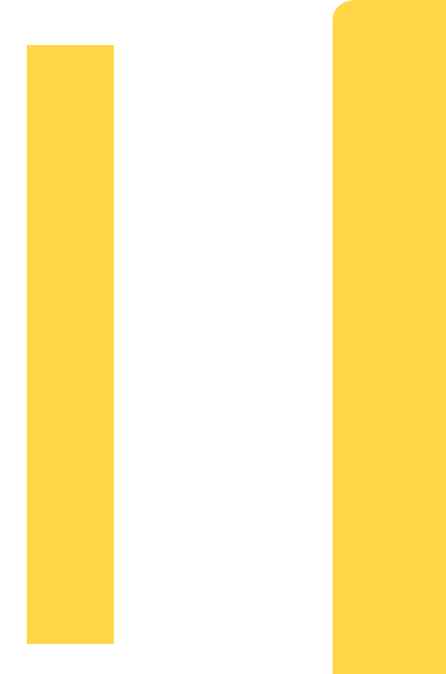


CNIB



Biología Molecular y Celular *Molecular and Cellular Biology*

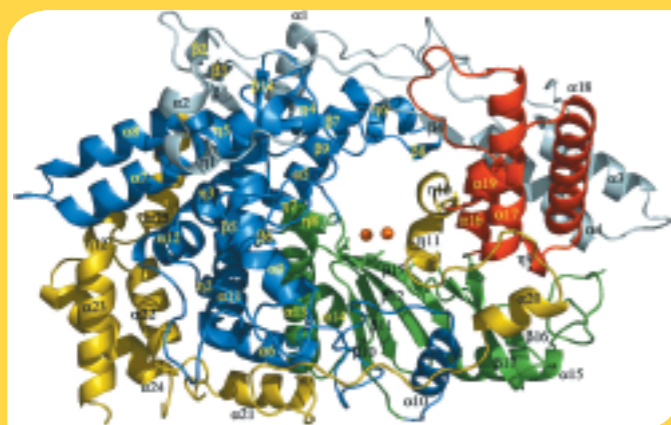
Jefe de Departamento/ *Head of Department:*

Lluís Montoliu

Francisco Rodríguez Aguirre (desde Agosto 2006/since August 2006)

Los temas de investigación de este departamento incluyen: análisis de la regulación de la expresión génica, generación y análisis de modelos animales de enfermedades humanas, desarrollo de vectores virales para la transferencia génica, desarrollo de vacunas contra diferentes patógenos humanos y animales, interacciones virus-huésped, modulación de la respuesta inmune por virus y biología molecular de poxvirus, coronavirus, torovirus, birnavirus y ortomixovirus.

The research topics of the department include: analysis of the regulation of gene expression, generation and analysis of animal models of human disease, development of viral vectors for gene transfer, development of vaccines against a number of human and animal pathogens, host-virus interactions, immune response modulation by viruses, and molecular biology of poxviruses, coronaviruses, toroviruses, birnaviruses and orthomyxoviruses.



Estructura cristalina de la RNA polimerasa dependiente de RNA del virus de la bursitis infecciosa.

Crystal structure of the IBDV RNA dependent RNA polymerase.

Luis Enjuanes
Laboratorio Coronavirus
Coronavirus Laboratory

Mariano Esteban
Poxvirus y vacunas
Poxvirus and vaccines

Lluís Montoliu José
Modelos animales por manipulación genética
Animal models by genetic manipulation

José Ramón Naranjo
Análisis funcional del represor transcripcional DREAM
Functional analysis of transcriptional repressor DREAM

Amelia Nieto
Mecanismos de interacción entre el virus de la gripe y la célula infectada
Mechanisms of interaction between the influenza virus and the infected cell

Juan Ortín
Transcripción y replicación del RNA del virus de la gripe
Transcription and replication of influenza virus RNA

Dolores Rodríguez Aguirre
Caracterización molecular y epidemiología de torovirus
Molecular characterization and epidemiology of torovirus

José F. Rodríguez Aguirre
Biología molecular de birnavirus
Molecular biology of birnavirus

Antonio Alcamí (Investigador visitante /Visiting scientist)
Modulación de la respuesta inmune por virus
Viral modulation of the immune response

Modelos animales por manipulación genética

Jefe de Línea / Group Leader:
Lluís Montoliu José



Investigadores Postdoctorales / Postdoctoral Researchers:
Rosa Roy Barcelona (hasta Abril 2005)
Victoria Tovar Herrador (hasta Junio 2006)
Magdalena Valdivieso Ugarte (desde Junio 2006)

