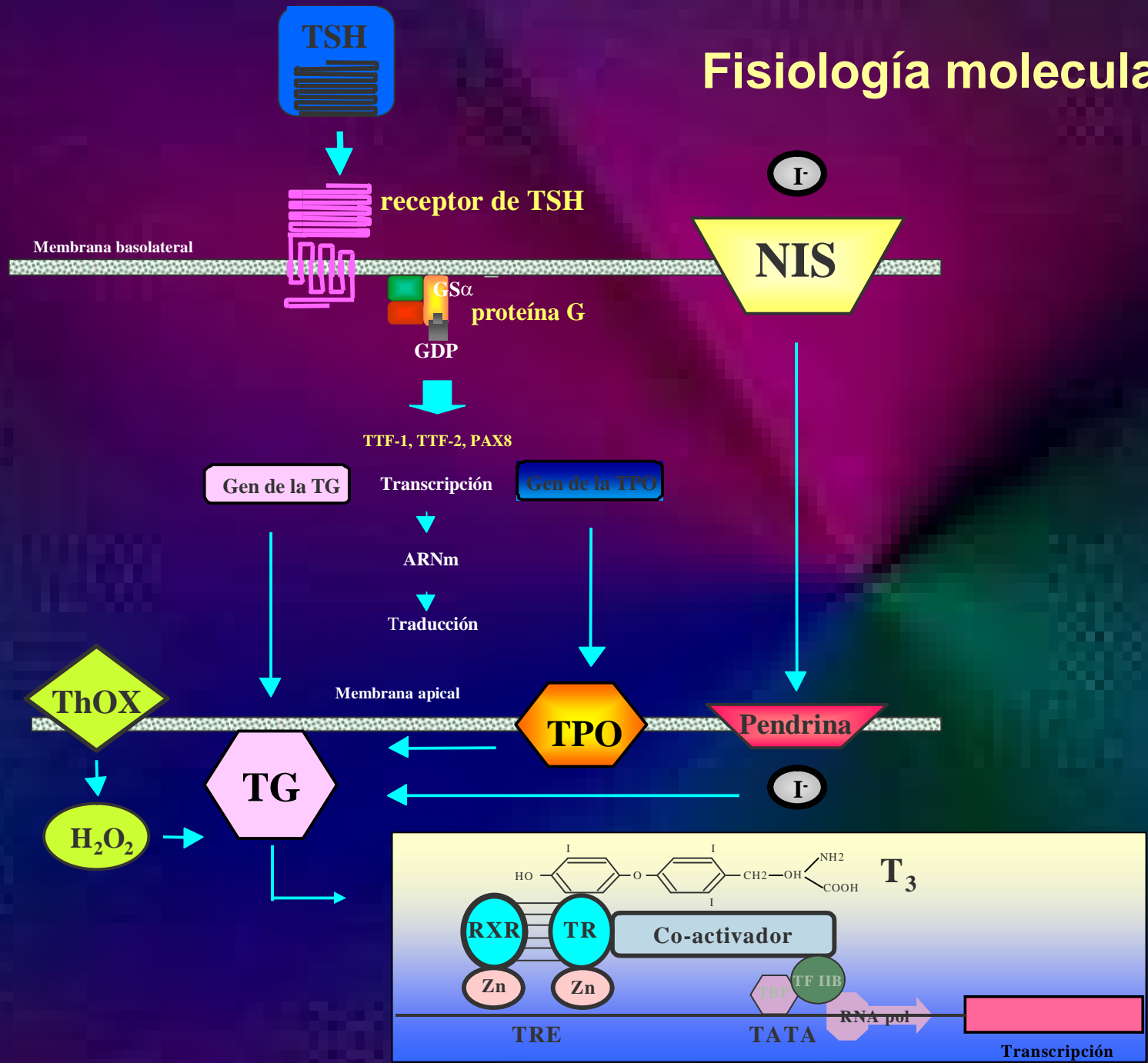


Esquema simplificado de la síntesis de hormonas tiroideas



■ hAIT: transportador de yodo apical

Fisiología molecular



Objetivos

Determinación de la organización estructural de los genes tiroideos

Identificación y caracterización de mutaciones que causan hipotiroidismo congénito y resistencia a hormonas tiroideas.

Desarrollo de nuevas herramientas moleculares (directas e indirectas) con el objetivo de mejorar el diagnóstico de las enfermedades tiroideas

Expresión normal y patológica de los genes tiroideos

Hipotiroidismo Congénito

Incidencia: 1/3000 - 1/4000 recién nacidos.



Existencia de bocio:

Hipotiroidismo no bocioso (80 %)

- * Causas: agenesia, disgenesia o hipoplasia
- * Genes alterados: TSH- β , TTF1, TTF2, PAX 8, RTSH

Hipotiroidismo con bocio (20 %)

- * Causa: defectos en la síntesis de hormonas tiroideas
- * Genes alterados: TG, TPO, Pendrina, NIS, DUOX2

Hipotiroidismo Congénito con Bocio

**Mutaciones en el Gen de
Tiroglobulina**

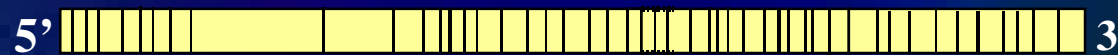
Representación esquemática del gen de la Tiroglobulina

Cromosoma 8

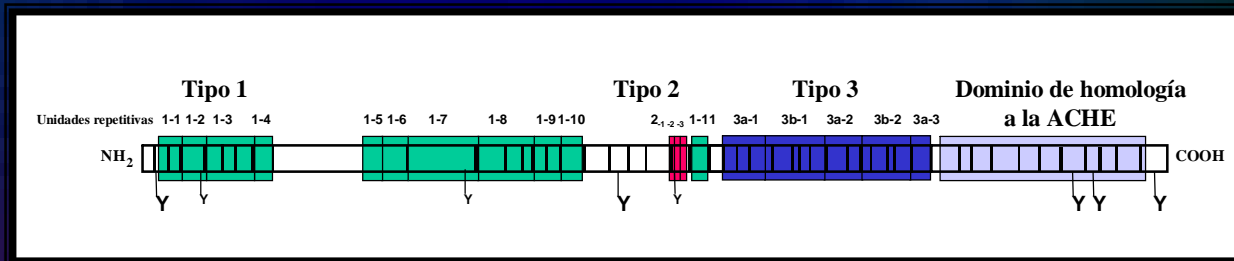


8q24.2-8q24.3

Gen: 270 Kb



mRNA: 8,5 Kb



Proteína: 2749 aa

EXPERIMENTAL STUDY

Genomic organization of the human thyroglobulin gene: the complete intron–exon structure

Fernando M Mendive¹, Carina M Rivolta¹, Christian M Moya¹, Gilbert Vassart² and Héctor M Targovnik^{1,2}

¹División Genética, Hospital de Clínicas 'José de San Martín' and Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 1120-Buenos Aires, Argentina and ²Service de Génétique Médicale, Hôpital Erasme and IRIBHN, Université Libre de Bruxelles, 1070 Bruxelles, Belgique

(Correspondence should be addressed to Héctor M Targovnik, División Genética, Hospital de Clínicas 'José de San Martín' and Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Avenida Córdoba 2351, 4^o piso-sala 5, 1120-Buenos Aires, Argentina; Email: htargovm@buemul.fjbh.uba.ar)

(F. M. Mendive and C. M. Rivolta contributed equally to the study)

Thyroglobulin mutations identified in patients with congenital goiter and hypothyroidism.

Individuals	Serum TG (µg/L)	TG mutations	
TD	0.8	p.G362fsX382/p.R2223H	Toulouse/France
LD	0.9	<u>p.R277X</u> /p.R1511X	Buenos Aires/Argentina
BA	0.4	<u>p.R277X</u> /?	Buenos Aires/Argentina
FM	0.77	<u>p.R277X</u> /?	Buenos Aires/Argentina
GD	0.9	p.L234fsX236/p.C164Y	Buenos Aires/Argentina
RS	3.3	<u>p.R277X</u> / p.A2215D	Buenos Aires/Argentina
MIO	0.9	<u>p.R277X</u> /p.R277X	Buenos Aires/Argentina
RM		<u>p.R277X</u> /p.R277X	Mendoza/Argentina
JNA	1.8	<u>p.R277X</u> /p.R1511X	São Paulo/Brasil
RA	2.1	<u>p.R277X</u> /g.IVS34-1G>C	São Paulo/Brasil
HSN	<1	g.IVS30+1G>T/g.IVS30+1G>T	São Paulo/Brasil
TI	5.1	g.IVS3-3C>G/g.IVS3-3C>G	Japan
Reference values	2-30		

0021-9725/05/15-000
Printed in U.S.A.

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(8):3546-3553
Copyright © 2004 by The Endocrine Society
doi: 10.1210jce.2003-021744

Compound Heterozygous Mutations in the Thyroglobulin Gene (1143delC and 6725G→A [R2223H]) Resulting in Fetal Goitrous Hypothyroidism

PHILIPPE CARON, CHRISTIAN M. MOYA, DAVID MALET, VIVIANA J. GUTNISKY, BERNARD CHABARDES, CARINA M. RIVOLTA, AND HÉCTOR M. TARGOVNIK

Service d'Endocrinologie, Centre Hospitalier Universitaire Rangueil (P.C., D.M.), 31403 Toulouse, France; Laboratorio de Biología Molecular, Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires (C.M.M., V.J.G., C.M.R., H.M.T.), 1120 Buenos Aires, Argentina; and Clinique Sarrus-Teinturier (B.C.), 31076 Toulouse, France

0021-9725/05/15-000
Printed in U.S.A.

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(8):466-467
Copyright © 2004 by The Endocrine Society
doi: 10.1210jce.2003-02087

Two Distinct Compound Heterozygous Constellations (R277X/IVS34-1G>C and R277X/R1511X) in the Thyroglobulin (TG) Gene in Affected Individuals of a Brazilian Kindred with Congenital Goiter and Defective TG Synthesis

VIVIANA J. GUTNISKY, CHRISTIAN M. MOYA, CARINA M. RIVOLTA, SABINA DOMENÉ, VIVIANA VARELA, JUSSARA V. TONILOLO, GERALDO MEDEIROS-NETO, AND HÉCTOR M. TARGOVNIK

Laboratorio de Biología Molecular (V.J.G., C.M.M., C.M.R., S.D., V.V., H.M.T.), Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 1120 Buenos Aires, Argentina; and Thyroid Unit (J.V.T., G.M.-N.), Division of Endocrinology, Hospital das Clínicas, São Paulo University School of Medicine, 05403-900 São Paulo, Brazil

0021-9725/05/15-000
Printed in U.S.A.

