

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 660 765**

51 Int. Cl.:

C12Q 1/68 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

A61K 31/713 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

A61K 48/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.06.2005 E 11175854 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.12.2017 EP 2453024**

54 Título: **Genes y rutas expresadas de forma diferencial en trastorno bipolar y/o trastorno depresivo mayor**

30 Prioridad:

21.06.2004 US 581998 P

22.10.2004 US 621252 P

31.03.2005 US 667296 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
26.03.2018

73 Titular/es:

**THE BOARD OF TRUSTEES OF THE LELAND
STANFORD JUNIOR UNIVERSITY (100.0%)
1705 El Camino Real
Palo Alto, CA 94306-1106, US**

72 Inventor/es:

**MOLNAR, MARGHERITA;
AKIL, HUDA;
BUNNEY, WILLIAM E.;
CHOUDARY, PRABHAKARA V.;
EVANS, SIMON J.;
JONES, EDWARD G.;
LI, JUN;
LOPEZ, JUAN F.;
LYONS, DAVID M.;
MYERS, RICHARD M.;
SCHATZBERG, ALAN F.;
STEIN, RICHARD;
THOMPSON, ROBERT C.;
TOMITA, HIROAKI;
VAWTER, MARQUIS P.;
WATSON, STANLEY J. y
TURNER, CORTNEY A.**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques
o Bemerkungen) en el folleto original publicado
por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 660 765 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Genes y rutas expresadas de forma diferencial en trastorno bipolar y/o trastorno depresivo mayor

5 **Antecedentes de la invención**

La depresión clínica, incluyendo tanto trastornos bipolares como trastornos de depresión mayor es un problema principal de salud pública, que afecta según se estima a un 9,5 % de la población adulta de Estados Unidos cada año. Aunque existe la hipótesis de que las enfermedades mentales, incluyendo los trastornos del estado de ánimo tales como la depresión mayor ("MDD") y el trastorno bipolar ("BP"), así como los trastornos psicóticos tales como la esquizofrenia pueden tener raíces genéticas, se ha hecho poco progreso en la identificación de las secuencias génicas y productos génicos que desempeñan una función en la causa de estos trastornos, como es cierto para muchas enfermedades con un origen genético complejo (véase, por ejemplo, Burmeister, *Biol. Psychiatry* 45:522-532 (1999)).

La ausencia actual de biomarcadores y la ineficacia y fiabilidad del diagnóstico y las tasas son cuestiones importantes para el tratamiento de los trastornos mentales. Por ejemplo, aproximadamente un 15 % de la población padece MDD aunque aproximadamente un 1 % padece trastornos BP. El diagnóstico del trastorno bipolar es difícil cuando, como sucede a veces, el paciente presenta únicamente síntomas de depresión al médico. Al menos un 10-15 % de los pacientes con BP se presentan mal diagnosticados como MDD. Las consecuencias de dicho mal diagnóstico incluyen un retardo en la introducción en un tratamiento eficaz con estabilizadores del estado de ánimo y un retardo en la búsqueda u obtención de asesoramiento específico para el trastorno bipolar. Además, el tratamiento con antidepresivos únicamente induce un ciclo rápido, cambio a un estado maniaco o mixto y, por consiguiente, aumenta el riesgo de suicidio. Además, adicionalmente a una ausencia de eficacia, prolonga la aparición de la acción y los efectos secundarios (sexual, del sueño, ganancia de peso, etc.), hay preocupaciones recientes respecto a los efectos indeseables de los AD sobre los síndromes metabólicos tales como diabetes e hipercolesterolemia.

Breve resumen de la invención

Basándose en el descubrimiento de que determinados genes expresados en rutas y regiones particulares del cerebro probablemente están implicados en el desarrollo de enfermedad mental, la presente invención proporciona compuestos para su uso en el tratamiento de enfermedades mentales. También se describen métodos para identificar compuestos eficaces en el tratamiento de las enfermedades mentales.

Para entender adicionalmente la neurobiología de los trastornos del estado de ánimo tales como los trastornos bipolares (BP) y los trastornos de depresión mayor (MDD), los autores de la presente solicitud han usado micromatrices de ADN para estudiar los perfiles de expresión de cerebros humanos de cadáver de pacientes diagnosticados con BP o MDD. En un aspecto, se describe la expresión génica diferencial en la corteza cingulada anterior (AnCg), prefrontal dorsolateral (DLPFC) y cerebelar (CB), las regiones del hipocampo, del núcleo accumbens y de la amígdala del cerebro, donde la expresión génica diferencial está asociada con trastorno bipolar (BP) y trastorno depresivo mayor (MDD). Determinados genes en estas regiones se consideran "únicos" para un trastorno dado tal como BP o MDD cuando se expresan de forma diferencial en un trastorno particular del estado de ánimo y no en otro (véanse, por ejemplo, las tablas 3, 4, 14-20). En otros casos, cuando los genes se expresan de forma diferencial tanto en BP como en MDD respecto a los controles sanos, se considera que los genes están implicados en ambos trastornos. La expresión de los genes expresados de forma diferencial puede detectarse usando cualquier método de detección adecuado, por ejemplo, micromatrices, PCR o hibridación *in situ*. La expresión génica puede detectarse en tejido cerebral, muestras de tejido cerebral u otras muestras tisulares (por ejemplo, muestras de sangre en el caso de NCAM1).

En un caso, esta descripción se refiere a la expresión génica diferencial asociada con receptores acoplados a proteína G (GPCR) y rutas de señalización posteriores, mediada por el monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) y fosfatidilinositol (PI), donde la expresión génica se produce de forma diferencial en la corteza cingulada anterior (AnCg), prefrontal dorsolateral (DLPFC) y cerebelar (CB), las regiones del hipocampo, del núcleo accumbens y de la amígdala de los cerebros de pacientes con trastorno bipolar (BP) y/o trastorno depresivo mayor (MDD), respecto a controles sanos (véanse, por ejemplo, las tablas 14-20).

En otro caso, esta descripción se refiere a la expresión génica diferencial asociada con receptores acoplados a proteína G (GPCR) y las rutas de señalización posteriores, mediada por monofosfato de adenosina cíclico (AMPc) y fosfatidilinositol (PI), donde la expresión génica se produce de forma diferencial en las regiones del hipocampo, del núcleo accumbens y de la amígdala de los cerebros de pacientes con trastorno bipolar (BP) y/o trastorno depresivo mayor (MDD), respecto a controles sanos (véanse, por ejemplo, las tablas 18-20).

La presente divulgación también demuestra la expresión diferencial de la ruta de FGF en la corteza frontal de sujetos con MDD. Los genes particulares relacionados con FGF, tales como FGF2, están regulados de forma incorrecta por tratamiento antidepresivo, complejidad ambiental y la correlación del comportamiento de tipo ansiedad (véanse, por ejemplo, las tablas 1a, 1b y 2, y las figuras 1-7 y 22). La ruta de FGF también está relacionada con la neurogénesis,

por ejemplo, la proliferación y diferenciación de células madre neurales, y los genes divulgados en este documento pueden usarse para el diagnóstico y tratamiento relacionado con la neurogénesis. Además, la figura 23 muestra los efectos de la administración de FGF2 postnatal sobre la neurogénesis, la emotividad y la expresión génica en ratas adultas. Los animales a los que se ha inyectado FGF muestran supervivencia y proliferación celular significativamente aumentadas en el giro dentado del hipocampo. Como adultos, los animales muestran mayor actividad locomotora en un entorno nuevo, un índice de ansiedad inferior y tienen mejor aprendizaje y memoria.

La presente divulgación también demuestra que los genes de las rutas de señalización de glutamato/GABA están implicadas en MDD y BP (véase la figura 24 y la tabla 8).

La presente divulgación también demuestra que los genes mitocondriales están implicados en MDD y BP (véase la tabla 10).

La presente divulgación también demuestra que 40 genes que codifican miembros de la familia del factor de crecimiento y receptores de los factores de crecimiento se expresan de forma significativamente diferencial en BP y MDD en el DLPFC o AnCg (véanse las tablas 5, 6 y 7).

La presente divulgación demuestra que los genes implicados en los receptores acoplados a proteína G y sus rutas de señalización posteriores, incluyendo las rutas de señalización de AMP cíclico, fosfatidilinositol y proteína cinasa activada por mitógenos están regulados de forma incorrecta en BP y/o MDD (véanse las tablas 6 y 9 y las figuras 8-13 y 17-19).

Finalmente, la presente divulgación proporciona por primera vez un novedoso polimorfismo de inserción/eliminación en el gen de tipo fosfoserina fosfatasa (PSPHL) y demuestra que un novedoso polimorfismo de eliminación de PSPHL está relacionado con susceptibilidad a trastorno bipolar. Por lo tanto, la detección de este polimorfismo es útil para el diagnóstico de BP, así como para ensayos de descubrimiento de fármacos para agentes terapéuticos contra BP. Además, la ruta metabólica del aminoácido serina, de la que PSPHL es un miembro, es una diana para el descubrimiento de fármacos para agentes terapéuticos contra BP. El gen de PSPHL se clonó por primera vez por Planitzer et al., Gene 210 297-306 (1998). El número de acceso para una secuencia de ácido nucleico representativa es AJ0016112 y el número de acceso para una secuencia proteica representativa es CAA04865.1. Véanse las figuras 14-16.

La presente divulgación demuestra por primera vez la expresión única de los 24 ácidos nucleicos enumerados en la tabla 3 en los cerebros de sujetos con trastorno bipolar, pero no sujetos con depresión mayor; la expresión única de los 24 ácidos nucleicos enumerados en la tabla 4 en los cerebros de sujetos con depresión mayor, pero no en sujetos bipolares, y la expresión diferencial y/o única de los ácidos nucleicos enumerados en las tablas 5-10 en los cerebros de pacientes que padecen trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor, en comparación con sujetos de control normales. Además, la presente divulgación identifica rutas bioquímicas implicadas de forma única o diferencial en trastornos del estado de ánimo, donde las proteínas codificadas por los ácidos nucleicos enumerados en la tabla 3-10 son componentes de las rutas bioquímicas (por ejemplo, la ruta de transducción de señales de factores de crecimiento, por ejemplo, FGF, las rutas de transducción de señales de GPCR, las rutas mitocondriales y las rutas de señalización de glutamato/GABA). Además, la divulgación demuestra la expresión única de un polimorfismo de eliminación de PSPHL y su asociación con BP.

Los genes y las rutas que se expresan de forma única o diferencial en MDD o BP son útiles en el diagnóstico de trastornos del estado de ánimo y en el ensayo de agentes terapéuticos que puedan tratar de forma específica MDD o BP, o que puedan usarse para tratar tanto MDD como BP. La expresión diferencial por región cerebral es, asimismo, una herramienta de diagnóstico y terapéutica útil, ya que determinados trastornos del estado de ánimo afectan principalmente a determinadas regiones cerebrales. Cada región cerebral desempeña una función única y crítica en el fenotipo global de cualquier trastorno del estado de ánimo particular. Además, a causa de la relación entre BP y los trastornos psicóticos tales como trastornos esquizoafectivos, el gen descrito en este documento único para BP también puede expresarse de forma única en esquizofrenia, y de esa manera puede usarse para el diagnóstico diferencial con MDD.

Esta divulgación, por tanto, proporciona métodos para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno mental, tal como trastorno bipolar o trastorno de depresión mayor. La divulgación también proporciona métodos para proporcionar un diagnóstico y para controlar la progresión de la enfermedad y el tratamiento. Además, la presente divulgación proporciona dianas de ácido nucleico y de proteína para ensayos para fármacos para el tratamiento de trastornos mentales tales como trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.

En algunas realizaciones, los métodos comprenden las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia de forma selectiva con un polinucleótido o polipéptido codificado por un ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos enumerada en las tablas 3-10 y la figura 14; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia de forma selectiva con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno mental.

En algunos casos, el reactivo es un anticuerpo. En algunos casos, el reactivo es un ácido nucleico. En algunos casos, el reactivo se asocia con un polinucleótido. En algunos casos, el reactivo se asocia con un polipéptido. En algunos casos, el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos enumerada en la tabla 3-6. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos de un gen enumerado en la tabla 3-6. En algunos casos, el nivel de reactivo que se asocia con la muestra es diferente (es decir, mayor o menor) de un nivel asociado. En algunos casos, el trastorno mental es un trastorno del estado de ánimo. En algunos casos, el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.

La divulgación también proporciona métodos de identificación de un compuesto para el tratamiento de un trastorno mental. En algunos casos, los métodos comprenden las etapas de: (i) poner en contacto el compuesto con un polipéptido, que está codificado por un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos de la tabla 2, 3 o 4; y (ii) determinar el efecto funcional del compuesto sobre el polipéptido, identificando de ese modo un compuesto para el tratamiento de un trastorno mental.

En algunos casos, la etapa de contacto se realiza *in vitro*. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos de un gen enumerado en la tabla 3-6. En algunos casos, el polipéptido se expresa en una célula o muestra biológica, y la célula o muestra biológica se pone en contacto con el compuesto. En algunos casos, el trastorno mental es un trastorno del estado de ánimo o trastorno psicótico. En algunos casos, el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y depresión mayor. En algunos casos, el trastorno psicótico es esquizofrenia. En algunos casos, los métodos comprenden, además, administrar el compuesto a un animal y determinar el efecto sobre el animal, por ejemplo, un invertebrado, un vertebrado o un mamífero. En algunos casos, la etapa de determinación comprende ensayar la función mental del animal.

En algunos casos, los métodos comprenden las etapas de (i) poner en contacto el compuesto con una célula, comprendiendo la célula un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos de la tabla 3-6; y (ii) seleccionar un compuesto que module la expresión del polinucleótido, identificando de ese modo un compuesto para el tratamiento de un trastorno mental. En algunos casos, el polinucleótido comprende una secuencia de nucleótidos enumerada en la tabla 3-6. En algunos casos, la expresión del polinucleótido está potenciada. En algunos casos, la expresión del polinucleótido está disminuida. En algunos casos, los métodos comprenden además administrar el compuesto a un animal y determinar el efecto sobre el animal. En algunos casos, la etapa de determinación comprende ensayar la función mental del animal. En algunos casos, el trastorno mental es un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico. En algunos casos, el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y depresión mayor. En algunos casos, el trastorno psicótico es esquizofrenia.

La invención proporciona hibridar con un transcrito de FGF9 para su uso en métodos de tratamiento o prevención de un trastorno de depresión mayor en un sujeto. En algunas realizaciones, el método comprende la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto identificado usando los métodos descritos anteriormente. En algunas realizaciones, el compuesto es un anticuerpo o una molécula antisentido.

La divulgación también proporciona métodos de tratamiento de una enfermedad mental en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido, que está codificado por un polipéptido que hibrida en condiciones rigurosas con un ácido nucleico de la tabla 3-6. En algunos casos, el polipéptido comprende una secuencia de aminoácidos codificada por un gen enumerado en la tabla 3.6. En algunos casos, la enfermedad mental es un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico. En algunos casos, el trastorno psicótico es esquizofrenia. En algunos casos, el trastorno del estado de ánimo es un trastorno bipolar o depresión mayor.

La divulgación también proporciona métodos de tratamiento de enfermedades mentales en un sujeto, que comprende la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido, donde el polipéptido hibrida en condiciones rigurosas con un ácido nucleico de la tabla 3-6. En algunos casos, la enfermedad mental es un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico. En algunos casos, el trastorno psicótico es esquizofrenia. En algunos casos, el trastorno del estado de ánimo es un trastorno bipolar o depresión mayor.

Breve descripción de los dibujos

Figura 1: ISH de FGFR2 de roedor. El gráfico muestra la intensidad media en escala de grises (n=6 por grupo) y las barras de error típico para la señal 35 S para regiones indicadas tanto para ratas tratadas con fluoxetina como para ratas tratadas con solución salina. el aumento en la señal en el grupo tratado con fluoxetina es significativo, como se determina por un ANOVA bidireccional (tratamiento, región cerebral) con $p=0,0049$, PLSD de Fisher.

Figura 2: la figura 2 resume la expresión diferencial de transcritos del sistema de FGF en corteza MDD.

Figura 3: la figura 3 muestra que la regulación incorrecta de FGF se atenúa por tratamiento antidepressivo.

Figura 4: la figura 4 muestra que el tratamiento crónico con fluoxetina aumenta la expresión de FGFR2 en un prosencéfalo en rata.

Figura 5: la figura 5 muestra la complejidad ambiental: FGF2 y el comportamiento de tipo ansiedad.

Figura 6: la figura 6 muestra que la expresión de FGF se correlaciona negativamente con el comportamiento de tipo ansiedad.

Figura 7: la figura 7 muestra resúmenes de FGF y efectos negativos.

Figura 8: la figura 8 muestra la validación por qRT-PCR de los datos de micromatriz.

5 **Figura 9:** la figura 9 muestra el receptor acoplado a proteína G (GPCR) y ligandos regulados de forma incorrecta en la corteza cingulada anterior de sujetos con BP.

Figura 10: muestra el análisis de sobrerrepresentación de categorías génicas de las tres rutas de señalización de GPCR posteriores.

Figura 11: la figura 11 muestra el metabolismo de fosfatidilinositol en el trastorno BP.

10 **Figura 12:** la figura 12 muestra la señalización de proteína cinasa activada por mitógenos en el trastorno BP.

Figura 13: la figura 13 muestra la ruta de señalización de AMPc en sujetos con BP.

Figura 14: la figura 14 muestra la estructura genómica en el gen PSPHL y el polimorfismo de eliminación de PSPHL que está relacionado con susceptibilidad a BP.

Figura 15: la figura 15 muestra las secuencias de aminoácidos predichas para PSPHL, PSPHL-A y PSPHL-B.

15 **Figura 16:** la figura 16 muestra la ruta metabólica del aminoácido serina.

Figura 17: la figura 17 muestra donde empieza y acaba cada exón en el ARNm de PSPHL y proporciona cebadores para detectar polimorfismos de inserción/eliminación en el locus PSPHL.

Figura 18: la figura 18 muestra una imagen de gel para alelos de inserción/eliminación de PSPHL.

Figura 19: la figura 19 muestra la ruta de señalización de AMPc en el sistema límbico para BP.

20 **Figura 20:** la figura 20 muestra una ruta de señalización de PI en el sistema límbico para MDD.

Figura 21: la figura 21 muestra la ruta de señalización de MAPK en el sistema límbico para MDD.

Figura 22: la figura 22 muestra los efectos de la complejidad ambiental sobre las diferencias en el comportamiento de ansiedad y la expresión génica de FGF2.

25 **Figura 23:** la figura 23 muestra los efectos de la administración de FGF2 postnatal sobre la neurogénesis, la emotividad y la expresión génica en ratas adultas.

Figura 24: la figura 24 muestra las rutas de señalización de GABA/glutamato en BP y MDD.

Figura 25: la figura 25 muestra los SNP de NCAM y las variantes de corte y empalme implicadas en los trastornos del estado de ánimo tales como trastorno bipolar.

30 **Figura 26:** la figura resume los genes expresados de forma diferencial que regulan las rutas de señalización de AMPc (A, B) y fosfatidilinositol (C, D) en el cerebro de BPD (A, C) y MDD (B, D). GNAI1: actividad inhibidora de proteína G alfa 1, RGS20: regulador de la señalización de proteína G 20, PDE1A: fosfodiesterasa 1A, PDE8A: fosfodiesterasa 8A, PKIA: inhibidor alfa de proteína cinasa A, CDK5: cinasa 5 dependiente de ciclina, PPP1CA: proteína fosfatasa 1, catalítica alfa, PPP1R3C: proteína fosfatasa 1, reguladora 3C, INPP5A: inositol polifosfato-5-fosfatasa A, INPP5F: inositol polifosfato-5-fosfatasa F, ITPKB: inositol 1,4,5-trisfosfato 3-cinasa B, INPP1: inositol polifosfato-1-fosfatasa, CDS1: CDP-diacilglicerol sintasa 1, PIK3C2A: fosfoinositido-3-cinasa catalítica 2A, PIK3C2B: fosfoinositido-3-cinasa catalítica 2B, PIK3R1: fosfoinositido-3-cinasa reguladora 1, PRKCI: proteína cinasa C iota, ITPR1: receptor 1 de inositol 1,4,5-trifosfato, PRKB1: proteína cinasa C beta 1, NPY: neuropéptido Y, SST: somatostatina, NPY1R: receptor Y1 de neuropéptido Y, TACR2: receptor 2 de taquicinina, NTSR2: receptor 2 de neurotensina, EDNRB: receptor de endotelina de tipo B, GRM3: receptor 3 metabotrópico de glutamato, EDG1: GPCR 1 de diferenciación endotelial, EDG2: GPCR 2 de diferenciación endotelial.

35 **Figura 27:** imágenes de hibridación *in situ* del ARNm de GPR37 en sujetos representativos con BPD, MDD y de control, el ARNm de GPR37 se expresa de forma preferente en la materia blanca subcortical. Entre las seis capas de materia gris cortical, la expresión de GPR37 en la capa más profunda (V-VI) es relativamente mayor que en la capa superficial (I-III). Los niveles de expresión en GPR37 están aumentados en los sujetos con BPD y disminuidos en sujetos con MDD en la materia blanca subcortical en el tejido de la corteza cingulada anterior, en comparación con los sujetos de control. WM: materia blanca subcortical, BPD: trastorno bipolar, MDD: trastorno depresivo mayor.

