

RESULTATS

RESULTATS

Els resultats han estat obtinguts, esglaonadament, en tres nivells:

1. Patró de bandes resultant de la RAP-PCR
2. Seqüències resultants de la clonació de bandes retallades d'1.
3. Hibridació "in situ" sobre fetus de rata sencers tallats en el pla sagital, amb **sondes fredes**, procedents de la clonació de bandes, prèviament seqüenciades

1. Patró de bandes resultant de l'amplificació RAP-PCR

Amb l'electroforesi dels cDNA resultants de la RAP-PCR s'obtingué un patró de bandes, reproduïble, compost per 128 bandes.

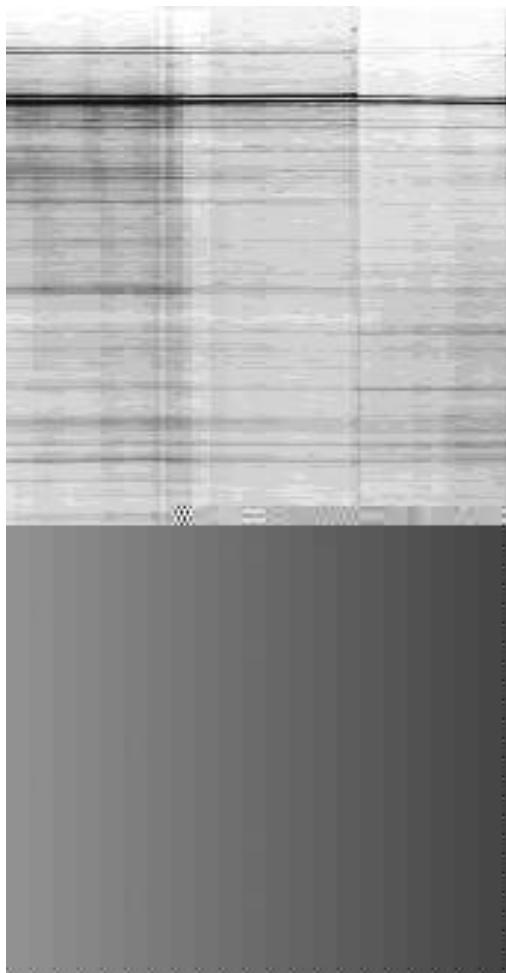


Figura 21. Fragment d'un gel desnaturitzant d'acrilamida en què s'observa el **patró de bandes** generat amb el primer *D4S2912-GT* en mostres de tub digestiu de fetus de rata.

El gel d'acrilamida va ésser dividit en territoris separats per bandes constants i intenses. D'aquesta manera es va dividir el *patró* en 19 territoris que varen ser identificats mitjançant lletres (de la A a la T), per ordre alfabètic, començant per la part superior del gel, així les bandes del *territori A* eren les que tenien un major nombre de nucleòtids en la seva seqüència i les del T, les més petites. Les **bandes** de cada territori es varen numerar, començant pel número 0.

Totes les bandas identificades van ser retallades.

2. Seqüències resultants de la clonació de bandes retallades

No totes les bandes retallades dels gels de acrilamida s'han clonat en un vector, prioritant-se les que donaven un patró *més interessant* en els gels. Les bandes inicialment clonades i seqüenciades han estat les següents:

E3, F8, G0, G1, H3, J2, M2, N0, N1, i O1

Els resultats de l'estudi de seqüenciació de cada banda s'exposaran en ordre alfabètic, que en aquest cas coincideix amb l'ordre decreixent de la grandària de les bandes.

Seqüència E3

579 pb

G TGAAATTAT GTATATGTGA ATGTCATCT AATTGAGGA GGGTGACGGG CGGNNGNTGC
GTACTTCNGN GCTCTATTCA ATTAAGCTCT CTATTCTTAA TTTACTACTA AATCCTCCTT
TGTCCCTTAG TTTCATAAAG GGTTTCTGAA TGTTCTCTGG GAAAAGAAAA TGTAGCCCCT
TTCTTTCCGC TTCATTGGCT ACACCTTGAC CTAACGTTT TATGTTGTT CTTGTGCTTA
CTTTAGTGCC TTTTAGGGT TTGCTGAGGA TGGCGGTATA TAGGCTGAAT TAGCGAGAAG
GGGTAAGGTA GAACGGGTT TATCGATTAT AGAGCAGGCT CCTCTAGATG GATATAAAGT
ACCGCCAAGT CCTTGAGTT TTAAGCTGTA GCTAGTAGTT CTCTGGCAA TAATTTGTA
GGTTAATTA TTAAGGTTA GGGCTAAGCA TAGTGGGTA TCTAATCCA GTTGGGTCT
TAGCTATCGT GCATTATATA AATGATTAGA ATTACTTCG TTATTGGGCT TAGGTCCTAA
CAATGAATT TCACATATAA GTTGGATTAA AATTCTATT

Patró d'expressió en la RAP-PCR

La banda E3 s'expressa en totes les localitzacions amb un discret augment de l'expressió a Da i Cp.

BLAST

Homologies:

1. Homologia del 98% (571/579) amb **Rattus norvegicus 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; and tRNA-Val gene, complete sequence; mitochondrial genes for mitochondrial products** [gi|12700622|gb|AY012115.1|](#)
2. Homologia del 98% (571/579) **Rattus norvegicus mitochondrial genome** [gi|5835177|ref|NC_001665.1|](#)
3. Homologia del 98% (566/574) **3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase isomerase type II.2 [rats, liver, mRNA** [gi|238335|gb|S63167.1|S63167](#)

Seqüència F8

493 pb

CAAATACTCA GTTTGGTCTT CTTTAGGTG CAAGATAACC TTTGTTCCAC GACCCATTGG TTCACCTGTG TCTGTCCTCA CAGTGAAGGA TCCTCCAGCT GAGGACTCCC AGCGTACTG CTCGTCATCA TTATGCTTGG TGATGACAGT CACTTCTCA GCAACCAAAT ACGCAGAGTA AAAACCAACA CCAAACCTGGC CAATCATAGA GATATCTGCA CCAGCCTGCA AAGCCTCCAT GAAGGCTTG GTGCCTGACT TGGCAATAGT GCCAAGGTTA TTGATCAAGT CAGCCTTGGT CATTCCAATG CCAGTATCCA CAATAGTGAG GGTCGGTCT TGCTTGGTGG GAATGAGATT AATGTGCAGC TCCTTCCCCG AGTCCAGTTT ACTAGGGTCG GTCAAGCTCT CGTATCTGAT CTTATCCAGA GCGTCTGAGG AGTTGGAAAT GAGCTCCCTC AGAAAGATCT CTTTGGTCA GTAGAAAGTG TTG

Patró d'expressió a la RAP-PCR

La banda F8 és poc intensa i és present a les mostres corresponents a les parts més distals del tub digestiu. Bpp, Bpd, Cm i Cp.

