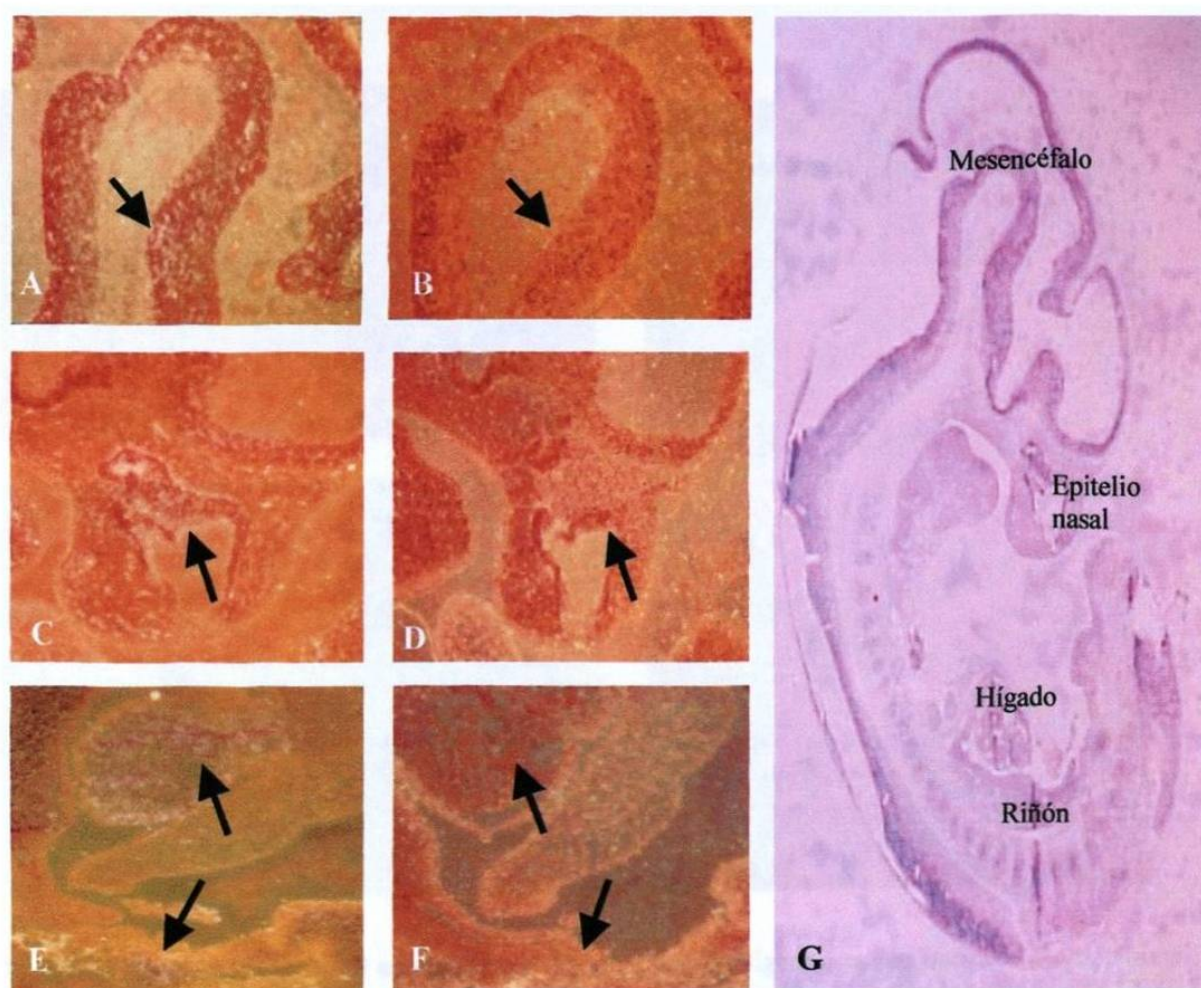


### 3.3.2.4 Expresión de OS40 en embriones de 11.5 días de desarrollo

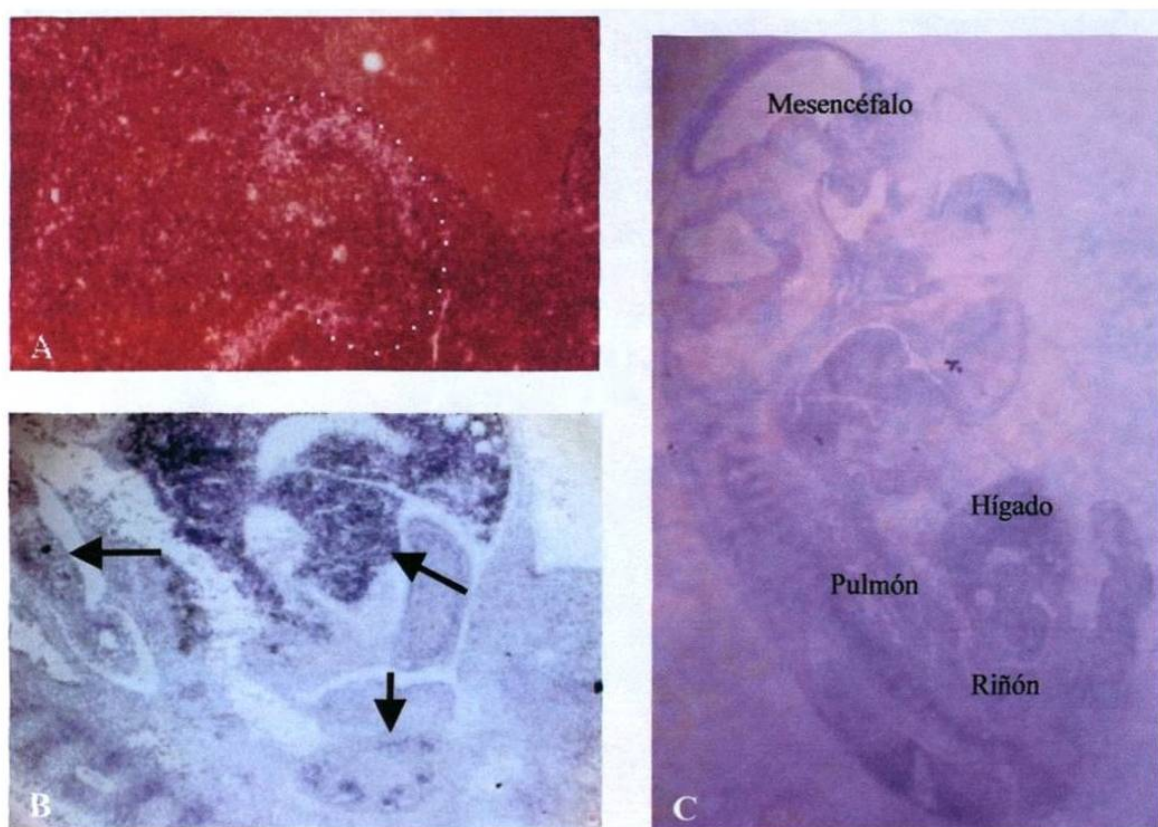
Conforme avanza el desarrollo embrionario, en el embrión de 11.5 días el cerebro continúa en desarrollo, los neuroblastos que permanecen están en constante proliferación. El hígado, corazón y mesonefros siguen desarrollándose. En esta etapa del desarrollo embrionario, la expresión de la secuencia OS40 aparece en otros órganos y tejidos aparte de los ya mencionados, ellos son: riñón y epitelio nasal (Figura 10).



