

# ÍNDICE

Introducción.....	1
<b>Los canales de sodio</b> .....	<b>1</b>
Origen y clasificación .....	3
<b>Epilepsia y canalopatías</b> .....	<b>5</b>
<i>SCN1A</i> y el síndrome de Dravet .....	5
<b>Modelos animales e investigación en el síndrome de Dravet</b> .....	<b>7</b>
Sistemas de expresión heteróloga .....	10
iPSC .....	11
Pez cebra.....	11
<i>Drosophila melanogaster</i> .....	12
Objetivos .....	16
Capítulo I. Generación de un mutante KO del gen <i>para</i> en <i>Drosophila melanogaster</i> por la técnica de la recombinación homóloga. Validación y caracterización como modelo del síndrome de Dravet	
Introducción .....	17
La recombinación homóloga.....	17
<b>Resultados</b> .....	<b>21</b>
Diseño y proporciones de la recombinación homóloga.....	21
Validación KO .....	22
Crisis y temperatura .....	24
Estatus epiléptico.....	26
Geotaxis negativa .....	27
Vuelo.....	28
Locomoción en la arena .....	29
Aprendizaje y memoria a corto plazo .....	30
Tratamiento de las crisis con imanes.....	32
Supervivencia en ayuno .....	33
Metabolómica.....	34

Generación modelo "knock-in" .....	40
<b>Discusión.....</b>	<b>41</b>
<b>Capítulo II. Análisis funcional de los canales de sodio en el mutante <i>para</i><sup>KO</sup></b>	
<b>Introducción.....</b>	<b>44</b>
Electrofisiología de las neuronas .....	44
La electrofisiología en <i>Drosophila melanogaster</i> .....	46
<b>Resultados.....</b>	<b>49</b>
Electroshock .....	49
Capacitancia .....	50
Corrientes de Na .....	51
Excitabilidad de la membrana .....	54
Análisis de las uniones neuromusculares.....	57
<b>Discusión .....</b>	<b>58</b>
<b>Capítulo III. Búsqueda de genes modificadores para el síndrome de Dravet empleando el modelo <i>para</i><sup>bss1</sup></b>	
<b>Introducción.....</b>	<b>61</b>
El papel de los modificadores genéticos en las enfermedades mendelianas y raras .....	61
<i>D.Melanogaster</i> como herramienta para la búsqueda de modificadores.....	62
Modificadores genéticos en síndrome de Dravet.....	62
Modelo <i>para</i> <sup>bss1</sup> .....	63
<b>Resultados.....</b>	<b>66</b>
Preselección y aproximación en la búsqueda de genes modificadores .....	66
Análisis de los genes candidatos.....	68
Tratamientos .....	80
<b>Discusión .....</b>	<b>82</b>
<b>Discusión general .....</b>	<b>85</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>87</b>
<b>Material y métodos.....</b>	<b>89</b>

<b>Biología molecular</b> .....	<b>89</b>
Diseño del plásmido .....	89
Clonaciones .....	89
Extracción de ADN .....	91
Extracción de ARN, RT-PCR y PCRc.....	91
Cuantificación del material genético.....	93
<b>Trabajo con <i>Drosophila melanogaster</i></b> .....	<b>93</b>
Cepas de moscas, mantenimiento y generación de transgénicos .....	93
Genotipos experimentales .....	94
Recolección de embriones para analizar la expresión génica .....	96
Recolección de embriones para determinar la fase letal.....	97
Supervivencia.....	97
Geotaxis negativa .....	97
Ensayo de locomoción.....	98
Ensayo de vuelo .....	100
Aprendizaje y memoria .....	101
Crisis mecánicas.....	102
Crisis térmicas.....	103
Estatus epiléptico.....	103
Imán.....	103
<b>Ensayos de electrofisiología</b> .....	<b>104</b>
Electroshock .....	104
Pinzas de voltaje y de corriente (" <i>patch and voltage clamp</i> ") .....	105
Disoluciones.....	105
Uniones neuromusculares .....	106
Estadística e ilustración.....	106
<b>Bibliografía</b> .....	<b>107</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>129</b>