40 **Figuras 28 y 29:** hibridación *in situ* para para el ARNm de LRPPRC (que contiene motivo PPR rico en leucina) en tres regiones cerebrales. (A). Expresión de LRPPRC en imágenes representativas de BPD y de control. (B). Controles con factores agonales mostraron una reducción de un 36 % en LRPPRC en comparación con los controles con cero factores agonales ($p = 0,011$) en cerebelo y se observó un efecto similar a través de las regiones corticales. (C). En DLPFC, los casos de BPD sin factores agonales muestran LRPPRC aumentado en comparación con los controles sin factores agonales ($p = 0,001$) y en comparación con sujetos con MDD ($p = 0,02$) sin factores agonales.

50 **Figura 30:** organización genómica de NCAM1 (es decir, molécula 1 de adhesión de células neurales) y localización de cuatro sitios polimórficos. El gen abarca 214 kb, pero no contiene ningún SNP exónico. Las flechas indican la localización de los cuatro polimorfismos y los cinco exones usados en este análisis de exploración.

55 **Figura 31:** se muestran alteraciones significativas de la variante de corte y empalme del exón de NCAM1 por genotipo y el diagnóstico por genotipo.

Leyendas de las tablas

65 **Tabla 1a:** La tabla 1a enumera los datos de los sujetos para la cohorte A.

Tabla 1b: La tabla 1b enumera los datos de los sujetos para la cohorte B.

Tabla 2: La tabla 2 muestra los datos de micromatriz para todos los transcritos de FGF detectados en DLPFC o

AnCg y los datos resumidos para los estudios de confirmación.

Tabla 3: La tabla 3 enumera los genes expresados de forma única en sujetos con BP.

Tabla 4: La tabla 4 enumera los genes expresados de forma única en sujetos con MDD.

Tabla 5: La tabla 5 enumera los genes de la ruta del factor de crecimiento expresados en sujetos con MDD y BP.

Tabla 6: La tabla 6 enumera los genes de la ruta de GPCR expresados en sujetos con MDD y BP.

Tabla 7: La tabla 7 enumera los genes de la ruta del factor de crecimiento expresados en sujetos con MDD y BP.

Tabla 8: La tabla 8 enumera los genes de la ruta de señalización de GABA y glutamato expresados en sujetos con MDD y BP.

Tabla 9: La tabla 9 enumera los genes de la ruta de GPCR expresados en sujetos con MDD y BP.

Tabla 10: La tabla 10 enumera los genes mitocondriales expresados en sujetos con MDD y BP.

Tabla 11: La tabla 11 enumera los genes expresados en sujetos con MDD, BP y esquizofrenia.

Tabla 12: La tabla 12 enumera los genes expresados en sujetos con MDD, BP y esquizofrenia.

Tabla 13: La tabla 13 enumera los genes de la ruta de GPCR expresados en MDD y BP.

Tabla 14: GPCR y genes de señalización relacionados regulados de forma incorrecta en la corteza cingulada anterior.

Tabla 15: GPCR y genes de señalización relacionados regulados de forma incorrecta en la corteza prefrontal dorsolateral.

Tabla 16: GPCR y genes de señalización relacionados regulados de forma incorrecta en la corteza cerebelar.

Tabla 17: Datos de RT-PCR cuantitativa. Los cambios factoriales en los análisis de micromatriz y qRT-PCR para péptidos de ligandos representativos, GPCR, regulador de proteína G (NPY, SST, GPR37, GPRC5B, RGS20), que estaban regulados de forma incorrecta en BPD/MDD en comparación con el grupo de control. N.S., cambio no significativo; *, $p < 0,05$; **, $p < 0,01$.

Tabla 18: GPCR y genes de señalización relacionados regulados de forma incorrecta en la amígdala, el hipocampo, el núcleo accumbens de BP.

Tabla 19: GPCR y genes de señalización relacionados regulados de forma incorrecta en la amígdala, el hipocampo, el núcleo accumbens de MDD.

Tabla 20: La tabla 20 muestra los genes que se expresaron de forma diferencial en BPD o MDD en un cambio de factor $> 1,2$ y estaban regulados negativamente en comparaciones de control de factor agónico en $< 1,0$. También se muestran los genes opuestos, donde hay una disminución en el trastorno del estado de ánimo en un cambio de un factor $< -1,2$, y la comparación del control de factor agónico mostró un aumento de cambio factorial $> 1,0$. Estos genes se encontraron en 4 clasificaciones principales enumeradas: mitocondria, chaperona, apoptosis y proteasoma.

Tabla 21: Resultados de validación de Q-PCR a tiempo real para genes candidatos relacionados con la mitocondria seleccionados para trastornos del estado de ánimo en dos regiones corticales. Estos genes están codificados en el núcleo. Significativo por Q-PCR $p < 0,05$ de ensayo t unilateral. El ensayo t de Q-PCR para los grupos de MDD, BPD y de control usaron sujetos sin factor agónico y $pH > 6,8$ similar al análisis de micromatriz n.º 3 para los grupos MDD-alto, BPD-alto y control-alto.

Tabla 22: Se analizaron los genes codificados por el ADN mitocondrial (ADNmt) por Q-PCR a tiempo real para la expresión diferencial en BPD y MDD en comparación con los controles. Los genes codificados en el núcleo en sujetos con BPD y MDD aparecían generalmente aumentados mientras que varios genes de ADNmt mostraban una disminución significativa por Q-PCR en trastornos del estado de ánimo.

Tabla 23: Cebadores para cada segmento de ADN y posible combinación de variantes de corte y empalme (a, b, c, SEC y VASE), así como para SNP 9 y un exón fuera de los sitios de corte y empalme para medir NCAM1 total. La numeración se muestra en la figura 26 de acuerdo con el acceso M22094. 1 - Únicamente el cebador director pudo diseñarse porque el exón a es de 14 pb. 2 - El exón 3 está antes de los exones variables y únicamente el cebador directo era necesario para PCR fuera de los exones. 3 - El exón 8 está después de los exones variables y únicamente se necesitaba el cebador inverso para PCR fuera de los exones.

Tabla 24: Resultados de asociación genotípica. La relación de probabilidad, en ji-cuadrado (χ^2) y los valores-p se calcularon todos usando el programa de DeFinetti ensayos para la desviación de HWE y ensayos para la asociación (C.I.: intervalo de confianza del 95 %).

Tabla 25: Frecuencia de haplotipo de SNP 9 y SNP b, relación de probabilidad y valores-p. Los valores-p se calcularon a partir de los valores de ji-cuadrado derivados del programa EHplus.

Tabla 26: Distribuciones genotípicas y alélicas para controles, trastorno bipolar y esquizofrenia. Los valores-p exactos de Fisher se muestran para la distribución alélica entre casos-contrroles.

Tabla 27: Genotipo x diferencias de variante de corte y empalme x diagnóstico (valores-p). Para cada genotipo de SNP y variante de corte y empalme, se evaluaron las cantidades de variantes de corte y empalme por ensayo t basado en el diagnóstico y se presentaron los valores-p significativos.

Tablas 28: Genes regulados por incremento (28.1) y regulados negativamente (28.2) por litio en cerebros de mono.

Tabla 29: Valores de la expresión diferencial de subunidades de V-ATPasa en un modelo de primate no humano de depresión.

Tabla 30: Genes expresados de forma diferencial en la corteza frontal de ratas sometidas a tensión crónica impredecible (CUS) y administración de antidepresivos (Todos = fluoxetina, desipramina y bupropión). A los controles se les administró agua (tratados con H₂O).

DEFINICIONES

Un "trastorno mental" o "dolencia mental" o "enfermedad mental" o "enfermedad o dolencia o trastorno psiquiátrico o neuropsiquiátrico" se refiere a trastornos del estado de ánimo (por ejemplo, depresión mayor, compulsión maniaca y trastornos bipolares), trastornos psicóticos (por ejemplo, esquizofrenia, trastorno esquizoafectivo, trastorno esquizofreniforme, trastorno delirante, trastorno psicótico breve y trastorno psicótico compartido), trastornos de personalidad, trastornos de ansiedad (por ejemplo, trastorno obsesivo compulsivo), así como otros trastornos mentales tales como trastornos relacionados con sustancias, trastornos en la niñez, demencia, trastorno de autismo, trastorno de adaptación, delirios, demencia multiinfarto y trastorno de Tourette como se describe en Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Cuarta Edición, (DSM IV). normalmente, dichos trastornos tienen un componente genético y/o bioquímico complejo.

Un "trastorno del estado de ánimo" se refiere a la alteración del tono de percepción o estado emocional experimentado por un individuo durante un periodo prologado de tiempo. Los trastornos del estado de ánimo incluyen trastorno de depresión mayor (es decir, trastorno unipolar) compulsión maniaca, disforia, trastorno bipolar, distimia, ciclotimia y muchos otros. Véase, por ejemplo, Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Cuarta Edición, (DSM IV).

"Trastorno de depresión mayor", "trastorno depresivo mayor" o "trastorno unipolar" se refiere a un trastorno del estado de ánimo que implica cualquiera de los siguientes síntomas: tristeza persistente, ansiedad o sensación de "vacío"; sentimientos de desesperanza o pesimismo; sentimientos de culpa, inutilidad o impotencia; pérdida de interés o placer en las aficiones y actividades que antes se disfrutaban, incluyendo el sexo; energía disminuida, fatiga, "ralentización"; dificultad en concentrarse, recordar o tomar decisiones; insomnio, despertar temprano en la mañana o dormir demasiado; pérdida de apetito y/o peso o comer en exceso y ganancia de peso; pensamientos de muerte o suicidio o intentos de suicidio; inquietud o irritabilidad; o síntomas físicos persistentes que no responden a tratamiento, tal como cefaleas, trastornos digestivos y dolor crónico. Se describen diversos tipos de depresión en, por ejemplo, DSM IV.

"Trastorno bipolar" es un trastorno del estado de ánimo caracterizado por periodos alternos de estados de ánimo extremos. Una persona con trastorno bipolar experimenta ciclos de estados de ánimo que habitualmente oscilan de estar excesivamente eufórico o irritable (compulsión maniaca) a triste y desesperanzado (depresión) y otra vez de nuevo, con periodos de estado de ánimo normal entremedias. El diagnóstico del trastorno bipolar se describe en, por ejemplo, DSM IV. Los trastornos bipolares incluyen trastorno bipolar I (compulsión maniaca con o sin depresión mayor) y trastorno bipolar II (hipomanía con depresión mayor), véase, por ejemplo, DSM IV.

"Un trastorno psicótico" se refiere a una afección que afecta a la mente, que provoca al menos alguna pérdida de contacto con la realidad. Los síntomas de un trastorno psicótico incluyen, por ejemplo, alucinaciones, cambio de comportamiento que no se basa en la realidad, delirios y similares. Véase, por ejemplo, DSM IV. La esquizofrenia, el trastorno esquizoafectivo, el trastorno esquizofreniforme, el trastorno delirante, el trastorno psicótico breve, el trastorno psicótico inducido por sustancias y el trastorno psicótico compartido son ejemplos de trastornos psicóticos.

"Esquizofrenia" se refiere a un trastorno psicótico que implica el alejamiento del individuo de la realidad. Los síntomas comprenden durante al menos una parte de un mes dos o más de los siguientes síntomas: delirios (únicamente se requiere un síntoma si un delirio es extraño, tal como ser abducido en una nave espacial del sol); alucinaciones (se requiere únicamente un síntoma si las alucinaciones son de al menos dos voces que hablan entre sí o de una voz que mantiene un comentario continuo sobre las creencias o acciones del paciente); habla desorganizada (por ejemplo, entorpecimiento frecuente o incoherencia); comportamiento extremadamente desorganizado o catatónico; o síntomas negativos, es decir decaimiento afectivo, afasia o abulia. La esquizofrenia abarca trastornos tales como, por ejemplo, trastornos esquizoafectivos. El diagnóstico de la esquizofrenia se describe en, por ejemplo, DSM IV. Los tipos de esquizofrenia incluyen, por ejemplo, paranoide, desorganizada, catatónica, indiferenciada y residual.

Un "antidepresivo" se refiere a un agente normalmente usado para tratar la depresión clínica. Los antidepresivos incluyen compuestos de diferentes clases incluyendo, por ejemplo, inhibidores específicos de la recaptación de serotonina (por ejemplo, fluoxetina), antidepresivos tricíclicos (por ejemplo, desipramina) e inhibidores de la recaptación de dopamina (por ejemplo, bupropión). normalmente, los antidepresivos de diferentes clases ejercen sus efectos terapéuticos mediante diferentes rutas bioquímicas. A menudo estas rutas bioquímicas se solapan o se cruzan. Las enfermedades o trastornos adicionales a menudo tratados con antidepresivos incluyen dolor crónico, trastornos de ansiedad y sofocos.

Un "agonista" se refiere a un agente que se une a un polipéptido o polinucleótido de la invención, estimula, aumenta, activa, facilita, potencia la activación, sensibiliza o regula positivamente la actividad o expresión de un polipéptido o polinucleótido de la invención.

Un "antagonista" se refiere a un agente que inhibe la expresión de un polipéptido o polinucleótido de la invención o se une a, bloquea parcial o totalmente la estimulación, disminuye, evita, retarda la activación, inactiva, desensibiliza o regula negativamente la actividad de un polipéptido o polinucleótido de la invención.

Los "inhibidores", "activadores" y "moduladores" de la expresión o de la actividad se usan para hacer referencia a moléculas inhibitoras, activadoras o moduladoras, respectivamente, identificadas usando ensayos *in vitro* o *in vivo* para la expresión o la actividad, por ejemplo, de ligandos, agonistas, antagonistas y sus homólogos y miméticos. El término "modulador" incluye inhibidores y activadores. Los inhibidores son agentes que, por ejemplo, inhiben la expresión de un polipéptido o polinucleótido de la invención o se unen a, bloquean parcial o totalmente la estimulación o actividad enzimática, disminuyen, evitan, retarda la activación, inactivan, desensibilizan o regulan negativamente la actividad de un polipéptido o polinucleótido de la invención, por ejemplo, antagonistas. Los activadores son agentes que, por ejemplo, inducen o activan la expresión de un polipéptido o polinucleótido de la invención o se unen a, estimulan, aumentan, abren, activan, facilitan, potencian la activación o actividad enzimática, sensibilizan o regulan positivamente la actividad de un polipéptido o polinucleótido de la invención, por ejemplo, agonistas. Los moduladores incluyen ligandos de origen natural y sintéticos, antagonistas, agonistas, moléculas químicas pequeñas y similares. Los ensayos para identificar los inhibidores y activadores incluyen, por ejemplo, aplicar compuestos moduladores putativos a las células, en presencia o ausencia de un polipéptido o polinucleótido de la invención y después determinar los efectos funcionales sobre un polipéptido o polinucleótido de la actividad de la invención. Las muestras o ensayos que comprenden un polipéptido o polinucleótido de la invención que se tratan con un potencial activador, inhibidor o modulador se comparan con muestras de control sin el inhibidor, activador o modulador para examinar el grado del efecto. A las muestras de control (no tratadas con moduladores) se les asigna un valor de actividad relativa de un 100 %. La inhibición se consigue cuando el valor de actividad de un polipéptido o polinucleótido de la invención respecto al control es de aproximadamente un 80 %, opcionalmente un 50 % o un 25-1 %. La activación se consigue cuando el valor de actividad de un polipéptido o polinucleótido de la invención respecto al control es de un 110 %, opcionalmente un 150 %, opcionalmente un 200-500 % o un 1000-3000 % mayor.

La expresión "compuesto de ensayo" o "fármaco candidato" o "modulador" o equivalentes gramaticales como se usan en este documento describe cualquier molécula, de origen natural o sintética, por ejemplo, proteína, oligopéptido (por ejemplo, de aproximadamente 5 a aproximadamente 25 aminoácidos de longitud, preferiblemente de aproximadamente 10 a 20 o de 12 a 18 aminoácidos de longitud, preferiblemente de 12, 15 o 18 aminoácidos de longitud), molécula orgánica pequeña, polisacárido, lípido, ácido graso, polinucleótido, iARN, oligonucleótido, etc. El compuesto de ensayo puede estar en forma de una biblioteca de compuestos de ensayo, tal como una biblioteca combinatoria o aleatorizada que proporciona un intervalo suficiente de diversidad. Los compuestos de ensayo se unen opcionalmente a un compañero de fusión, por ejemplo, compuestos de dirección, compuestos de rescate, compuestos de dimerización, compuestos estabilizantes, compuestos dirigibles y otros restos funcionales. Convencionalmente, se generan nuevas entidades químicas con propiedades útiles identificando un compuesto de ensayo (llamado un "compuesto principal") con alguna propiedad o actividad deseable, por ejemplo, actividad inhibitora, creando variantes del compuesto principal y evaluando la propiedad y actividad de esos compuestos variantes. A menudo, se emplean métodos de cribado de alto rendimiento (HTS) para dicho análisis.

Una "molécula orgánica pequeña" se refiere a una molécula orgánica, de origen natural o sintética, que tiene un peso molecular de más de aproximadamente 50 Dalton y menos de aproximadamente 2500 Dalton, preferiblemente menos de aproximadamente 2000 Dalton, preferiblemente entre aproximadamente 100 y aproximadamente 1000 Dalton, más preferiblemente entre aproximadamente 200 y aproximadamente 500 Dalton.

Un "ARNip" o "iARN" se refiere a un ácido nucleico que forma un ARN bicatenario, que es un ARN bicatenario que tiene la capacidad de reducir o inhibir la expresión de un gen o gen diana cuando el ARNip se expresa en la misma célula que el gen o gen diana. "ARNip" o "iARN", por tanto, se refiere al ARN bicatenario formado por las hebras complementarias. Las partes complementarias del ARNip que hibridan para formar la molécula bicatenaria normalmente tienen identidad sustancial o completa. En una realización, un ARNip se refiere a un ácido nucleico que tiene identidad sustancial o completa con un gen diana y forma un ARNip bicatenario. normalmente, el ARNip es de al menos aproximadamente 15-50 nucleótidos de longitud (por ejemplo, cada secuencia complementaria del ARNip bicatenario es de 15-50 nucleótidos de longitud y el ARNip bicatenario es de aproximadamente 15-50 pares de bases de longitud, preferiblemente de aproximadamente 20-30 nucleótidos básicos, preferiblemente aproximadamente 20-25 o aproximadamente 24-29 nucleótidos de longitud, por ejemplo, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29 o 30 nucleótidos de longitud.

"Determinar el efecto funcional" se refiere a ensayar un compuesto que aumenta o disminuye un parámetro que está indirecta o directamente bajo la influencia de un polinucleótido o polipéptido de la invención (tal como un polinucleótido de la tabla 3-6 o un polipéptido codificado por un gen de la tabla 3-6), por ejemplo, midiendo los efectos físicos y químicos o fenotípicos. Dichos efectos funcionales pueden medirse por cualquier medio conocido para los expertos en la materia, por ejemplo, cambios en las propiedades espectroscópicas (por ejemplo, fluorescencia, absorbancia, índice de refracción), hidrodinámicas (por ejemplo, forma), cromatográficas o de solubilidad para la proteína; midiendo marcadores inducibles o activación transcripcional de la proteína; midiendo la actividad de unión o ensayos de unión, por ejemplo, unión a anticuerpos; midiendo cambios en la afinidad de unión al ligando; medición del flujo entrante de calcio; medición de la acumulación de un producto enzimático de un polipéptido de la invención o agotamiento de un sustrato; medición de los cambios en los niveles de proteína de un polipéptido de la invención; medición de la estabilidad del ARN; unión a proteína-G; fosforilación o desfosforilación

de GPCR; transducción de señales, por ejemplo, interacciones de receptor-ligando, concentraciones de mensajero secundario (por ejemplo, AMPc, IP3 o Ca^{2+} intracelular); identificación de expresión de un gen posterior o indicador (CAT, luciferasa, β -gal, GFP y similares), por ejemplo, mediante quimioluminiscencia, fluorescencia, reacciones colorimétricas, unión a anticuerpo, marcadores inducibles y ensayos de unión a ligando.

5 Las muestras o ensayos que comprenden un ácido nucleico o proteína divulgada en este documento que se tratan con un potencial activador, inhibidor o modulador se comparan con muestras de control sin el inhibidor, activador o modulador para examinar el grado de la inhibición. A las muestras de control (sin tratar con inhibidores) se les asigna un valor de actividad proteica relativa de un 100 %. La inhibición se consigue cuando el valor de actividad respecto al control es de aproximadamente un 80 %, preferiblemente un 50 %, más preferiblemente un 25-0 %. La activación se consigue cuando el valor de actividad respecto al control (no tratado con activadores) es de un 110 %, más preferiblemente un 150 %, más preferiblemente un 200-500 % (es decir, dos a cinco veces mayor respecto al control), más preferiblemente un 1000-3000 % mayor.

15 "Muestra biológica" incluye secciones de tejidos tales como biopsia y muestras de autopsia, y secciones congeladas tomadas con fines histológicas. Dichas muestras incluyen sangre, esputo, tejido, células lisadas, biopsia cerebral, células cultivadas, por ejemplo, cultivos primarios, explantes y células transformadas, deposiciones, orina, etc. Una muestra biológica normalmente se obtiene de un organismo eucariota, mucho más preferiblemente un mamífero tal como un primate, por ejemplo, chimpancé o ser humano; vaca; perro; gato; un roedor, por ejemplo, cobaya, rata, ratón; conejo; o un ave; reptil; o pez.

"Anticuerpo" se refiere a un polipéptido sustancialmente codificado por un gen de inmunoglobulina o genes de inmunoglobulina, o fragmentos de los mismos que se unen específicamente y reconocen un analito (antígeno). Los genes de inmunoglobulina reconocidos incluyen los genes de la región constante kappa, lambda, alfa, gamma, delta épsilon y mu, así como la miríada de genes de la región variable de inmunoglobulina. Las cadenas ligeras se clasifican como kappa o lambda. Las cadenas pesadas se clasifican como gamma, mu, alfa, delta o épsilon, que a su vez definen las clases de inmunoglobulina IgG, IgM, IgA, IgD e IgE, respectivamente.