The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 90(8):2766-2770
Copyright © 2004 by The Endocrine Society
doi: 10.1210jce.2003-02373

BRIEF REPORT

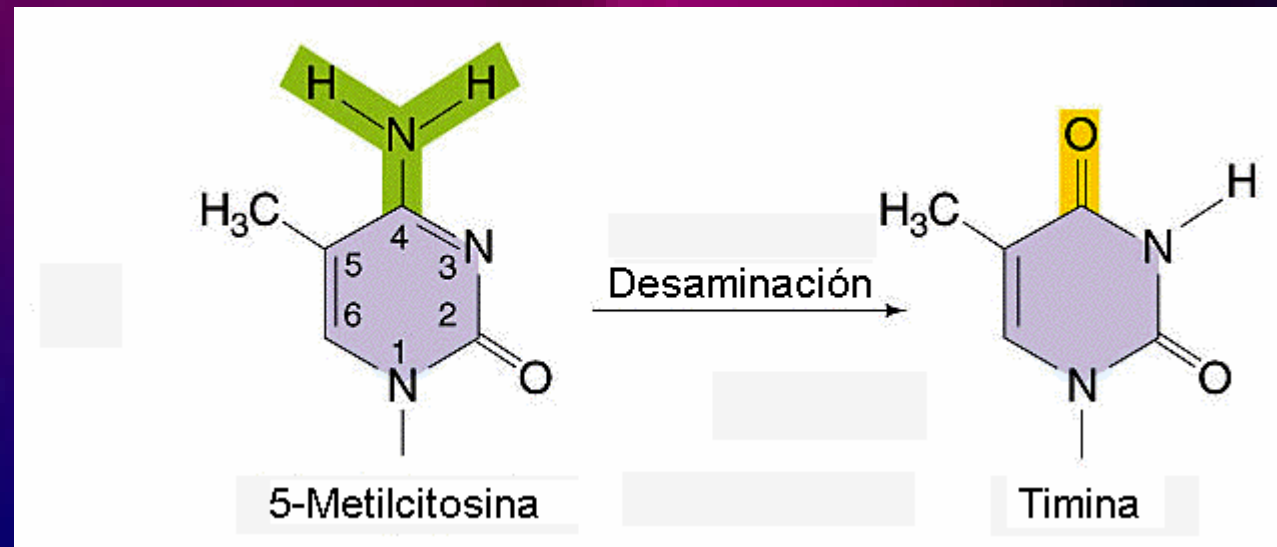
A New Case of Congenital Goiter with Hypothyroidism Caused by a Homozygous p.R277X Mutation in the Exon 7 of the Thyroglobulin Gene: A Mutational Hot Spot Could Explain the Recurrence of This Mutation

Carina M. Rivolta, Christian M. Moya, Viviana J. Gutnisky, Viviana Varela, José M. Miralles-García, Rogelio González-Sarmiento, and Héctor M. Targovnik

Laboratorio de Biología Molecular (C.M.R., C.M.M., V.J.G., V.V., H.M.T.), Cátedra de Genética y Biología Molecular, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, 1120 Buenos Aires, Argentina; and Unidad de Medicina Molecular (C.M.R., R.G.-S., H.M.T.), Departamento de Medicina, Facultad de Medicina, y Servicio de Endocrinología (J.M.M.-G.), Hospital Universitario de Salamanca, Universidad de Salamanca, 37007 Salamanca, España

Desaminación

CGA → TGA
R → Stop



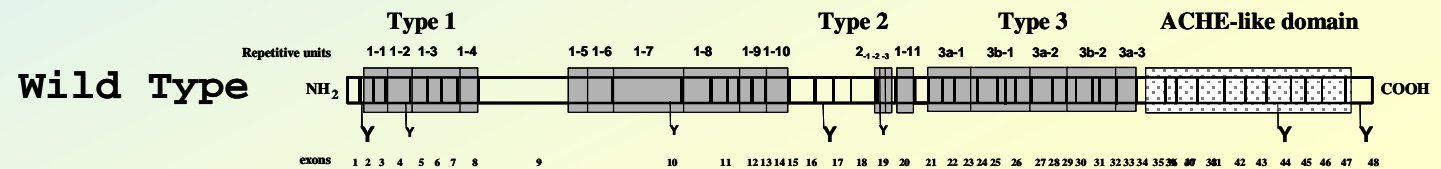
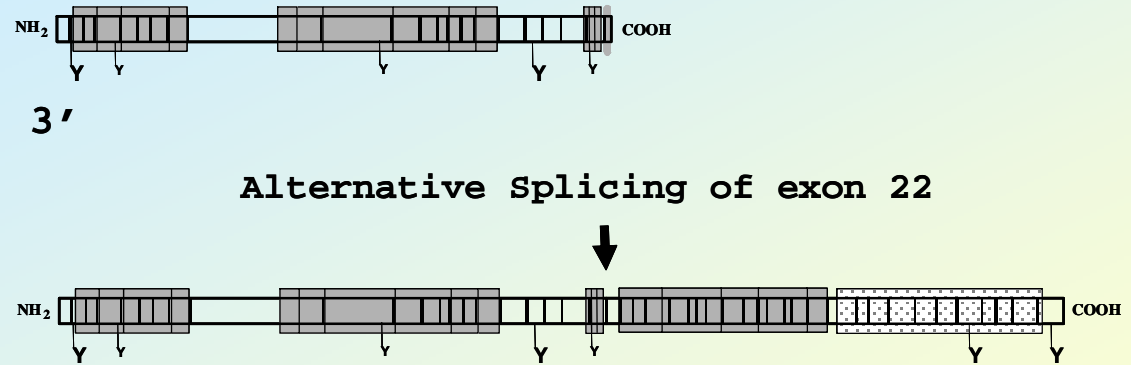
p.R277X

p.R1511X

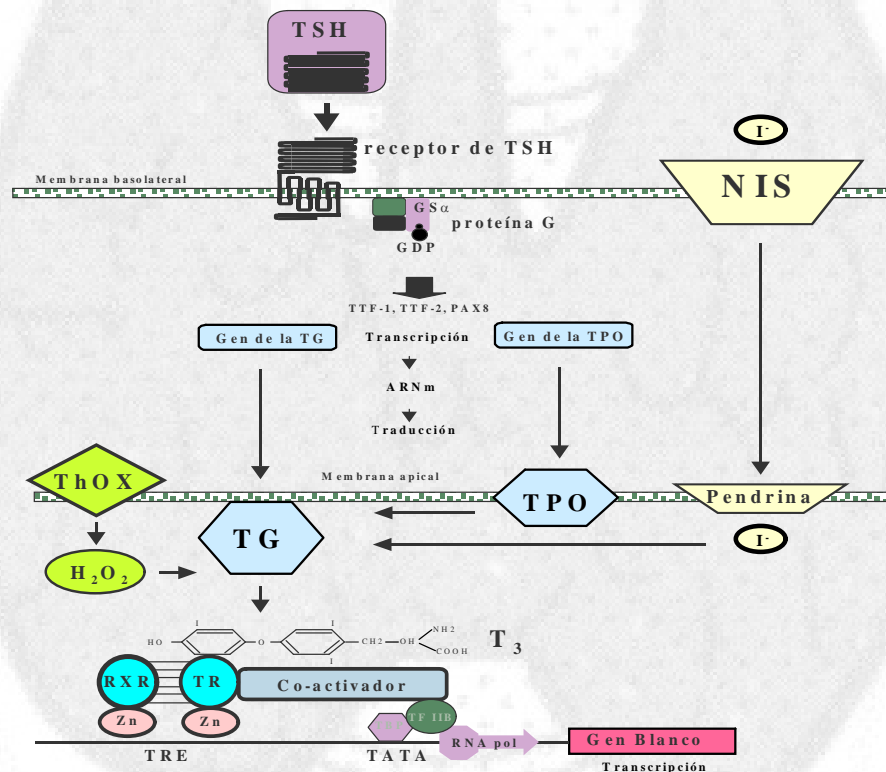
Splicing alternativo asociado a “nonsense mutations” en el gen de la TG humana

c.4588C>T (p.R1511X)

Alternative Splicing of exon 22



“Genotipificación y caracterización de dos nuevos marcadores microsatélites en el gen de la TG humana.”



Objetivos

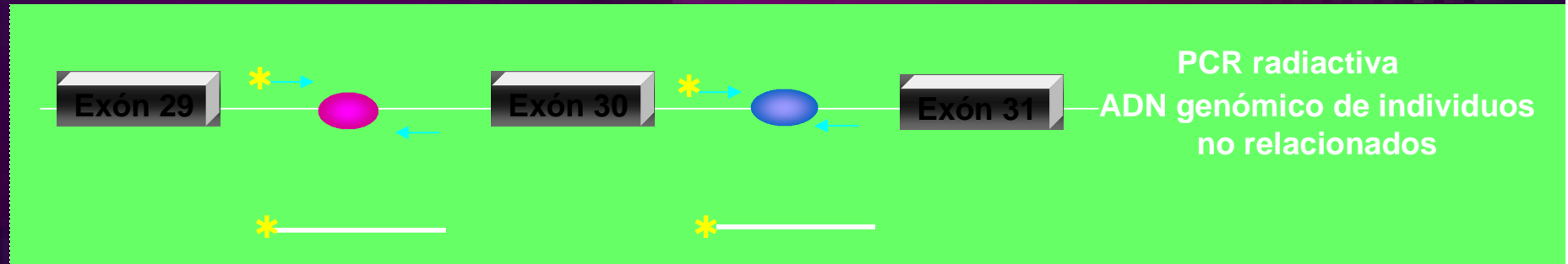
Genotipificar los nuevos marcadores.

Determinar mediante análisis estadísticos su posible empleo para análisis de ligamiento.

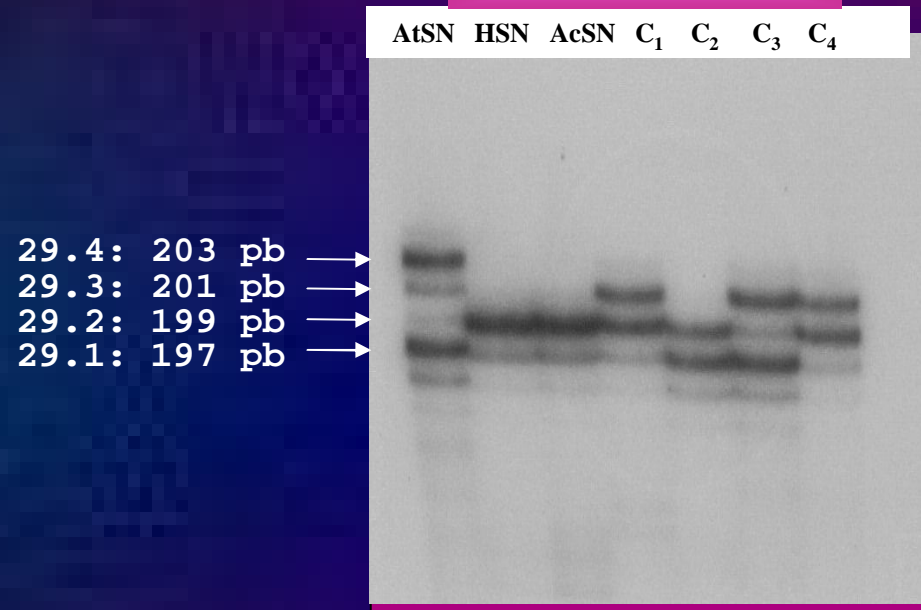
Caracterizarlos por clonado y secuenciación.