Homologies:

BLAST

1. Homologia del 98-100% (492/493) amb **Rattus norvegicus hsp86** gene for heat shock protein 86, exons 1-11 and promoter region [gi|14270365|emb|AJ297736.1|RNO297736](#)
2. Homologia del 93% (453/486) amb **Mus musculus Similar to heat shock protein, 86 kDa 1**, clone IMAGE:3500495, mRNA [gi|14714215|gb|BC009003.1|BC009003](#)
3. Homologia del 93% (453/486) **Mus musculus heat shock protein, 86 kDa 1 (Hsp86-1)**, mRNA [gi|6754253|ref|NM_010480.1|](#)
4. Homologia del 92% (454/490) **Cricetulus griseus (clone 33A) heat shock protein 90A (HSP90)** mRNA, complete cds [gi|495758|gb|L33676.1|CRUHSP90A](#)
5. Homologia del 89% (432/485) **Homo sapiens, similar to heat shock protein, 86 kDa 1**, clone IMAGE:3050343, mRNA [gi|13937601|gb|BC001695.1|BC001695](#)

UCSC
Human Genome Project Working Draft

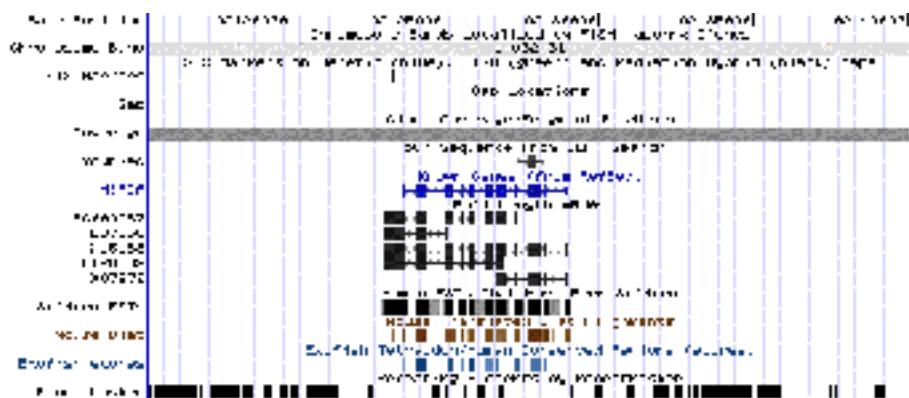


Figura 22. Homologies de la banda F8 a 14q32.31

S'observen el conjunt d'exons del gen HSP 90 (*HSPCA*, en la figura) i la homologia del fragment **F8** (*your seq*), amb els exons 1, 2 i 3

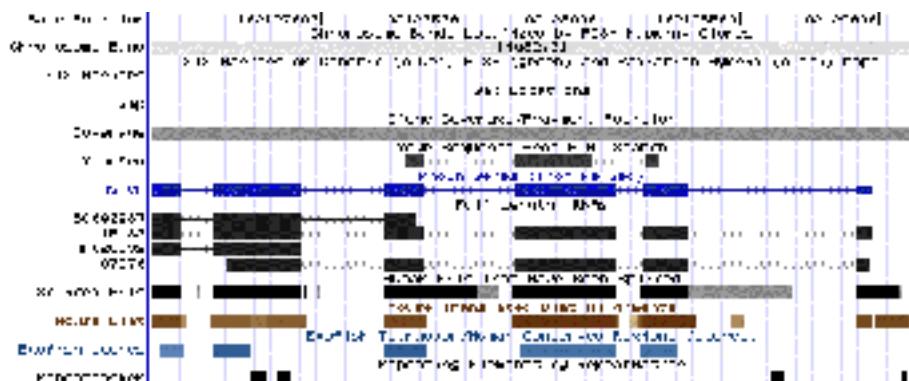


Figura 23. Fragment de 14q32.31

1. HSPCA : Homo sapiens heat shock 90kD protein 1, alpha [NM_005348](#)
2. Human mRNA for heat shock protein hsp86 [X07270](#)
3. Homo sapiens Hsp89-alpha-delta-N mRNA, complete cds [AF028832](#)
4. Human mRNA for 90-kDa heat-shock protein [X15183](#)

HOMOLOGIES DE LA TRADUCCIÓ A PROTEÏNA (Translating BLAST)

1. Homologia del 100% (161/161) [gi|184419|gb|AAA36023.1|](#) (M30626) heat shock protein 86 [Homo sapiens]
2. Homologia del 100% (161/161) [gi|14270366|emb|CAC39453.1|](#) (AJ297736) heat shock protein 86 [Rattus norvegicus]
3. Homologia del 100% (161/161) : [gi|6016267|sp|O02705|HS9A_PIG](#) HEAT SHOCK PROTEIN HSP 90-ALPHA (HSP 86) (PIG)
4. Homologia del 100% (161/161) [gi|12082136|dbj|BAB20777.1|](#) (AB043677) heat shock protein 90 alpha [Equus caballus]
5. Homologia del 100% (161/161) [gi|13129150|ref|NP_005339.1|](#) heat shock 90kD protein 1, alpha [Homo sapiens]
6. Homologia del 99% (160/161) [gi|3114264|pdb|1YES|](#) Human Hsp90 Geldanamycin-Binding Domain, "open" Conformation
7. Homologia del 99% (160/161) [gi|3114263|pdb|1YER|](#) Human Hsp90 Geldanamycin-Binding Domain, "closed" Conformation
8. Homologia del 99% (160/161) [gi|194033|gb|AAA37868.1|](#) (M36830) heat-shock protein hsp86 [Mus musculus]
16. Homologia del 93% (153/164) [gi|12082134|dbj|BAB20776.1|](#) (AB043676) heat shock protein 90 beta [Equus caballus]

Seqüència GO

478 pb

GGCTGCCAAA GCTGTAGCAA ACACAATGCG GACGTCACTG GGACCAAACG GGCTGGATAA
GATGATGGTT GATAAGGNTG GTGATGTGAC TGTGACCAAC GATGGTGCCA CCATTCTAAG
CATGATGGAT GTTGATCATC AGATTGCCAA GCTGATGGTT GAACTGTCCA AATCCCAGGA
TGATGAAATT GGAGATGGGA CCACAGGAGT GGTTGTCTTG GCTGGTGCC CGTTGGAAGA
AGCTGAGCAG CTGCTGGACC GAGGCATCCA TCCTATCAGA ATTGCTGGTG GCTACGAACA
GGCCGCCCGA ATTGCTATTC AGCACCTGGA CAAAATCAGC GACAATGTGC TTGTTGACAT
AAACAACCCC GAACCTCTGA TTCAGACTGC AAAAACACCA CTGGGCTCCA AAGTGGTTAA
CAGCTGTCAC CGACAAATGG CTGAGATTGC CGTCAATGCT GTCCTCACAG TGGCTGAT

Patró d'expressió a la RAP-PCR

La localització on la banda GO s'expressa més intensament és Da, a les diferents edats.