**Figura 10. Expresión de OS40 en embriones de 11.5 días.** Las figuras de A-F son imágenes de campo oscuro (8X). La figura G corresponde a un embrión completo de 11.5 días visto en campo claro (4X), en el que se muestra la localización de los órganos y tejidos amplificadas en campo oscuro. En la figura A la flecha indica la expresión de OS40 en la región ventral mesencefálica. B es una imagen del control negativo (sonda sentido). La imagen C muestra la expresión de OS40 en el epitelio nasal (señalado por la flecha). D es el control negativo de la imagen C. Las fotografías E y F fueron tomadas de la región media inferior del cuerpo del embrión. La figura E muestra la hibridación de la sonda antisentido, las flechas señalan la expresión de OS40 en el hígado (flecha superior) y el riñón (flecha inferior). En F se muestra la localización del hígado y del riñón, hibridados con la sonda sentido OS40.

### 3.3.2.5 Expresión de OS40 en embriones de 12.5 días de desarrollo

Siguiendo el desarrollo embrionario, a los 12.5 días de gestación continúa la organogénesis. El hígado es más grande y más vascularizado. Con respecto al desarrollo del riñón, degenera el pronefros, hay regresión de los túbulos mesonéfricos y aparecen masas celulares metanéfricas. La expresión de la secuencia OS40 continúa en mesencéfalo, hígado, riñón, epitelio nasal y comienza en pulmón (Figura 11).

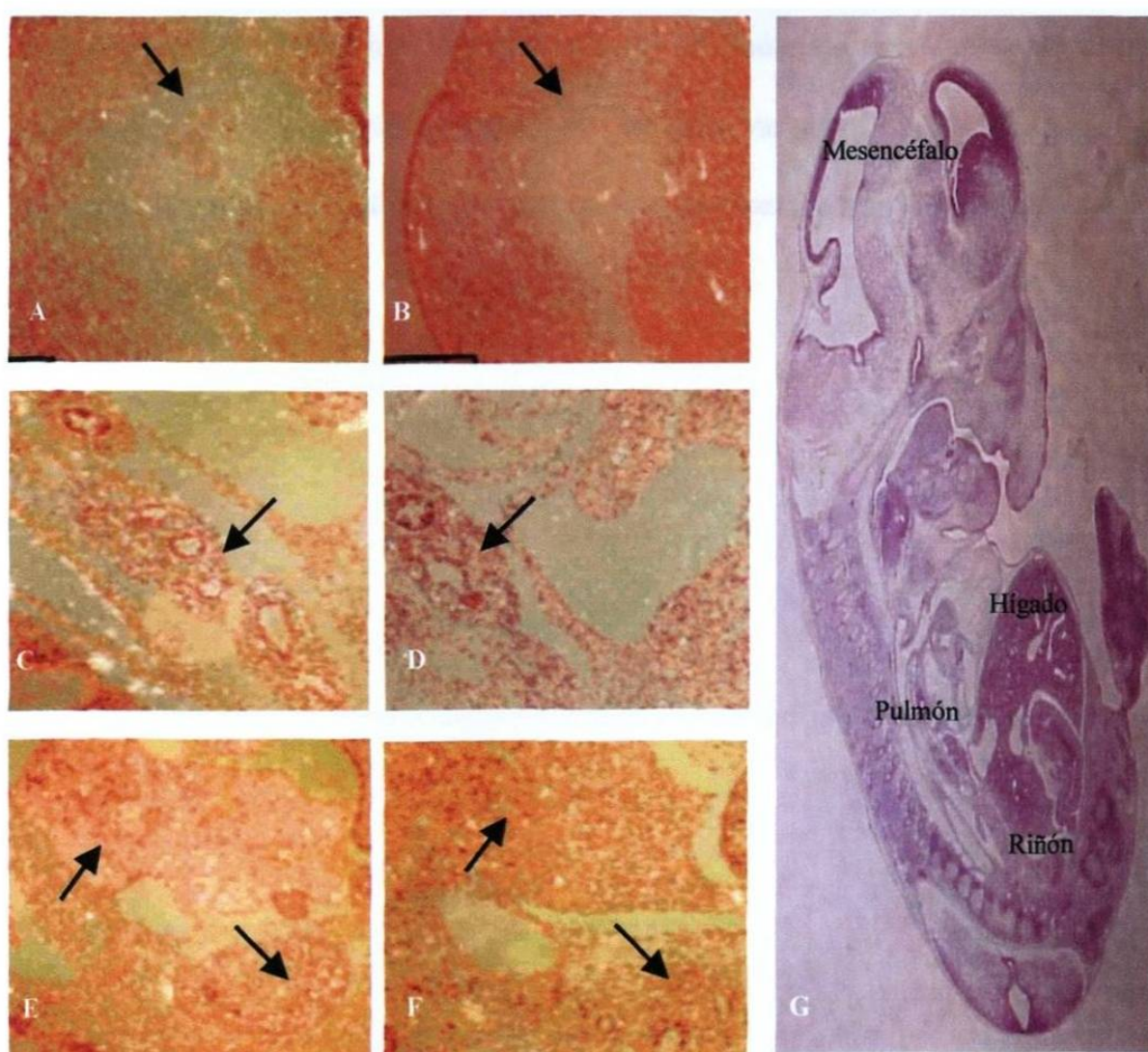


**Figura 11. Expresión de OS40 en embriones de 12.5 días.** La figura A es una imagen de campo oscuro de la región ventral mesencefálica (8X). La línea punteada en color blanco indica la expresión de OS40 a lo largo de toda la flexura mesencefálica. La figura B corresponde al campo claro de la parte media de un embrión de 12.5 días (8X), que muestra la expresión de OS40 en el hígado (flecha superior derecha), pulmón (flecha superior izquierda) y riñón (flecha inferior). La imagen C corresponde a un embrión de 12.5 días en el que se señalan los órganos antes mencionados (4X).