30 Una unidad estructural de inmunoglobulina (anticuerpo) a modo de ejemplo comprende un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (aproximadamente 25 kDa) y una "pesada" (aproximadamente 50-70 kDa). El extremo N-terminal de cada cadena define una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos responsables principalmente de reconocimiento del antígeno. Las expresiones cadena ligera variable (V_L) y cadena pesada variable (V_H) se refieren a estas cadenas ligeras y pesadas respectivamente.

35 Los anticuerpos existen, por ejemplo, como inmunoglobulinas intactas o como varios fragmentos bien caracterizados producidos por digestión con diversas peptidasas. Por tanto, por ejemplo, la pepsina digiere un anticuerpo por debajo de los enlaces disulfuro en la región de bisagra para producir $F(ab)_2$, un dímero de Fab que en sí mismo es una cadena ligera unida a V_H-C_H1 por un enlace disulfuro. El $F(ab)_2$ puede reducirse en condiciones suaves para romper el enlace disulfuro en la región de bisagra, convirtiendo de ese modo el dímero $F(ab)_2$ en monómero Fab'. El monómero Fab' es esencialmente un Fab con parte de la región de bisagra (véase, Paul (Ed.) Fundamental Immunology, Tercera Edición, Raven Press, NY (1993)). Aunque se definen diversos fragmentos de anticuerpo en términos de la digestión de un anticuerpo intacto, un experto apreciará que dichos fragmentos pueden sintetizarse *de novo* de forma química o utilizando metodología de ADN recombinante. Por tanto, el termino anticuerpo, como se usa en este documento también incluye fragmentos de anticuerpo producidos por la modificación de anticuerpos completos o los sintetizados *de novo* usando metodología de ADN recombinante (por ejemplo, Fv de cadena sencilla).

50 Los términos "peptidomimético" y "mimético" se refieren a un compuesto químico sintético que tiene sustancialmente las mismas características estructurales y funcionales de los polinucleótidos, polipéptidos, antagonistas o agonistas de la invención. Los análogos peptídicos se usan habitualmente en la industria farmacéutica como fármacos no peptídicos con propiedades análogas a las del péptido molde. Estos tipos de compuesto no peptídico se llaman "miméticos peptídicos" o peptidomiméticos" (Fauchere, Adv. Drug Res. 15:29 (1986); Veber y Freidinger TINS pág. 392 (1985); y Evans *et al.*, J. Med. Chem. 30:1229 (1987)). Los peptidomiméticos que son estructuralmente similares a péptidos terapéuticamente útiles pueden usarse para producir un efecto terapéutico o profiláctico equivalente o potenciado. Generalmente, los peptidomiméticos son estructuralmente similares a un polipéptido prototipo (es decir, un polipéptido que tiene una actividad biológica o farmacológica) tal como un CCX CKR, pero tiene uno o más enlaces peptídicos opcionalmente remplazados por un enlace seleccionado del grupo que consiste en, por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{NH}-$, $-\text{CH}_2\text{S}-$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$, $-\text{CH}=\text{CH}-$ (cis y trans), $-\text{COCH}_2-$, $-\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2-$ y $-\text{CH}_2\text{SO}-$. El mimético puede estar completamente compuesto de análogos no naturales sintéticos de aminoácidos o puede ser una molécula química de aminoácidos peptídicos parcialmente naturales y análogos parcialmente no naturales de aminoácidos. El mimético también puede incorporar cualquier cantidad de sustituciones conservativas de aminoácidos naturales siempre que dichas sustituciones no alteren sustancialmente la estructura y/o actividad del mimético. Por ejemplo, una composición mimética está dentro del alcance de la invención si es capaz de realizar la unión o actividades enzimáticas de un polipéptido o polinucleótido de la invención o de inhibir o aumentar la actividad enzimática o expresión de un polipéptido o polinucleótido de la invención.

El término "gen" significa el segmento de ADN implicado en la producción de una cadena polipeptídica; incluye regiones que preceden y siguen a la región codificante (líder y finalizador), así como secuencias intermedias (intrones) entre segmentos codificantes individuales (exones).

El término "aislado", cuando se aplica a un ácido nucleico o proteína, indica que el ácido nucleico o proteína está esencialmente libre de otros componentes celulares con los que está asociado en estado natural. Preferiblemente está en un estado homogéneo, aunque puede estar en una solución seca o acuosa. La pureza y la homogeneidad se determinan normalmente usando técnicas de química analítica como electroforesis en gel de poliacrilamida o cromatografía de líquidos de alto rendimiento. Una proteína que es la especie predominante presente en una preparación está sustancialmente purificada. En particular, un gen aislado se separa de las fases de lectura abierta que flanquean el gen y codifican una proteína diferente del gen de interés. El término "purificado" indica que un ácido nucleico o proteína da lugar a esencialmente una banda en el gel electroforético. Particularmente, significa que el ácido nucleico o proteína es al menos un 85 % puro, más preferiblemente al menos un 95 % puro y mucho más preferiblemente al menos un 99 % puro.

La expresión "ácido nucleico o "polinucleótido" se refiere a desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos y polímeros de los mismos en forma monocatenaria o bicatenaria. Salvo que se limite específicamente, el término abarca ácidos nucleicos que contienen análogos conocidos de nucleótidos naturales que tienen propiedades de unión similares al ácido nucleico de referencia y se metabolizan de una manera similar a los nucleótidos de origen natural. Salvo que se indique de otro modo, una secuencia de ácido nucleico particular también abarca de forma implícita variantes modificadas de forma conservativa de la misma (por ejemplo, sustituciones de codones degenerados), alelos, ortólogos, SNP y secuencias complementarias, así como la secuencia indicada de forma explícita. Específicamente, las sustituciones de codones degenerados pueden conseguirse generando secuencias en las que la tercera posición de uno o más codones seleccionados (o todos) está sustituida con restos de base mixta y/o desoxiinosina (Batzer et al., *Nucleic Acid Res.* 19:5081 (1991); Ohtsuka et al., *J. Biol. Chem.* 260:2605-2608 (1985); y Cassol et al., (1992); Rossolini et al., *Mol. Cell. Probes* 8:91-98 (1994)). La expresión ácido nucleico se usa de forma intercambiable con gen, ADNc y ARNm codificado por un gen.

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se usan indistintamente en este documento para hacer referencia a un polímero de restos de aminoácido. El término se aplica también a polímeros de aminoácidos en que uno o más restos de aminoácido son miméticos químicos artificiales de un aminoácido de origen natural correspondiente, así como polímeros de aminoácidos de origen natural y polímeros de aminoácidos de origen no natural. Como se usa en este documento, los términos abarcan cadenas de aminoácidos de cualquier longitud, incluyendo proteínas de longitud completa (es decir, antígenos), donde los restos de aminoácido están unidos por enlaces peptídicos covalentes.

El término "aminoácido" se refiere a aminoácidos de origen natural y sintéticos, así como análogos de aminoácido y miméticos de aminoácido que funcionan de una manera similar a los aminoácidos de origen natural. Los aminoácidos de origen natural son aquellos codificados por el código genético, así como aquellos aminoácidos que se modifican posteriormente, por ejemplo, hidroxiprolina, γ -carboxiglutamato y O-fosfoserina. Los análogos de aminoácido se refieren a compuestos que tienen la misma estructura química básica que un aminoácido natural, es decir, un carbono que está unido a un hidrógeno, un grupo carboxilo, un grupo amino y un grupo R, por ejemplo, homoserina, norleucina, sulfóxido de metionina, metilsulfonio de metionina. Dichos análogos tienen grupos R modificados (por ejemplo, norleucina) o estructuras peptídicas modificadas, pero retienen la misma estructura química básica que un aminoácido de origen natural. "Miméticos de aminoácido" se refiere a compuestos químicos que tienen una estructura que es diferente de la estructura química general de un aminoácido, pero que funcionan de una manera similar a un aminoácido de origen natural.

Los aminoácidos pueden mencionarse en este documento por los símbolos de tres letras habitualmente conocidos o por los símbolos de una letra recomendados por la comisión de nomenclatura bioquímica IUPAC-IUB. Los nucleótidos, asimismo, pueden mencionarse por sus códigos de una única letra habitualmente aceptados.

"Variantes modificadas de forma conservativa" se aplica tanto a secuencias de aminoácidos como a secuencias de ácido nucleico. Con respecto a secuencias particulares de ácido nucleico, "variantes modificadas de forma conservativa" se refiere a aquellos ácidos nucleicos que codifican secuencias de aminoácidos idénticas o esencialmente idénticas, o cuando el ácido nucleico no codifica una secuencia de aminoácidos, a secuencias esencialmente idénticas. A causa de la degeneración del código genético, una gran cantidad de ácidos nucleicos funcionalmente idénticos codifican cualquier proteína dada. Por ejemplo, los codones GCA, GCC, GCG y GCU codifican todos el aminoácido alanina. Por tanto, en todas las posiciones en las que se especifica una alanina por un codón, el codón puede alterarse a cualquiera de los codones correspondientes descritos sin alterar el polipéptido codificado. Dichas variaciones de ácido nucleico son "variaciones silenciosas", que son una especie de variaciones modificadas de forma conservativa. Cada secuencia de ácido nucleico de este documento que codifica un polipéptido también describe cada posible variación silenciosa del ácido nucleico. Un experto reconocerá que cada codón en un ácido nucleico (excepto AUG, que es habitualmente el único codón para metionina, y TGG, que es habitualmente el único codón para triptófano) pueden modificarse para producir una molécula funcionalmente

idéntica. Por consiguiente, cada variación silenciosa de un ácido nucleico que codifica un polipéptido está implícita en cada secuencia descrita.

5 En cuanto a secuencias de aminoácidos, un experto reconocerá que las sustituciones, eliminaciones o adiciones individuales a un ácido nucleico, péptido, polipéptido o secuencia proteica que altera, añade o elimina un único aminoácido o un pequeño porcentaje de aminoácidos en la secuencia codificada es una "variante modificada de forma conservativa" donde la alteración provoca la sustitución de un aminoácido con un aminoácido químicamente similar. Las tablas de sustitución conservativa que proporcionan aminoácidos funcionalmente similares son bien conocidas en la técnica. Dichas variantes modificadas de forma conservativa son adicionales a y no excluyen las
10 variantes polimórficas, homólogos entre especies y alelos de la invención.

Los siguientes ocho grupos contienen cada uno aminoácidos que son sustituciones conservativas entre sí:

- 1) Alanina (A), glicina (G);
- 15 2) Ácido aspártico (D), ácido glutámico (E);
- 3) Asparagina (N), glutamina (Q);
- 4) Arginina (R), lisina (K);
- 5) Isoleucina (I), leucina (L), metionina (M), valina (V);
- 6) Fenilalanina (F), tirosina (Y), triptófano (W);
- 20 7) Serina (S), treonina (T); y
- 8) Cisteína (C), metionina (M)

(véase, por ejemplo, Creighton, Proteins (1984)).

25 "Porcentaje de identidad de secuencia" se determina comparando dos secuencias alineadas de forma óptima sobre una ventana de comparación, donde la parte de la secuencia polinucleotídica en la ventana de comparación puede comprender adiciones o eliminaciones (es decir, huecos) en comparación con la secuencia de referencia (que no contiene adiciones o eliminaciones) para la alineación óptima de las dos secuencias. El porcentaje se calcula determinando la cantidad de posiciones en las que existe la base de ácido nucleico o resto de aminoácido idéntico
30 en ambas secuencias para producir la cantidad de posiciones coincidentes, dividiendo la cantidad de posiciones coincidentes por la cantidad total de posiciones en la ventana de comparación y multiplicando el resultado por cien para producir el porcentaje de identidad de secuencia.

Los términos "idéntico" o porcentaje de "identidad", en el contexto de dos o más ácidos nucleicos o secuencias polipeptídicas, se refieren a dos o más secuencias o subsecuencias que son iguales o tienen un porcentaje especificado de restos de aminoácido o nucleótidos que son iguales, (es decir, identidad de un 60 %, opcionalmente
35 identidad de un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 % o 95% sobre una región especificada), cuando se comparan y alinean para una correspondencia máxima sobre una ventana de comparación, o región designada que se mide usando uno de las siguientes algoritmos de comparación de secuencia o por alineación manual e inspección visual. Dichas secuencias entonces se dice que son "sustancialmente idénticas". Esta definición también se refiere al
40 complemento de una secuencia de ensayo. Opcionalmente, existe identidad sobre una región que es al menos de aproximadamente 50 nucleótidos de longitud o más preferiblemente sobre una región que es de 100 a 500 o 1000 o más nucleótidos de longitud.

45 Para una comparación de secuencias, normalmente una secuencia actúa como secuencia de referencia, con la que se compara la secuencia de ensayo. Cuando se usa un algoritmo de comparación de secuencias, las secuencias de ensayo y referencia se introducen en un ordenador, se designan las coordenadas de subsecuencia, si fuera necesario, y se designan los parámetros del programa del algoritmo de secuencias. Pueden usarse los parámetros de defecto del programa o pueden designarse parámetros alternativos. El algoritmo de comparación de secuencias
50 entonces calcula los porcentajes de identidad de secuencia para las secuencias de ensayo respecto a la secuencia de referencia, basándose en los parámetros del programa.

Una "ventana de comparación", como se usa en este documento, incluye la referencia a un segmento de una cualquiera de las varias posiciones contiguas seleccionadas del grupo que consiste en 20 a 600, habitualmente de
55 aproximadamente 50 a aproximadamente 200, más habitualmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 150 en que una secuencia puede compararse con una secuencia de referencia del mismo número de posiciones contiguas después de haber alineado de forma óptima las dos secuencias. Los métodos de alineación de secuencias para su comparación son bien conocidos en la técnica. La alineación óptima de secuencias para la comparación puede realizarse, por ejemplo, por el algoritmo de homología local de Smith y Waterman (1970) Adv.
60 Appl. Math. 2:482c, por el algoritmo de alineación de homología de Needleman y Wunsch (1970) J. Mol. Biol. 48:443, por el método de búsqueda de similitud de Pearson y Lipman (1988) Proc. Nat'l. Acad. Sci. USA 85:2444, por complementaciones informáticas de estos algoritmos (GAP, BESTFIT, FASTA y TFASTA en el Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI) o por alineación manual e inspección visual (véase, por ejemplo, Ausubel et al., Current Protocols in Molecular Biology (suplemento de 1995)).
65

Un ejemplo de un algoritmo que es adecuado para determinar el porcentaje de identidad de secuencia y la similitud

de secuencia son los algoritmos BLAST y BLAST2.0, que se describen en Altschul et al., (1977) Nuc. Acids Res. 25:3389-3402 y Altschul et al., (1990) J. Mol. Biol. 215:403-410, respectivamente. El programa informático para realizar análisis BLAST está disponible al público a través del National Center for Biotechnology Information. Este algoritmo implica identificar en primer lugar pares de secuencia de alta valoración (HSP) identificando palabras cortas de longitud W en la secuencia de consulta, que coinciden o satisfacen algún valor umbral T de valor positivo cuando se alinea con una palabra de la misma longitud en una secuencia de base de datos. T se menciona como el umbral del valor de la palabra adyacente (Altschul et al., *supra*). Estos aciertos de palabra adyacente iniciales actúan como semillas para iniciar búsquedas para encontrar HSP más largos que los contengan. Estos aciertos de palabras se prolongan en ambas direcciones a lo largo de cada secuencia en la medida en que pueda aumentarse el valor de alineación acumulado. Los valores acumulados se calculan usando, para secuencias de nucleótidos, los parámetros M (valor de recompensa para un par de restos coincidentes; siempre > 0) y N (valor de penalización para restos mal emparejados; siempre < 0). Para secuencias de aminoácidos, se usa una matriz de valores para calcular el valor acumulado. La prolongación de los aciertos de palabra en cada dirección se detiene cuando: el valor de alineación acumulado está fuera en la cantidad X de su valor máximo conseguido; el valor acumulado llega a 0 o por debajo de 0, debido a la acumulación de una o más alineaciones de restos de valoración negativa; o se alcanza el final de cualquier secuencia. Los parámetros del algoritmo BLAST W , T y X determinan la sensibilidad y velocidad de la alineación. El programa BLASTN (para secuencias de nucleótidos) usa como defecto una longitud de palabra (W) de 11, una expectativa (E) de 10, $M=5$, $N=-4$ y una comparación de ambas hebras. Para secuencias de aminoácidos, el programa BLASTP usa como defecto una longitud de palabra de 3 y una expectativa (E) de 10, y la matriz de valores BLOSUM62 (véase, Henikoff y Henikoff (1989) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:10915) para alineaciones (B) de 50, expectativa (E) de 10, $M=5$, $N=-4$ y una comparación de ambas hebras.

El algoritmo BLAST también realiza un análisis estadístico de la similitud entre dos secuencias (véase, por ejemplo, Karlin y Altschul (1993) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-5787). Una medida de similitud proporcionada por el algoritmo BLAST es la probabilidad de suma mínima ($P(N)$), que proporciona una indicación de la probabilidad por la que se produciría por casualidad una coincidencia entre dos secuencias de nucleótidos o aminoácidos. Por ejemplo, un ácido nucleico se considera similar a una secuencia de referencia si la probabilidad de suma mínima en una comparación del ácido nucleico de ensayo con el ácido nucleico de referencia es de menos de aproximadamente 0,2, más preferiblemente de menos de aproximadamente 0,01 y mucho más preferiblemente de menos de aproximadamente 0,001.

Una indicación de que dos secuencias de ácido nucleico o polipéptidos son sustancialmente idénticos es que el polipéptido codificado por el primer ácido nucleico tenga reacción cruzada inmunológicamente con los anticuerpos creados contra el polipéptido codificado por el segundo ácido nucleico, como se describe a continuación. Por tanto, un polipéptido normalmente es sustancialmente idéntico a un segundo polipéptido, por ejemplo, cuando los dos péptidos difieren únicamente por sustituciones conservativas. Otra indicación de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que las dos moléculas o sus complementos hibridan entre sí en condiciones rigurosas, como se describe a continuación. Otra indicación más de que dos secuencias de ácido nucleico son sustancialmente idénticas es que pueden usarse los mismos cebadores para amplificar la secuencia.

La expresión "hibrida selectivamente (o específicamente) con" se refiere a la unión, formación de dúplex o hibridación de una molécula únicamente con una secuencia de nucleótidos particular en condiciones rigurosas de hibridación cuando esa secuencia está presente en una mezcla compleja (por ejemplo, ADN o ARN celular total o de biblioteca).

La expresión "condiciones rigurosas de hibridación" se refiere a condiciones en las que una sonda hibridará con secuencia diana, normalmente en una mezcla compleja de ácido nucleico, pero no con otras secuencias. Las condiciones rigurosas son dependientes de la secuencia y serán diferentes en diferentes circunstancias. Secuencias más largas hibridan específicamente a temperaturas mayores. Se encuentra una amplia guía respecto a la hibridación de ácido nucleicos en Tijssen, Techniques in Biochemistry and Molecular Biology--Hybridization with Nucleic Probes, "Overview of principles of hybridization and the strategy of nucleic acid assays" (1993). En general, las condiciones rigurosas se seleccionan para que sean aproximadamente 5-10 °C inferiores al punto de fusión térmica (T_m) para la secuencia específica a un pH de fuerza iónica definida. La T_m es la temperatura (a fuerza iónica, pH y concentración de ácido nucleico definidos) a la que un 50 % de las sondas complementarias a la diana hibridan con la secuencia diana en equilibrio (ya que las secuencias diana están presentes en exceso, a T_m , un 50 % de las sondas están ocupadas en equilibrio). Las condiciones rigurosas serán aquellas en las que la concentración salina sea menor de aproximadamente 1,0 M de iones sodio, normalmente de aproximadamente 0,01 a 1,0 M de concentración de iones sodio (u otras sales) a pH 7,0 a 8,3 y la temperatura es de al menos aproximadamente 30 °C para sondas cortas (por ejemplo, de 10 a 50 nucleótidos) y de al menos aproximadamente 60 °C para sondas largas (por ejemplo, mayor de 50 nucleótidos). Las condiciones rigurosas también pueden conseguirse con la adición de agentes desestabilizantes tales como formamida. Para hibridación selectiva o específica, una señal positiva es al menos dos veces la hibridación de fondo, opcionalmente 10 veces la hibridación de fondo. Las condiciones rigurosas de hibridación a modo de ejemplo pueden ser las siguientes: formamida a un 50 %, SSC 5X y SDS a un 1 %, incubación a 42 °C o SSC 5X, SDS a un 1 %, incubación a 65 °C, con lavado en SSC 0,2X y SDS a un 0,1 % a 65 °C. Dichos lavados pueden realizarse durante 5, 15, 30, 60, 120 o más minutos. Los ácidos nucleicos que hibridan con los genes enumerados en las tablas 3-10 y la figura 14 están abarcados por la invención.

Los ácidos nucleicos que no hibridan entre sí en condiciones rigurosas aún son sustancialmente idénticos si los polipéptidos que codifican son sustancialmente idénticos. Esto sucede, por ejemplo, cuando se crea una copia de un ácido nucleico usando la máxima degeneración de codones permitida por el código genético. En dichos casos, los ácidos nucleicos normalmente hibridan en condiciones moderadamente rigurosas de hibridación. Las "condiciones moderadamente rigurosas de hibridación" a modo de ejemplo incluyen una hibridación en un tampón de formamida a un 40 %, NaCl 1 M, SDS a un 1 % a 37 °C y un lavado en SSC 1X a 45 °C. Dichos lavados pueden realizarse durante 5, 15, 30, 60, 120 o más minutos. Una hibridación positiva es al menos dos veces la de fondo. Los expertos en la materia reconocerán fácilmente que pueden utilizarse condiciones alternativas de hibridación y lavado para proporcionar condiciones de rigurosidad similar.