Homologies

BLAST

1. Homologia 93% (444/474) amb Mus Musculus Chaperonin subunit 5 (epsilon) (Cct5), mRNA [gi|6671701|ref|NM_007637.1|](#)
2. Homologia 93% (444/474) Mus musculus (129/Sv) Ccte mRNA for CCT (chaperonin containing TCP-1) epsilon subunit
[gi|468549|emb|Z31555.1|MMCCTEP](#)
3. Homologia 87% (400/458) Homo sapiens clone IMAGE:3543711, mRNA, partial cds
[gi|12804224|gb|BC002971.1|BC002971](#)
3. Homologia 87% (400/458) Homo Sapiens mRNA for KIAA0098 protein
[gi|603954|dbj|D43950.1|HUMKG1DD](#)

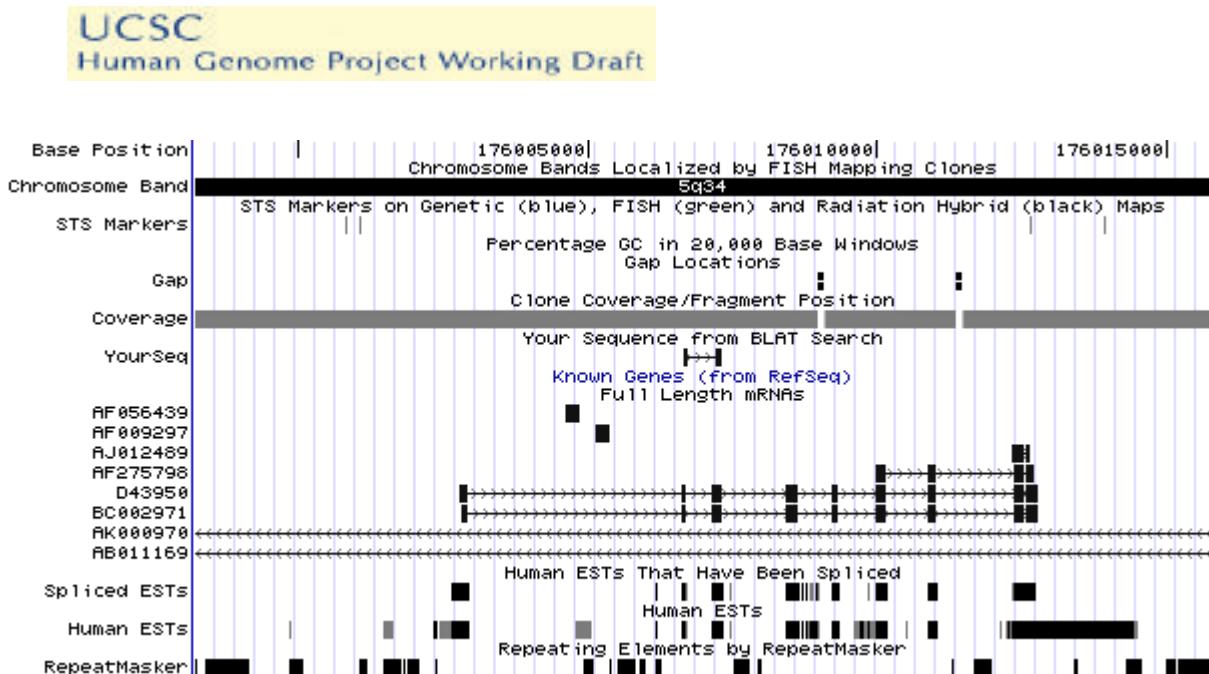


Figura 24. Homologia de G0 (Your seq) a 5q34 (UCSC)

La seqüència GO té la mateixa disposició que dos exons de:

1. Homo sapiens KIAA0098 protein [gi|603955|dbj|BAA07894.1|](#) (D43950) (cromosoma 5 i 13)
2. Homo sapiens, clone IMAGE:3543711, mRNA, partial cds [BC002971](#)

Seqüència G1

475 pb

TAGATACCCC ACTATGCTTA GCCCTAAACC TTAATAATTA AACCTACAAA ATTGTTGCC
AGAGAACTAC TAGCTACAGC GTTAAAACTC AAAGGACTTG GCGGTACTTT ATATCCATCT
ANAGGAGCCT GTTCTATAAT CGATAAACCC CGTTCTACCT TACCCCTTCT CGCTAATTCA
GCCTATATAC CGCCATCTTC AGCAAACCTT AAAAAGGCAC TAAAGTAAGC ACAAGAACAA
ACATAAAAAC GTTAGGTCAA GGTGTAGCCA ATGAAGCGGA AAGAAATGGG CTACATTTTC
TTTCCCAGA GAACATTACG AAACCCTTA TGAAACTAAA GGACAAAGGA GGATTTAGTA
GTAAATTAAG AATAGAGAGC CTAATTGAAT AGAGCAATGA AGTACGCACA CACCGCCCGT
CACCTCCCTC AAATTAGGTT GACATTACACA TATACATAAT TTCACTAACAA AATTT

Patró d'expressió a la RAP-PCR

S'expressa més intensament a Cp a la part final de la gestació: E20.

Homologies:

BLAST

1. Homologia d'un 98% (469/475) amb *Rattus norvegicus* 12S ribosomal RNA gene, partial sequence; and tRNA-Val gene, complete sequence; mitochondrial genes for mitochondrial products. [gi|12700622|gb|AY012115.1|](#)
2. Homologia del 98% (469/475) amb *Rattus norvergicus* mitochondrial genome [gi|5835177|ref|NC_001665.1|](#)
3. Homologia del 98% (469/475) amb *Rattus norvergicus* mitochondrial genome [gi|854269|emb|X14848.1|MIRNXX](#)
4. Homologia del 98 % (454/460) amb 3 beta-hidroxysteroid deshidrogenase isomerase type II (rats, liver mRNA) [gi|238335|gb|S63167.1|S63167](#)



Analitzant la seqüència en la base de dades Ensembl trobem que hi ha una alta homologia amb diferents seqüències en diferents cromosomes (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 13, 14, 16, 19, 22, x, y)

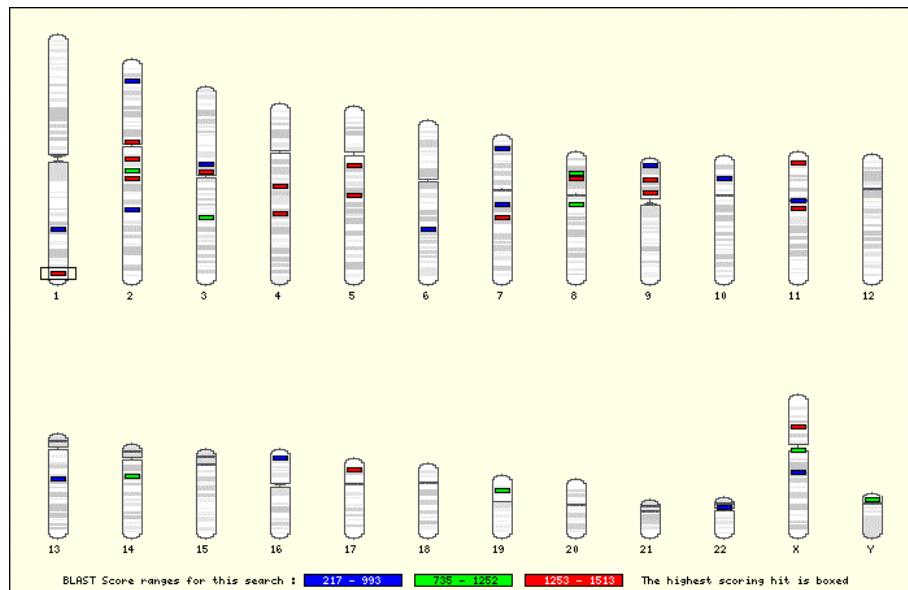


Figura 25. Localitzacions on hi ha homologia de la seqüència G1 en un idiograma humà (Ensembl)