Investigadores Predoctorales / Predoctoral Researchers:
Lucía Regales Álvarez (hasta Marzo 2005)
Julio Pozueta Larios (hasta Abril 2006)
Ángel García Díaz
Julia Fernández Punzano (Titulado Superior)
Esther Zurita Redondo (desde Diciembre 2005)

Técnicos de Investigación / Technical Assistants:
Patricia Cozar López (hasta Febrero 2005)
Marta Cantero González
Juan José Lazcano Duque (desde Mayo 2005 hasta Noviembre 2006)
Cristina de Juana Ortín (técnico en formación, desde Enero 2005 hasta Junio 2005)

Resumen

En el laboratorio estamos esencialmente interesados en entender el funcionamiento y la organización de los dominios de expresión en el genoma de mamíferos. En particular nos gustaría conocer los elementos reguladores necesarios que identifican un dominio de expresión determinado y especifican su patrón de expresión en espacio, en tiempo y cantidad, con objeto de interpretar adecuadamente el genoma, especialmente la función de las secuencias intergénicas, y también para eventualmente mejorar el diseño de estrategias de transferencia génica, usadas en transgénesis animal y en terapia génica.

Usamos varios modelos experimentales: fundamentalmente el gen de la tirosinasa y también el gen de la proteína ácida del suero de la leche de ratón, dos locus independientes, regulados a nivel de desarrollo y específicos de tejido, que nos han servido para identificar elementos reguladores fundamentales, como por ejemplo aisladores genómicos y regiones controladoras de locus (LCR). Desarrollamos nuestros experimentos *in vivo*, mediante el uso de animales transgénicos, con grandes construcciones basadas en cromosomas artificiales que modificamos mediante recombinación

homóloga, con objeto de investigar el papel funcional de secuencias específicas. *In vitro*, analizamos la función de las secuencias aisladoras genómicas mediante análisis de bloqueo de *enhancers* y de protección frente a los efectos de posición.

Adicionalmente, nuestro laboratorio ha generado y analizado nuevos modelos animales para el estudio de las anomalías en el desarrollo de la retina asociadas al albinismo. Mediante ratones transgénicos hemos logrado excluir a la melanina e identificado a los déficits en metabolitos intermediarios en la vía de síntesis del pigmento (como la L-DOPA) como la causa principal de las alteraciones visuales observadas en síndromes hipopigmentarios. Finalmente, a través de colaboraciones, hemos desarrollado varios modelos animales adicionales (transgénicos y mutantes) para el estudio de enfermedades o procesos asociados al SNC (Alzheimer, dolor).

* Figura 1: Determinación de la base molecular de mutaciones en alelos del gen de la tirosinasa de ratón. De izquierda a derecha: ratón albino (*Tyr*^{-/-}), ratón homocigoto para la mutación *extreme chinchilla mottled* (*Tyr*^{em} / *Tyr*^{em}), ratón homocigoto para la mutación *chinchilla mottled* (*Tyr*^{cm} / *Tyr*^{cm}), (ver Lavado A, Olivares C, García-Borron JC, Montoliu L. *Journal of Biological Chemistry* 2005, 280:4817-24)

Figure 1: Determining the molecular basis of mutations in mouse tyrosinase gene alleles. From left to right: albino mouse (*Tyr*^{-/-}), homozygous mutant extreme chinchilla mottled mouse (*Tyr*^{em} / *Tyr*^{em}), homozygous mutant chinchilla mottled mouse (*Tyr*^{cm} / *Tyr*^{cm}), (see Lavado A, Olivares C, García-Borron JC, Montoliu L. *Journal of Biological Chemistry* 2005, 280:4817-24)

Publicaciones seleccionadas

Selected publications

Lavado, A., Jeffery, G., Tovar, V., de la Villa, P. and Montoliu, L. (2006). Ectopic expression of tyrosinase hydroxylase in the pigmented epithelium rescues the retinal abnormalities and visual function common in albinos in the absence of melanin. *Journal of Neurochemistry*. Feb; 96(4): 1201-11.

Lavado, A. and Montoliu, L. (2006). New animal models to study the role of tyrosinase in normal retinal development. *Frontiers in Bioscience*. Jan; 11: 743-52.

Lavado, A., Matheu, A., Serrano, M. and Montoliu, L. (2005). A strategy to study tyrosinase transgenes in mouse melanocytes. *BMC Cell Biology*. Apr; 12; 6(1): 18.