### 3.3.2.6 Expresión de OS40 en embriones de 13.5 días de desarrollo

En un embrión de 13.5 días de desarrollo, el hígado y el pulmón se han agrandado, este último muestra desarrollo lobular. El metanefros es prominente y aún permanecen los ductos mesonéfricos y pronéfricos (presentes de acuerdo al sexo).

En este embrión, la expresión de OS40 se mantiene en los mismos órganos: riñón, hígado, pulmón, y mesencéfalo (Figura 12).

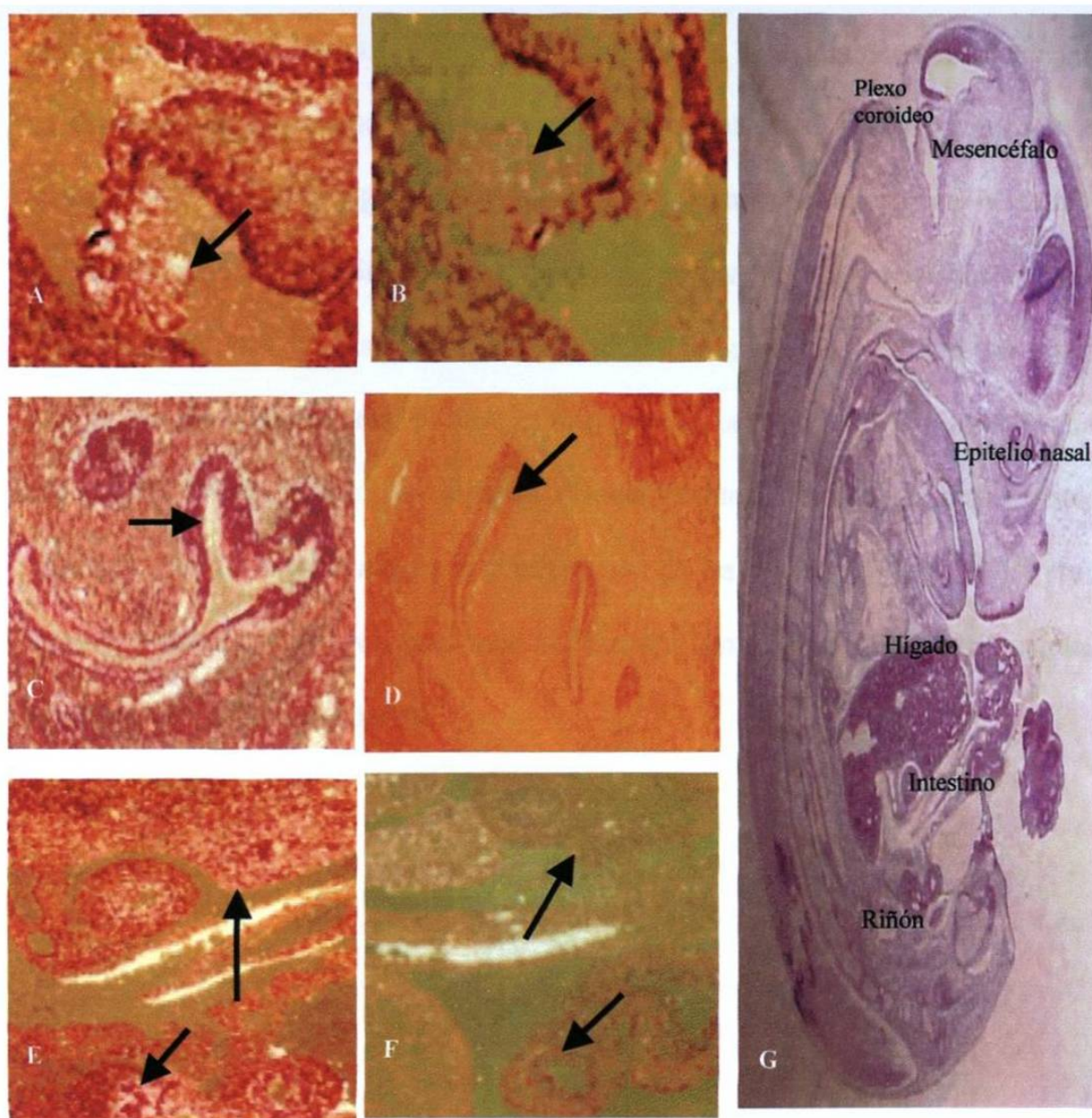


**Figura 12.** Expresión de OS40 en un embrión de 13.5 días. Las imágenes de campo oscuro en A, C y E corresponden a hibridaciones *in situ* con la sonda antisentido OS40 y B, D y F a sus respectivos controles negativos con la sonda sentido OS40 (8X). A y B corresponden a la región ventral mesencefálica, las flechas indican la flexura mesencefálica. Las figuras C y D corresponden al pulmón, las flechas indican estructuras del pulmón. E y F son imágenes del hígado (indicado por la flecha izquierda) y del riñón (flecha derecha). En G se indican los órganos y tejidos mostrados en campo claro (4X).

### **3.3.2.7 Expresión de OS40 en embriones de 14.5 días de desarrollo**

En un embrión de 14.5 días, la expresión de la secuencia OS40 continúa presente en la región ventral mesencéflica, en el epitelio nasal y en el hígado. Por otro lado comienza a expresarse en el plexo coroideo y en el epitelio intestinal. Mientras tanto los principales cambios que ocurren en el embrión, se sitúan en la región cefálica. En ella, el cerebro ya está bien definido con todas sus estructuras, e inicia el desarrollo de los dientes incisivos, de la papila dental y del esmalte. El primer molar es visible en ambos lados del rostro del embrión. Algunos órganos continúan desarrollándose, entre ellos el hígado, que es ahora más grande y mucho más vascular. En las asas intestinales, aparecen las primeras vellosidades y el metanefros aparece más reducido, más celular y con más ductos.