Para PCR, una temperatura de aproximadamente 36 °C es típica para amplificación de baja rigurosidad, aunque la temperatura de hibridación puede variar entre aproximadamente 32 °C y 48 °C dependiendo de la longitud del cebador. Para amplificación de alta rigurosidad por PCR, una temperatura de aproximadamente 62 °C es típica, aunque las temperaturas de hibridación de alta rigurosidad pueden variar de aproximadamente 50 °C a 65 °C, dependiendo de la longitud del cebador y la especificidad. Las condiciones típicas del ciclo para amplificaciones tanto de alta como de baja rigurosidad incluyen una fase de desnaturalización de 90 °C - 95 °C durante 30 segundos - 2 minutos, una fase de hibridación que dura 30 segundos - 2 minutos y una fase de prolongación de aproximadamente 72 °C durante 1 - 2 minutos. Los protocolos y directrices de reacciones de amplificación de alta y baja rigurosidad se proporcionan, por ejemplo, en Innis et al., PCR Protocols, A Guide to Methods and Applications (1990).

La expresión "una secuencia codificante de ácido nucleico" se refiere a un ácido nucleico que contiene información de secuencia para un ARN estructural tal como ARNr, un ARNt, o la secuencia de aminoácidos primaria de una proteína o péptido específico, o un sitio de unión para un agente regulador de acción en trans. Esta expresión abarca específicamente codones degenerados (es decir, diferentes codones que codifican un único aminoácido) de la secuencia o secuencias nativas que pueden introducirse para adaptarse a la preferencia de codones en una célula hospedadora específica.

El término "recombinante", cuando se usa con referencia a, por ejemplo, una célula o ácido nucleico, proteína o vector, indica que la célula, ácido nucleico, proteína o vector se ha modificado por la introducción de un ácido nucleico o proteína heteróloga o la alteración de un ácido nucleico o proteína nativa, o que la célula se obtiene de una célula así modificada. Por tanto, por ejemplo, las células recombinantes expresan genes que no se encuentran dentro de la forma nativa (no recombinante) de la célula o expresan genes nativos que se expresan de forma anómala de otra manera, se subexpresan o no se expresan en absoluto.

El término "heterólogo", cuando se usa con referencia a partes de un ácido nucleico, indica que el ácido nucleico comprende dos o más subsecuencias que no se encuentran en la misma relación entre sí en la naturaleza. Por ejemplo, el ácido nucleico normalmente se produce de forma recombinante, que tiene dos o más secuencias de genes no relacionados dispuestas para generar un nuevo ácido nucleico funcional, por ejemplo, un promotor de una fuente y una región codificante de otra fuente. Asimismo, una proteína heteróloga indica que la proteína comprende dos o más subsecuencias que no se encuentran en la misma relación entre sí en la naturaleza (por ejemplo, una proteína de fusión).

Un "vector de expresión" es una construcción de ácido nucleico, generada de forma recombinante o sintética, con una serie de elementos específicos de ácidos nucleico que permite la transcripción de un ácido nucleico particular en una célula hospedadora. El vector de expresión puede ser parte de un plásmido, virus o fragmento de ácido nucleico. Normalmente, el vector de expresión incluye un ácido nucleico a transcribirse unido de forma funcional a un promotor.

La expresión "se une específicamente (o selectivamente) a un anticuerpo" o "inmunorreactivo específicamente (o selectivamente) con", cuando se refiere a una proteína o péptido, se refiere a una reacción de unión que es determinante de la presencia de la proteína en presencia de una población heterogénea de proteínas y otras moléculas biológicas. Por tanto, en condiciones designadas de inmunoensayo, los anticuerpos especificados se unen a una proteína particular y no unen en una cantidad significativa a otras proteínas presentes en la muestra. La unión específica a un anticuerpo en dichas condiciones puede requerir que un anticuerpo que se seleccione por su especificidad por una proteína particular. Por ejemplo, los anticuerpos generados contra una proteína que tiene una secuencia de aminoácidos codificada por cualquiera de los polinucleótidos de la invención pueden seleccionarse para obtener anticuerpos inmunorreactivos específicamente con esa proteína y no con otras proteínas, excepto por las variantes polimórficas. Puede usarse diversos formatos de inmunoensayo para seleccionar anticuerpos inmunorreactivos específicamente con una proteína particular. Por ejemplo, se usan de forma rutinaria inmunoensayos ELISA en fase sólida transferencias de Western o inmunohistoquímica para seleccionar anticuerpos monoclonales inmunorreactivos específicamente con una proteína. Véase, Harlow y Lane Antibodies, A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Publications, NY (1988) para una descripción de formatos de inmunoensayo y condiciones que pueden usarse para determinar la inmunoreactividad específica. Normalmente, una reacción específica o selectiva será al menos dos veces la señal o ruido de fondo y más normalmente más de 10 a 100 veces

la de fondo.

Uno que está "predisuesto a una enfermedad mental" como se usa en este documento significa una persona que tiene una inclinación o una probabilidad mayor de desarrollar un trastorno mental en comparación con una persona promedio en la población general.

Descripción detallada de la invención

I. Introducción

Para entender la base genética de los trastornos mentales, se han realizado estudios para investigar los patrones de expresión de genes que se expresan de forma diferencial específicamente en el sistema nervioso central de sujetos con trastornos del estado de ánimo. Las expresiones diferenciales y únicas de genes conocidos y novedosos se determinó mediante consulta de muestras de ARN total purificadas de cerebros de cadáver de pacientes con BP y MDD con Affymetrix Gene Chips® (que contienen matrices de conjuntos de sondas oligonucleotídicas de alta densidad). Los principios fundamentales son que identificando genes y rutas que se expresan de forma diferencial en BP y/o MDD (respecto a sujetos de control sanos), mediante la determinación de perfiles globales de expresión de los transcriptomas como anteriormente, se pueden identificar genes que causan, logran o están asociados con la enfermedad, o que interactúan con fármacos usados para tratar la enfermedad, para su uso en aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas.

La presente divulgación, por lo tanto, demuestra la expresión alterada (expresión mayor o inferior a la indicada en este documento) y, en algunos casos, la expresión diferencial única de los genes de las tablas 3-10 a nivel de ARNm en regiones cerebrales seleccionadas de pacientes diagnosticados con trastornos del estado de ánimo, así como el gen de PSPHL (véase, por ejemplo, la figura 14) (por ejemplo, trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor) en comparación con individuos normales. Esta divulgación, por tanto, proporciona métodos para el diagnóstico de trastornos mentales tales como trastornos del estado de ánimo (por ejemplo, trastorno bipolar, depresión mayor y similares) y otros trastornos mentales que tienen un componente genético, detectando el nivel de un transcrito o producto de traducción de los genes enumerados en las tablas 3-10 y la figura 14, así como sus rutas bioquímicas correspondientes.

En un caso, la presente divulgación se refiere a un novedoso polimorfismo de inserción-eliminación del gen de tipo fosfoserina fosfatasa, y la asociación entre el alelo de eliminación de PSPHL y la susceptibilidad a trastorno bipolar (BPD). El hecho de que PSPHL muestre un patrón dicotómico presente/ausente de expresión entre individuos con consistencia en todo el cerebro sugiere una variación genética en su regulación (véase el ejemplo 2). De forma más intrigante, se ha identificado un polimorfismo de inserción/eliminación en el locus de PSPHL. La región genómica eliminada abarca más de 30 kb, incluyendo la región promotora y los exones 1, 2 y 3 del gen de PSPHL. La variación genética explica el patrón presente/ausente de la expresión de PSPHL. Una sobrerrepresentación del alelo de eliminación que provoca la ausencia de expresión de PSPHL aumenta la susceptibilidad a BPD. La invención, por lo tanto, proporciona la primera evidencia que vincula una variante genética del gen de PSPHL al trastorno bipolar. El hallazgo facilitará la caracterización de la función fisiológica y patológica del gen relevante para el trastorno bipolar, y proporciona un uso novedoso y significativo de este gen y sus variantes para el diagnóstico, tratamiento y prevención del trastorno bipolar.

La divulgación proporciona además métodos de identificación de un compuesto útil para el tratamiento de dichos trastornos, seleccionando compuestos que modulen el efecto funcional de los productos de traducción o la expresión de los transcritos descritos en este documento. La invención también proporciona un inhibidor de FGF9 que se une a FGF9 o hibrida con un transcrito de FGF9 para su uso en métodos de tratamiento o prevención de trastornos de depresión mayor, en un sujeto, por ejemplo, administrando los compuestos de la invención o por terapia génica.

Los genes y los polipéptidos que codifican, que están asociados con trastornos del estado de ánimo tales como enfermedad bipolar y depresión mayor, son útiles para facilitar el diseño y desarrollo de diversas herramientas de diagnóstico molecular tales como GeneChips™ que contienen conjuntos de sondas específicas para todos los trastornos mentales o trastornos mentales seleccionados incluyendo, aunque sin limitación, trastornos del estado de ánimo y como una herramienta de diagnóstico ante y/o posnatal para cribar a los recién nacidos en concierto con el asesoramiento genético. Otras aplicaciones de diagnóstico incluyen la evaluación de la susceptibilidad a enfermedades, el pronóstico y el control de la enfermedad o procesos de tratamiento, así como la provisión de medicina individualizada mediante sistemas predictivos de perfiles de fármacos, por ejemplo, correlacionando los motivos genómicos específicos con la respuesta clínica de un paciente a fármacos individuales. Además, la presente invención es útil para una determinación de perfiles combinados de SNP y haplotipo incluyendo, aunque sin limitación, la identificación de dianas terapéuticas, de diagnóstico y farmacogenéticas a nivel de gen, ARNm, proteína y ruta. La determinación de perfiles de variantes de corte y empalme y eliminaciones también es útil para aplicaciones de diagnóstico y terapéuticas.

Los genes y los polipéptidos que codifican, descritos en este documento, también son útiles como dianas de fármaco para el desarrollo de fármacos terapéuticos para el tratamiento o prevención de trastornos mentales incluyendo,

aunque sin limitación, trastornos del estado de ánimo.

Los antidepresivos pertenecen a diferentes clases, por ejemplo, desipramina, bupropión y fluoxetina son en general igual de eficaces para el tratamiento de la depresión clínica, pero actúan por mecanismos diferentes. La eficacia similar de los fármacos para el tratamiento de los trastornos del estado de ánimo sugiere que actúan a través de una ruta común actualmente o identificada. Los modelos animales de depresión, incluyendo el tratamiento de animales con agentes terapéuticos conocidos tales como SSRI, pueden usarse para examinar el modo de acción de los genes de la invención. El litio es el fármaco de elección para tratar el BP.

Los genes y los polipéptidos que codifican, descritos en este documento, también son útiles como dianas de fármaco para el desarrollo de fármacos terapéuticos para el tratamiento o prevención de trastornos mentales incluyendo, aunque sin limitación, trastornos del estado de ánimo. Los trastornos mentales tienen una alta comorbilidad con otros trastornos neurológicos, tales como enfermedad de Parkinson o enfermedad de Alzheimer. Por lo tanto, la presente divulgación puede usarse para el diagnóstico y tratamiento de pacientes con múltiples estados patológicos que incluyen un trastorno mental tal como un trastorno del estado de ánimo. Estos trastornos del estado de ánimo incluyen BP, MDD y otros trastornos tales como depresión psicótica, depresión y características de ansiedad, depresión melancólica, depresión crónica, BPI y BPII.

II. Métodos recombinantes generales de ácidos nucleicos para su uso con la invención

En numerosos casos de este documento, se aislarán polinucleótidos y se clonarán usando métodos recombinantes. Dichos polinucleótidos incluyen, por ejemplo, los enumerados en las tablas 3-10 y la figura 14, que pueden usarse para, por ejemplo, la expresión de proteínas o durante la generación de variantes, derivados, casetes de expresión, para controlar la expresión génica, para el aislamiento o la detección de secuencias de la invención en diferentes especies, con fines de diagnóstico en un paciente, por ejemplo, para detectar mutaciones o para detectar niveles de expresión de ácidos nucleicos o polipéptidos de la invención. En algunos casos, las secuencias están unidas de forma funcional a un promotor heterólogo. En un caso, los ácidos nucleicos son de cualquier mamífero incluyendo, en particular, por ejemplo, un ser humano, un ratón, una rata, un primate, etc.

A. Métodos recombinantes generales de ácidos nucleicos

Esta divulgación se basa en las técnicas rutinarias en el campo de la genética recombinante. Los textos básicos que divulgan los métodos generales de uso de este documento incluyen Sambrook *et al.*, Molecular Cloning, A Laboratory Manual (3.^a ed. 2001); Kriegler, Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual (1990); y Current Protocols in Molecular Biology (Ausubel *et al.*, eds., 1994).

Para ácidos nucleicos, los tamaños se dan en kilobases (kb) o pares de bases (pb). Estos son estimaciones obtenidas de electroforesis en gel de agarosa o acrilamida, de ácidos nucleicos secuenciados o de secuencias de ADN publicadas. Para proteínas, los tamaños se dan en kilodalton (kDa) o cantidades de restos de aminoácido. Los tamaños de las proteínas se estiman a partir de electroforesis en gel, de proteínas secuenciadas, de secuencias de aminoácidos obtenidas o de secuencias proteicas publicadas.

Los oligonucleótidos que no están disponibles en el mercado pueden sintetizarse de forma química de acuerdo con el método de triéster de fosforamida en fase sólida descrito por primera vez por Beaucage y Caruthers, Tetrahedron Letts. 22:1859-1862 (1981), usando un sintetizador automatizado, como se describe en Van Deventer *et al.*, Nucleic Acids Res. 12:6159-6168 (1984). La purificación de los oligonucleótidos es por electroforesis en gel de acrilamida nativa o por HPLC de intercambio aniónico como se describe en Pearson y Reanier, J. Chrom. 255:137-149 (1983).

La secuencia de los genes clonados y los oligonucleótidos sintéticos puede verificarse después de la clonación usando, por ejemplo, el método de terminación de cadena para la secuenciación de moldes bicatenarios de Wallace *et al.*, Gene 16:21-26 (1981).

B. Métodos de clonación para el aislamiento de secuencias de nucleótidos que codifican proteínas deseadas

En general, los ácidos nucleicos que codifican las proteínas pretendidas se clonan a partir de bibliotecas de secuencias de ADN que se generan para que codifiquen ADNc o ADN genómico. Las secuencias particulares pueden localizarse por hibridación con una sonda oligonucleotídica, cuya secuencia puede obtenerse de las secuencias de los genes enumerados en las tablas 3-10 y la figura 14, que proporcionan una referencia para cebadores de PCR y definen regiones adecuadas para el aislamiento de sondas específicas. Como alternativa, cuando la secuencia se clona en una biblioteca de expresión, la proteína recombinante expresada puede detectarse de forma inmunológica con antisueros o anticuerpos purificados generados contra un polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por un gen enumerado en la tabla 1-8.

Los métodos para generar y cribar bibliotecas genómicas y de ADNc son bien conocidos para los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Gubler y Hoffman Gene 25:263-269 (1983); Benton y Davis Science, 196:180-182 (1977); y Sambrook, *supra*). Las células cerebrales son un ejemplo de células adecuadas para aislar secuencias de

ARN y ADNc.

En resumen, para generar la biblioteca de ADNc se debe elegir una fuente que sea rica en ARNm. El ARNm entonces puede transformarse en ADNc, ligarse en un vector recombinante y transfectarse en un hospedador recombinante para la propagación, cribado y clonación. Para una biblioteca genómica, el ADN se extrae de un tejido adecuado y se corta mecánicamente o se digiere enzimáticamente para producir fragmentos preferiblemente de aproximadamente 5-100 kb. Los fragmentos entonces se separan por centrifugación en gradiente de los tamaños no deseados y se construyen en vectores de bacteriófago lambda. Estos vectores y fagos se empaquetan *in vitro* y los fagos recombinantes se analizan por hibridación de placas. La hibridación de colonias se realiza como se describe en general en Grunstein *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA., 72:3961-3965 (1975).

Un método alternativo combina el uso de cebadores oligonucleotídicos sintéticos con prolongación por polimerasa en un molde de ARNm o ADN. Los cebadores adecuados pueden diseñarse a partir de secuencias específicas de la invención. Este método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) amplifica los ácidos nucleicos que codifican la proteína de interés directamente del ARNm, el ADNc, bibliotecas genómicas o bibliotecas de ADNc. Pueden incorporarse sitios de endonucleasa de restricción en los cebadores. La reacción en cadena de la polimerasa u otros métodos de amplificación *in vitro* también pueden ser útiles, por ejemplo, para clonar ácidos nucleicos que codifican proteínas específicas y expresan dichas proteínas, para sintetizar ácidos nucleicos que se usarán como sondas para detectar la presencia de ARNm que codifica un polipéptido de la invención en muestras fisiológicas, para la secuenciación de ácidos nucleicos o para otros fines (véanse, las patentes de Estados Unidos n.º 4.683.195 y 4.683.202). los genes amplificados por una reacción de PCR pueden purificarse de geles de agarosa y clonarse en un vector apropiado.

Los cebadores y sondas apropiados para identificar polinucleótidos de la invención de tejidos de mamífero pueden obtenerse de las secuencias proporcionadas en este documento. Para una visión global general de PCR, véase, Innis *et al.* PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications, Academic Press, San Diego (1990).

Pueden usarse oligonucleótidos sintéticos para construir genes. Esto se hace usando una serie de oligonucleótidos solapantes, habitualmente de 40-120 pb de longitud, que representan tanto las hebras, codificante como no codificante del gen. Estos fragmentos de ADN entonces se hibridan, se ligan y se clonan.

Un gen que codifica un polipéptido puede clonarse usando vectores intermedios antes de la transformación en células de mamífero para su expresión. Estos vectores intermedios normalmente son vectores procariotas o vectores lanzadera. Las proteínas pueden expresarse en procariotas, usando métodos convencionales bien conocidos para los expertos en la materia, o eucariotas como se describe *infra*.

III. Purificación de proteínas de la invención

Los polipéptidos de origen natural o recombinantes pueden purificarse para su uso en ensayos funcionales. Los polipéptidos de origen natural, por ejemplo, polipéptidos codificados por genes enumerados en las tablas 3-10 y la figura 14, pueden purificarse, por ejemplo, de tejido de ratón o humano tal como cerebro o cualquier otra fuente de un ortólogo. Los polipéptidos recombinantes pueden purificarse de cualquier sistema de expresión adecuado.

Los polipéptidos pueden purificarse hasta pureza sustancial por técnicas convencionales, incluyendo precipitación selectiva con sustancias tales como sulfato de amonio; cromatografía en columna, métodos de inmunopurificación y otros (véase, por ejemplo, Scopes, Protein Purification: Principles and Practice (1982); patente de Estados Unidos n.º 4.673.641; Ausubel *et al.*, *supra*; y Sambrook *et al.*, *supra*).

Pueden emplearse varios procedimientos cuando se purifican polipéptidos recombinantes. Por ejemplo, las proteínas que tienen propiedades de adhesión molecular establecidas pueden fusionarse de forma reversible a polipéptidos de la invención. Con el ligando apropiado, los polipéptidos pueden adsorberse de forma selectiva a una columna de purificación y después liberarse de la columna en una forma relativamente pura. La proteína fusionada entonces se retira por actividad enzimática. Finalmente, el polipéptido puede purificarse usando columnas de inmutafinidad.

A. Purificación de proteínas de bacterias recombinantes

Cuando se expresan proteínas recombinantes por las bacterias transformadas en grandes cantidades, normalmente después de la inducción del promotor, aunque la expresión puede ser constitutiva, las proteínas pueden formar agregados insolubles. Hay varios protocolos que son adecuados para la purificación de cuerpos de inclusión de proteínas. Por ejemplo, la purificación de proteínas agregadas (a partir de ahora en este documento mencionadas como cuerpos de inclusión) normalmente implica la extracción, separación y/o purificación de cuerpos de inclusión alterando las células bacterianas normalmente, aunque sin limitación, por incubación en un tampón de aproximadamente 100-150 µg/ml de lisozima y Nonidet P40 a un 0,1 %, un detergente no iónico. La suspensión celular puede molerse usando un molino Polytron (Brinkman Instruments, Westbury, NY). Como alternativa, las células pueden sonicarse en hielo. Se describen métodos alternativos de lisis de bacterias en Ausubel *et al.* y

Sambrook *et al.*, ambos *supra*, y serán evidentes para los expertos en la materia.

La suspensión celular generalmente se centrifuga y el sedimento que contiene los cuerpos de inclusión se resuspende en tampón que no disuelve, sino que lava los cuerpos de inclusión, por ejemplo, Tris-HCl 20 mM (pH 7,2), EDTA 1 mM, NaCl 150 mM y Triton-X 100 a un 2 %, un detergente no iónico. Puede ser necesario repetir la etapa de lavado para eliminar la máxima cantidad posible de desechos celulares. El sedimento restante de cuerpos de inclusión puede resuspenderse en un tampón apropiado (por ejemplo, fosfato de sodio 20 mM, pH 6,8, NaCl 150 mM). Otros tampones apropiados serán evidentes para los expertos en la materia.