De les localitzacions on hi ha homologia, segons veiem en l'idiograma de la figura XX, només trobem els següents gens coneguts:

cr 11 (89.3%) (11q 22.3): gen FLJ11756

cr 11 (86,2%) (11p15.3) gen LYVE-1

cr 20 (87,1%) (20q13.2) RAE1

cr5 (88.5%) (5q14.1) DHFR

Seqüència H3

444pb

ACTATGCCTG GGCAGGGCGA AGCCAGAGGA AACTCTGGTG GAGGTCCGTA GCGGTCCCTGA
CGTGCATAATC GGTCGTCCGA CCTGGGTATA GGGGCGAAAG ACTAATCGAA CCATCTAGTA
GCTGGTTCCC TCCGAAGTTT CCCTCAGGAT AGCTGGCGCT CTCGCAACGC GGTCGCTCGA
CAACCCGCAG TTTTATCCGG TAAAGCGAAT GATTAGAGGT CTTGGGCCG AAACGATCTC
AACCTATTCT AAAACTTAA ATGGGTAAGA AGCCCGGCTC GCTGGCGTGG AGCCGGCGT
GGAATGCGAG TGCCTAGTGG GCCACTTTG GTAAGCAGAA CTGGCGCTGC GGGATGAACC
GAACGCCGGG TTAAGGCGCC CGATGCCGAC GCTCATCAGA CCCCGGAAAA GGTGTTGGTT
GATATAGACA GCAGGACGGT GGCC

Patró d'expressió a la RAP-PCR

Aquesta banda s'expressa amb un patró heterogeni en els diferents animals, edats i localitzacions.

Homologies

BLAST

1. Homologia del 98% (437/444) amb Rattus norvegicus genes for 18S, 5.8S, and 28S ribosomal RNAs [gi|2624399|emb|V01270.1|RNRNA](#)
2. Homologia del 97% (433/445) amb Orangutan 28S ribosomal RNA gene fragment [gi|342874|gb|M30952.1|ORARGITX](#)
3. Homologia del 99% (257/259) i del 99% (164/165) amb Mouse 28S ribosomal RNA [gi|53988|emb|X00525.1|MMRNA02](#)

Seqüència J2

352 pb

ATATCATAAG GAAAAATAAA ATAGGTAGAT TTGTTACTAA GACACAACCA TTTGTCACTA
GAAGAGTGCC CACAATTCTA TACTTGCTGG TATAAAGACA CACACAAGAG CGGGGGACAC
AGTTTAGTGG TAGTGTATGT ACATTGTAAA CGTAAAGCCC AAGTTAAATC ACCATCGCCA
AGCTAATGGA CAAAACAAAT TCACTTGGCT CGTTTTAGA TGTGCATACA AGAACATCATGG
TACAGTTAGC ATTTTGGTAG ATCTATATGA ACCCATCAGT AAAAAAATAA AAGCATCAA
GTGATATGGA AGAATTTAT CATACTTCA TCAGAAAAGC TGTCAAGCAA TG

Patró d'expressió a la RAP-PCR

S'expressa amb una marcada preferència el dia E20 a Cp.

Homologies

La cerca en el BLAST dóna homologia amb fragments molt curts, per la qual cosa la considerem un seqüència desconeguda.

Seqüència M2

311 pb

GACAGGACCC AAAGGAAAGG GACACGATGA CATATTTGAC AACTTAAGG AGGCTGTGAA
GGAGGAGAGT ATCNAGCGGT NCAAATGGAA CGACTTCGCA GAAGACAGCT TGAGGGTCAT
CCAGCACAAAC GCTCCGGAGG ACCGGTCCAT ATCAGATAAG CAACAGTGAG ACGCAGCCAT
CTACTTCATG GAAGAGGCAC TTCAAGGTG TCTCAAGGAT ACTGAAAATG CTATTGAAAA
CATGATCGGG CCAGACTGGA AAAAGAGGTG GATATACTGG AAGAATCGGA CCCAAGAGCA
GTGTGTTCAC A

Patró d'expressió a la RAP-PCR

Existeixen poques diferències entre les diferents edats i localitzacions.

Homologies

BLAST

1. Homologia 98% (305/311) amb Rattus norvergicus RN protein mRNA, complete cds RNA
[gi|1934602|qb|U93197.1|RNU93197](#)
2. Homologia d'un 289/311 (92%) amb Mus musculus adult male lung cDNA, RIKEN full-length enriched library, clone:1200011N24, full insert sequence
[gi|12836093|dbj|AK004715.1|AK004715](#)
3. Homologia d'un 92% (289/311) Mus musculus largeG mRNA for large GTP binding protein, complete cds [gi|14278915|dbj|AB044138.1|AB044138](#)
4. Homologia 84% amb Homo Sapiens mRNA for KIAA0567 protein, partial cds
[gi|1934602|qb|U93197.1|RNU93197](#)
5. Homologia 84% (243/286) Homo sapiens optic atrophy 1 (autosomal dominant) (OPA1), mRNA
[gi|14728735|ref|XM_039926.1|](#)