Estudiar su asociación con el hipotiroidismo congénito con bocio.

Genotipificación de los marcadores microsatélites

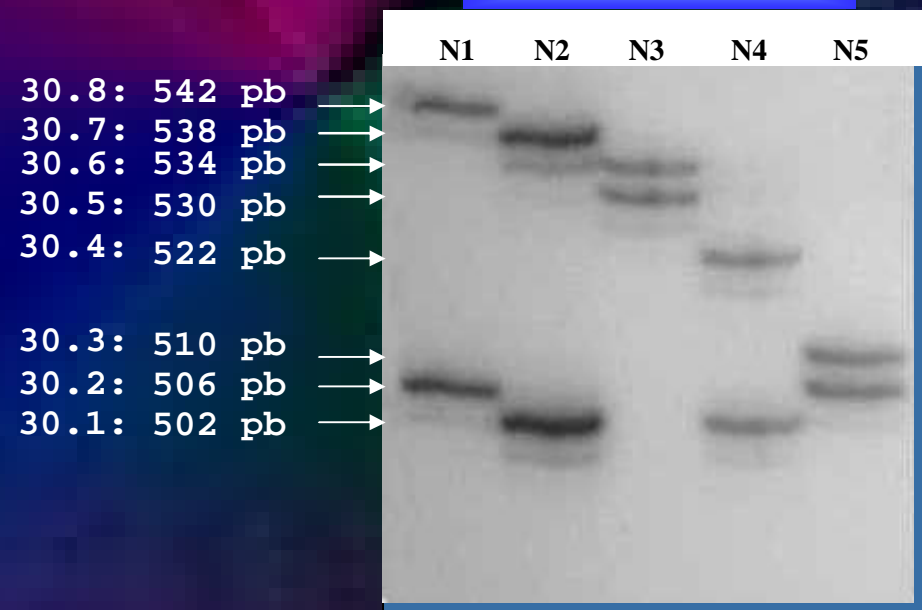


TGrI29



140 cromosomas analizados

TGrI30



304 cromosomas analizados

Mediciones de variación

STR	Localización	Alelo	Tamaño del producto de PCR (bp)	Frecuencias alélicas	HET	PIC
TGrI29	Intrón 29	29.1	197	0.336	0.859	0.471
		29.2	199	0.200		
		29.3	201	0.450		
		29.4	203	0.014		
TGrI30	Intrón 30	30.1	502	0.099	0.522	0.434
		30.2	506	0.115		
		30.3	510	0.013		
		30.4	522	0.007		
		30.5	530	0.003		
		30.6	534	0.036		
		30.7	538	0.720		
		30.8	542	0.007		

HET: Índice de Heterocigosidad

PIC: Índice de contenido polimórfico

Frecuencias genotípicas de TGr130

Frecuencias genotípicas de TGr129

Genotipo	Observado(n)	Esperado (n)
1/1	0	1.489
1/2	3	3.461
1/3	0	0.391
1/4	1	0.210
1/5	0	0.090
1/6	2	1.083
1/7	24	21.669
1/8	0	0.210
2/2	1	2.010
2/3	1	0.454
2/4	0	0.244
2/5	0	0.104
2/6	1	1.258
2/7	27	25.171
2/8	1	0.244
3/3	0	0.025
3/4	0	0.027
3/5	0	0.011
3/6	0	0.142
3/7	3	2.845
3/8	0	0.027
4/4	0	0.007
4/5	0	0.006
4/6	0	0.076
4/7	1	1.532
4/8	0	0.014
5/5	0	0.001
5/6	1	0.032
5/7	0	0.656
5/8	0	0.006
6/6	0	0.196
6/7	7	7.879
6/8	0	0.076
7/7	78	78.796
7/8	1	1.532
8/8	0	0.007

$X^2 = 40.5170$ $P > 0.05$ (no significativo) $df = 28$ $n = 152$

Genotipo	Observado (n)	Esperado (n)
1/1	7	7.902
1/2	9	9.408
1/3	22	21.168
1/4	2	0.658
2/2	4	2.800
2/3	11	12.600
2/4	0	0.392
3/3	15	14.175
3/4	0	0.882
4/4	0	0.013

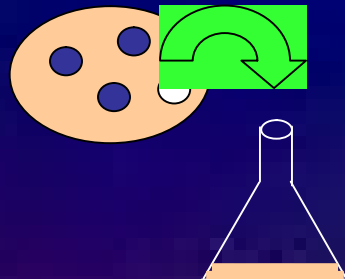
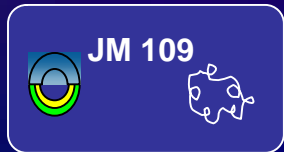
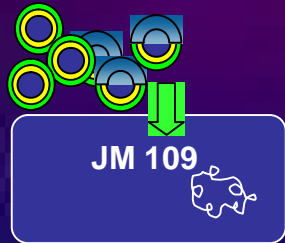
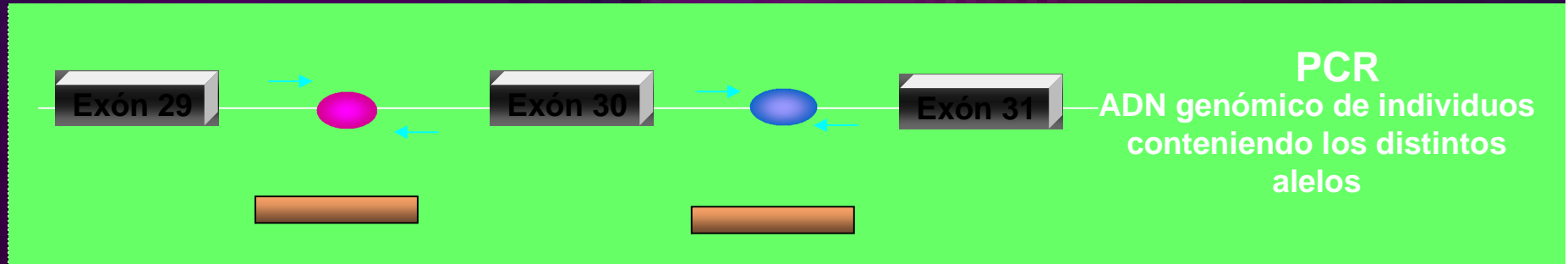
$X^2 = 4.9391$ $P > 0.50$ (no significativo) $df = 6$ $n = 70$

Frecuencias haplotípicas

Haplotipo	Frecuencia
29.1/29.1 - 30.1/30.2	0.06
29.1/29.1 - 30.1/30.4	0.02
29.1/29.1 - 30.2/30.3	0.02
29.1/29.1 - 30.7/30.7	0.02
29.1/29.2 - 30.1/30.6	0.02
29.1/29.2 - 30.1/30.7	0.02
29.1/29.2 - 30.2/30.2	0.02
29.1/29.2 - 30.2/30.7	0.04
29.1/29.3 - 30.1/30.7	0.14
29.1/29.3 - 30.2/30.7	0.10
29.1/29.3 - 30.2/30.8	0.02
29.1/29.3 - 30.6/30.7	0.02
29.1/29.3 - 30.7/30.7	0.06
29.1/29.4 - 30.1/30.7	0.02
29.1/29.4 - 30.2/30.7	0.02
29.2/29.2 - 30.5/30.6	0.02
29.2/29.3 - 30.6/30.7	0.04
29.2/29.3 - 30.7/30.7	0.16
29.3/29.3 - 30.6/30.7	0.02
29.3/29.3 - 30.7/30.7	0.16
Otros	0.00

$n = 50$

Clonado y secuenciación de los distintos alelos



Preparación del ADN plasmídico

Identificación del plásmido recombinante con EcoRI.

Secuenciación del alelo

Comparación de la secuencia nucleotídica de los alelos de TGrI29

29.

4	tg	(tc) ₂	tg	(tc) ₂	ta	(tc) ₂	tg	acactt	(tc) ₄	tg	(tc) ₄	(tg) ₁₃
3b	tg	(tc) ₂	tg	(tc) ₂	ta	(tc) ₂	tg	acactt	(tc) ₄	tg	(tc) ₄	(tg) ₁₂
3a	tg	(tc) ₂	tg	(tc) ₂	ta	(tc) ₂	tg	acactt	(tc) ₄	tg	(tc) ₆	(tg) ₁₀
2	tg	(tc) ₂	tg	(tc) ₂	ta	(tc) ₂	tg	acactt	(tc) ₄	tg	(tc) ₅	(tg) ₁₀
1b	tg	(tc) ₂	tg	(tc) ₂	ta	(tc) ₂	tg	acactt	(tc) ₄	tg	(tc) ₃	(tg) ₁₁
1a	tg	(tc) ₂	tg	(tc) ₂	ta	(tc) ₂	tg	acactt	(tc) ₄	tg	(tc) ₄	(tg) ₁₀

Comparación de la secuencia nucleotídica de los alelos de TGr130

30.

