

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	6
2. INTRODUCCIÓN.....	7
3. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	9
3.1 Métodos de estudio del sistema nervioso.....	9
3.2 Especialización celular en las funciones del sistema nervioso.....	12
3.3 Clasificación de subpoblaciones neuronales.....	16
3.4 Marcadores moleculares de subpoblaciones neuronales.....	20
3.4.1 Canal de sodio voltaje dependiente NAV 1.8 (gen Scn10a).....	20
3.4.2 Proteína ligante de calcio Parvalbúmina (gen PvAlb).....	21
3.4.3 Sintasa de óxido nítrico 1 (gen Nos1).....	23
3.4.4 Receptores de la familia GDNF o factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (genes GFR α 1-3).....	24
4. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	26
4.1 Objetivo general.....	26

4.2 Objetivos específicos.....	26
4.3 Hipótesis.....	26
5. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
5.1 Preparación de reactivos.....	27
5.2 Diseño y síntesis de oligonucleótidos para la amplificación mediante PCR en tiempo real.....	27
5.3 Obtención de médula espinal y ganglio de la raíz dorsal a partir de ratones BALB/c.....	28
5.4 Purificación de ARN total a partir de muestras de médula espinal y ganglio de la raíz dorsal.....	31
5.5 Estimación de la concentración de ARN total.....	32
5.6 Síntesis de ADN complementario a partir de ARN total.....	33
5.7 Amplificación mediante PCR en tiempo real.....	34
5.8 Análisis por electroforesis en gel de agarosa de los fragmentos obtenidos en la qPCR.....	38
6. RESULTADOS.....	39
6.1 Análisis del ARN total purificado desde muestras de tejido nervioso de médula espinal, ganglio espinal y ganglio submandibular desde ratones BALB/c adultos.....	39

6.2 Amplificación mediante PCR en tiempo real de los genes de referencia Actb, Gapdh y B2m desde las muestras de ADN copia generadas a partir del ARN total desde médula espinal y ganglios espinales de ratón.....	43
6.3 Análisis relativo de la expresión mediante RT-qPCR de los genes candidatos a marcadores de subpoblaciones neuronales Scn10a, Pvalb, Nos1, Gfra1, Gfra2 y Gfra3 desde las muestras de ADN copia generadas a partir del ARN total desde médula espinal y ganglios espinales de ratón.....	51
6.4 Análisis relativo de la expresión mediante RT-qPCR de los genes candidatos a marcadores de subpoblaciones neuronales Scn10a, Gfra1, Gfra2 y Gfra3 desde las muestras de ADN copia generadas a partir del ARN total desde médula espinal, ganglios espinales y ganglios submandibulares de ratón.....	59
7. DISCUSIÓN.....	64
8. CONCLUSIÓN.....	71
9. BIBLIOGRAFÍA.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS Y TABLAS

Tabla 1.....	51
Figura 1.....	13
Figura 2.....	40
Figura 3.....	41
Figura 4.....	44
Figura 5.....	45
Figura 6.....	49
Figura 7.....	50
Figura 8.....	54
Figura 9.....	55
Figura 10.....	57
Figura 11.....	61
Figura 12.....	62
Figura 13.....	67
Figura 14.....	70