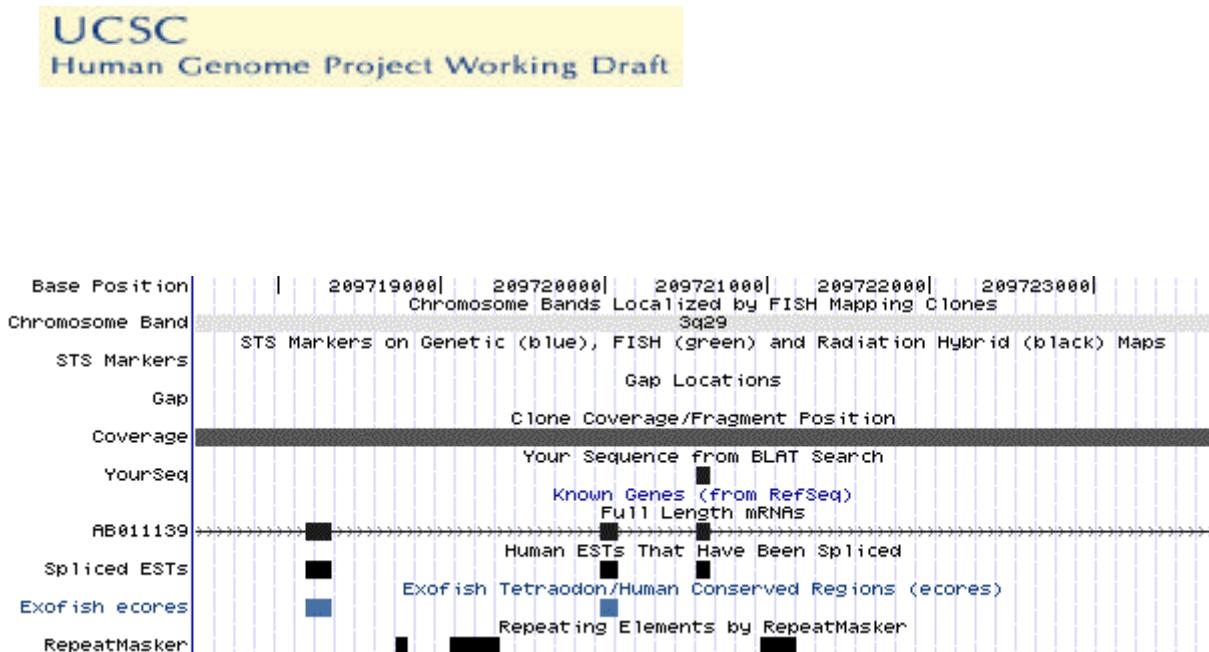


Figura 26. Homologia de M2 (*Your seq*) a 3q29 (UCSC)

AB 011139: Homo sapiens mRNA for KIAA0567 protein, partial cds
[gi|1934602|gb|U93197.1|RNU93197](#)

Seqüència N0

300pb

ACAGTGCCAG GTGGGGAGTT TGACTGGGGC GGTACACCTG TCAAACGGTA ACGCAGGTGT
CCTAAGGCGA GCTCAGGGAG GACAGAAACC TCCCGTGGAG CAGAAGGGCA AAAGCTCGCT
TGATCTTGAT TTTCAAGTACG AATAACAGACC GTGAAAGCAG GGCCTCACGA TCCTTCTGAC
CTTTTGGGTT TTAAGCAGGA GGTGTAGAA AAGTTACCAC AGGGATAACT GGCTTGTGGC
GGCCAAGCGT TCATAGCGAC GTCGCTTTT GATCCTTCGA TGTCGGCTCT TCCTATCATT

Patró d'expressió a la RAP-PCR

S'expressa més intensament a la part més distal del tub digestiu: Cp, Cm i Bpd

Homologies:

BLAST

1. Rattus norvegicus genes for 18S, 5.8S, and 28S ribosomal RNAs
[gi|2624399|emb|V01270.1|RNRNA](#)
2. Homologia del 99% (299/300) amb Human ribosomal DNA complete repeating unit
[gi|555853|gb|U13369.1|HSU13369](#)
3. Homologia del 99% (299/300) Mouse 28S ribosomal RNA
[gi|53988|emb|X00525.1|MMRNA02](#)

Seqüència N1

Patró d'expressió a la RAP-PCR

S'expressa més intensament a la part més distal del tub digestiu: Cp, Cm i Bpd

Al clonar N1 hem amplificat dos clons diferents.

N1.1 (PJ3)

Clon N1(3)

299pb

ANAGTGAAGC CAGTCAGTGC ACAGGGTAGT GGGGTAAGCC CTGTGTGGTT CTCCAGTGCA
AACAGAGTCA GCTAGGAGTT CGTAGCGTGT TCTCCTGAGC AGGGCCAGAG CCTTCGGTGC
AGCAGATGAG AACATCTGGA AGATACAGGT GAGCCTCACCA GCTGGATCCA CCCCTGGAGG
TGGGCAGAAC TGATCTGCAT TAATCAGGGA GCCCAAAATG CTGTCTCCAG AGTAAGCAAG
CTGTGAGTGG CCCCAGCAGC TTTCAGATAAC TGTTCAGTC TGTTGACATC TGACCTGGG

Aquesta seqüència mostra homologia amb alguns fragments molt curts. Per aquests motiu la considerem una seqüència desconeguda

N1.2 (PJ4)

Clon N1(7), N1(5)

300 pb

ACAGTGCCAG GTGGGGAGTT TGACTGGGGC GGTACACCTG TCAAACGGTA ACGCAGGTGT
CCTAAGGCGA GCTCAGGGAG GACAGAAACC TCCCGTGGAG CAGAAGGGCA AAAGCTCGCT
TGATCTTGAT TTTCTGTACG AATACAGACC GTGAAAGCGG GGCCTCACGA TCCTTCTGAC
CTTTTGGGTT TTAAGCAGGA GGTGTCAGAA AAGTTACCAAC AGGGATAACT GGCTTGTGGC
GGCCAAGCGT TCATAGCGAC GTCGCTTTT GATCCTTCGA TGTGGCTCT TCCTATCATT

Homologies:

BLAST

1. Homologia del 99% (299/300) amb Rattus norvegicus genes for 18S, 5.8S, and 28S ribosomal RNAs [gi|2624399|emb|V01270.1|RNRRNA](#)
2. Homologia del 99% (299/300) amb Human ribosomal DNA complete repeating unit [gi|555853|gb|U13369.1|HSU13369](#)
3. Homologia del 99% (299/300) amb Mouse 28S ribosomal RNA [gi|53988|emb|X00525.1|MMRNA02](#)

Seqüència O1

286 pb

```
ACTTGGTGGN GCGATTGTC TGGTTAACCGA CGAGACTCTG GCATGCTAAC  
TAGTTACGCG ACCCCCCGAGC GGTCGGCGTC CCCCAACTCC TTAGAGGGAC AAGTGGCGTT  
CAGCCACCCG AGATTGAGCA ATAACAGGTC TGTGATGCC CTTAGATGTCC GGGGCTGCAC  
GCGCGCTACA CTGACTGGCT CAGCGTGTGC CTACCCTACG CCGGCAGGCG CGGGTAACCC  
GTTGAACCCC ATTCGTGATG GGGATCGGGG ATTGCAATTA TTCCCC
```

Patró d'expressió a la RAP-PCR

S'expressa a totes les localitzacions però més intensament a E20 a Cp.