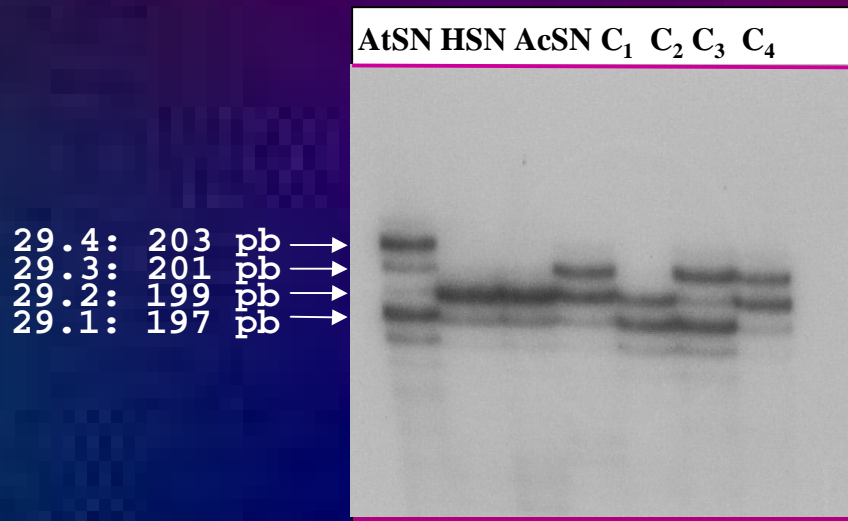
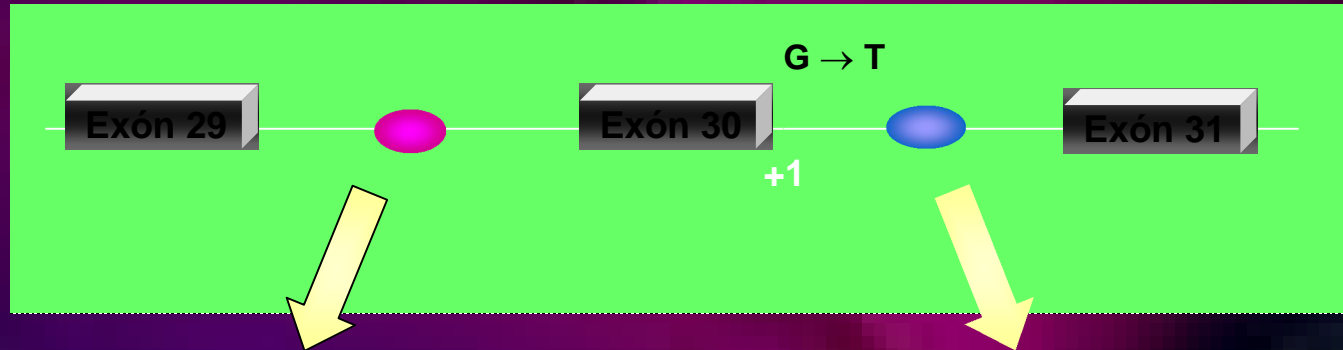
8 atccggtccattcacc(cc)(atcc)₄ atctacc(cc)(atcc)₂ cattc(atcc)₂ atctacc(cc)attt(atcc)₂ c
 7(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 6(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 5(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 4(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 3(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 2B(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 2A(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .
 1(atcc)₄(atcc)₂(atcc)₂(atcc)₂ .

8 (atcc)₂ttcc(atcc)₁ c(atcc)₁ accc (atcc)₇ cattc(atcc)₁ gtccatctttgc(atcc)₁ c
 7 (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₇(atcc)₁(atcc)₁ .
 6 (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₇(atcc)₁(atcc)₁ .
 5 (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₅.....(atcc)₁(atcc)₁ .
 4 (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₈(atcc)₁(atcc)₁ .
 3 (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₆(atcc)₁(atcc)₁ .
 2B (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₆(atcc)₁(atcc)₁ .
 2A (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₆(atcc)₁(atcc)₁ .
 1 (atcc)₂....(atcc)₁ .(atcc)₁ accc (atcc)₆(atcc)₁(atcc)₁ .

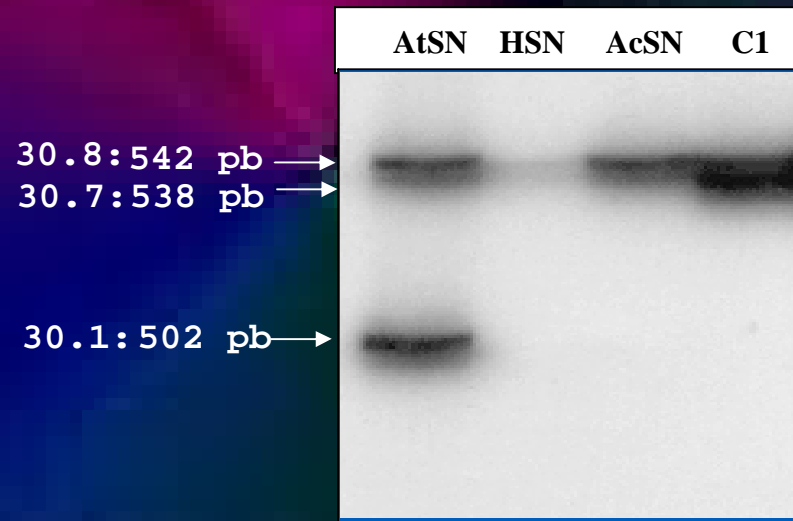
8 (atcc)₃ attcg (atcc)₁₂ accc(atcc)₁ aacc(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁ atgt(atcc)₁ atgt
 7 (atcc)₃ (atcc)₁₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁
 6 (atcc)₃ (atcc)₁₀(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁
 5 (atcc)₃ (atcc)₁₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁(atcc)₁
 4 (atcc)₃ (atcc)₁₁(atcc)₁(atcc)₁ aacc (atcc)₃(atcc)₁
 3 (atcc)₃ (atcc)₁₀(atcc)₁(atcc)₁ aacc (atcc)₃(atcc)₁
 2B (atcc)₃ (atcc)₁₀(atcc)₁(atcc)₁ aacc (atcc)₃(atcc)₁
 2A (atcc)₃ (atcc)₉(atcc)₁(atcc)₁ aacc (atcc)₃(atcc)₁
 1 (atcc)₃ (atcc)₉(atcc)₁(atcc)₁ aacc (atcc)₃(atcc)₁

8 (atcc)₂ c(atcc)₁ aacc(atcc)₁₀ (atct)₁(atcc)₃ atttggcagttattaagtatgcattatgtt
 7 (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₁₀ (atct)₁(atcc)₃
 6 (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₁₀ (atct)₂(atcc)₂
 5 (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₁₀ (atct)₁(atcc)₃
 4 (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₆ aacc-----
 3 (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₇ -----
 2B (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₆ -----
 2A (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₇ -----
 1 (atcc)₂ .(atcc)₁(atcc)₆ -----

Asociación de los marcadores con el bocio congénito

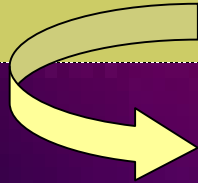


TGrI29



TGrI30

TGrI29 y TGrI30 pueden emplearse para estudios de ligamiento familiar.

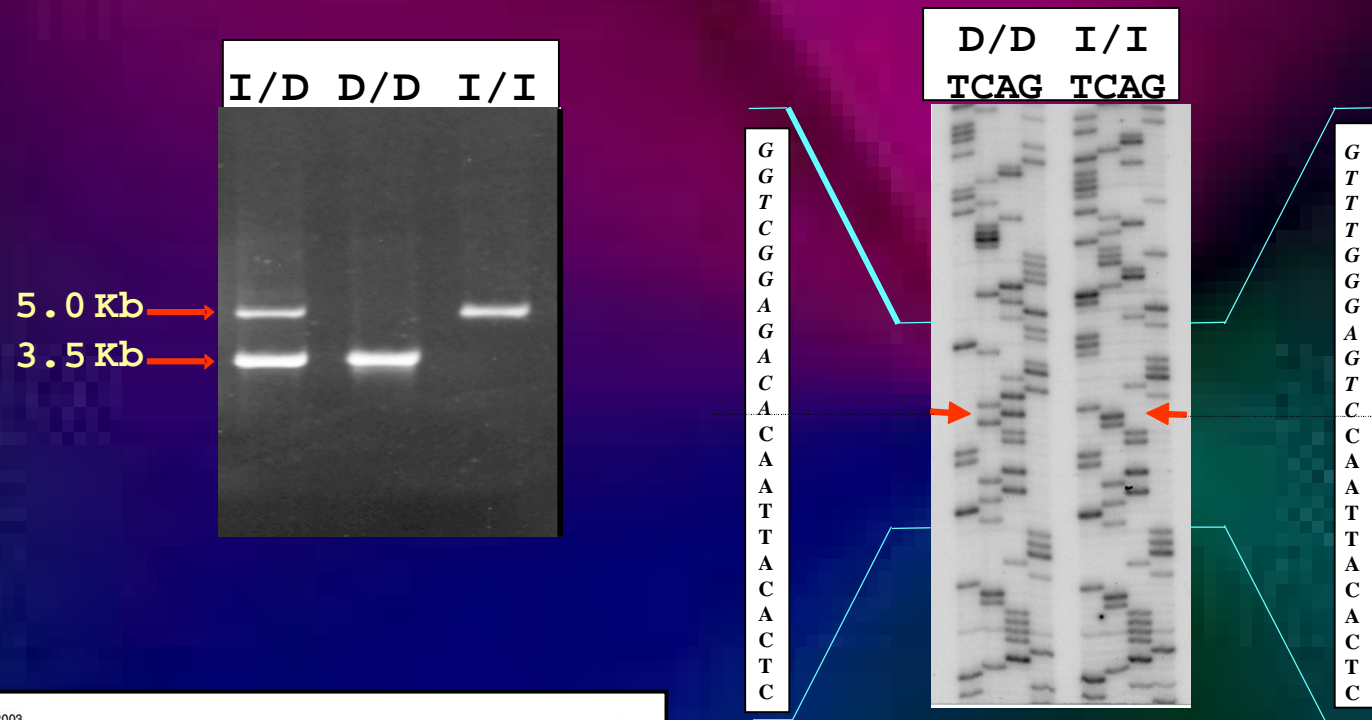


- * Hipotiroidismo congénito con bocio**
- * Hipotiroidismo congénito sin bocio**

Es un polimorfismo informativo, sin problemas de genotipificación. Puede ser amplificado rápidamente por PCR.

TGrI29 y TGrI30 podrían modular el splicing contribuyendo al mecanismo molecular responsable de la enfermedad.

Identificación y caracterización de un polimorfismo de inserción/delección de 1464 bp en el intrón 18 del gen de TG