Después de la etapa de lavado los cuerpos de inclusión se solubilizan por la adición de un disolvente que es tanto un fuerte aceptor de hidrógeno como un fuerte donante de hidrógeno (o una combinación de disolventes que tiene cada uno una de estas propiedades). Las proteínas que formaron los cuerpos de inclusión entonces pueden renaturalizarse por dilución o diálisis con un tampón compatible. Los disolventes adecuados incluyen, aunque sin limitación, urea (de aproximadamente 4 M a aproximadamente 8 M), formamida (a al menos aproximadamente un 80 %, basado en volumen/volumen) y clorhidrato de guanidina (de aproximadamente 4 M a aproximadamente 8 M). Algunos disolventes que son capaces de solubilizar las proteínas formadoras de agregados, tales como SDS (dodecilsulfato de sodio) y ácido fórmico a un 70 %, son inapropiados para su uso en este procedimiento debido a la posibilidad de desnaturalización irreversible de las proteínas, acompañada por una ausencia de inmunogenicidad y/o actividad. Aunque el clorhidrato de guanidina y agentes similares son desnaturalizante, esta desnaturalización no es irreversible y se puede producir la renaturalización tras la eliminación (por diálisis, por ejemplo) o dilución del desnaturalizante, que permite la reformación de la proteína inmunológica y/o biológicamente activa de interés. Después de la solubilización, la proteína puede separarse de otras proteínas bacterianas por técnicas convencionales de separación.

Como alternativa, es posible purificar las proteínas del periplasma bacteriano. Cuando la proteína se exporta al periplasma de la bacteria, la fracción periplásmica de la bacteria puede aislarse por choque osmótico en frío además de otros métodos conocidos para los expertos en la materia (véase, Ausubel *et al.*, *supra*). Para aislar las proteínas recombinantes del periplasma, las células bacterianas se centrifugan para formar un sedimento. El sedimento se resuspende en un tampón que contiene sacarosa a un 20 %. Para lisar las células, las bacterias se centrifugan y el sedimento se resuspende en MgSO₄ 5 mM enfriado en hielo y se mantienen en un baño de hielo durante aproximadamente 10 minutos. La suspensión celular se centrifuga y el sobrenadante se decanta y se guarda. Las proteínas recombinantes presentes en el sobrenadante pueden separarse de las proteínas del hospedador por técnicas convencionales de separación bien conocidas para los expertos en la materia.

B. Técnicas convencionales de separación de proteínas para purificar proteínas

1. Fraccionamiento por solubilidad

A menudo, como etapa inicial, y si la mezcla de proteínas es compleja, un fraccionamiento salino inicial puede separar muchas de las proteínas indeseadas de la célula hospedadora (o proteínas derivadas del medio de cultivo celular) de la proteína recombinante de interés. La sal preferida es sulfato de amonio. El sulfato de amonio precipita proteínas reduciendo de forma eficaz la cantidad de agua en la mezcla de proteínas. Las proteínas entonces precipitan basándose en su solubilidad. Cuanto más hidrófoba es una proteína mayor probabilidad tiene de precipitar a menores concentraciones de sulfato de amonio. Un protocolo típico es añadir sulfato de amonio saturado a una solución de proteínas de modo que la concentración resultante de sulfato de amonio esté entre un 20-30 %. Este precipitará la mayoría de las proteínas hidrófobas. El precipitado se descarta (salvo que la proteína de interés sea hidrófoba) y se añade sulfato de amonio al sobrenadante hasta una concentración conocida por precipitar la proteína de interés. El precipitado entonces se solubiliza en tampón y se retira el exceso de sal si fuera necesario, a través de diálisis o diafiltración. Otros métodos que dependen de la solubilidad de las proteínas, tal como precipitación en etanol frío, son bien conocidos para los expertos en la materia y pueden usarse para fraccionar mezclas complejas de proteínas.

2. Filtración diferencial por tamaño

Basándose en el peso molecular calculado, una proteína de mayor y menor tamaño puede aislarse usando ultrafiltración a través de membranas de diferentes tamaños de poro (por ejemplo, membranas Amicon o Millipore). Como primera etapa, la mezcla de proteínas se ultrafiltra a través de una membrana con un tamaño de poro que tiene un punto de corte de pesos molecular inferior que el peso molecular de la proteína de interés. El retenido de la ultrafiltración entonces se ultrafiltra frente a una membrana con un punto de corte molecular mayor que el peso molecular de la proteína de interés. La proteína recombinante pasará a través de la membrana al filtrado. El filtrado entonces se somete a cromatografía como se describe a continuación.

3. Cromatografía en columna

Las proteínas de interés también pueden separarse de otras proteínas basándose en su tamaño, carga superficial neta, hidrofobicidad y afinidad por ligandos. Además, los anticuerpos generados contra las proteínas pueden

conjugarse a matrices de columna y las proteínas pueden inmunopurificarse. Todos estos métodos son bien conocidos en la técnica.

Será evidente para un experto en la materia que pueden realizarse técnicas cromatográficas a cualquier escala y usando un equipo de muchos fabricantes diferentes (por ejemplo, Pharmacia Biotech).

IV. Detección de expresión génica

Los expertos en la materia reconocerán que la detección de la expresión de polinucleótidos tiene muchos usos. Por ejemplo, como se analiza en este documento, la detección del nivel de polipéptidos o polinucleótidos en un paciente es útil para diagnosticar trastornos del estado de ánimo o trastornos psicóticos o una predisposición a un trastorno del estado de ánimo o trastorno psicóticos. Además, la detección de la expresión génica es útil para identificar moduladores de la expresión de los polipéptidos o polinucleótidos.

Diversos métodos de medición específica de ADN y ARN usando técnicas de hibridación de ácido nucleico son conocidos para los expertos en la materia (véase, Sambrook, *supra*). Algunos métodos implican una separación electroforética (por ejemplo, transferencia de Southern para detectar ADN y transferencia de Northern para detectar ARN), pero la medición de ADN y ARN también puede realizarse en ausencia de separación electroforética (por ejemplo, por transferencia puntual). La transferencia de Southern de ADN genómico (por ejemplo, de un ser humano) puede usarse para cribar un polimorfismo de longitud de fragmento de restricción (RFLP) para detectar la presencia de un trastorno genético que afecta a un polipéptido.

La selección de un formato de hibridación de ácido nucleico no es crítica. Los expertos en la materia conocen diversos formatos de hibridación de ácido nucleico. Por ejemplo, los formatos habituales incluyen ensayos emparejados y ensayos de competición o desplazamiento. Las técnicas de hibridación se describen generalmente en Hames y Higgins, *Nucleic Acid Hybridization, A Practical Approach*, IRL Press (1985); Gall y Pardue, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 63:378-383 (1969); y John et al., *Nature*, 223:582-587 (1969).

La detección de un complejo de hibridación puede requerir la unión de un complejo que genera señales a un dúplex de polinucleótidos o ácidos nucleicos diana y sonda. normalmente, dicha unión se produce a través de interacciones de ligando y antiligando como entre una sonda conjugada a ligando y un antiligando conjugado con una señal. La unión del complejo de generación de señales también es fácilmente susceptible a aceleraciones por exposición a energía ultrasónica.

El marcador también puede permitir la detección indirecta del complejo de hibridación. Por ejemplo, cuando el marcador es un hapteno o antígeno, la muestra puede detectarse usando anticuerpos. En estos sistemas, se genera una señal uniendo moléculas fluorescentes o enzimáticas en los anticuerpos o, en algunos casos, por unión a un marcador radiactivo (véase, por ejemplo, Tijssen, "Practice and Theory of Enzyme Immunoassays," *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Burdon y van Knippenberg Eds., Elsevier (1985), pág. 9-20).

Las sondas normalmente se marcan directamente, como con isótopos, cromóforos, luminóforos, cromógenos o indirectamente, tal como con biotina, a la que posteriormente puede unirse un complejo de estreptavidina. Por tanto, los marcadores detectables usados en los ensayos de la presente invención pueden ser marcadores primarios (donde el marcador comprende un elemento que se detecta directamente o que produce un elemento detectable directamente) o marcadores secundarios (donde el marcador detectable se une a un marcador primario, por ejemplo, como es habitual en el marcaje inmunológico). normalmente, los ácidos nucleicos de señal marcada se usan para detectar la hibridación. Los ácidos nucleicos complementarios o ácidos nucleicos señal pueden marcarse por uno cualquiera de varios métodos normalmente usados para detectar la presencia de polinucleótidos hibridados. El método más habitual de detección es el uso de autorradiografía con sondas marcadas con ^3H , ^{125}I , ^{35}S , ^{14}C o ^{32}P o similares.

Otros marcadores incluyen, por ejemplo, ligandos que se unen a anticuerpos marcados, fluoróforos, agentes quimioluminiscentes, enzimas y anticuerpos que pueden servir como miembros de una pareja de unión específica para un ligando marcado. Una introducción a los marcadores, procedimientos de marcaje y detección de marcadores se encuentra en Polak y Van Noorden *Introduction to Immunocytochemistry*, 2.^a ed., Springer Verlag, NY (1997); y en Haugland *Handbook of Fluorescent Probes and Research Chemicals*, un manual y catálogo combinado publicado por Molecular Probes, Inc. (1996).

En general, se usa un detector que controla una sonda particular o combinación de sondas para detectar el marcador de reactivo de detección. Los detectores típicos incluyen espectrofotómetros, fototubos y fotodiodos, microscopios, contadores de centelleo, cámaras, películas y similares, así como combinaciones de los mismos. Los ejemplos de detectores adecuados están ampliamente disponibles en diversas fuentes comerciales conocidas para los expertos en la materia. Habitualmente, se digitaliza una imagen óptica de un sustrato que comprende restos de marcaje unidos para el posterior análisis informatizado.

Más normalmente, se mide la cantidad de ARN cuantificando la cantidad de marcador fijado al soporte sólido por unión del reactivo de detección. normalmente, la presencia de un modulador durante la incubación aumentará o disminuirá la cantidad de marcador fijado al soporte sólido respecto a una incubación de control que no comprende el modulador, o en comparación con un valor basal establecido para un tipo de reacción particular. Los medios de detección y cuantificación de los marcadores son bien conocidos para los expertos en la materia.

En casos preferidos, el ácido nucleico diana o la sonda se inmoviliza en un soporte sólido. Los soportes sólidos adecuados para su uso en los ensayos de este documento son conocidos para los expertos en la materia. Como se usa en este documento, un soporte sólido es una matriz de material en una disposición sustancialmente fija.

También son apropiadas diversas técnicas de ensayo en fase sólida automatizadas. Por ejemplo, pueden usarse matrices poliméricas inmovilizadas a escala muy grande (VLSIPS™), disponibles en Affymetrix, Inc. (Santa Clara, CA) para detectar cambios en los niveles de expresión de una pluralidad de genes implicados en las mismas rutas reguladoras simultáneamente. Véase, Tijssen, *supra.*, Fodor et al., (1991) *Science*, 251: 767- 777; Sheldon et al., (1993) *Clinical Chemistry* 39(4): 718-719, y Kozal et al., (1996) *Nature Medicine* 2(7): 753-759.

La detección puede conseguirse, por ejemplo, usando un resto de detección marcado que se une específicamente a ácidos nucleicos dúplex (por ejemplo, un anticuerpo que es específico para dúplex de ARN-ADN). Un ejemplo preferido usa un anticuerpo que reconoce heterodúplex de ADN-ARN en que el anticuerpo se une a una enzima (normalmente por unión recombinante o química covalente). El anticuerpo se detecta cuando la enzima reacciona con su sustrato, produciendo un producto detectable. Coutlee et al., (1989) *Analytical Biochemistry* 181:153-162; Bogulavski (1986) et al., *J. Immunol. Methods* 89:123-130; Prooijen-Knegt (1982) *Exp. Cell Res.* 141:397-407; Rudkin (1976) *Nature* 265:472-473, Stollar (1970) *Proc. Nat'l Acad. Sci. USA* 65:993-1000; Ballard (1982) *Mol. Immunol.* 19:793-799; Pisetsky y Caster (1982) *Mol. Immunol.* 19:645-650; Viscidi et al., (1988) *J. Clin. Microbiol.* 41:199-209; y Kiney et al., (1989) *J. Clin. Microbiol.* 27:6-12 describen anticuerpos contra dúplex de ARN, incluyendo homo y heterodúplex. Los kits que comprenden anticuerpos específicos para híbridos de ADN:ARN están disponibles, por ejemplo, en Digene Diagnostics, Inc. (Beltsville, MD).

Además de los anticuerpos disponibles, un experto en la materia puede preparar fácilmente anticuerpos específicos para dúplex de ácido nucleico usando técnicas existentes, o modificar esos anticuerpos que están disponibles en el mercado o al público. Además de la técnica mencionada anteriormente, los expertos en la materia conocen métodos generales para producir anticuerpos policlonales y monoclonales (véase, por ejemplo, Paul (3.^a ed.) *Fundamental Immunology* Raven Press, Ltd., NY (1993); Coligan *Current Protocols in Immunology* Wiley/Greene, NY (1991); Harlow y Lane *Antibodies: A Laboratory Manual* Cold Spring Harbor Press, NY (1988); Stites et al., (eds.) *Basic and Clinical Immunology* (4.^a ed.) Lange Medical Publications, Los Altos, CA y referencias citadas en el mismo; Goding *Monoclonal Antibodies: Principles and Practice*); y Kohler y Milstein *Nature* 256: 495-497 (1975)). Otras técnicas adecuadas para la preparación de anticuerpos incluyen la selección de bibliotecas de anticuerpos recombinantes en vectores de fago o similares (véase, Huse et al., *Science* 246:1275-1281 (1989); y Ward et al., *Nature* 341:544-546 (1989)). Los anticuerpos monoclonales y policlonales específicos y los antisueros habitualmente se unen con una K_D de al menos aproximadamente 0,1 μ M, preferiblemente de al menos aproximadamente 0,01 μ M o mejor, y mucho más típica y preferiblemente, 0,001 μ M o mejor.

Los ácidos nucleicos usados en esta divulgación pueden ser sondas positivas o negativas. Las sondas positivas se unen a sus dianas y la presencia de formación de dúplex es evidencia de la presencia de la diana. Las sondas negativas no logran unirse a la diana sospechosa y la ausencia de formación de dúplex es evidencia de la presencia de la diana. Por ejemplo, el uso de una sonda de ácido nucleico específica de tipo silvestre o cebadores de PCR pueden servir como sonda negativa en una muestra de ensayo cuando está presente únicamente la secuencia nucleotídica de interés.

La sensibilidad de los ensayos de hibridación puede potenciarse a través del uso de un sistema de amplificación de ácido nucleico que multiplica el ácido nucleico diana que se está detectando. Los ejemplos de dichos sistemas incluyen el sistema de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), en particular RT-PCR o PCR a tiempo real, y el sistema de reacción en cadena de la ligasa (LCR). Otros métodos recientemente descritos en la técnica son la amplificación basada en secuencia de ácido nucleico (NASBA, Cangene, Mississauga, Ontario) y sistemas de Q Beta Replicasa. Estos sistemas pueden usarse para identificar directamente mutantes en los que los cebadores de PCR o LCR están diseñados para prolongarse o ligarse únicamente cuando está presente una secuencia seleccionada. Como alternativa, las secuencias seleccionadas pueden amplificarse generalmente usando, por ejemplo, cebadores de PCR no específicos y la región diana amplificada posteriormente puede sondearse para una secuencia específica indicativa de una mutación.

Un medio alternativo para determinar el nivel de expresión de los ácidos nucleicos de la presente divulgación es hibridación *in situ*. Los ensayos de hibridación *in situ* son bien conocidos y se describen en general en Angerer et al., *Methods Enzymol.* 152:649-660 (1987). En un ensayo de hibridación *in situ*, las células, preferentemente células humanas del cerebro o del hipocampo, se fijan a un soporte sólido, normalmente un portaobjetos de vidrio. Si tiene que sondearse el ADN, las células se desnaturalizan con calor o álcali. Las células entonces se ponen en contacto con una solución de hibridación a una temperatura moderada para permitir la hibridación de las sondas específicas

que están marcadas. Las sondas se marcan preferiblemente con radioisótopos o indicadores fluorescentes.

V. Detección inmunológica de los polipéptidos de la invención

5 Además de la detección de la expresión de polinucleótidos usando tecnología de hibridación de ácido nucleico, también se pueden usar inmunoensayos para detectar polipéptidos de la invención. Los inmunoensayos pueden usarse para analizar de forma cualitativa o cuantitativa los polipéptidos. Una visión global general de la tecnología aplicable puede encontrarse en Harlow y Lane, *Antibodies: A Laboratory Manual* (1988).

10 A. Anticuerpos dirigidos a polipéptidos u otros inmunógenos

Los métodos para producir anticuerpos policlonales y monoclonales que reaccionen específicamente con una proteína de interés u otro inmunógeno son conocidos para los expertos en la materia (véase, por ejemplo, Coligan, *supra*; y Harlow y Lane, *supra*; Stites et al., *supra* y referencias citadas en el mismo; Goding, *supra*; y Kohler y Milstein *Nature*, 256:495-497 (1975)). Dichas técnicas incluyen la preparación de anticuerpos por selección de anticuerpos de bibliotecas de anticuerpos recombinantes en vectores de fago o similares (véase, Huse et al., *supra*; y Ward et al., *supra*). Por ejemplo, para producir antiseros para su uso en un inmunoensayo, la proteína de interés o un fragmento antigénico de la misma se aísla como se describe en este documento. Por ejemplo, se produce una proteína recombinante en una línea celular transformada. Se inmuniza una cepa endogámica de ratones o conejos con la proteína usando un adyuvante convencional, tal como adyuvante de Freund y protocolo convencional de inmunización. Como alternativa, puede usarse un péptido sintético derivado de las secuencias divulgadas en este documento y conjugado a una proteína de vehículo como inmunógeno.

Los sueros policlonales se recogen y se valoran frente al inmunógeno en un inmunoensayo, por ejemplo, un inmunoensayo en fase sólida con el inmunógeno inmovilizado en un soporte sólido. Los anticuerpos policlonales con un título de 10^4 o mayor se seleccionan y ensayan para su reactividad cruzada frente a proteínas no relacionadas o incluso otras proteínas homólogas de otros organismos, usando un inmunoensayo de unión competitiva. Los anticuerpos y antiseros monoclonales y policlonales específicos habitualmente se unirán con una K_D de al menos aproximadamente 0,1 mM, más habitualmente de al menos aproximadamente 1 μ M, preferiblemente de al menos aproximadamente 0,1 μ M o mejor, y mucho más preferiblemente de 0,01 μ M o mejor.

Varias proteínas de la divulgación que comprenden inmunógenos pueden usarse para producir anticuerpos específica o selectivamente reactivos con las proteínas de interés. La proteína recombinante es el inmunógeno preferido para la producción de anticuerpos monoclonales o policlonales. La proteína de origen natural, tal como una que comprende una secuencia de aminoácidos codificada por un gen enumerado en la tabla 1-8 también puede usarse en forma pura o impura. Los péptidos sintéticos preparados usando las secuencias proteicas descritas en este documento también pueden usarse como inmunógeno para la producción de anticuerpos contra la proteína. La proteína recombinante puede expresarse en células eucariotas o procariotas y purificarse como se describe en general *supra*. El producto entonces se inyecta en un animal capaz de producir anticuerpos. Los anticuerpos monoclonales o policlonales pueden generarse para su posterior uso en inmunoensayos para medir la proteína.

Los métodos de producción de anticuerpos policlonales son conocidos para los expertos en la materia. En resumen, un inmunógeno, preferiblemente una proteína purificada, se mezcla con un adyuvante y se inmunizan los animales. La respuesta inmunitaria del animal contra la preparación de inmunógenos se controla recogiendo sangre de ensayo y determinando el título de reactividad contra el polipéptido de interés. Cuando se obtienen títulos apropiadamente elevados de anticuerpo contra el inmunógeno, se recoge sangre del animal y se preparan los antiseros. Si se desea puede hacerse fraccionamiento adicional de los antiseros para enriquecer los anticuerpos reactivos contra la proteína (véase, Harlow y Lane, *supra*).

50 Pueden obtenerse anticuerpos monoclonales usando diversas técnicas familiares para los expertos en la materia. normalmente, se immortalizan células esplénicas de un animal inmunizado con un antígeno deseado, habitualmente por fusión con una célula de mieloma (véase, Kohler y Milstein, *Eur. J. Immunol.* 6:511-519 (1976)). Los métodos alternativos de immortalización incluyen, por ejemplo, transformación con virus de Epstein Barr, oncogenes o retrovirus, u otros métodos bien conocidos en la técnica. Las colonias que surgen de células immortalizadas individuales se criban para la producción de anticuerpos de la especificidad y afinidad deseadas por el antígeno, y el rendimiento de los anticuerpos monoclonales producidos por dichas células puede potenciarse por diversas técnicas, incluyendo inyección en la cavidad peritoneal de un hospedador vertebrado. Como alternativa, se pueden aislar secuencias de ADN que codifican un anticuerpo monoclonal o un fragmento de unión del mismo por cribado de una biblioteca de ADN de linfocitos B humanos de acuerdo con el protocolo general obtenido por Huse et al., *supra*.

Una vez disponibles los anticuerpos específicos para la proteína diana, la proteína puede medirse por diversos métodos de inmunoensayo con resultados cualitativos y cuantitativos disponibles para el médico. Para una revisión de los procedimientos inmunológicos y de inmunoensayo en general, véase, Stites, *supra*. Además, los inmunoensayos de la presente invención pueden realizarse en cualquiera de varias configuraciones, que se revisan ampliamente en Maggio *Enzyme Immunoassay*, CRC Press, Boca Ratón, Florida (1980); Tijssen, *supra*; y Harlow y

Lane, *supra*.