Homologies:

BLAST

1. Homologia del 99% (282/284) Mus musculus ETS-related transcription factor ERF (Erf1) mRNA, complete cds [gi|14669160|gb|AY036118.1|](#)
2. Homologia d'un 99% (282/284) Homo sapiens tensin mRNA, complete cds [gi|11275668|gb|AF225896.1|AF225896](#)
3. Homologia d'un 99% (282/284) Homo sapiens serine/threonine protein kinase Kp78 splice variant CTAK75a mRNA, complete cds [gi|5714635|gb|AF159295.1|AF159295](#)
4. Homologia del 99% (282/284) amb Human ribosomal DNA complete repeating unit [gi|555853|gb|U13369.1|HSU13369](#)
5. Homologia d'un 99% (282/284) Rat 18S rRNA gene, complete [gi|36162|emb|X03205.1|HSRRN18S](#)

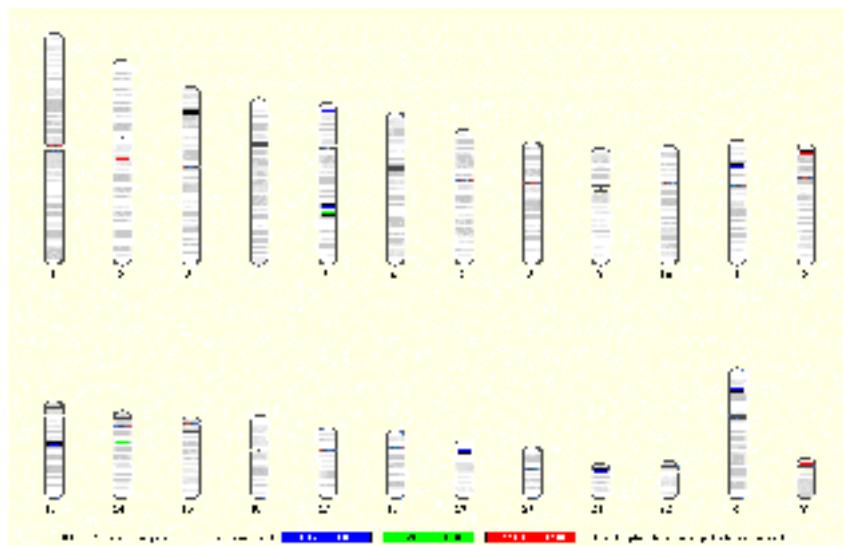


Figura 27. Localitzacions on hi ha homologia de la seqüència O1 en un idiograma humà (Ensembl)

La recerca amb *Ensembl* dóna homologia en els cromosomes 2, 3, 5, 11, 13, 14, 15, 19, 21, X, y

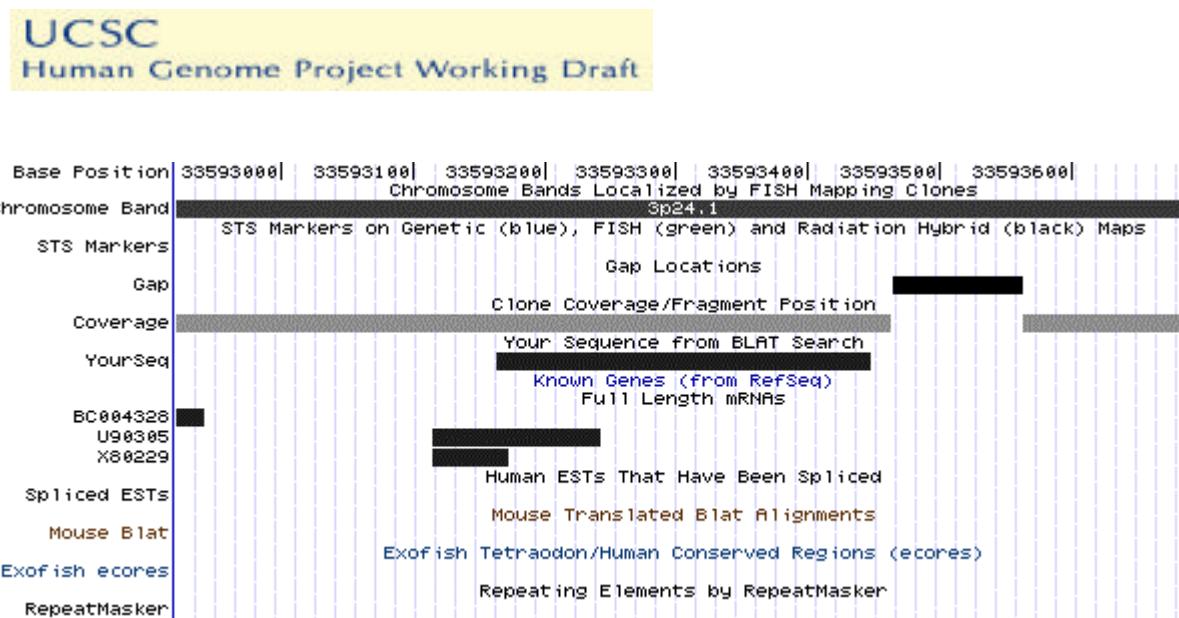


Figura 28. Homologia d'O1 (Your seq) a 3p24.1 (UCSC)

1. Human iroquois-class homeodomain protein IRX-3 mRNA, partial cds [U90305](#)

2. H.sapiens mRNA for serine/threonine protein kinase [X80229](#)

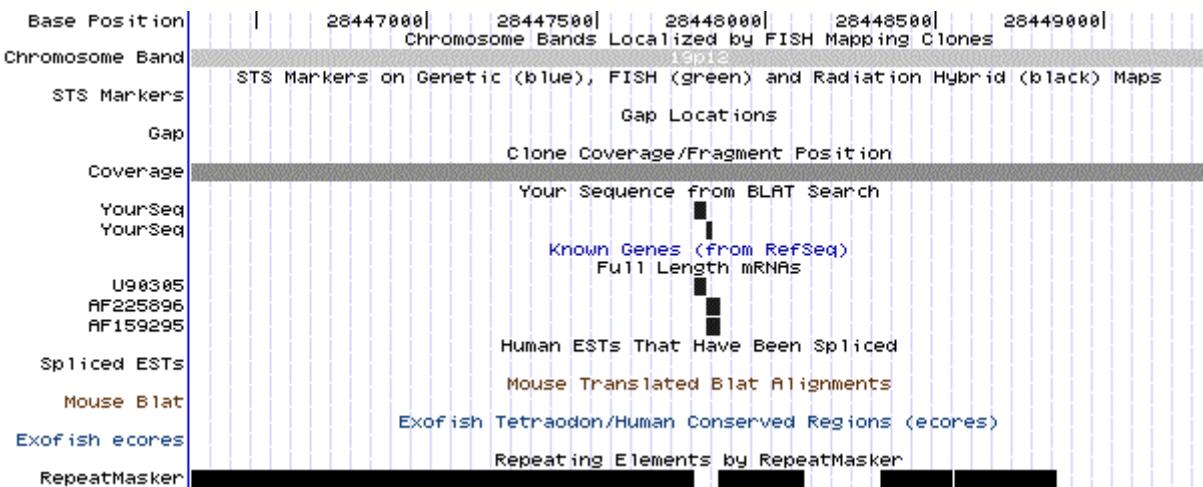


Figura 29. Homologia d'O1 (Your seq) a 19p12 (UCSC)

[U90305](#) Human iroquois-class homeodomain protein IRX-3 mRNA, partial cds

[AF225896](#) Homo sapiens tensin mRNA, complete cds

[AF159295](#) Homo sapiens serine/threonine protein kinase Kp78 splice variant CTAK75a mRNA, complete cds

Identificació	Mida	Homologia més probable	Espècie
E3	579	Mitochondrial genome	<i>Rattus norvegicus</i>
F8	493	hsp86	<i>Rattus norvegicus</i>
G0	478	Chaperonin subunit 5 (epsilon) (Cct5)	<i>Mus Musculus</i>
G1	475	Mitochondrial genome	<i>Rattus norvegicus</i>
H3	444	Genes 18S, 5.8S, and 28S ribosomal RNA	<i>Rattus norvegicus</i>
J2	352	Desconeguda	
M2	311	LargeG mRNA for large GTP binding protein	<i>Mus musculus</i>
N0	300	Genes 18S, 5.8S, and 28S ribosoma	<i>Rattus norvegicus</i>
N1.1	299	Desconeguda	
N1.2	300	Genes 18S, 5.8S, and 28S ribosoma	<i>Rattus norvegicus</i>
O1	286	?	