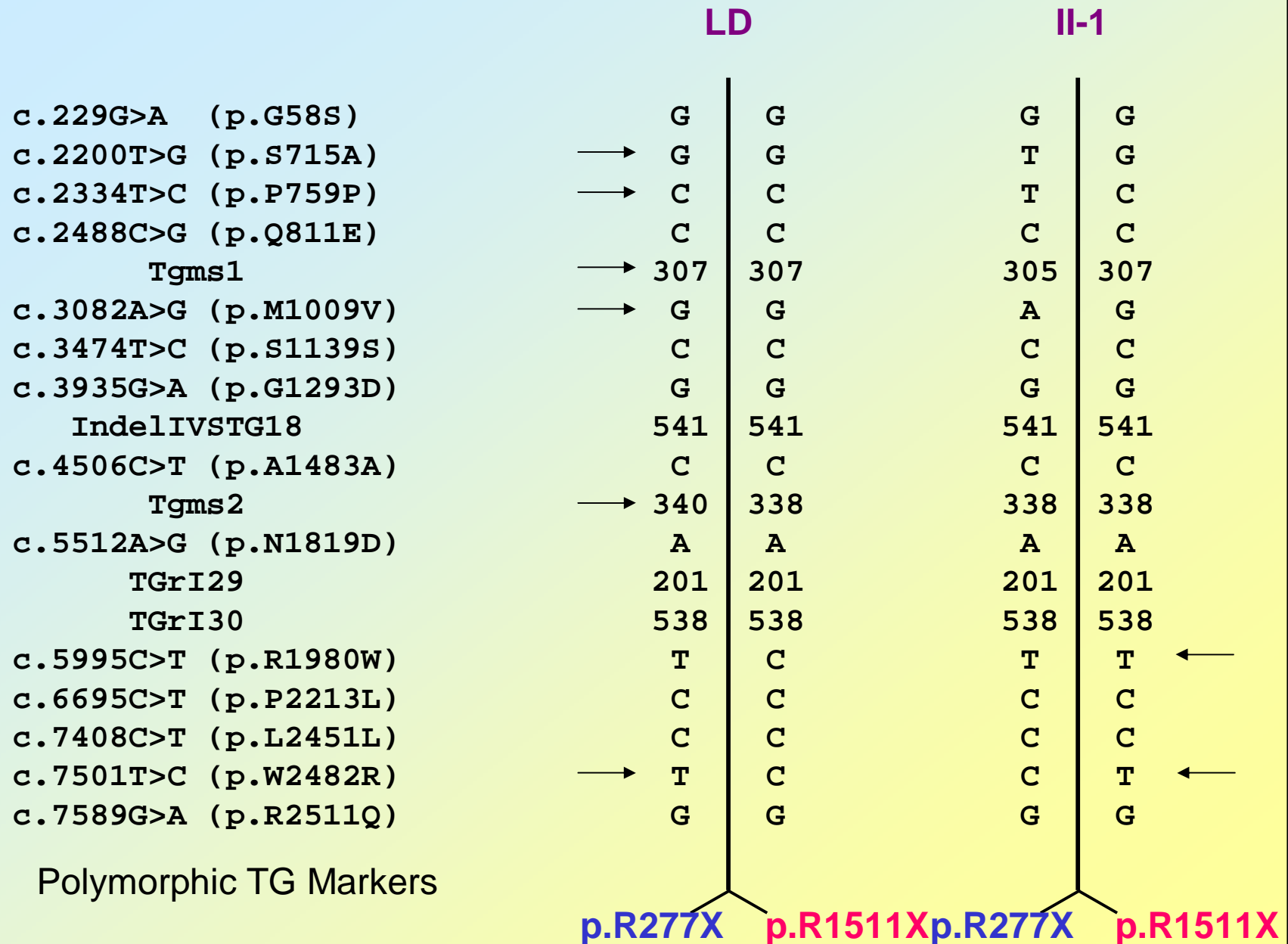


THYROID
Volume 13, Number 4, 2003
© Mary Ann Liebert, Inc.

Identification and Characterization of a Novel Large Insertion/Deletion Polymorphism of 1464 Base Pair in the Human Thyroglobulin Gene

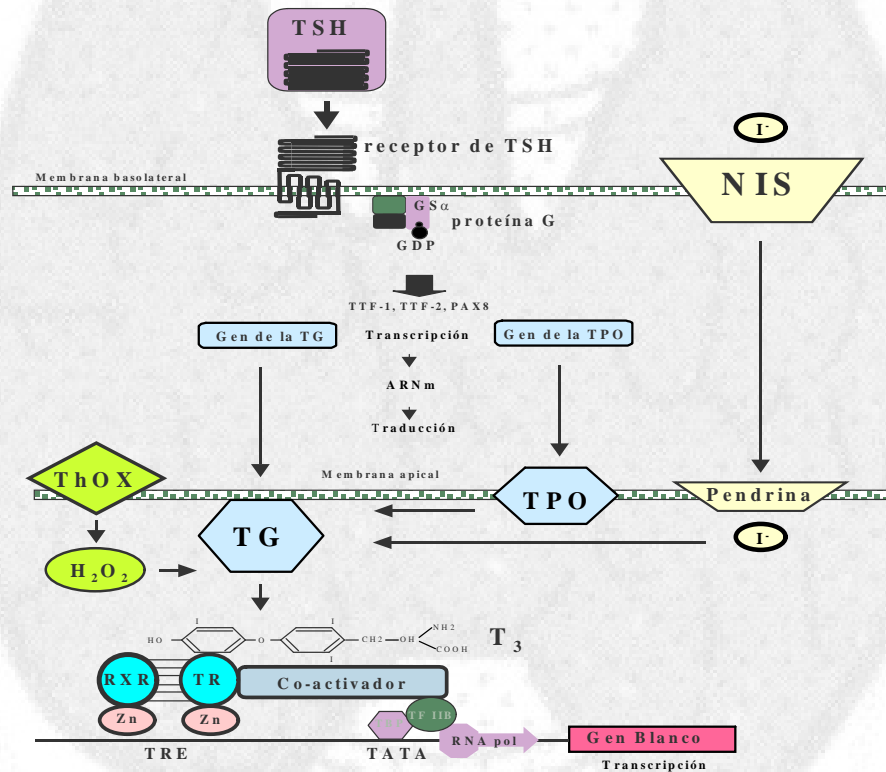
Christian M. Moya, Viviana Varela, Carina M. Rivolta, Fernando M. Mendive, and Héctor M. Targovnik

Análisis de Haplotipos





“Resistencia a Hormonas Tiroideas”



Resistencia a Hormonas Tiroideas (RTH)

Incidencia: 1/50000 nacidos vivos

Diagnóstico:

- * Elevados niveles de T3 y de T4 séricas
- * Niveles de TSH normales o levemente elevados

Síntomas y signos:

Indicativos de hipotiroidismo e hipertiroidismo

Manifestaciones de RTH

BOCIO

TAQUICARDIA

DEFICIT DE ATENCIÓN

**HIPERACTIVAD/TRANSTORNOS EN EL
APRENDIZAJE**

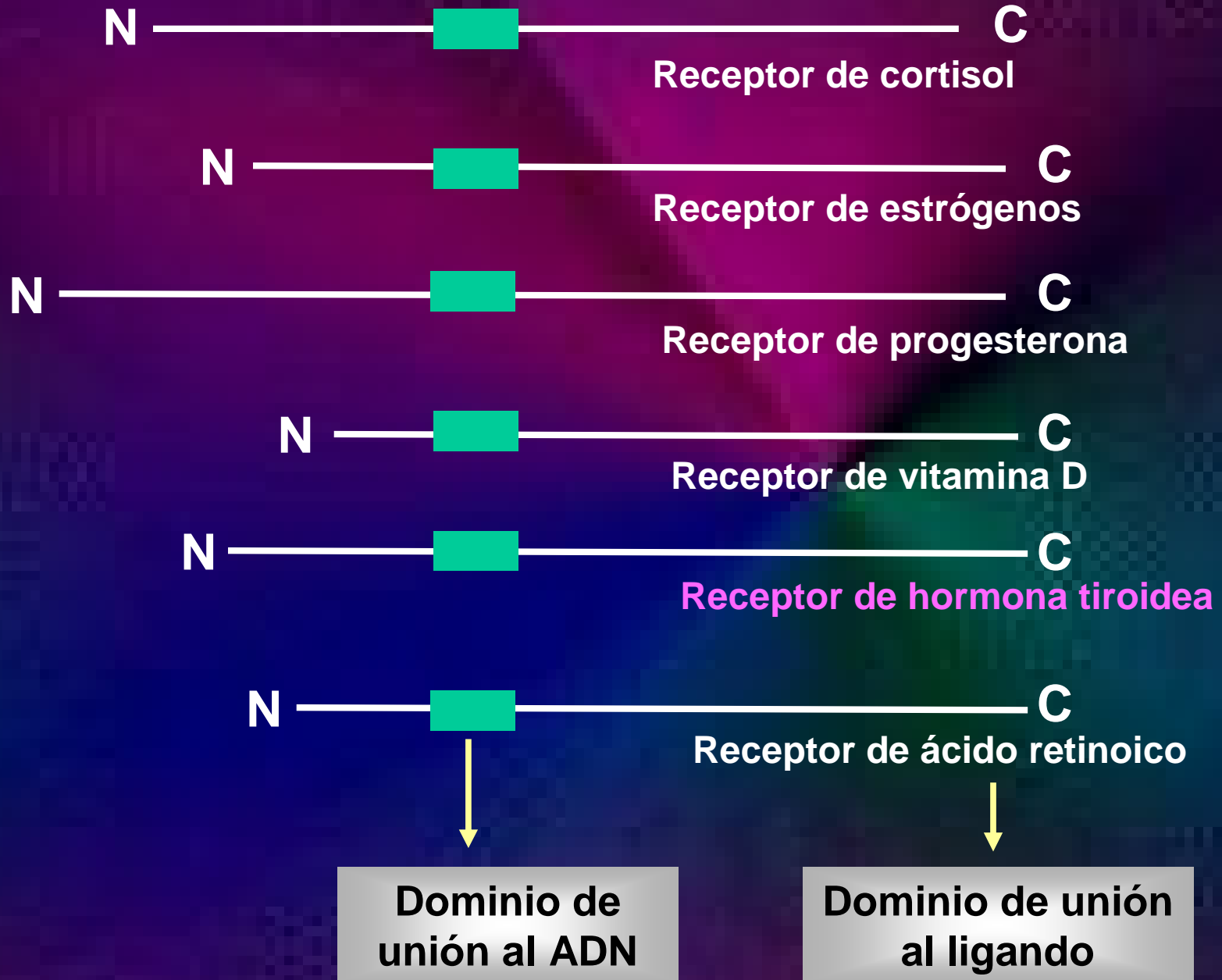
BAJO IQ

BAJA ESTATURA

RETRASO EN EL DESARROLLO ÓSEO

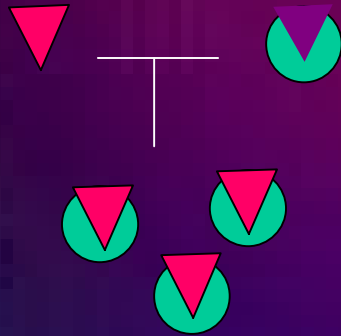
PÉRDIDA DE AUDICIÓN

Superfamilia de receptores intracelulares



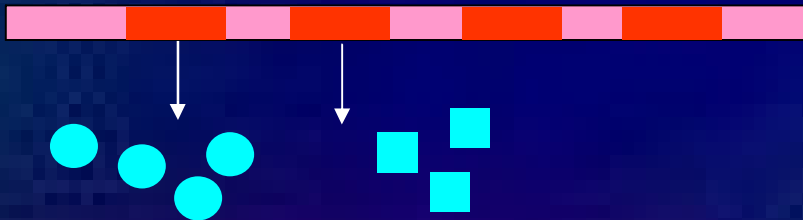
Respuesta primaria a hormonas esteroideas