Los inmunoensayos para medir las proteínas diana en una muestra humana pueden usar un antisuero policlonal que se generó contra la proteína (por ejemplo, uno tiene una secuencia de aminoácidos codificada por un gen enumerado en la tabla 1-8) o un fragmento de la misma. Este antisuero se selecciona para que tenga baja reactividad cruzada contra diferentes proteínas y se elimina cualquiera de dicha reactividad cruzada por inmuoabsorción antes de su uso en el inmunoensayo.

B. Ensayos de unión inmunológica

En un caso preferido, una proteína de interés se detecta y/o cuantifica usando cualquiera de varios ensayos de unión inmunológica bien conocidos (véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos 4.366.241; 4.376.110; 4.517.288; y 4.837.168). Para una revisión de los inmunoensayos generales, véase también *Asai Methods in Cell Biology Volumen 37: Antibodies in Cell Biology*, Academic Press, Inc. NY (1993); Stites, *supra*. Los ensayos de unión inmunológica (o inmunoensayos) normalmente utilizan un "agente de captura" para unirse específicamente a y a menudo inmovilizar el analito (en este caso un polipéptido de la presente divulgación o subsecuencias antigénicas del mismo). El agente de captura es un resto que se une específicamente al analito. En un caso preferido, el agente de captura es un anticuerpo que se une específicamente, por ejemplo, a un polipéptido de la divulgación. El anticuerpo puede producirse por cualquiera de varios medios bien conocidos para los expertos en la materia y como se describe anteriormente.

Los inmunoensayos también utilizan a menudo un agente de marcaje para unirse específicamente a y marcar el complejo de unión formado por el agente de captura y el analito. El agente de marcaje puede ser en sí mismo uno de los restos que comprenden el complejo de anticuerpo/analito. Como alternativa, el agente de marcaje puede ser un tercer resto, tal como otro anticuerpo, que se une específicamente al complejo de anticuerpo/proteína.

En un caso preferido, el agente de marcaje es un segundo anticuerpo que alberga un marcador. Como alternativa, el segundo anticuerpo puede carecer de un marcador, pero puede unirse, a su vez, por un tercer anticuerpo marcado específico para los anticuerpos de la especie de la que se obtiene el segundo anticuerpo. El segundo anticuerpo puede modificarse con un resto detectable, tal como biotina, al que puede unirse específicamente una tercera molécula marcada, tal como estreptavidina marcada con enzima.

Otras proteínas capaces de unirse específicamente a regiones constantes de inmunoglobulina, tales como proteína A o proteína C, también pueden usarse como agentes marcadores. Estas proteínas son constituyentes normales de las paredes celulares de bacterias estreptocócicas. Muestran una fuerte reactividad no inmunogénica con las regiones constantes de inmunoglobulina de diversas especies (véase, en general, Kronval, et al., *J. Immunol.*, 111:1401-1406 (1973); y Akerstrom, et al., *J. Immunol.*, 135:2589-2542 (1985)).

En todos los ensayos, pueden requerirse etapas de incubación y/o lavado después de cada combinación de reactivos. Las etapas de incubación pueden variar de aproximadamente 5 segundos a varias horas, preferiblemente de aproximadamente 5 minutos a aproximadamente 24 horas. El tiempo de incubación dependerá del formato del ensayo, el analito, el volumen de solución, las concentraciones y similares. habitualmente, los ensayos se realizarán a temperatura ambiente, aunque pueden realizarse sobre una gama de temperaturas, tal como de 10 °C a 40 °C.

1. Formatos de ensayo no competitivo

Los inmunoensayos para detectar proteínas de interés de muestras tisulares pueden ser competitivos o no competitivos. Los inmunoensayos no competitivos son ensayos en los que la cantidad de analito capturado (en este caso la proteína) se mide directamente. En un ensayo "emparedado" preferido, por ejemplo, el agente de captura (por ejemplo, anticuerpos específicos para un polipéptido codifica por un gen enumerado en la tabla 1-8) puede unirse directamente a un sustrato sólido donde se inmoviliza. Estos anticuerpos inmovilizados entonces capturan el polipéptido presente en la muestra de ensayo. El polipéptido así inmovilizado entonces se une por un agente de marcaje, tal como un segundo anticuerpo que alberga un marcador. Como alternativa, el segundo anticuerpo puede carecer de un marcador, pero puede unirse, a su vez, por un tercer anticuerpo marcado específico para los anticuerpos de la especie de la que se obtiene el segundo anticuerpo. El segundo puede modificarse con un resto detectable, tal como biotina, al que una tercera molécula marcada puede unirse específicamente, tal como estreptavidina marcada con enzima.

2. Formatos de ensayo competitivo

En los ensayos competitivos, la cantidad de analito (tal como un polipéptido codificado por un gen enumerado en la tabla 1-8) presente en la muestra se mide indirectamente midiendo la cantidad de un analito añadido (exógeno) desplazado (o retirado por competición) de un agente de captura (por ejemplo, un anticuerpo específico para el analito) por el analito presente en la muestra. En un ensayo competitivo, se añade una cantidad conocida de, en este caso, la proteína de interés a la muestra y la muestra entonces se pone en contacto con un agente de captura, en este caso un anticuerpo que se une específicamente a un polipéptido de la invención. La cantidad de

inmunógeno unido al anticuerpo es inversamente proporcional a la concentración de inmunógeno presente en la muestra. En una realización particularmente preferida, el anticuerpo se inmoviliza en un sustrato sólido. Por ejemplo, la cantidad del polipéptido unido al anticuerpo puede determinarse midiendo la cantidad de la proteína en cuestión presente en un complejo de proteína/anticuerpo o, como alternativa, midiendo la cantidad de proteína restante que no ha formado complejos. La cantidad de proteína puede detectarse proporcionando una molécula proteica marcada.

Los inmunoensayos en el formato de unión competitiva pueden usarse para determinaciones de reactividad cruzada. Por ejemplo, una proteína de interés puede inmovilizarse en un soporte sólido. Las proteínas se añaden al ensayo que compiten con la unión del antisuero al antígeno inmovilizado. La capacidad de las proteínas anteriores de competir con la unión de los antisueros a la proteína inmovilizada se compara con la de la proteína de interés. El porcentaje de reactividad cruzada para las proteínas anteriores se calcula usando cálculos convencionales. Aquellos antisueros con menos de un 10 % de reactividad cruzada con cada una de las proteínas enumeradas anteriormente se seleccionan y combinan. Los anticuerpos de reacción cruzada se eliminan opcionalmente de los antisueros combinados por inmuoabsorción con las proteínas consideradas, por ejemplo, homólogos relacionados de forma distante.

Los antisueros inmuoabsorbidos y combinados entonces se usan en un inmunoensayo de unión competitiva como se describe anteriormente para comparar una segunda proteína, que se piensa que es quizás una proteína de la presente invención, a la proteína inmunogénica. Para hacer esta comparación, las dos proteínas se ensayan cada una en una amplia gama de concentraciones y se determina la cantidad de cada proteína necesaria para inhibir un 50 % de la unión de los antisueros a la proteína inmovilizada. Si la cantidad de la segunda proteína necesaria es de menos de 10 veces la cantidad de la proteína parcialmente codificada por una secuencia de este documento que se requiere, entonces la segunda proteína se dice que se une específicamente a un anticuerpo generado contra un inmunógeno que consiste en la proteína diana.

3. Otros formatos de ensayo

En un caso particularmente preferido, se usa análisis de transferencia de Western (inmunotransferencia) para detectar y cuantificar la presencia de un polipéptido de la divulgación en la muestra. La técnica comprende en general separar proteínas de muestra por electroforesis en gel basándose en el peso molecular, transferir las proteínas separadas a un soporte sólido adecuado (tal como, por ejemplo, un filtro de nitrocelulosa, un filtro de nailon o un filtro de nailon derivatizado) e incubar la muestra con los anticuerpos que se unen específicamente a la proteína de interés. Por ejemplo, los anticuerpos se unen específicamente a un polipéptido de interés en el soporte sólido. Estos anticuerpos pueden marcarse directamente o como alternativa pueden detectarse posteriormente usando anticuerpos marcados (por ejemplo, anticuerpos de oveja marcados antirratón) que se unen específicamente a los anticuerpos contra la proteína de interés.

Otros formatos de ensayo incluyen inmunoensayo de liposomas (LIA), que usan liposomas diseñados para unirse a moléculas específicas (por ejemplo, anticuerpos) y liberar reactivos o marcadores encapsulados. Los agentes químicos liberados entonces se detectan de acuerdo con técnicas convencionales (véase, Monroe *et al.* (1986) Amer. Clin. Prod. Rev. 5:34-41).

4. Marcadores

El marcador o grupo detectable particular usado en el ensayo no es un aspecto crítico de la invención, siempre que no interfiera significativamente con la unión específica del anticuerpo usado en el ensayo. El grupo detectable puede ser cualquier material que tenga una propiedad física o química detectable. Dichos marcadores detectables se han desarrollado bien en el campo de los inmunoensayos y, en general, la mayoría de los marcadores útiles en dichos métodos pueden aplicarse a la presente invención. Por tanto, un marcador es cualquier composición detectable por medio espectroscópico, fotoquímico, bioquímico, inmuoquímico, eléctrico, óptico o químico. Los marcadores útiles en la presente invención incluyen microesferas magnéticas (por ejemplo, Dynabeads™), colorantes fluorescentes (por ejemplo, isotiocianato de fluoresceína, rojo Texas, rodaminas y similares) radiomarcadores (por ejemplo, ³H, ¹²⁵I, ³⁵S, ¹⁴C o ³²P), enzimas (por ejemplo, peroxidasa de rábano rústico, fosfatasa alcalina y otras habitualmente usadas en un ELISA) y marcadores colorimétricos tales como oro coloidal o microesferas de vidrio o plástico coloreado (por ejemplo, poliestireno, polipropileno, látex, etc.).

El marcador puede acoplarse directa o indirectamente al componente deseado del ensayo de acuerdo con métodos bien conocidos en la técnica. Como se indica anteriormente, puede usarse una amplia diversidad de marcadores, dependiendo la elección del marcador de la sensibilidad requerida, la facilidad de conjugación con el compuesto, los requisitos de estabilidad, la instrumentación disponible y las disposiciones de eliminación.

Los marcadores no radiactivos a menudo se unen por medios indirectos. Las moléculas también pueden conjugarse directamente a compuestos que generan señales, por ejemplo, por conjugación con una enzima o compuesto fluorescente. Puede usarse diversas enzimas y compuestos fluorescentes con los métodos de la presente invención y son bien conocidos para los expertos en la materia (para una revisión de diversos sistemas de marcaje y

productores de señales que pueden usarse, véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 4.391.904).

Los medios de detección de marcadores son bien conocidos para los expertos en la materia. Por tanto, por ejemplo, cuando el marcador es un marcador radiactivo, el medio para detección incluye un contador de centelleo o película
 5 fotográfica como en autorradiografía. Cuando el marcador es un marcador fluorescente, puede detectarse excitando el fluorocromo con la longitud de onda apropiada de luz y detectando la fluorescencia resultante. La fluorescencia puede detectarse de forma visual, mediante película fotográfica, mediante el uso de detectores electrónicos tales como dispositivos acoplados a carga (CCD) o fotomultiplicadores y similares. Asimismo, los marcadores enzimáticos pueden detectarse proporcionando los sustratos apropiados para la enzima y detectando el producto de reacción
 10 resultante. Finalmente, pueden detectarse marcadores colorimétricos simples directamente observando el color asociado con el marcador. Por tanto, en diversos ensayos de tira reactiva, el oro conjugado a menudo aparece rosa, mientras que las diversas microesferas conjugadas aparecen del color de la microesfera.

Algunos formatos de ensayo no requieren el uso de componentes marcados. Por ejemplo, los ensayos de
 15 aglutinación pueden usarse para detectar la presencia de los anticuerpos diana. En este caso, las partículas recubiertas con antígeno se aglutinan por muestras que comprenden los anticuerpos diana. En este formato, ninguno de los componentes tiene que estar marcado y la presencia del anticuerpo diana se detecta por simple inspección visual.

En algunos casos, puede diagnosticarse BP o MDD en un paciente o evaluarse de otro modo visualizando la
 20 expresión *in situ* de una o más de las secuencias génicas reguladas de forma incorrecta apropiadamente identificadas en este documento. Los expertos en la materia de visualización de la presencia o expresión de moléculas incluyendo ácidos nucleicos, polipéptidos y otros agentes bioquímicos en los cerebros de pacientes vivos apreciarán que la información de expresión génica descrita en este documento puede utilizarse en el contexto de
 25 diversos métodos de visualización. Dichos métodos incluyen, aunque sin limitación, métodos de tomografía computarizada de emisión de un único fotón (SPECT) y tomografía de emisión de positrones (PET). Véase, por ejemplo, Vassaux y Grootwassink, "In vivo Noninvasive Imaging for Gene Therapy," J. Biomedicine and Biotechnology, 2: 92-101 (2003).

Las imágenes PET y SPECT muestran el funcionamiento químico de los órganos y los tejidos, mientras que otras
 30 técnicas de imágenes - tales como rayos-X, CT y RM - muestran la estructura. El uso de imágenes PET y SPECT es útil para calificar y controlar el desarrollo de enfermedades cerebrales, incluyendo esquizofrenia y trastornos relacionados. En algunos casos, el uso de imágenes PET o SPECT permite detectar las enfermedades años antes de la aparición de los síntomas. El uso de moléculas pequeñas para el marcaje y la visualización de la presencia o
 35 expresión de polipéptidos y nucleótidos ha tenido éxito, por ejemplo, en la visualización de proteínas en los cerebros de pacientes con enfermedad de Alzheimer, como se describe por, por ejemplo, Herholz K *et al.*, Mol Imaging Biol., 6(4):239-69 (2004); Nordberg A, Lancet Neurol., 3(9):519-27 (2004); Neuropsychol Rev., Zakzanis KK *et al.*, 13(1):1-18 (2003); Kung MP *et al.*, Brain Res., 1025(1-2):98-105 (2004); y Herholz K, Ann Nucl Med., 17(2):79-89 (2003).

Los genes regulados de forma incorrecta divulgados en las tablas 1-30, o sus péptidos codificados (si los hay), o
 40 fragmentos de los mismos, pueden usarse en el contexto de aplicaciones de imágenes PET y SPECT. Después de la modificación con restos indicadores apropiados para aplicaciones PET o SPECT, las moléculas que interactúan o se unen con los transcritos de las tablas 1-30 o con cualquier polipéptido codificado por esos transcritos pueden
 45 usarse para visualizar los patrones de expresión génica y facilitar el diagnóstico de esquizofrenia, MDD o BP, como se describe en este documento. Asimismo, si los polipéptidos codificados codifican enzimas, las moléculas marcadas que interactúan con los productos de catálisis por la enzima pueden usarse para la formación de imágenes *in vivo* y la aplicación de diagnóstico descrita en este documento.

La tecnología antisentido es particularmente adecuada para detectar los transcritos identificados en las tablas 1-30
 50 de este documento. Por ejemplo, el uso de ácido peptidonucleico (PNA) antisentido marcado con un radionúclido apropiado, tal como ¹¹¹In, y conjugado con un sistema de dirección de fármaco cerebral para posibilitar el transporte a través de las barreras de membrana biológica, ha demostrado permitir la formación de imágenes de expresión génica endógena en cáncer cerebral. Véase, Suzuki *et al.*, Journal of Nuclear Medicine, 10:1766-1775 (2004). Suzuki *et al.* utilizan un sistema de suministro que comprende anticuerpos monoclonales dirigidos a receptores de
 55 transferencia en la barrera hematoencefálica y facilitan el transporte del PNA a través de esa barrera. Pueden usarse realizaciones modificadas de esta técnica para abordar genes regulados positivamente asociados con esquizofrenia, BP o MDD, tales como los genes regulados positivamente que aparecen en las tablas 1-30, en métodos de tratamiento de pacientes con esquizofrenia, BP o MDD.

En otros casos, los genes regulados de forma incorrecta en las tablas 1-30 pueden usarse en el contexto de
 60 métodos de diagnóstico prenatal y neonatal. Por ejemplo, pueden obtenerse muestras fetales o neonatales y pueden medirse los niveles de expresión de los transcritos apropiados (por ejemplo, los transcritos de la tabla 19) y correlacionarse con la presencia o probabilidad aumentada de un trastorno mental, por ejemplo, MDD. Asimismo, la presencia de uno o más de los SNP identificados en las tablas, por ejemplo, en la tabla 27 puede usarse para
 65 inferior o corroborar la expresión regulada de forma incorrecta de un gen y la probabilidad de un trastorno del estado

de ánimo en pacientes prenatales, neonatales, niños y adultos.

En otros casos, las técnicas de marcaje e imágenes cerebrales descritas en este documento o variantes de las mismas pueden usarse junto con cualquiera de las secuencias génicas reguladas de forma incorrecta de las tablas 1-30 en un análisis forense, es decir, para determinar si un individuo fallecido padecía esquizofrenia, BP o MDD.

VI. Cribado para moduladores de polipéptidos y polinucleótidos de la invención

Los moduladores de polipéptidos o polinucleótidos de la divulgación, es decir, agonistas o antagonistas de su actividad o moduladores de la expresión polipeptídica o polinucleotídica, son útiles para tratar varias enfermedades humanas, incluyendo trastornos del estado de ánimo o trastornos psicóticos. La administración de agonistas, antagonistas y otros agentes que modulan la expresión de los polinucleótidos o polipéptidos de la divulgación puede usarse para tratar a pacientes con trastornos del estado de ánimo o trastornos psicóticos.

A. Métodos de cribado

Pueden utilizarse varios protocolos de cribado diferentes para identificar agentes que modulan el nivel de expresión o actividad de polipéptidos y polinucleótidos de la divulgación en células, particularmente células de mamífero, y especialmente células humanas. En términos generales, los métodos de cribado implican el cribado de una pluralidad de agentes para identificar un agente que module la actividad polipeptídica por unión a un polipéptido de la invención, modulación de la unión del inhibidor al polipéptido o activación de la expresión del polipéptido o polinucleótido, por ejemplo.

1. Ensayos de unión

Pueden realizarse cribados preliminares cribando los agentes capaces de unirse a un polipéptido de la divulgación, ya que al menos algunos de los agentes así identificados son probables moduladores de la actividad polipeptídica. Los ensayos de unión habitualmente implican el contacto de un polipéptido de la invención con uno o más agentes de ensayo y permitir suficiente tiempo para que la proteína y los agentes de ensayo formen un complejo de unión. Cualquier complejo de unión formado puede detectarse usando cualquiera de varias técnicas analíticas establecidas. Los ensayos de unión de proteínas incluyen, aunque sin limitación, métodos que miden la coprecipitación, comigración en geles de SDS-poliacrilamida no desnaturalizantes y comigración en transferencias de Western (véase, por ejemplo, Bennet y Yamamura, (1985) "Neurotransmitter, Hormone or Drug Receptor Binding Methods," en Neurotransmitter Receptor Binding (Yamamura, H. I., *et al.*, eds.), pág. 61-89. La proteína utilizada en dichos ensayos puede expresarse de forma natural clonarse o sintetizarse.

Los ensayos de unión también son útiles, por ejemplo, para identificar proteínas endógenas que interactúan con un polipéptido de la divulgación. Por ejemplo, pueden identificarse anticuerpos, receptores u otras moléculas que se unen a un polipéptido de la divulgación en ensayos de unión.

2. Ensayos de expresión

Ciertos métodos de cribado implican cribar un compuesto que regula positivamente o negativamente la expresión de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación. Dichos métodos generalmente implican realizar ensayos basados en células en que los compuestos de ensayos se ponen en contacto con una o más células que expresan un polipéptido o polinucleótido de la divulgación y después detectar un aumento o disminución en la expresión (transcrito, producto de traducción o producto catalítico). Algunos ensayos se realizan con células periféricas u otras células que expresan un polipéptido o polinucleótido endógeno de la divulgación.

La expresión del polipéptido o polinucleótido puede detectarse de varias maneras diferentes. Como se describe *infra*, el nivel de expresión de un polinucleótido de la divulgación en una célula puede determinarse sondeando el ARNm expresado en una célula con una sonda que hibrida específicamente con un transcrito (o ácido nucleico complementario derivado del mismo) de un polinucleótido de la divulgación. El sondeo puede realizarse lisando las células y realizando transferencias de Northern o sin lisis de las células usando técnicas de hibridación *in situ*. Como alternativa, un polipéptido de la divulgación puede detectarse usando métodos inmunológicos en que un lisado celular se sondea con anticuerpos que se unen específicamente a un polipéptido de la divulgación.

Otros ensayos basados en células son ensayos indicadores realizados con células que no expresan un polipéptido o polinucleótido de la divulgación. Algunos de estos ensayos se realizan con una construcción heteróloga de ácido nucleico que incluye un promotor de un polinucleótido de la divulgación que está unido de forma funcional a un gen indicador que codifica un producto detectable. Pueden utilizarse varios genes indicadores diferentes. Algunos indicadores son detectables de forma inherente. Un ejemplo de dicho indicador es la proteína verde fluorescente que emite fluorescencia que puede detectarse con un detector de fluorescencia. Otros indicadores generan un producto detectable. A menudo dichos indicadores son enzimas. Los indicadores enzimáticos a modo de ejemplo incluyen, aunque sin limitación, β -glucuronidasa, cloranfenicol acetiltransferasa (CAT); Alton y Vapnek (1979) Nature

282:864-869), luciferasa, β -galactosidasa, proteína verde fluorescente (GFP) y fosfatasa alcalina (Toh, *et al.* (1980) Eur. J. Biochem. 182:231-238; y Hall *et al.* (1983) J. Mol. Appl. Gen. 2:101).