## Análisis del patrón de expresión de un gen cuya expresión es afectada por la inactivación del factor de transcripción Nurr1

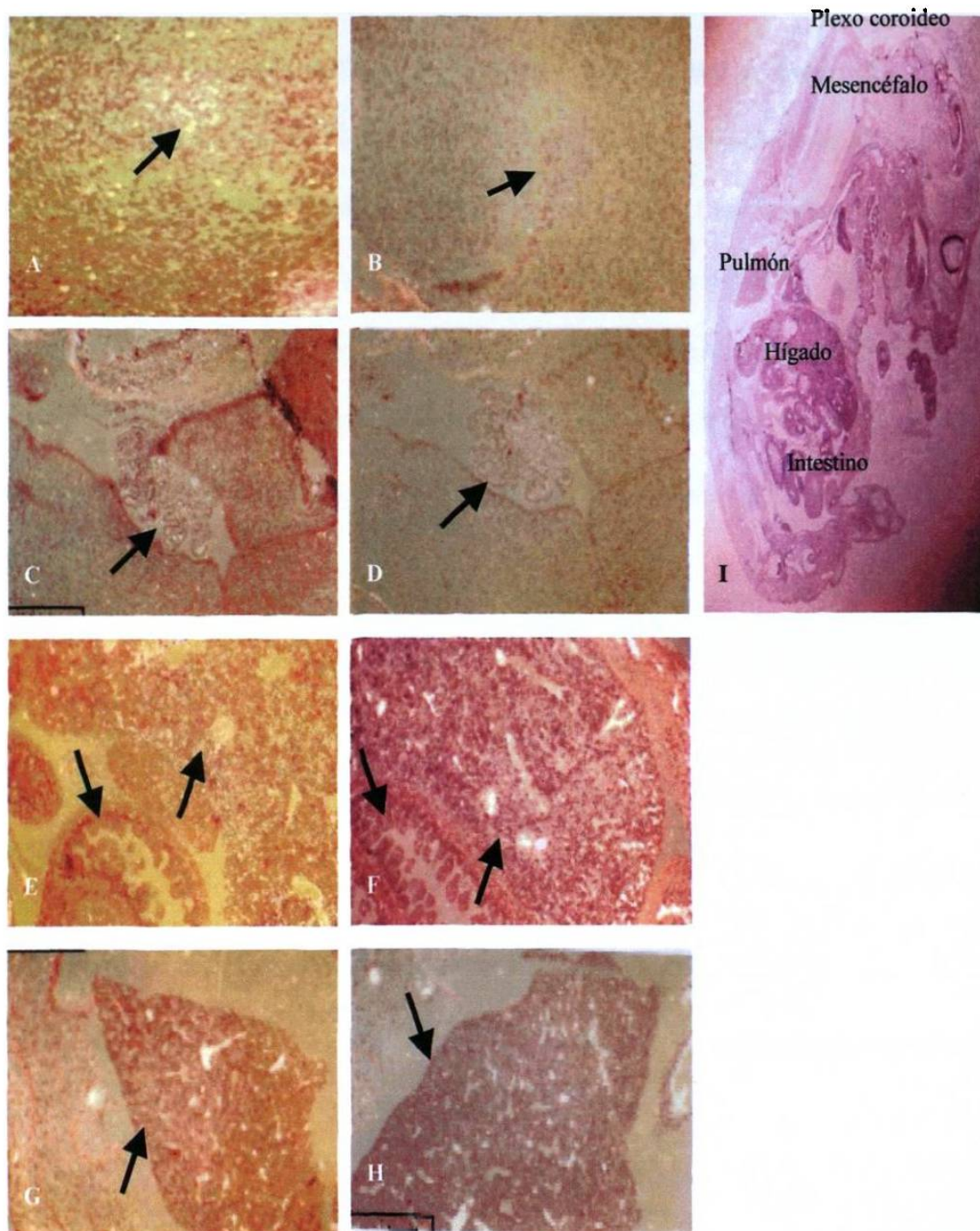


**Figura 13. Expresión de OS40 en un embrión de 14.5 días.** Las fotografías de A-F son imágenes de campo oscuro (8X). En A se muestra la expresión de OS40 en el plexo coroideo del cerebro posterior. B corresponde al control negativo de esta región hibridada con OS40 sentido. C y D son imágenes del epitelio nasal. En C la flecha indica la expresión de la secuencia OS40. D muestra el control negativo con OS40 sentido. En E se muestra la expresión de OS40 en el hígado (flecha superior) e intestino (flecha inferior). La imagen F fue hibridada con OS40 sentido, las flechas indican la ausencia de expresión en hígado e intestino. En G se muestra un embrión de 14.5 días teñido con hematoxilina. En él se señalan los órganos y tejidos mostrados en campo oscuro (4X).

### **3.3.2.8 Expresión de OS40 en embriones de 16.5 días de desarrollo**

A los 16.5 días del desarrollo embrionario, la expresión de OS40 comienza a disminuir e incluso desaparece en algunos órganos. En la región mesencefálica continúa la expresión de la secuencia OS40 en muy bajo nivel. En el plexo coroideo la señal disminuye. Tanto en el hígado como en el riñón la expresión desaparece. Mientras que en el desarrollo del embrión, los cambios más importantes están relacionados con los músculos estriados y el esqueleto. Los músculos de la lengua y de la masa muscular común son más prominentes. El timo es muy grande, la mayoría de los timocitos tienen un tamaño medio y aparecen algunas células maduras. En los pulmones aparecen alvéolos. Hay un incremento en la proliferación de las células del epitelio del esmalte interno y externo. Las invaginaciones del esmalte continúan llenándose de células en proliferación de la papila dental.