Hormona esteroidea Receptor de Hormona esteroidea



H-C activa genes de respuesta primaria

ADN

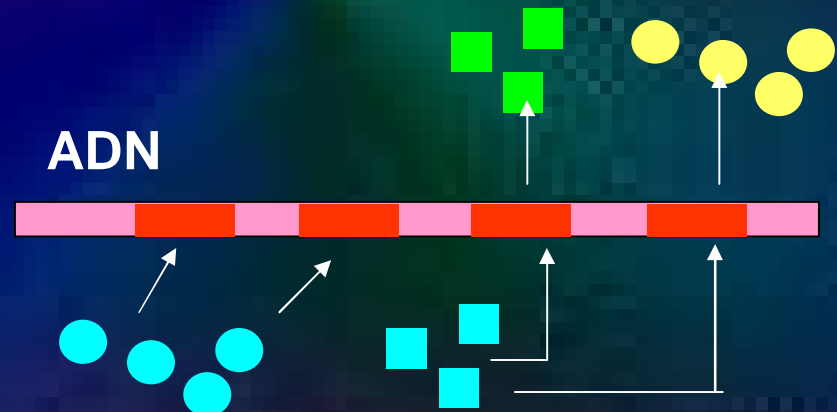


Síntesis inducida de unas pocas proteínas diferentes en la respuesta primaria

Respuesta secundaria a hormonas esteroideas

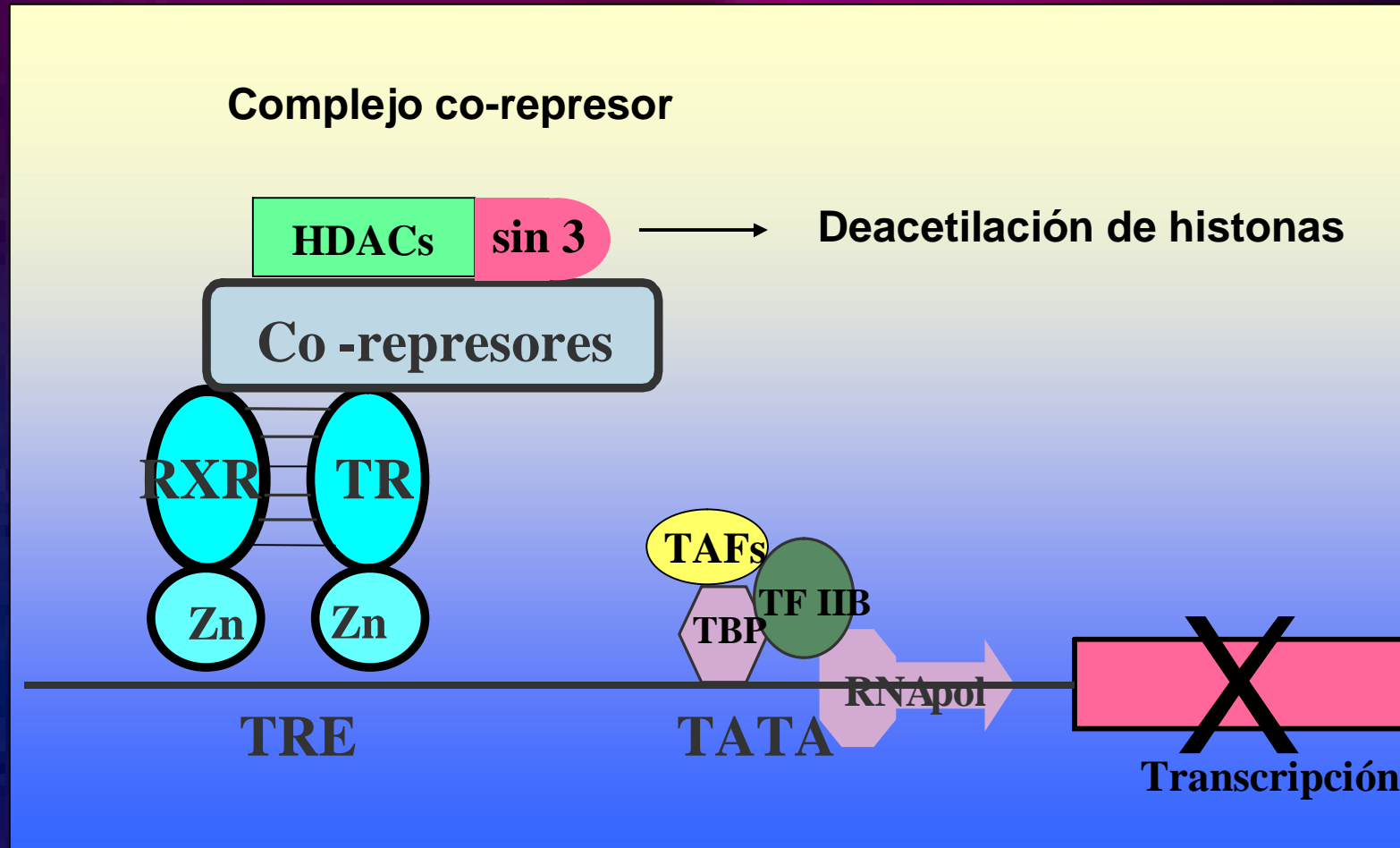
Proteínas de respuesta secundaria

ADN



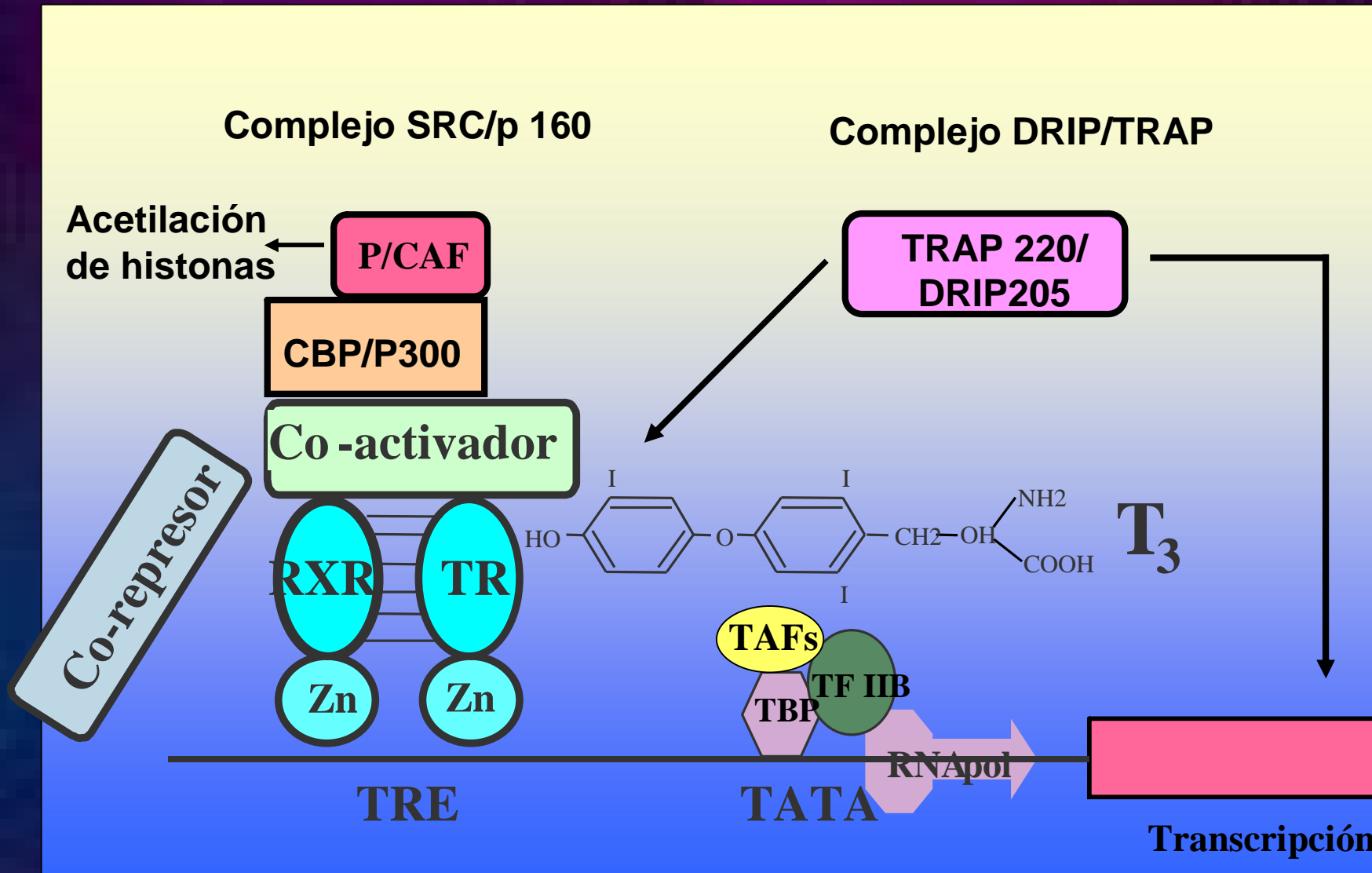
Una respuesta primaria enciende genes de respuesta secundaria

Modelo molecular para la represión basal por co-represores en la ausencia de T3





Co-represores: NCoR, SMRT

Activación transcripcional por co-activadores en la presencia de T3



Genes que codifican a los Receptores de Hormonas Tiroideas (TRs)

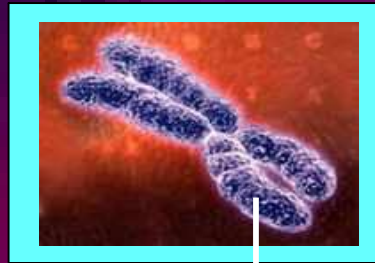
Gen	Cromosoma	Isoformas	Localización del TR
TR α	 Ch.17	TR α 1	Generalizada
		TR α 2	Generalizada
TR β	 Ch.3	TR β 1	Generalizada
		TR β 2	Pituitaria/SNC

Mutaciones en el gen TR β se asocian a RTH.