En estos ensayos, las células que albergan la construcción indicadora se ponen en contacto con un compuesto de ensayo. Un compuesto de ensayo que activa el promotor por unión al mismo o activa una cascada que produce una molécula que activa el promotor causa la expresión del indicador detectable. Otros determinados ensayos indicadores se realizan con células que albergan una construcción heteróloga que incluye un elemento de control de la transcripción que activa la expresión de un polinucleótido de la divulgación y un indicador unido de forma funcional al mismo. En esta ocasión, además, un agente que se une al elemento de control de la transcripción para activar la expresión del indicador o que activa la formación de un agente que se une al elemento de control de la transcripción para activar la expresión indicadora puede identificarse por la generación de una señal asociada con la expresión del indicador.

El nivel de expresión o actividad puede compararse con un valor basal. Como se indica anteriormente, el valor basal puede ser un valor para una muestra de control o un valor estadístico que es representativo de los niveles de expresión para una población de control (por ejemplo, individuos sanos que no tienen o no están en riesgo de trastornos del estado de ánimo o trastornos psicóticos). Los niveles de expresión también pueden determinarse para células que no expresan un polinucleótido de la divulgación como control negativo. Dichas células generalmente son por lo demás genéticamente iguales sustancialmente a las células de ensayo.

Puede utilizarse diversos tipos diferentes de células en los ensayos indicadores. Las células que expresan un polipéptido o polinucleótido endógeno de la divulgación incluyen, por ejemplo, células cerebrales, incluyen células del cerebelo, la corteza cingulada anterior, la corteza prefrontal dorsolateral, la amígdala, el hipocampo o el núcleo accumbens. Las células que no expresan de forma endógena polinucleótidos de la divulgación pueden ser procariotas, pero son preferiblemente eucariotas. Las células eucariotas pueden ser cualquiera de las células normalmente utilizadas en la generación de células que albergan construcciones recombinantes de ácido nucleico. Las células eucariotas a modo de ejemplo incluyen, aunque sin limitación, levaduras y diversas células eucariotas superiores tales como las líneas células COS, CHO y HeLa.

Pueden realizarse diversos controles para asegurar que una actividad observada es auténtica, incluyendo reacciones de ejecución en paralelo con células que carecen de la construcción indicadora o sin poner en contacto una célula que alberga la construcción indicadora con un compuesto de ensayo. Los compuestos también pueden validarse además como se describe a continuación.

3. Actividad catalítica

La actividad catalítica de los polipéptidos de la divulgación puede determinarse midiendo la producción de productos enzimáticos o midiendo el consumo de sustratos. La actividad se refiere a la tasa de catálisis o la capacidad del polipéptido de unirse (K_m) al sustrato o liberar el producto catalítico (K_d).

El análisis de la actividad de los polipéptidos de la divulgación se realiza de acuerdo con análisis bioquímicos generales. Dichos ensayos incluyen ensayos basados en células, así como ensayos *in vitro* que implican polipéptidos purificados o parcialmente purificados o lisados celulares en bruto. Los ensayos generalmente implican proporcionar una cantidad conocida de sustrato y cuantificar el producto como una función del tiempo.

4. Validación

Los agentes que se identifican inicialmente por cualquiera de los métodos de cribado anteriores pueden ensayarse adicionalmente para validar la actividad aparente. Preferiblemente, dichos estudios se realizan con modelos animales adecuados. El formato básico de dichos métodos implica administrar un compuesto principal identificado durante un cribado inicial a un animal que sirve como modelo para seres humanos y después determinar si la expresión o actividad de un polinucleótido o polipéptido de la divulgación está, de hecho, regulado positivamente. Los modelos animales utilizados en estudios de validación generalmente son mamíferos de cualquier tipo. Los ejemplos específicos de animales adecuados incluyen, aunque sin limitación, primates, ratones y ratas. Como se describe en este documento, pueden ser útiles modelos que usan la administración de agentes terapéuticos conocidos.

5. Modelos animales

Los modelos animales de trastornos mentales también encuentran uso en el cribado de moduladores. En un caso, pueden usarse modelos invertebrados tales como modelos de *Drosophila*, que criban moduladores de ortólogos de *Drosophila* de los genes humanos divulgados en este documento. En otro caso, la tecnología de animales transgénicos incluyendo la tecnología de inactivación génica, por ejemplo, como resultado de la recombinación homóloga con un vector dirigido a un gen apropiado, o sobreexpresión génica, provocará la ausencia, expresión disminuida o aumentada de un polinucleótido o polipéptido de la divulgación. La misma tecnología también puede aplicarse para generar células de inactivación. Cuando se desea, puede ser necesaria la expresión específica de

tejido o inactivación de un polinucleótido o polipéptido de la divulgación. Los animales transgénicos generados por dichos métodos encuentran uso como modelos animales de enfermedad mental y son útiles en el cribado de moduladores de enfermedad mental.

5 Las células de inactivación y los ratones transgénicos pueden generarse por inserción de un gen marcador u otro gen heterólogo en un sitio génico endógeno en el genoma de ratón mediante recombinación homóloga. Dichos ratones también pueden generarse sustituyendo un polinucleótido endógeno de la invención con una versión mutada del polinucleótido o mutando un polinucleótido endógeno, por ejemplo, por exposición a carcinógenos.

10 Para el desarrollo de células madre apropiadas, se introduce una construcción de ADN en los núcleos de células madre embrionarias. Las células que contienen la lesión genética recién diseñada se inyectan en un embrión de ratón hospedador, que se vuelve a implantar en una hembra receptora. Algunos de estos embriones se desarrollan en ratones quiméricos que poseen células germinales parcialmente derivadas de la línea celular mutante. Por lo tanto, cruzando los ratones quiméricos es posible obtener una nueva línea de ratones que contienen la lesión genética introducida (véase, por ejemplo, Capecchi et al., *Science* 244:1288 (1989)). Los ratones diana quiméricos pueden obtenerse de acuerdo con Hogan et al., *Manipulating the Mouse Embryo: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory (1988) y *Teratocarcinomas and Embryonic Stem Cells: A Practical Approach*, Robertson, ed., IRL Press, Washington, D.C., (1987).

20 B. Moduladores de polipéptidos o polinucleótidos de la invención

Los agentes ensayados como moduladores de los polipéptidos o polinucleótidos de la divulgación pueden ser cualquier compuesto químico pequeño o una entidad biológica, tal como una proteína, azúcar, ácido nucleico o lípido. Como alternativa, los moduladores pueden ser versiones genéticamente alteradas de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación. normalmente, los compuestos de ensayo serán moléculas químicas pequeñas y péptidos. Puede usarse esencialmente cualquier compuesto químico como modulador potencial o ligando en los ensayos de la invención, aunque muy a menudo se usan compuestos que pueden disolverse en soluciones acuosas u orgánicas (especialmente basadas en DMSO). Los ensayos se diseñan para cribar grandes bibliotecas de compuestos químicos automatizando las etapas de ensayo y proporcionando compuestos de cualquier fuente conveniente para los ensayos, que normalmente se ejecutan en paralelo (por ejemplo, en formato de microvaloración en placas de microvaloración en ensayos robóticos). Se apreciará que hay muchos proveedores de compuestos químicos, incluyendo Sigma (St. Louis, MO), Aldrich (St. Louis, MO), Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), Fluka Chemika-Biochemica Analytika (Buchs, Suiza) y similares. Los moduladores también incluyen agentes diseñados para reducir el nivel de ARNm de la divulgación (por ejemplo, moléculas antisentido, ribozimas, ADNzimas y similares) o el nivel de traducción a partir de un ARNm.

En un caso preferido, los métodos de cribado de alto rendimiento implican proporcionar una biblioteca combinatoria de compuestos químicos o péptidos que contiene una gran cantidad de compuestos terapéuticos potenciales (compuestos moduladores o ligandos potenciales). Dichas "bibliotecas combinatorias de compuesto químicos" o "bibliotecas de ligandos" se criban entonces en uno o más ensayos, como se describe en este documento, para identificar aquellos miembros de la biblioteca (especies o subclases químicas particulares) que presentan una actividad característica deseada. Los compuestos así identificados pueden servir como "compuestos principales" convencionales o pueden usarse por sí mismos como agentes terapéuticos potenciales o reales.

45 Una biblioteca combinatoria química es una colección de diversos compuestos químicos generados por síntesis química o síntesis biológica, combinando varios "elementos básicos" químicos tales como reactivos. Por ejemplo, una biblioteca combinatoria lineal de compuestos químicos tal como una biblioteca de polipéptidos se forma combinando un conjunto de elementos básicos químicos (aminoácidos) de cada manera posible para una longitud dada de un compuesto (es decir, la cantidad de aminoácidos en un compuesto polipeptídico). Pueden sintetizarse millones de compuestos químicos a través de dicha mezcla combinatoria de elementos básicos químicos.

La preparación y cribado de bibliotecas combinatorias de compuestos químicos es bien conocida para los expertos en la materia. Dichas bibliotecas combinatorias de compuestos químicos incluyen, aunque sin limitación, bibliotecas de péptidos (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos 5.010.175, Furka, *Int. J. Pept. Prot. Res.* 37:487-493 (1991) y Houghton et al., *Nature* 354:84-88 (1991)). También pueden usarse otras características químicas para generar bibliotecas de diversidad química. Dichas características químicas incluyen, aunque sin limitación: peptoides (por ejemplo, publicación PCT n.º WO 91/19735), péptidos codificados (por ejemplo, publicación PCT WO 93/20242), bio-oligómeros aleatorios (por ejemplo, publicación PCT n.º WO 92/00091), benzodiazepinas (por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 5.288.514), diversómeros tales como hidantoínas, benzodiazepinas y dipéptidos (Hobbs et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 90:6909-6913 (1993)), polipéptidos vinílogos (Hagihara et al., *J. Amer. Chem. Soc.* 114:6568 (1992)), peptidomiméticos no peptídicos con estructura de glucosa (Hirschmann et al., *J. Amer. Chem. Soc.* 114:9217-9218 (1992)), síntesis orgánicas análogas de bibliotecas de compuestos pequeños (Chen et al., *J. Amer. Chem. Soc.* 116:2661 (1994)), oligocarbamatos (Cho et al., *Science* 261:1303 (1993)) y/o fosfonatos de peptidilo (Campbell et al., *J. Org. Chem.* 59:658 (1994)), bibliotecas de ácido nucleico (véase Ausubel, Berger y Sambrook, todos *supra*), bibliotecas de ácidos peptidonucléicos (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos 5.539.083), bibliotecas de anticuerpos (véanse, por ejemplo, Vaughn et al., *Nature Biotechnology*, 14(3):309-

314 (1996) y documento PCT/US96/10287), bibliotecas de carbohidratos (véanse, por ejemplo, Liang et al., Science, 274:1520-1522 (1996) y patente de Estados Unidos 5.593.853), bibliotecas de moléculas orgánicas pequeñas (véase, por ejemplo, benzodiazepinas, Baum C&EN, 18 de enero, página 33 (1993); isoprenoides, patente de Estados Unidos 5.569.588; tiazolidinonas y metatiazanonas, patente de Estados Unidos 5.549.974 ; pirrolidinas, patentes de Estados Unidos 5.525.735 y 5.519.134; compuestos de morfolino, patente de Estados Unidos 5.506.337 ; benzodiazepinas, documento 5.288.514 y similares).

Los dispositivos para la preparación de bibliotecas combinatorias están disponibles en el mercado (véase, por ejemplo, 357 MPS, 390 MPS, Advanced Chem Tech, Louisville KY; Symphony, Rainin, Woburn, MA; 433A Applied Biosystems, Foster City, CA; 9050 Plus, Millipore, Bedford, MA). Además, hay disponibles en el mercado numerosas bibliotecas combinatorias por sí mismas (véase, por ejemplo, ComGenex, Princeton, NJ; Tripos, Inc., St. Louis, MO; 3D Pharmaceuticals, Exton, PA; Martek Biosciences, Columbia, MD, etc.).

C. Ensayos de alto rendimiento en estado sólido y soluble

En los ensayos de alto rendimiento de la divulgación, es posible cribar hasta miles de diferentes moduladores o ligandos en un único día. En particular, cada pocillo de una placa de microvaloración puede usarse para ejecutar un ensayo diferente frente a un modulador potencial seleccionado o, si tienen que observarse los efectos de la concentración o el tiempo de incubación, cada 5-10 pocillos pueden ensayar un único modulador. Por tanto, una única placa de microvaloración convencional puede ensayar aproximadamente 100 (por ejemplo, 96) moduladores. Si se usan placas de 1536 pocillos, entonces una única placa puede ensayar fácilmente de aproximadamente 100 a aproximadamente 1500 diferentes compuestos. Es posible ensayar varias placas diferentes por día; son posibles cribados de ensayo de hasta aproximadamente 6000-20 000 compuestos diferentes usando los sistemas integrados de la invención. Más recientemente, se han desarrollado estrategias de microfluidos para la manipulación de reactivos.

La molécula de interés puede unirse al componente en estado sólido, directa o indirectamente, mediante enlace covalente o no covalente, por ejemplo, mediante una marca. La marca puede ser cualquiera de diversos componentes. En general, una molécula que se une a la marca (un agente de unión a marca) se fija a un soporte sólido, y la molécula marcada de interés se une al soporte sólido mediante la interacción de la marca y el agente de unión a marca.

Pueden usarse varias marcas y agentes de unión a marca, basándose en interacciones moleculares conocidas bien descritas en la bibliografía. Por ejemplo, cuando una marca tiene un agente de unión natural, por ejemplo, biotina, proteína A o proteína G, puede usarse junto con agentes de unión a marca apropiados (avidina, estreptavidina, neutravidina, la región Fc de una inmunoglobulina, etc.). También están ampliamente disponibles anticuerpos contra moléculas con agente de unión naturales tales como biotina y los agentes de unión a marca apropiados (véase, SIGMA Immunochemicals 1998 catálogo SIGMA, St. Louis MO).

Asimismo, puede usarse cualquier compuesto hapténico o antigénico en combinación con un anticuerpo apropiado para formar un par de marca/agente de unión a marca. Están disponibles en el mercado miles de anticuerpos específicos y se describen muchos anticuerpos adicionales en la bibliografía. Por ejemplo, en una configuración común, la marca es un primer anticuerpo y el agente de unión a marca es un segundo anticuerpo que reconoce el primer anticuerpo. Además de las interacciones de anticuerpo-antígeno, también son apropiadas las interacciones de receptor-ligando como pares de marca y agente de unión a marca, tales como agonistas y antagonistas de receptores de membrana celular (por ejemplo, interacciones de receptor celular-ligando tal como transferrina, c-kit, ligandos de receptor vírico, receptores de citocinas, receptores de quimiocinas, receptores de interleucinas, receptores de inmunoglobulina y anticuerpos, la familia de caderina, la familia de integrina, la familia de selectina y similares; véase, por ejemplo, Pigott y Power, The Adhesion Molecule Facts Book I (1993)). Asimismo, las toxinas y venenos, los epítomos víricos, las hormonas (por ejemplo, opioideas, esteroideas, etc.), los receptores intracelulares (por ejemplo, que median los efectos de diversos ligandos pequeños, incluyendo esteroides, hormonas tiroideas, retinoides y vitamina D; péptidos), fármacos, lectinas, azúcares, ácidos nucleicos (configuraciones poliméricas tanto lineales como cíclicas), oligosacáridos, proteínas, fosfolípidos y anticuerpos también pueden interactuar con diversos receptores celulares.

Los polímeros sintéticos, tales como los poliuretanos, poliésteres, policarbonatos, poliureas, poliamidas, polietileniminas, sulfuros de poliarileno, polisiloxanos, poliimidias y poliacetatos también pueden formar una marca o agente de unión a marca apropiado. Muchos pares de marca/agente de unión a marca también son útiles en sistemas de ensayos descritos en este documento, como sería evidente para un experto tras la revisión de esta divulgación.

Los conectores comunes tales como péptidos, poliéteres y similares también pueden servir como marcas e incluyen secuencias polipeptídicas, tales como secuencias de poli-Gly de entre aproximadamente 5 y 200 aminoácidos. Dichos conectores flexibles son conocidos para los expertos en la materia. Por ejemplo, están disponibles conectores de polietilenglicol en Shearwater Polymers, Inc., Huntsville, Alabama. Estos conectores opcionalmente tienen enlaces amida, enlaces sulfidrido o enlaces heterofuncionales.

Los agentes de unión a marca se fijan a sustratos sólidos usando cualquiera de diversos métodos actualmente disponibles. Los sustratos sólidos se derivatizan habitualmente o funcionalizan exponiendo todo o una parte del sustrato a un reactivo químico que fija un grupo químico a la superficie que es reactivo con una parte del agente de unión a marca. Por ejemplo, los grupos que son adecuados para su unión a una parte de cadena más larga incluirían aminas, grupos hidroxilo, tiol y carboxilo. Pueden usarse aminoalquilsilanos e hidroxialquilsilanos para funcionalizar diversas superficies, tales como superficies de vidrio. La construcción de dichas matrices biopoliméricas en fase sólida está bien descrita en la bibliografía (véase, por ejemplo, Merrifield, J. Am. Chem. Soc. 85:2149-2154 (1963) (que describe la síntesis en fase sólida de, por ejemplo, péptidos); Geysen et al., J. Immun. Meth. 102:259-274 (1987) (que describe la síntesis de componentes en fase sólida en clavijas); Frank y Doring, Tetrahedron 44:60316040 (1988) (que describe la síntesis de diversas secuencias peptídicas sobre discos de celulosa); Fodor et al., Science, 251:767-777 (1991); Sheldon et al., Clinical Chemistry 39(4):718-719 (1993); y Kozal et al., Nature Medicine 2(7):753759 (1996) (que describen todas matrices de biopolímeros fijados a sustratos sólidos). Las estrategias no químicas para fijar agentes de unión a marca a sustratos incluyen otros métodos habituales tales como calor, reticulación por radiación UV y similares.

La divulgación proporciona ensayos *in vitro* para identificar, en un formato de alto rendimiento, compuestos que pueden modular la expresión o actividad de los polinucleótidos o polipéptidos de la divulgación. En un caso preferido, los métodos de este documento incluyen dicha reacción de control. Para cada uno de los formatos de ensayo descritos, las reacciones de control "sin modulador" que no incluyen un modulador proporcionan un nivel de fondo de la actividad de unión.

En algunos ensayos, será deseable tener controles positivos para asegurar que los componentes de los ensayos están funcionando apropiadamente. Son apropiados al menos dos tipos de controles positivos. En primer lugar, un activador conocido de un polinucleótido o polipéptido de la divulgación puede incubarse con una muestra del ensayo, y el aumento resultante en la señal resultante de un nivel de expresión aumentado o actividad del polinucleótido o polipéptido se determina de acuerdo con los métodos de este documento. En segundo lugar, un inhibidor conocido de un polinucleótido o polipéptido de la divulgación puede añadirse, y la disminución resultante en la señal para expresión o actividad puede detectarse de forma similar.

D. Ensayos basados en ordenador

Otro ensayo más para compuestos que modulan la actividad de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación implica el diseño de fármacos asistido por ordenador, en que un sistema informático se usa para generar una estructura tridimensional del polipéptido o polinucleótido basándose en la información estructural codificada por su secuencia de aminoácidos o nucleótidos. La secuencia introducida interactúa directa y activamente con un algoritmo preestablecido en un programa informático para producir modelos de estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de la molécula. Pueden realizarse análisis similares sobre receptores potenciales o compañeros de unión de los polipéptidos o polinucleótidos de la divulgación. Los modelos de la proteína o estructura nucleotídica entonces se examinan para identificar regiones de la estructura que tienen la capacidad de unirse, por ejemplo, a un polipéptido o polinucleótido de la divulgación. Estas regiones entonces se usan para identificar polipéptidos que se unen a un polipéptido o polinucleótido de la divulgación.

El modelo estructural tridimensional de una proteína se genera introduciendo las secuencias de aminoácidos de proteínas de al menos 10 restos de aminoácidos o las secuencias de ácido nucleico correspondientes que codifican un receptor potencial en el sistema informático. Las secuencias de aminoácidos codificadas por las secuencias de ácido nucleico proporcionadas en este documento representan las secuencias primarias o subsecuencias de las proteínas, que codifican la información estructural de las proteínas. Se introducen al menos 10 restos de una secuencia de aminoácidos (o una secuencia de nucleótidos que codifica 10 aminoácidos) en el sistema informático desde el teclado del ordenador, sustratos legibles por ordenador que incluyen, aunque sin limitación, medios de almacenamiento electrónico (por ejemplo, disquetes magnéticos, cintas, cartuchos y chips), medios ópticos (por ejemplo, CD ROM), información distribuida por sitios de internet y por RAM. El modelo estructural tridimensional de la proteína entonces se genera por la interacción de la secuencia de aminoácidos y el sistema informático, usando un software conocido para los expertos en la materia.

La secuencia de aminoácidos representa una estructura primaria que codifica la información necesaria para formar la estructura secundaria, terciaria y cuaternaria de la proteína de interés. El software busca ciertos parámetros codificados por la secuencia primaria para generar el modelo estructural. Estos parámetros se mencionan como "términos de energía" e incluyen principalmente potenciales electrostáticos, potenciales hidrófobos, superficies accesibles al disolvente y enlaces de hidrógeno. Los términos secundarios de energía incluyen potenciales de van der Waals. Las moléculas biológicas forman las estructuras que minimizan los términos de energía de un modo acumulado. El programa informático, por lo tanto, está usando estos términos codificados por la estructura primaria o una secuencia de aminoácidos para crear el modelo de estructura secundaria.