## Análisis del patrón de expresión de un gen cuya expresión es afectada por la inactivación del factor de transcripción Nurr1



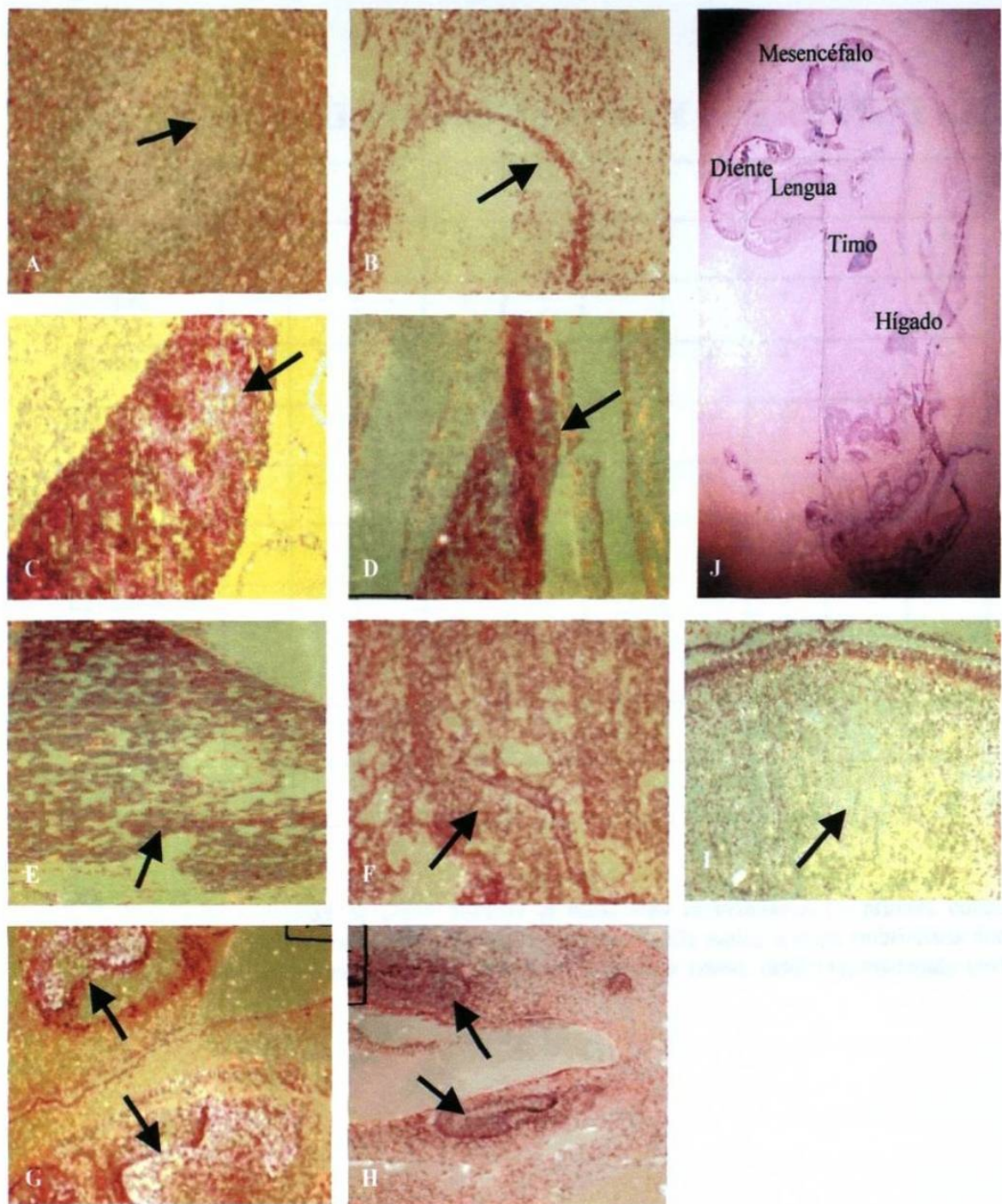
**Figura 14.** Expresión de OS40 en un embrión de 16.5 días. Las imágenes de A-H fueron tomadas en campo oscuro (8X). A, C, E y G son hibridaciones de la sonda OS40 antisense, mientras que B, D, F y H fueron hibridadas con OS40 sentido (control negativo). En A se muestra la expresión de OS40 en el mesencéfalo, B es la misma región con ausencia de señal. La expresión de OS40 en el plexo coroideo del cerebro posterior es mostrado en C. D es el control negativo. En E y F las flechas señalan el hígado (flecha del lado derecho) e intestino (flecha izquierda), donde la secuencia OS40 deja de expresarse. F es el control negativo de hibridación. Las imágenes G y H corresponden a cortes histológicos de pulmón. En ambos casos la señal ya no está presente. En I se muestra un embrión de 16.5 días teñido con hematoxilina y visualizado en microscopía de luz (4X).

### **3.3.2.9 Expresión de OS40 en embriones de 18.5 días de desarrollo**

En un embrión de 18.5 días de desarrollo la secuencia OS40 se expresa en mesencéfalo, ya no hay expresión en hígado ni en pulmón, pero comienza a expresarse en el timo, en el tercio posterior de la lengua y en la pulpa de los incisivos en formación. El cerebro está completamente formado. El timo comienza a tener funciones endocrinas. El hígado es más hematopoyético que endocrino, con muchas células sanguíneas en diferentes etapas de formación. El riñón está completamente diferenciado y puede iniciar su función.



## Análisis del patrón de expresión de un gen cuya expresión es afectada por la inactivación del factor de transcripción Nurr1



**Figura 15. Expresión de OS40 en un embrión de 18.5 días.** Las imágenes de A-I fueron tomadas en campo oscuro (8X). En A se señala la región mesencefálica. En ella la señal de la expresión de OS40 es muy escasa. B fue hibridada con OS40 sentido. C y D son imágenes de timo en campo oscuro. En C la flecha señala la expresión de OS40. D es también una imagen de timo pero hibridado con OS40 sentido. Las fotografías E y F fueron hibridadas con las sondas OS40 antisentido y sentido respectivamente. Las flechas señalan el hígado, órgano donde la expresión de OS40 ya no se observa. En G se indica la expresión de OS40 en la pulpa de los dientes en formación. H es el control negativo de G. La imagen I muestra la expresión de OS40 en el tercio posterior de la lengua del ratón. La imagen J corresponde a un embrión de 18.5 días, teñido con hematoxilina y fotografiado en campo claro (4X).

La siguiente tabla corresponde a un resumen cronológico del patrón de expresión de la secuencia OS40.

Tejido/ órgano	E 7.5	E 8.5	E 9.5	E 10.5	E 11.5	E 12.5	E 13.5	E 14.5	E 16.5	E 18.5
Neuroepitelio	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Tubo neural	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Cerebro	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Hígado	-	-	-	+	++	++	++	+	-	-
Riñón	-	-	-	-	+	++	++	+	-	-
Pulmón	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-
Intestino	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
Epitelio nasal	-	-	-	-	++	++	++	+	-	-
Yema dental	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
Plexo coroideo	-	-	-	-	-	-	-	++	+	-
Lengua	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

**Tabla 2. Patrón de expresión de OS40 durante el desarrollo embrionario.** La primera columna corresponde al órgano o tejido donde se expresa OS40. La primera fila indica la etapa embrionaria donde aparece esa expresión. La intensidad de la expresión se representa como: débil (+), moderada (++) y fuerte (+++).