Estructura y funciones de las isoformas del receptor de hormonas tiroideas

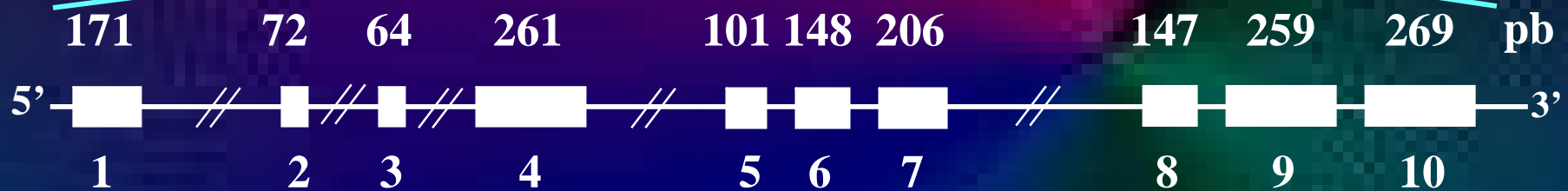
				DNA binding	T3-binding	Transactivación	
TR β -2	1	DBD	LBD	514	+	+	+
TR β -1	1	100	100	461	+	+	+
TR α -1	1	86	82	410	+	+	+
c-erbA α -2	1	86	82	492	+	-	-

Representación esquemática del gen TR β y su proteína TR β 1

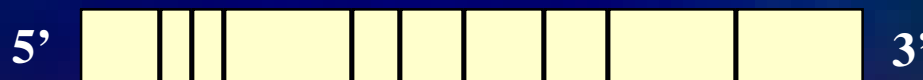


Cromosoma 3

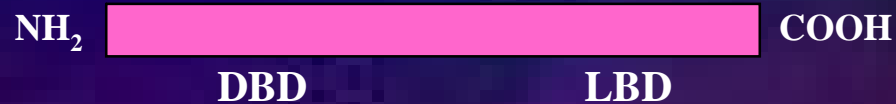
3p22-24



Gen: 372 Kb

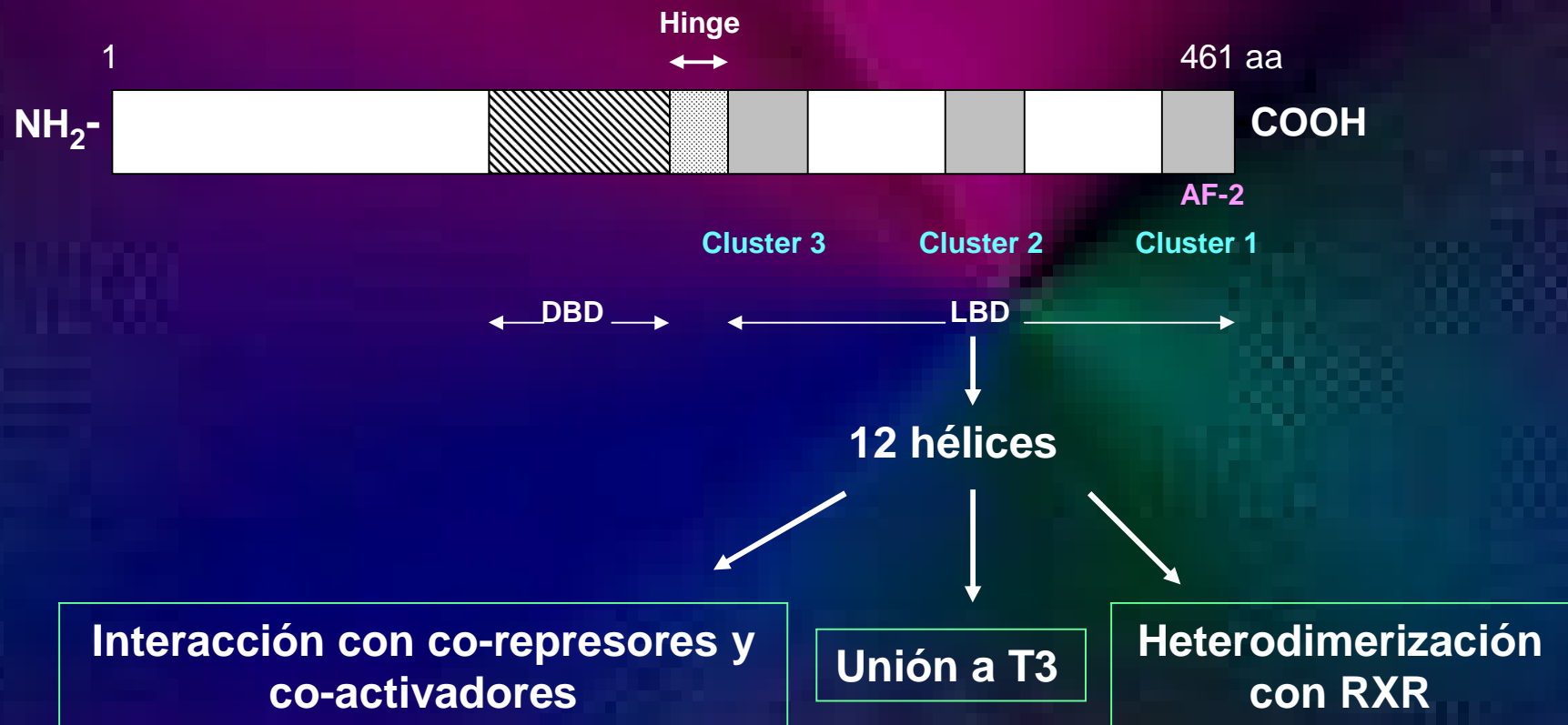


ARNm: 1.698 b



Proteína: 461 aa

Localización de mutaciones en el gen TR β



Mutaciones identificadas en el gen TR β

Mutación	Exón	Mutación	Exón	Mutación	Exón
K306A	9	Q340H	9	M442V	10
M310T	9	K342I	9	K443E	10
M313T	9	G344E	9	K443N	10
R316H	9	G345R	9	C446R	10
A317T	9	G345V	9	C446X	10
R320C	9	G345D	9	L450H	10
R320H	9	G345S	9	F451I	10
R320L	9	G347E	9	F451X	10
Y321C	9	V348E	9	P453T	10
D322N	9	V349M	9	P453S	10
D322H	9	V349M	9	P453A	10
L328F	9	R383H	10	P453H	10
L330F	9	T426I	10	L454A	10
G322R	9	L428R	10	L454V	10
E333Q	9	R429Q	10	L454S	10
M334R	9	I431T	10	E457R	10
T337I	9	C434X	10	E457A	10
T337A	9	H435L	10	V458A	10
T337H	9	H435Q	10	F459C	10
R338W	9	R438C	10	E460K	10
R338L	9	R438H	10		

Características:

*Tipo de mutación: Germinal

*Presencia alélica: Heterocigota

*Tipo de herencia: Autosómica dominante

Evidencias genéticas y clínicas para la actividad dominante negativa ejercida por los TR β mutados

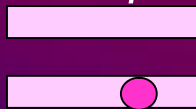
Herencia autosómica dominante

TR β heterocigota

TR α



TR β



Mutación puntual

RTH

Herencia autosómica recesiva

TR β heterocigota



Delección

Fenotipo Normal

Tests de función tiroidea normales

TR β homocigota



Doble delección

RTH

Dicha actividad disminuye introduciendo mutaciones en el dominio DBD

Objetivos

Identificar nuevas mutaciones en el gen $TR\beta$ en 17 familias argentinas con cuadro clínico compatible con RTH.

Metodología

Purificación de ADN genómico a partir de sangre periférica.



PCR de los exones 7, 8, 9 y 10



Secuenciación



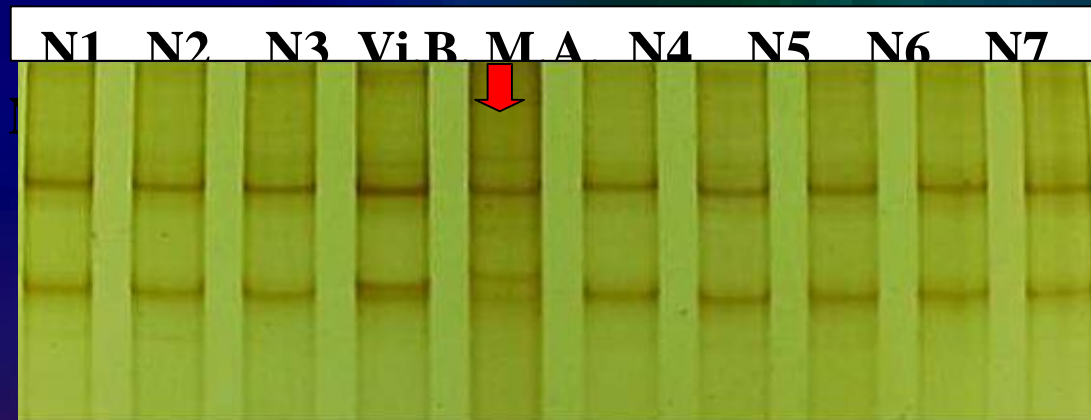
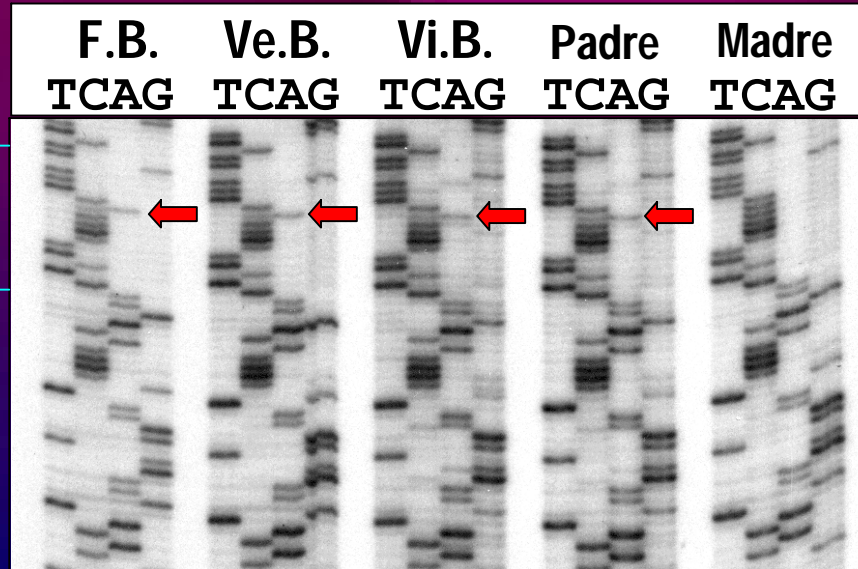
SSCP para validar nuevas mutaciones

Mutación en el exón 10 p.P453T

Familia 1

3'
T
G
T
T
T
C
C
C
C
T
T
C
T
C
T
C
5'

1357: C/A



Alelo Normal
CCT
Pro (453)