Gimenez, E., Lavado, A., Jeffery, G. and Montoliu, L. (2005). Regional abnormalities in retinal development are associated with local ocular hypopigmentation. *Journal of Comparative Neurology*. May; 16; 485(4): 338-47.

Lavado, A., Olivares, C., García-Borron, J.C. and Montoliu, L. (2005). Molecular basis of the extreme dilution mottled mouse mutation: a combination of coding and noncoding genomic alterations. *Journal of Biological Chemistry*. Feb; 11; 280(6): 4817-24.



*Ver pie de foto figura 1

*See legend for figure 1

Animal models by genetic manipulation

Summary

In our laboratory, we are essentially interested in understanding how mammalian expression domains work and how they are organised within genomes. In particular, we would like to know the required regulatory elements that identify a given expression domain and specify its expression pattern in space, time and level, as a means to adequately interpret the genome, especially the function of the intergenic sequences, and also to eventually improve the design of gene transfer strategies, used for animal transgenesis and for gene therapy.

We use several experimental models: mainly the mouse tyrosinase and whey acidic protein genes, two independent developmentally regulated and tissue-specific loci that have served us to identify a number of key regulatory elements, including boundaries and LCRs. We address our experiments *in vivo*, using transgenic mice carrying large

chromosomal-type constructs that we engineer by homologous recombination to investigate the functional role of specific sequences. *In vitro*, we analyse the function of genomic boundaries by the enhancer-blocking assay or analysing the protection from position effects.

In addition, our laboratory generates and analyses new animal models to study the alterations in the retina development associated with albinism. Using transgenic mice, we have excluded the role of melanin and identified the intermediate reagents in the pigment biosynthetic pathway (such as L-DOPA) as the primary cause of the visual abnormalities observed in hypopigmentary syndromes. Finally, through collaborations, we have a number of additional animal models (transgenics and knockouts) for CNS-related diseases or conditions (Alzheimer, pain).

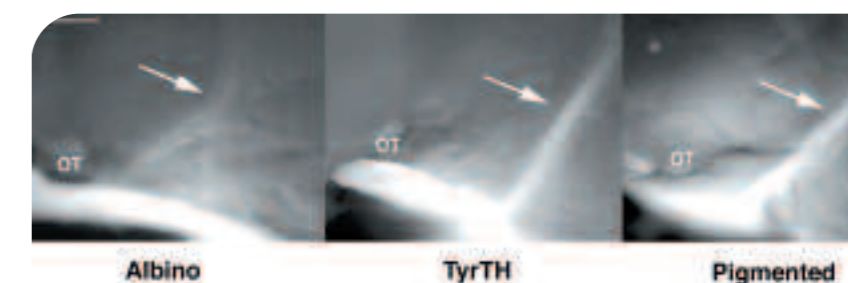


Figura 2: Recuperación de la conexión neuronal ipsilateral entre retina y cerebro de forma independiente de la pigmentación. Los ratones transgénicos fenotípicamente albinos y con expresión ectópica de tirosina hidroxilasa en el epitelio pigmentado de la retina (*TyrTH*) logran recuperar las proyecciones axonales ipsilaterales de las células ganglionares de la retina, indicadas mediante flechas y teñidas con el colorante fluorescente Dil, que aparecen muy disminuidas en animales albinos (izquierda) frente a las claramente presentes en los ratones transgénicos *TyrTH* (centro), de forma similar a las existentes en animales pigmentados (derecha). OT = nervio óptico. La barra indica 0.5 mm (ver Lavado, A., Jeffery, G., Tovar, V., de la Villa, P., Montoliu, L. *Journal of Neurochemistry* 2006, 96:1201-11)

Figure 2: Rescue of the ipsilateral neuronal connections between retina and brain independently of pigmentation. Phenotypically albino transgenic mice expressing tyrosine hydroxylase ectopically in retinal pigment epithelium cells (*TyrTH*) could rescue the ipsilateral axonal projections (indicated by arrows and stained by the fluorescent dye Dil) from ganglion retinal cells. These projections appear very faint in albino mice (left), and are clearly present in *TyrTH* transgenic mice (centre), similar to the fibres observed in pigmented mice (right). OT = optic tract. Bar corresponds to 0.5 mm (see Lavado, A., Jeffery, G., Tovar, V., de la Villa, P., Montoliu, L. *Journal of Neurochemistry* 2006, 96:1201-11)