## CAPITULO IV

### DISCUSION

Nurr1 es un factor de transcripción cuya inactivación en un modelo animal, ocasiona la pérdida de las neuronas dopaminérgicas mesencefálicas, mismas que degeneran en los enfermos de Parkinson. Estas células no logran adquirir el fenotipo dopaminérgico y entran en proceso de apoptosis<sup>1-4</sup>. A partir de estas observaciones, se pensó que debido a la inactivación del factor de transcripción Nurr1 se dejaron de transcribir genes importantes para la proliferación, maduración y supervivencia de las neuronas dopaminérgicas en el mesencéfalo.

Como un primer paso para conocer la vía regulatoria de Nurr1, se identificaron mediante ddPCR varios genes al hacer una comparación de RNA proveniente de la región ventral mesencefálica de cerebros de ratones recién nacidos silvestres y knock-out Nurr1. Una de las secuencias de cDNA aislada, fue la sonda OS40 de aproximadamente 300 pb. La expresión del gen correspondiente a esta secuencia de DNA aislada, aparentemente estaba ausente de acuerdo a los resultados por ddPCR, en los ratones knock-out Nurr1. Cuando esta secuencia de DNA se comparó con el programa Blast del Genebank, se descubrió que era muy similar a una secuencia génica humana, cuya función se desconoce. La secuencia OS40, resultó potencialmente

atractiva por ser un gen nuevo presente en el humano o al menos no conocido hasta el momento.

Por otro lado, el hecho de que en el ratón Knock-out Nurr1 no haya expresión de la secuencia OS40 en el mesencéfalo, sugiere que debido a la inactivación del factor de transcripción Nurr1 la secuencia OS40 no pudo ser transcrita. Para comprobar lo anterior, se hizo una comparación de la expresión de OS40 en secciones sagitales de cerebros de ratones recién nacidos knock-out y silvestres, mediante hibridación *in situ*. Las hibridaciones revelaron que en los ratones silvestres la expresión de OS40, esta presente en la región ventral mesencefálica, pero en muy bajo nivel. Mientras que en el mutante Nurr1 se comprobó que la expresión de OS40 no esta presente. Lo cual de alguna manera nos lleva a pensar que el factor de transcripción Nurr1 podría estar involucrado en la regulación de OS40 al menos en esta región del cerebro, ya que fue únicamente en el cerebro donde hubo ausencia de expresión de la secuencia OS40.

Esta posibilidad es muy grande si tomamos en cuenta que actualmente se sabe que uno de los genes afectados por la inactivación de Nurr1 en la región ventral mesencefálica, es la TH o tirosina hidroxilasa. Esta enzima es un marcador importante de neuronas dopaminérgicas, que en el KO no se expresa en el mesencéfalo ventral. Sin embargo, su expresión esta presente en otras regiones del cerebro<sup>1-4</sup>. Recientemente se comprobó que Nurr1 regula la expresión de la TH, al unirse a su región promotora<sup>47,48</sup>.

Por otro lado, cuando se analizó el patrón de expresión de la secuencia OS40 durante el desarrollo embrionario del ratón, se descubrió que su expresión inicia desde

etapas muy tempranas, específicamente a los 8.5 días en el neuroepitelio del embrión. Cabe mencionar que Nurr1 comienza a expresarse a los 10.5 días del desarrollo embrionario en el mesencéfalo del ratón. Esto indica que OS40 también posee una expresión independiente de Nurr1. Mientras que Nurr1 se expresa en células postmitóticas antes de su diferenciación, es decir en neuroblastos, la secuencia OS40 comienza a expresarse cuando el tejido neural aún esta en su etapa más proliferativa, mucho antes de que el mesencéfalo se forme.

Esto sugiere que OS40 en un inicio de su expresión en etapas tempranas, no requiere regulación génica por parte del factor de transcripción Nurr1. Pero cabe la posibilidad de que a nivel mesencefálico, si se requiera de la presencia del factor de transcripción Nurr1 para que la expresión de OS40 pueda ser inducida.

Siguiendo la expresión de OS40 en el desarrollo embrionario, a los 9.5 días de gestación ya se ha formado el tubo neural y OS40 se expresa a lo largo de él. Cuando el embrión alcanza los 10.5 días, en el tubo neural aparecen las dilataciones cerebrales. En ese momento, en el mesencéfalo y rombencéfalo comienza la expresión de OS40, así como en algunos órganos periféricos: hígado y pulmón. A los 11.5 días OS40 comienza a expresarse también en riñón. A los 12.5 y 13.5 días del desarrollo embrionario no se observan cambios en la expresión de OS40. En un embrión de 14.5 días aparece expresión de OS40 ahora en el epitelio nasal, intestino y plexo coroideo del cerebro posterior. A los 16.5 días comienza a decrecer la señal en el plexo coroideo, mientras que en el hígado, pulmón e intestino la señal desaparece. A los 18.5 días comienza la expresión de OS40 en diente en formación, lengua y timo.

La intensidad de la expresión de OS40 en los diferentes órganos y tejidos es mayor que la expresión encontrada en la región mesencefálica.

Sin embargo, de acuerdo a los resultados mostrados en el presente estudio, la expresión del gen OS40 en la región ventral mesencefálica de los ratones mutantes Nurr1, fue completamente nula. Mientras que en órganos periféricos y tejidos positivos para la sonda antisentido OS40, no hubo alteración alguna.

Una observación interesante, es el momento en que comienza a expresarse OS40 en esos órganos. En el hígado por ejemplo, la primera indicación de desarrollo aparece a los 9.5 días del desarrollo embrionario, pero de los 10 a los 14 días es el momento en que el órgano está en constante proliferación celular y antes del nacimiento termina su maduración. En el hígado, la señal de OS40 es detectada a los 10.5 días de gestación y se mantiene hasta los 14.5 días, mientras que de los 16.5 días en adelante, la señal desaparece.

En el pulmón, aunque su desarrollo inicia desde los 10 días, éste continúa su maduración hasta al momento del nacimiento sin embargo la expresión de OS40 se presenta en el embrión de 12.5 días y desaparece en el embrión de 16.5 días.