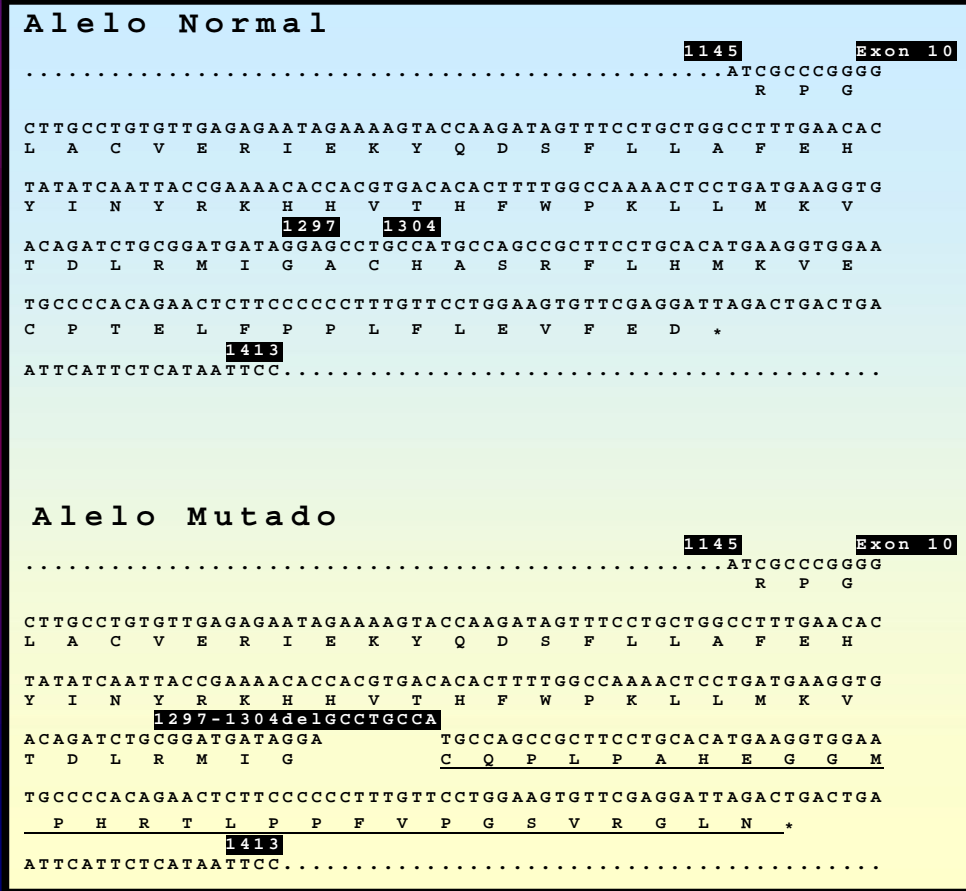
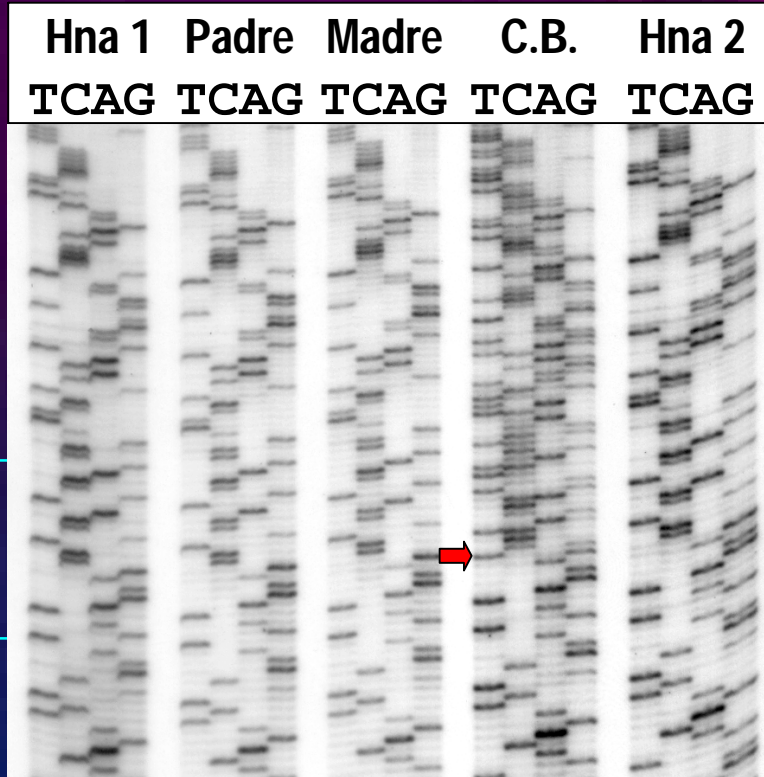
Alelo Mutado
ACT
Thr (453)

SSCP : Gel de poliacrilamida al 10 %.

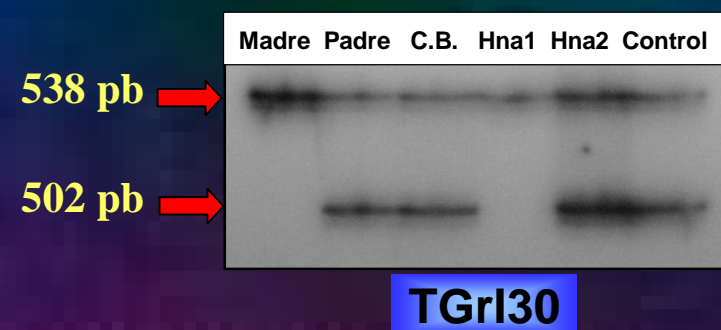
Nueva deleción en el exón 10 : c.1297-1304delIGCCTGCCA

Paciente CB

N M
3' 3'
G C
A C
C T
C T
G C
T G
A C
C C
G A
T C
C C
C G
G T
A A
G G
G G
A A
T T
A A
G G
5' 5'

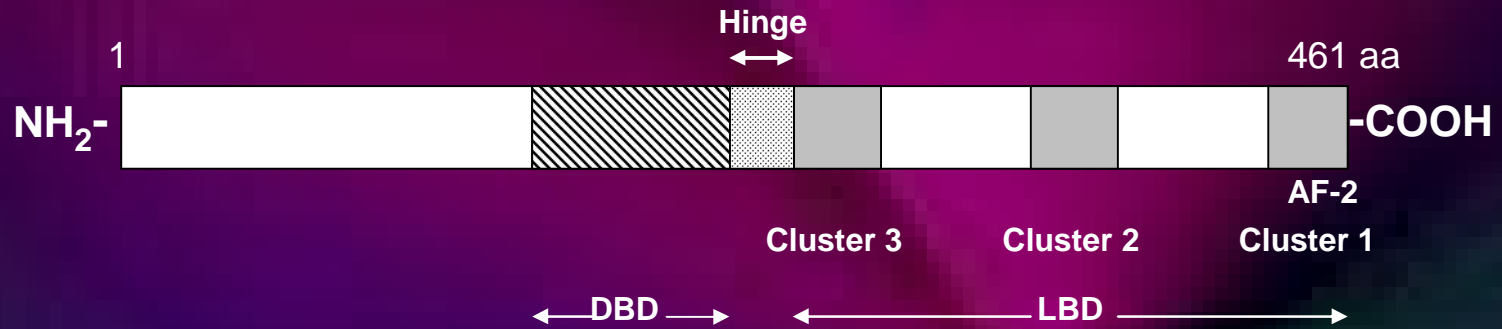


Análisis de microsatélites

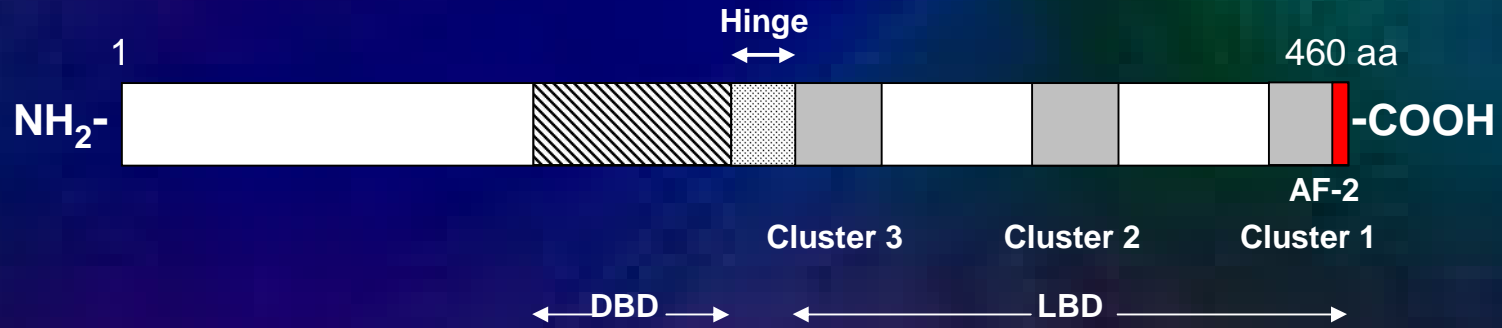


Paciente CB

Wild Type



1297-1304delIGCCTGCCA



Mutaciones identificadas en el gen TR β

Exón	Pacientes	Mutaciones conocidas	
9	MA	c.1012C>T (CGG>TGG)	p.R338W
10	GC	c.1357C>A (CCT>ACT)	p.P453T
10	VB	c.1357C>A (CCT>ACT)	p.P453T
10	NL	c.1357C>A (CCT>ACT)	p.P453T

Análisis predictivo de la estructura secundaria del receptor

Exón 9

THR β -WT QIILLKGCCMEIMSLRAAVRYDPESETLTLNGEMAVTRGQLKNGGLGVVSDAIFDLGMSL

ESP HHEE-----HHHHHHHH-----E-H---HHHH-----EEEE--EHH-----

THR β -R338W QIILLKGCCMEIMSLRAAVRYDPESETLTLNGEMAVTWGQLKNGGLGVVSDAIFDLGMSL

ESP HHEE-----HHHHHHHH-----E-H---HHHH-----EEEE--EHH-----

E: lámina β H: α hélice -: aa conectores

Análisis evolutivo del receptor

p.R338W

Homo sapiens	296	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	351
Macaca mulatta	296	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	351
Macaca fascicularis	296	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	351
Mus musculus	296	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	D	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	351
Rattus norvegicus	296	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	D	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	351
Equus caballus	296	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	351
Canis familiaris	302	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	357
Conger myriaster	232	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	287
Danio rerio	230	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	D	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	285
Gallus gallus	204	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	V	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	259
Xenopus laevis	208	LP	CE	DQ	I	I	L	L	K	G	C	C	M	E	I	M	S	L	R	A	A	V	R	Y	D	P	E	S	E	T	L	T	L	N	G	E	M	A	V	T	R	G	Q	L	K	N	G	G	L	G	V	V	S	D	263

Conclusiones

El análisis poblacional indica que las mutaciones identificadas no se tratan de polimorfismos frecuentes.

El análisis de la estructura secundaria de las proteínas mutadas y los estudios evolutivos proteicos permiten inferir que las mutaciones identificadas son de tipo inactivante.

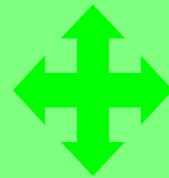
En el 90 % de casos de RTH no existen síntomas ni signos patognomónicos por lo cual la identificación de nuevas mutaciones en el gen $TR\beta$ aumentará la precisión en el diagnóstico y tratamiento de RTH.

Perspectivas

1) Búsqueda de mutaciones en los exones 7 y 8 del gen TR β en aquellos pacientes en los cuales no se han identificado alteraciones.

2) Expresión in vitro de los alelos TR β conteniendo las mutaciones identificadas.

Binding a co-activadores



Binding a co-represores

Determinación de la afinidad de las hormonas tiroideas por los receptores mutados.