Taula 1. Resum dels resultats de la seqüenciació

3. Hibridació in situ. Patrons d'expressió

F8

Amb la sonda realitzada a partir de la banda *clonada* F8, anti-*sense* (F8XbaI) i *sense* (F8HindIII), que presenta una homologia del 98-100% amb el cDNA del gen de la HSP 86 (90-) de *Ratus Norvergicus*, es va realitzar la tècnica de la Hibridació "in situ" amb Digoxigenina, en les edats de E17-E20 i es va obtenir un patró, sense diferències significatives entre les diferents edats, mostrant-se expressió del gen de la HSP 86 en les següents localitzacions amb la sonda anti-*sense* (F8XbaI):

Capa ependimària dels plexes coroïdals +++ (Làmina 1 D)
SNC (Cervell, cerebel i Medul·la espinal) ++ (Làmina 3 D)
Epiteli de les foses nasals +++ (Làmina 2C i 2D) i Epiteli de la Nasofaringe +++
Revestiment epitelial de Glàndules salivals + (Làmina 1 E)
Glàndules de l'arrel de la llengua i glàndules glossopalatines + (Làmina 3E)
Timus +++(Làmina 1 F)
Epiteli dels bronquis de major grandària +++ (Làmina 2A i 2B)
Greix bru +++ (Làmina 1 C)
Fetge (hepatòcits o cèl·lules hematopoètiques) +++ (Làmina 2E i 2F)
Escorça Renal ++ (Làmina 3A i 3B)
Escorça suprarenal ++ (Làmina 3B)
Ganglis raquidians +++ (Làmina 3C)
Budell prim i gros (marca dèbil a l'epiteli i la serosa) + (Làmina 3A)
Testicle (cèl·lules germinals) +++ (Làmina 1A i 1B)

Taula 2. Patró d'expressió de F8 (Hibridació "in situ")

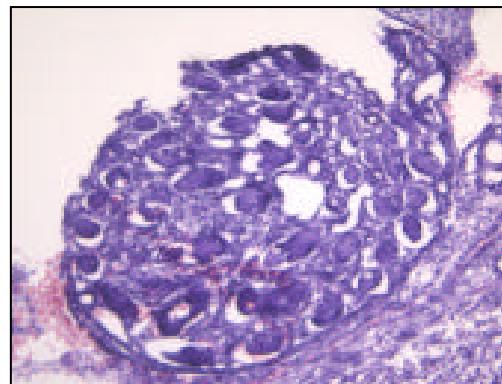
NOTA: La intensitat del senyal de digoxigenina s'ha classificat en tres graus (+++, ++, +)
+++ com la intensitat més forta,
+ la intensitat més fluixa, però superior a la de la sonda *sense*
++ com la intensitat intermitja, entre + i +++

Comentari als resultats de l'HIS

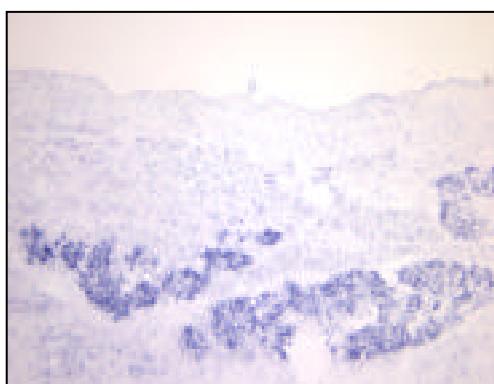
Les poblacions cel·lulars marcades en el fetge, per la seva heterogeneïtat, pel que fa a la distribució, hem considerat que són precursores de cèl·lules hematopoètiques, molt abundants en el fetge durant les fases finals del desenvolupament prenatal i començament del postnatal. Considerem, però, que són necessaris estudis de doble marcatge amb inmunohistoquímica per verificar la identitat de les cèl·lules marcades al fetge per la sonda



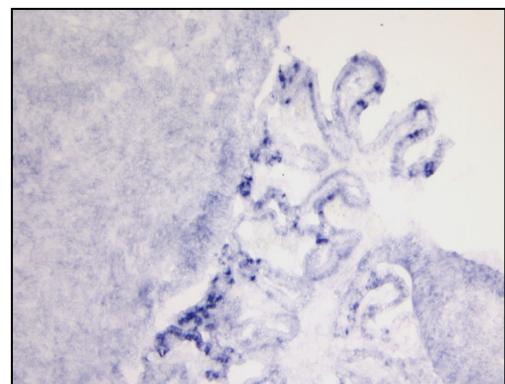
A



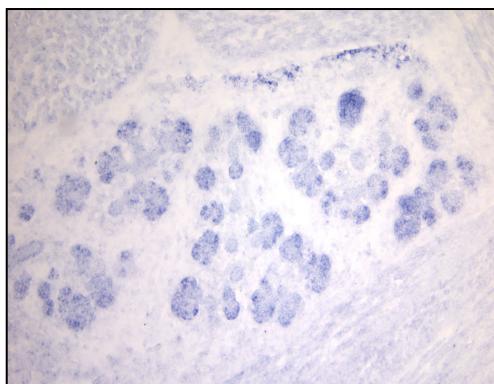
B



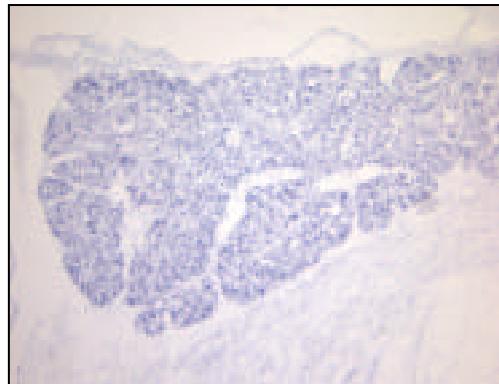
C



D



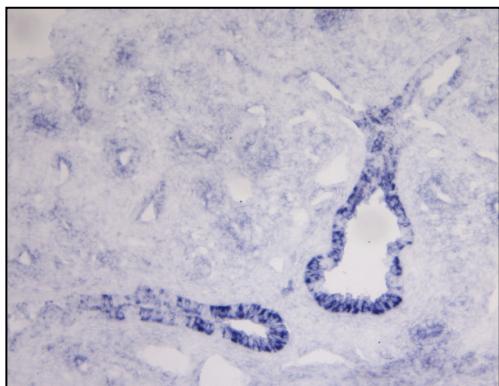
E



F

Lamina 1:

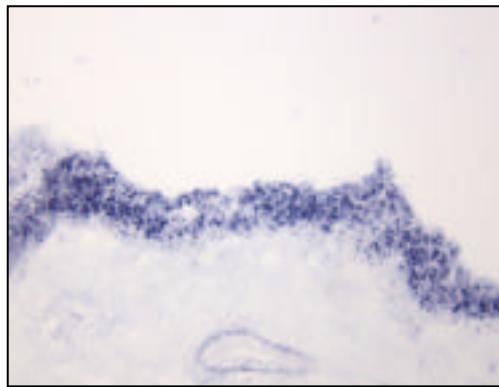
- A. **Testicle** fetus de rata 19 d. (x100) HIS B. **Testicle** fetus de rata 19 d. (x100) HE C. **Greix brú** fetus de rata 19 d. (x100) HIS D. **Plexes coroïdals** fetus de rata 19 d. (x100) HIS E. **Glàndules salivals** fetus de rata 19 d. (x100) HIS F. **Timus** fetus de rata 19 d. (x100) HIS



A



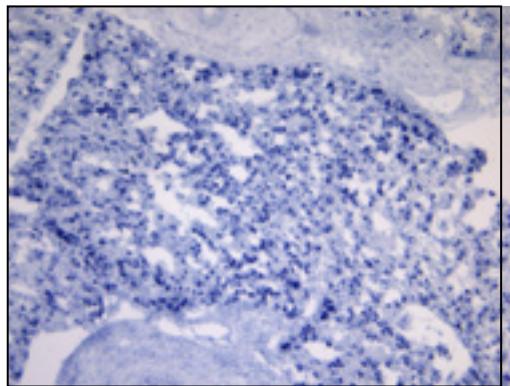
B



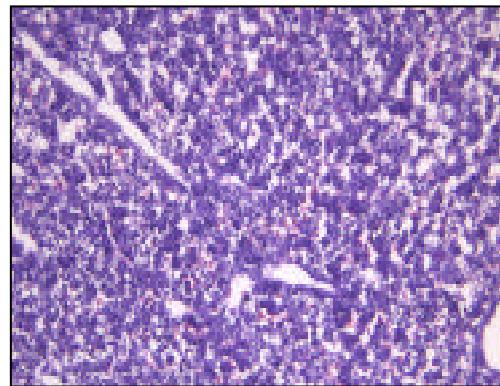
C



D



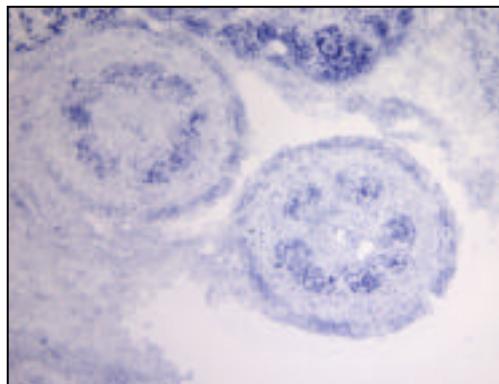
E



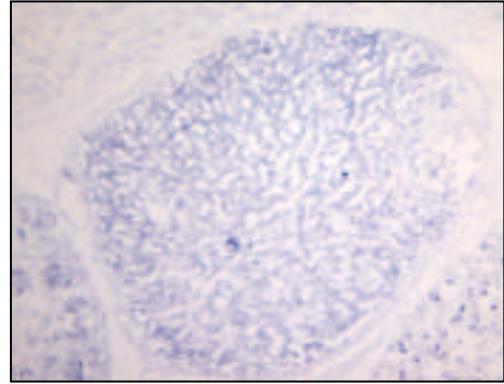
F

Làmina 2:

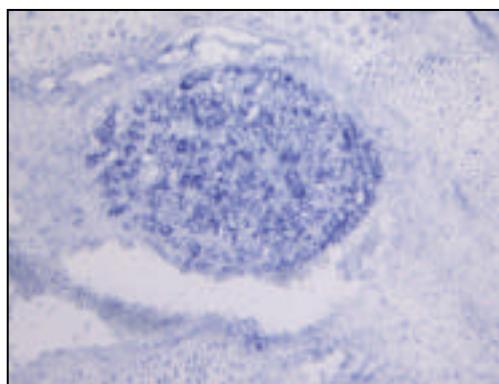
- A. Epiteli bronquial fetus de rata 19 d. (x100) HIS B. Epiteli bronquial fetus de rata 19 d. (x100) HIS
C. Epiteli de les fosses nassals fetus de rata 19 d. (x100) HIS D. Epiteli de les fosses nassals fetus de rata 19 d. (x100) HIS
E. Fetge fetus de rata 18 d. (x100) HIS F. Fetge fetus de rata 18 d. (x100) HE



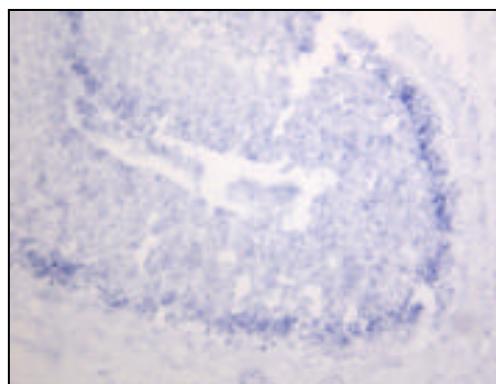
A



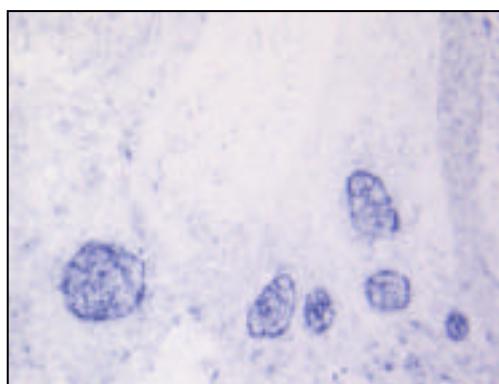
B



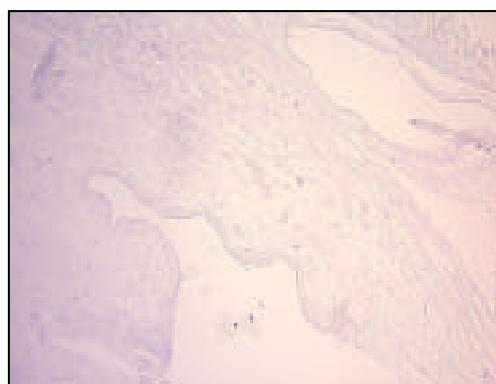
C



D



E



F

Làmina 3:

- A. Intestí i escorça renal (marge superior) fetus de rata 19 d. (x100) HIS B. Escorça suprarrenal i escorça renal (marge esquerra) fetus de rata 19 d. (x100) HIS. C. Gangli raquidíà fetus de rata 18 d. (x100) HIS D. Escorça Cerebral fetus de rata 19 d. (x100) HIS E. Glàndules glossopalatinas fetus de rata 19 d. (x100) HIS F. fetus de rata 19 d. (x100) HIS Control negatiu amb sonda F8 Hind III