El desarrollo del riñón comienza en el embrión de 10 días. La expresión de OS40 aparece a los 11.5 días y desaparece a los 16.5 días, cuando degeneran pronefros y metanefros.

En el intestino, OS40 se expresa a los 14.5 días de desarrollo embrionario y desaparece a los 16.5 días. En el embrión de 18.5 días la expresión de OS40 es muy intensa en la pulpa dental de los incisores. En ella, las células están en intensa proliferación.

El hecho de que OS40 se expresa en diferentes órganos y tejidos, pero sobre todo que se exprese en las primeras etapas de la formación de ellos, sugiere que la secuencia OS40 podría estar relacionada con proliferación celular y/o con diferenciación celular.

Cabe mencionar que los órganos y tejidos donde encontramos la expresión de la secuencia OS40, no expresan normalmente Nurr1. Sin embargo, se ha reportado que la expresión de Nurr1 es inducida en el hígado en regeneración<sup>17</sup>. Lo cual apoya la idea de que ambos genes pueden estar involucrados en los procesos de proliferación y diferenciación celular.

Esta posibilidad resulta más lógica, que pensar en una probable relación en la expresión de OS40, entre los diversos órganos y tejidos. A menos de que estén involucrados con algún tipo de regulación hormonal. Lo anterior es sugerido por el hecho de que Nurr1 interviene en la regulación del eje hipotálamo-hipófisis<sup>1-3</sup>. Sin embargo es difícil pensarlo, ya que la expresión de OS40 va de cerebro, hígado, timo hasta epitelio nasal y diente en formación.

Sin embargo es difícil predecir la función de OS40 y su posible relación con Nurr1. Probablemente radique en que al inactivar la función del factor de transcripción Nurr1 en ratones, no fue posible transcribir al gen OS40, quien podría estar relacionado con la proliferación o bien con la diferenciación de las neuronas dopaminérgicas de la región ventral mesencefálica.

Y más difícil de entender aún es el hecho de que OS40 inicia su expresión mucho antes que Nurr1 y que sin embargo su expresión en el mesencéfalo haya resultada afectada por la inactivación de él.

Sin duda alguna, el presente trabajo abrió una nueva puerta sobre la función de Nurr1, a través del gen OS40 y con ello un gran número de preguntas por contestar.



## **CAPITULO V**

### **CONCLUSIONES Y CONTRIBUCIONES**

#### **5.1 CONCLUSIONES**

El objetivo del presente trabajo consistió en un análisis comparativo de la expresión de la secuencia OS40 en cerebros de ratones silvestres y knock-out Nurr1 y analizar su patrón de expresión en el desarrollo embrionario de ratones. De acuerdo con los resultados obtenidos, podemos decir que:

- (1) La expresión de OS40 en la región ventral mesencefálica, esta condicionada por la presencia de expresión del gen Nurr1 en esa región.
- (2) OS40 inicia su expresión al día 8.5 del desarrollo embrionario en el ratón.
- (3) Se expresa durante el desarrollo embrionario del ratón, en diferentes órganos y tejidos.

## **5.2 CONTRIBUCIONES**

Este trabajo proporciona información importante en el área de investigación básica, sobre un nuevo gen cuya función se desconoce y que es muy similar a una secuencia génica humana. El patrón de expresión que posee OS40 es de gran relevancia por presentarse en etapas muy tempranas del desarrollo embrionario. Además, por encontrarse en diferentes órganos de vital función. Así como su posible relación con el factor de transcripción Nurr1 al ser afectada su expresión en un modelo animal de la enfermedad de Parkinson (knock-out Nurr1).

## CAPITULO VI

## BIBLIOGRAFIA

1. **Saucedo-Cardenas and Conneely. O.M.** Comparative distribution of Nurr1 and Nur77 nuclear receptors in the mouse central nervous system. *Mol. Neurosci.* 7: 51-63. (1996).
2. **Saucedo-Cardenas, Kardon R., Ediger, R. T., Lydon J.P., Conneely, O.M.** Cloning and structural organization of the gene encoding the murine nuclear receptor transcription factor, Nurr1. *Gene* 187: 135-139. (1997).
3. **Saucedo-Cardenas, Quintana-Hau J.D., Le W.D., Smidt, M.P., Cox, J.J., De Mayo F., Burbach J.P., and Conneely O.M.** Nurr1 is essential for the induction of the dopaminergic phenotype and the survival of ventral mesencephalic late dopaminergic precursor neurons. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95: 4013-4018. (1998).
4. **Zetterstrom R. Williams, T. Perlmann, L. Olson.** Cellular expression of the immediate early transcription factors Nurr1 and NGFI-B suggests a gene regulatory role in several brain regions including the nigrostriatal dopamina system. *Mol Brain Res* 41(1996)111-120
5. **Evans, R.M.** The steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Science* 240: 889-892)
6. **Beato, M.** Gene regulation by steroid hormones. *Cell.* 56: 335-344. (1989)
7. **Tsai, M.J. And B.W.. O'Malley.** MBIU: Mechanism of steroid Hormone Regulation of gene Transcription. R.G. Landes Company. Autin. (1994)
8. **Conneely, O.M. and B.W. O'Malley.** Orphan receptors: Structure and Function relationships. M.-J. Tsai and B.W. O'Malley, editors R:G: Landes Company, Austin. 111-133. (1994).

---

**Análisis de la expresión de un gen afectado por la inactivación del factor de transcripción Nurrl**

9. **Wilson, T.E., Fahrner, T.J. and Milbrandt, J.** The orphan receptors NGFI-B and steroidogenic factor 1 establish monomer binding as a third paradigm of nuclear receptor-DNA interaction. *Mol. Cell Biol.* 13: 5794-5804. (1993)
10. **Hazel, T.G., Nathans, D. And Lau, L.F.** A gene inducible by serum growth factors encodes a member of the steroid and thyroid hormone receptor superfamily. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 8444-8448. (1988).
11. **Arenander, A.T., de Vellis, J., and Herschman H.R.** Induction of c-fos and TIS gene in cultured rat astrocytes by neurotransmitters. *J. Neurosci.* 24: 107-114. (1989).
12. **Ryseck, R.P., MacDonald-Bravo, H., Mattei, M.G., Rupperts, S. And Bravo, R.** Structure, mapping and expression of a growth factor inducible gene encoding a putative nuclear hormonal binding receptor. *EMBO J.* 8: 3327-3335. (1989).
13. **Nakai, A., Kartha, S., Sakurai, A., Toback, F.G. and DeGroot, L.J.** A human early response gene homologous to murine Nur77 and rat NGFI-B, and related to the nuclear receptor superfamily. *Mol. Endocrinol.* 4: 1438-1443. (1990).
14. **Maruyama, K., T. Tsukada, S. Bandoh, K. Sasaki, N. Ohkura, and K. Yamaguchi.** Expression of NOR-1 and its closely related members of the steroid/thyroid hormone receptor superfamily in human neuroblastoma cell lines. *Cancer Lett* 96: 117-122. (1995).
15. **Hedvat, C.V. and Irving, S.G.** The isolation and characterization of MINOR, a novel mitogen inducible nuclear orphan receptor. *Mol. Endocrinol.* 9: 1692-1700. (1995).
16. **Ohkura, N., Hijikuro, M., Yamamoto, A. And Miki, K.** Molecular cloning of a novel thyroid/steroid receptor superfamily gene from cultured rat neuronal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 205:1959-1965. (1995).
17. **Scearce, L.M., Laz, T.M., Hazel, T.G., Lau, L.F. and Taub, R.** RNR-1, a nuclear receptor in the NGFI-B/Nur77 family that is rapidly induced in regenerating liver. *J. Biol. Chem.* 268: 8855-8861. (1993).
18. **Mages, H.W., Rilke, O., Bravo, R., Senger, G. and Kroczeck, R.A.** NOT, a human immediate-early response gene closely related to the steroid/thyroid hormone receptor NAK1/TR3. *Mol. Endocrinol.* 8: 1583: 1591. (1994).
19. **Wilson, T.T., Paulsen, R.E. Padgett, K.A. and Milbrandt, J.** Participation of non-zinc finger residues in DNA binding by two nuclear orphan receptors. *Science*, 256: 107-110. (1992).
20. **O'Malley, B.W. and Conneely, O.M.** Minireview: Orphan Receptors: In search of a unifying hypothesis for activation. *Mol.Endocrinol.* 6: 1359-1361. (1992)

---

**Análisis de la expresión de un gen afectado por la inactivación del factor de transcripción Nurr1**

21. **Cooney, A.J., Tsai, S.Y., O'Malley, B.W., and Tsai, M.J.** Chicken ovalbumin upstream promoter transcripción factor (COUP-TF) dimer binds to different GGTC A responses elements, allowing COUP-TF to repress hormonal induction of the vitamin D3, thyroid hormone and retinoic acid receptors. *Mol. Cell Biol.* 12: 4153-4163. (1992).
22. **Hard, T., Kellenbach, E., Boelens, R., Maler, B.A., Dahlman, K., Freedman, L.P., Carlstedt-Duke, J., Yamamoto, K.R., Gustafsson, J.A., and Kaptein, R.** Solution structure of the glucocorticoid receptor DNA-binding domain. *Science.* 249: 157-160. (1990).
23. **Kliwer, S.A., Umesono, K., Noonan, D.J., Heyman, R.A., and Evans, R.M.** Convergence of 9-cis retinoic acid and peroxisome proliferator signalling pathways through heterodimer formation of their receptors. *Nature.* 358: 771-774. (1992).
24. **Perlmann, T., Rangarajan, P.N., Umesono, K., and Evans, R.M.** Determinants for selective RAR and TR recognition of direct repeat HREs. *Genes Dev.* 7: 1411-1422. (1993).
25. **Moras, D., and Gronemeyes, H.** *Curr. Opin. Cell Biol* 10:384-391 (1998).
26. **Nolte, R.T., Wisely, G.B. Westin, S., Cobb, J.E., Lambert, M.H., Kurokawa, R., Rosenfeld, M.G. Willson, T.M., Glass,C.K., and Milburn,M.V.** *Nature* 395:137-143. (1998).
27. **Darimont B.D., Wagner, R.L. Apriletti,J.W., Stallcup, M.R., Kushner,P.J., Baxter, J.D., Fletterick,R.J., and Yamamoto, K.,** *Genes Dev.* 12:3343-3356. (1998)
28. **Tsai, M.J. And O'Malley, B.W.** Molecular mechanism of action of steroid/thyroid receptor superfamily members. *Ann. Rev. Biochem.* 63: 451-486. (1994).
29. **Wilson, T.E., Fahrner, T.J. and Milbrandt, J.** The orphan receptors NGFI-B and steroidogenic factor 1 establish monomer binding as a third paradigm of nuclear receptor-DNA interaction. *Mol. Cell Biol.* 13: 5794-5804. (1993)
30. **Harding, H. P. and Lazar, M.A.** The orphan receptor Rev-Erba alpha activates transcription via a novel response element. *Mol. Cell Biol.* 13: 3113-3121. (1993)
31. **Perlmann, T., and Jasson, L.** A novel pathway for vitamin A signalling mediated by RXR heterodimerization with NGFI-B and Nurr1. *Genes Dev.* 9:769-782. (1995).
32. **Klein-Hitpass, L., Schorpp, M., Wagner, U., and Ryffel, G.U.** An estrogen-responsive element derived from the 5'-flanking región of the *Xenopus vitellogenin A2* gene functions in transfected human cells. *Cell* 46: 1053-1061. (1986).

---

**Análisis de la expresión de un gen afectado por la inactivación del factor de transcripción Nurr1**

45. **Marsden C.**, Problems with long term-levodopa therapy for Parkinson's disease. *Clinical Neuropharmacology*, 17: S32-S44. (1994).
46. **Wagner J.**, Peter Akerud, Diogo S. Castro, Pontus C. Holm, Joseph M. Canals, Evan Y. Snyder, Thomas Perlmann and Ernest Arenas. Induction of a midbrain dopaminergic phenotype in Nurr1-overexpressing neural stem cells by type 1 astrocytes. *Nature Biotechnol.* 17:653-659. (1999).
47. **Baffi J.S.**, Palkovits. S., Castillo O., Mezey E., and Nikodem V.M. Differential expression of tyrosine hydroxylase in catecholaminergic neurons of neonatal wild-type and Nurr1- deficient mice. *Neurosc.* 93: 6331-642. (1999).
48. **Sakurada K.**, Ohshima-Sakudara M., Palmer T.D., and Gage F.H. Nurr1, an orphan nuclear receptor, is a transcriptional activator of endogenous tyrosine hydroxylase in neural progenitor cells derived from the adult brain. *Dev.* 126: 4017-4026. (1999).