La estructura terciaria de la proteína codificada por la estructura secundaria entonces se forma basándose en los términos de energía de la estructura secundaria. El usuario, en este punto, puede introducir variables adicionales

tales como si la proteína está unida a membrana o es soluble, su localización en el organismo y su localización celular, por ejemplo, citoplasmática, superficial o nuclear. Estas variables junto con los términos de energía de la estructura secundaria se usan para formar el modelo de la estructura terciaria. En el modelado de la estructura terciaria, el programa informático acopla las caras hidrófobas de la estructura secundaria con caras similares e hidrófilas de estructura secundaria con similares.

Una vez se ha generado la estructura, se identifican regiones de unión a ligando potenciales por el sistema informático. Las estructuras tridimensionales para los ligandos potenciales se generan introduciendo las secuencias de aminoácidos o nucleótidos o las fórmulas químicas de los compuestos, como se describe anteriormente. La estructura tridimensional del ligando potencial entonces se compara con la de un polipéptido o polinucleótido de la invención para identificar los sitios de unión del polipéptido o polinucleótido de la invención. La afinidad de unión entre la proteína y los ligandos se determina usando los términos de energía para determinar los ligandos que tienen una probabilidad potenciada de unirse a la proteína.

Los sistemas informáticos también se usan para cribar mutaciones, variantes polimórficas, alelos y homólogos entre especies de genes que codifican un polipéptido o polinucleótido de la divulgación. Dichas mutaciones pueden asociarse con estados patológicos o rasgos genéticos y pueden usarse para el diagnóstico. Como se describe anteriormente, GeneChip™ y la tecnología relacionada también pueden usarse para cribar mutaciones, variantes polimórficas, alelos y homólogos entre especies. Una vez identificadas las variantes, pueden usarse ensayos de diagnóstico para identificar pacientes que tienen dichos genes mutados. La identificación de un polipéptido o polinucleótido mutado de la divulgación implica recibir una primera secuencia de aminoácidos introducida de un polipéptido de la divulgación (o de una primera secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de la divulgación), por ejemplo, cualquier secuencia de aminoácidos que tenga al menos un 60 %, opcionalmente al menos un 70 % u 85 % de identidad con la secuencia de aminoácidos de interés, o versiones modificadas de forma conservativa de la misma. La secuencia se introduce en el sistema informático como se describe anteriormente. La primera secuencia de ácido nucleico o aminoácidos entonces se compara con una segunda secuencia de ácido nucleico o aminoácidos que tiene identidad sustancial con la primera secuencia. La segunda secuencia se introduce en el sistema informático de la manera descrita anteriormente. Una vez comparadas la primera y la segunda secuencia, se identifican las diferencias de nucleótidos o aminoácidos entre las secuencias. Dichas secuencias pueden representar diferencias alélicas en diversos polinucleótidos de la invención, y las mutaciones asociadas con estados patológicos y rasgos genéticos.

VII. Composiciones, kits y sistemas integrados

La divulgación proporciona composiciones, kits y sistemas integrados para poner en práctica los ensayos descritos en este documento usando polipéptidos o polinucleótidos de la divulgación, anticuerpos específicos para polipéptidos o polinucleótidos de la divulgación, etc.

La divulgación proporciona composiciones de ensayo para su uso en ensayos en fase sólida; dichas composiciones pueden incluir, por ejemplo, uno o más polinucleótidos o polipéptidos de la invención inmovilizados en un soporte sólido, y un reactivo de marcaje. En cada caso, las composiciones de ensayo también pueden incluir reactivos adicionales que son deseables para la hibridación. Los moduladores de la expresión o la actividad de los polinucleótidos o polipéptidos de la divulgación también pueden incluirse en las composiciones de ensayo.

La divulgación también proporciona kits para realizar los ensayos terapéuticos y de diagnóstico de la divulgación. Los kits normalmente incluyen una sonda que comprende un anticuerpo que se une específicamente a polipéptidos o polinucleótidos de la divulgación, y un marcador para detectar la presencia de la sonda. Los kits pueden incluir varias secuencias polinucleotídicas que codifican polipéptidos de la divulgación. Los kits pueden incluir cualquiera de las composiciones indicadas anteriormente y, opcionalmente, incluyen además componentes tales como instrucciones para poner en práctica un método de alto rendimiento de ensayo para un efecto sobre la expresión de los genes que codifican los polipéptidos de la divulgación, o sobre la actividad de los polipéptidos de la divulgación, uno o más recipientes o compartimentos (por ejemplo, para alojar la sonda, los marcadores y similares), un modulador de control de la expresión o la actividad de los polipéptidos de la divulgación, una armadura robótica para mezclar los componentes de kit o similares.

La divulgación también proporciona sistemas integrados para el cribado de alto rendimiento de moduladores potenciales para un efecto sobre la expresión o la actividad de los polipéptidos de la divulgación. Los sistemas normalmente incluyen una armadura robótica que transfiere líquidos de una fuente a un destino, un controlador que controla la armadura robótica, un detector de etiquetas, una unidad de almacenamiento de datos que registra la detección de etiquetas y un componente de ensayo tal como una placa de microvaloración que comprende un pocillo que tiene una mezcla de reacción o un sustrato que comprende un ácido nucleico o resto fijo de inmovilización fijo.

Están disponibles varios sistemas robóticos de transferencia de líquidos, o pueden generarse fácilmente a partir de componentes existente. Por ejemplo, puede usarse un robot automatizado Zymate XP (Zymark Corporation; Hopkinton, MA) usando una estación de pipeteo Microlab 2200 (Hamilton; Reno, NV) para transferir muestras paralelas a placas de microvaloración de 96 pocillos para establecer en varios ensayos paralelos y simultáneos de

unión STAT.

Las imágenes ópticas visualizadas (y, opcionalmente, registradas) por una cámara u otro dispositivo de grabación (por ejemplo, un dispositivo de fotodiodos y almacenamiento de datos) se procesan opcionalmente de forma adicional en cualquiera de las realizaciones de este documento, por ejemplo, digitalizando la imagen y almacenando y analizando la imagen en un ordenador. Está disponible diversos equipos periféricos y programas informáticos disponibles en el mercado para digitalizar, almacenar y analizar una imagen de vídeo digitalizada u óptica digitalizada, por ejemplo, usando un PC (ordenadores basados en Intel x86 o chip compatible Pentium, DOS®, OS2®, WINDOWS®, WINDOWS NT®, WINDOWS95®, WINDOWS98® o WINDOWS2000®), ordenadores basados en MACINTOSH® o UNIX® (por ejemplo, estación de trabajo SUN®).

Un sistema convencional transporta luz desde el campo de muestra hasta una cámara de dispositivo de carga acoplada (CCD) refrigerada, en uso común en la técnica. Una cámara CCD incluye una matriz de elementos de imagen (píxeles). La luz desde la muestra se captura en imagen en el CCD. Los píxeles particulares correspondientes a las regiones de la muestra (por ejemplo, sitios individuales de hibridación en una matriz de polímeros biológicos) se muestrean para obtener las lecturas de intensidad de luz para cada posición. Se procesan múltiples píxeles en paralelo para aumentar la velocidad. El aparato y los métodos de la invención se usan fácilmente para visualizar cualquier muestra, por ejemplo, por técnicas de microscopia fluorescente o de campo oscuro.

VIII. Administración y composiciones farmacéuticas

Los moduladores de los polinucleótidos o polipéptidos de la divulgación (por ejemplo, antagonistas o agonistas) pueden administrarse directamente a un sujeto mamífero para la modulación de la actividad de esas moléculas *in vivo*. La administración es por cualquiera de las vías normalmente usadas para introducir un compuesto modulador en contacto final con el tejido a tratar y es bien conocida para los expertos en la materia. Aunque puede usarse más de una vía para administrar una composición particular, una vía particular a menudo puede proporcionar una reacción más inmediata y más eficaz que otra vía.

Las enfermedades que pueden tratarse incluyen las siguientes, que incluyen el correspondiente número de referencia de Morrison, *DSM-IV Made Easy*, 1995: esquizofrenia, catatónica, subcrónica, (295.21); esquizofrenia, catatónica, crónica (295.22); esquizofrenia, catatónica, subcrónica con exacerbación aguda (295.23); esquizofrenia, catatónica, crónica con exacerbación aguda (295.24); esquizofrenia, catatónica, en remisión (295.55); esquizofrenia, catatónica, inespecífica (295.20); esquizofrenia, desorganizada, subcrónica (295.11); esquizofrenia, desorganizada, crónica (295.12); esquizofrenia, desorganizada, subcrónica con exacerbación aguda (295.13); esquizofrenia, desorganizada, crónica con exacerbación aguda (295.14); esquizofrenia, desorganizada en remisión (295.15); esquizofrenia, desorganizada, inespecífica (295.10); esquizofrenia, paranoide, subcrónica (295.31); esquizofrenia, paranoide, crónica (295.32); esquizofrenia, paranoide, subcrónica con exacerbación aguda (295.33); esquizofrenia, paranoide, crónica con exacerbación aguda (295.34); esquizofrenia, paranoide, en remisión (295.35); esquizofrenia, paranoide, inespecífica (295.30); esquizofrenia, indiferenciada, subcrónica (295.91); esquizofrenia, indiferenciada, crónica (295.92); esquizofrenia, indiferenciada, subcrónica con exacerbación aguda (295.93); esquizofrenia, indiferenciada, crónica con exacerbación aguda (295.94); esquizofrenia, indiferenciada, en remisión (295.95); esquizofrenia, indiferenciada, inespecífica (295.90); esquizofrenia, residual, subcrónica (295.61); esquizofrenia, residual, crónica (295.62); esquizofrenia, residual, subcrónica con exacerbación aguda (295.63); esquizofrenia, residual, crónica con exacerbación aguda (295.64); esquizofrenia, residual, en remisión (295.65); esquizofrenia, residual, inespecífica (295.60); trastorno delirante (paranoide) (297.10); psicosis reactiva breve (298.80); trastorno esquizofreniforme (295.40); trastorno esquizoafectivo (295.70); trastorno psicótico inducido (297.30); trastorno psicótico NOS (psicosis atípica) (298.90); trastornos de personalidad, paranoide (301.00); trastornos de personalidad, esquizoide (301.20); trastornos de personalidad, esquizotípica (301.22); trastornos de personalidad, antisocial (301.70); trastornos de personalidad, límite (301.83) y trastornos bipolares, trastornos maníacos, hipomaníacos, distímicos o ciclotímicos, trastornos del estado de ánimo inducidos por sustancias, depresión mayor, psicosis, incluyendo psicosis paranoide, psicosis catatónica, psicosis delirante, teniendo trastorno esquizoafectivo y trastorno psicótico inducido por sustancias.

En algunas realizaciones, los moduladores de polinucleótidos o polipéptidos de la invención pueden combinarse con otros fármacos útiles para tratar los trastornos mentales incluyendo los que son útiles para tratar los trastornos del estado de ánimo, por ejemplo, esquizofrenia, trastornos bipolares o depresión mayor. En algunos casos preferidos, las composiciones farmacéuticas de la divulgación comprenden un modulador de un polipéptido del polinucleótido de la divulgación combinado con al menos uno de los compuestos útiles para tratar la esquizofrenia, el trastorno bipolar o la depresión mayor, por ejemplo, tales como los descritos en las patentes de Estados Unidos n.º 6.297.262; 6.284.760; 6.284.771; 6.232.326; 6.187.752; 6.117.890; 6.239.162 o 6.166.008.

Las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden comprender un vehículo farmacéuticamente aceptable. Los vehículos farmacéuticamente aceptables se determinan en parte por la composición particular que se está administrando, así como por el método particular usado para administrar la composición. Por consiguiente, existe una amplia diversidad de formulaciones adecuadas de composiciones farmacéuticas de la presente invención (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 17.^a ed. 1985)).

Los moduladores (por ejemplo, agonistas o antagonistas) de la expresión o actividad del polipéptido o polinucleótido de la divulgación, en solitario o en combinación con otros componentes adecuados, pueden prepararse en formulaciones de aerosol (es decir, pueden "nebulizarse") para administrarse mediante inhalación o en composiciones útiles para inyección. Las formulaciones de aerosol pueden ubicarse en gases inertes aceptable presurizados, tales como diclorodifluorometano, propano, nitrógeno y similares.

Las formulaciones adecuadas para su administración incluyen soluciones acuosas y no acuosas, soluciones estériles isotónicas que pueden contener antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica, y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir agentes de suspensión, solubilizantes, agentes espesantes, estabilizantes y conservantes. En la práctica de esta invención, las composiciones pueden administrarse, por ejemplo, por vía oral, nasal, tópica, intravenosa, intraperitoneal o intratecal. Las formulaciones de los compuestos pueden presentarse en recipientes precintados monodosis o de múltiples dosis, tales como ampollas y viales. Las soluciones y suspensiones pueden prepararse a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos del tipo descrito previamente. Los moduladores también pueden administrarse como parte de un alimento preparado o fármaco.

La dosis administrada a un paciente, en el contexto de la presente invención debe ser suficiente para lograr una respuesta beneficiosa en el sujeto con el tiempo. El nivel de dosis óptimo para cualquier paciente dependerá de diversos factores incluyendo la eficacia del modulador específico empleado, la edad, peso corporal, actividad física y dieta del paciente, de una posible combinación con otros fármacos y de la gravedad del trastorno mental. El tamaño de la dosis también se determinará por la existencia, naturaleza y grado de cualquier efecto secundario adverso que acompañe a la administración de un compuesto particular o vector en un sujeto particular.

En la determinación de la cantidad eficaz del modulador a administrar, un médico puede evaluar los niveles plasmáticos en circulación del modulador, la toxicidad del modular y la producción de anticuerpos antimodulador. En general, la dosis equivalente de un modulador es de aproximadamente 1 ng/kg a 10 mg/kg para un sujeto típico.

Para la administración, los moduladores de la presente invención pueden administrarse a una tasa determinada por la DL-50 del modulador, y los efectos secundarios del modulador a diversas concentraciones, aplicadas a la masa y salud global del sujeto. La administración puede conseguirse mediante una única dosis o dosis divididas.

IX. Aplicaciones de terapia génica

Diversas enfermedades humanas puede tratarse por estrategias terapéuticas que implican introducir de forma estable un gen en una célula humana de modo que el gen se transcriba y el producto génico se produzca en la célula. Las enfermedades susceptibles a tratamiento por esta estrategia incluyen enfermedades hereditarias, incluyendo aquellas en las que el defecto está en un único gen o múltiples genes. La terapia génica también es útil para el tratamiento de enfermedades adquiridas y otras afecciones. Para un análisis sobre la aplicación de la terapia génica hacia el tratamiento de enfermedades genéticas, así como adquiridas, véase, Miller, Nature 357:455-460 (1992); y Mulligan, Science 260:926-932 (1993).

En el contexto de la presente divulgación, la terapia génica puede usarse para tratar diversos trastornos y/o enfermedades en que los polinucleótidos y polipéptidos de la divulgación están implicados. Por ejemplo, los compuestos, incluyendo los polinucleótidos, pueden identificarse por los métodos de la presente divulgación como eficaces en el tratamiento de un trastorno mental. La introducción por terapia génica de estos polinucleótidos entonces puede usarse para tratar, por ejemplo, trastornos mentales incluyendo trastornos del estado de ánimo y trastornos psicóticos.

A. Vectores para suministro génico

Para el suministro a una célula u organismo, los polinucleótidos de la divulgación pueden incorporarse en un vector. Los ejemplos de vectores usados para dichos fines incluyen plásmidos de expresión capaces de dirigir la expresión de los ácidos nucleicos en la célula diana. En otros casos, el vector es un sistema de vector vírico donde los ácidos nucleicos se incorporan en un genoma vírico que es capaz de transfectar la célula diana. En un caso preferido, los polinucleótidos pueden unirse de forma funcional a secuencias de expresión y de control que pueden dirigir la expresión del gen en las células hospedadoras diana deseadas. Por tanto, se puede conseguir la expresión del ácido nucleico en condiciones apropiadas en la célula diana.

B. Sistemas de suministro génico

Los sistemas de vectores víricos útiles en la expresión de los ácidos nucleicos incluyen, por ejemplo, sistemas de vectores víricos de origen natural o recombinantes. Dependiendo de la aplicación particular, los vectores víricos adecuados incluyen vectores víricos competentes en la replicación, defectuosos en la replicación y de replicación condicionada. Por ejemplo, los vectores víricos pueden obtenerse del genoma de adenovirus de seres humano o bovinos, virus vaccinia, herpesvirus, virus adenoasociados, virus diminuto de ratones (MVM), VIH, virus sindbis y

retrovirus (incluyendo, aunque sin limitación, el virus del sarcoma de Rous) y MoMLV. normalmente, los genes de interés se insertan en dichos vectores para permitir el empaquetado de la construcción génica, normalmente con el ADN vírico acompañante, seguido por infección de una célula hospedadora sensible y la expresión del gen de interés.

Como se usa en este documento, "sistema de suministro génico" se refiere a cualquier medio para el suministro de un ácido nucleico de la divulgación a una célula diana. En algunos casos, los ácidos nucleicos se conjugan a un ligando de receptor celular para una captación facilitada (por ejemplo, invaginación de pozos recubiertos o internalización del endosoma) a través de un resto de unión apropiado, tal como un resto de unión a ADN (Wu *et al.*, J. Biol. Chem. 263:14621-14624 (1988); WO 92/06180). Por ejemplo, los ácidos nucleicos pueden unirse a través de un resto de polilisina a asialo-orosomucoide, que es un ligando para el receptor de asialoglucoproteína de hepatocitos.

Asimismo, las envueltas víricas usadas para empaquetar las construcciones génicas que incluyen los ácidos nucleicos de la divulgación pueden modificarse por la adición de ligandos de receptor o anticuerpos específicos para un receptor que permiten la endocitosis mediada por receptor en células específicas (véanse, por ejemplo, los documentos WO 93/20221, WO 93/14188 y WO 94/06923). En algunos casos, las construcciones de ADN de la divulgación se unen a proteínas víricas, tales como partículas adenovíricas para facilitar la endocitosis (Curiel *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88:8850-8854 (1991)). En otros casos, los conjugados moleculares de la presente invención pueden incluir inhibidores de microtúbulos (documento WO/9406922), péptidos sintéticos que imitan la hemaglutinina del virus de la gripe (Plank *et al.*, J. Biol. Chem. 269:12918-12924 (1994)) y señales de localización nuclear tales como el antígeno T de SV40 (documento WO 93/19768).

Los vectores retrovíricos también son útiles para introducir los ácidos nucleicos de la divulgación en células u organismos diana. Los vectores retrovíricos se producen manipulando genéticamente los retrovirus. El genoma vírico de los retrovirus es de ARN. Tras la infección, este ARN genómico se transcribe de forma inversa en una copia de ADN que se integra en el ADN cromosómico de las células transducidas con un alto grado de estabilidad y eficacia. La copia de ADN integrada se menciona como provirus y se hereda por las células hijas como cualquier otro gen. El genoma retrovírico de tipo silvestre y el ADN provírico tienen tres genes: los genes *gag*, *pol* y *env*, que están flanqueados por dos secuencias de repetición terminal larga (LTR). El gen *gag* codifica las proteínas estructurales internas (nucleocápsida); el gen *pol* codifica la ADN polimerasa dirigida por ARN (transcritas a inversa); y el gen *env* codifica las glucoproteínas de la envuelta vírica. Las LTR 5' y 3' sirven para promover la transcripción y poliadenilación de los ARN de los viriones. Adyacentes a la LTR 5' están las secuencias necesarias para la transcripción inversa del genoma (el sitio de unión del cebador de ARNt) y para la encapsulación eficaz del ARN vírico en partículas (el sitio Psi) (véase, Mulligan, en: Experimental Manipulation of Gene Expression, Inouye (ed), 155-173 (1983); Mann *et al.*, Cell 33:153-159 (1983); Cone y Mulligan, Proceedings of the National Academy of Sciences, EE. UU., 81:6349-6353 (1984)).

El diseño de vectores retrovíricos es bien conocido para los expertos en la materia. En resumen, si las secuencias necesarias para la encapsidación (o empaquetado de ARN retrovírico en viriones infecciosos) se han perdido del genoma vírico, el resultado es un defecto de acción en *cis* que evita la encapsidación de ARN genómico. Sin embargo, el mutante resultante aún es capaz de dirigir la síntesis de todas las proteínas del virión. Los genomas retrovíricos de los que se han eliminado estas secuencias, así como las líneas celulares que contienen el genoma mutante integrado de forma estable en el cromosoma son bien conocidos en la técnica y se usan para construir vectores retrovíricos. La preparación de vectores retrovíricos y sus usos se describen en muchas publicaciones incluyendo, por ejemplo, la solicitud de patente europea EPA 0 178 220; la patente de estados unidos 4.405.712, Gilboa Biotechniques 4:504-512 (1986); Mann *et al.*, Cell 33:153-159 (1983); Cone y Mulligan Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6349-6353 (1984); Eglitis *et al.* Biotechniques 6:608-614 (1988); Miller *et al.* Biotechniques 7:981-990 (1989); Miller (1992) *supra*; Mulligan (1993), *supra*; y el documento WO 92/07943.

Las partículas de vector retrovírico se preparan insertando de forma recombinante la secuencia de nucleótidos deseada en un vector retrovírico y empaquetando el vector con proteínas de la cápsida retrovírica por el uso de una línea celular de empaquetado. La partícula de vector retrovírico resultante no tiene capacidad de replicación en la célula hospedadora, pero es capaz de integrarse en el genoma de la célula hospedadora como una secuencia provírica que contiene la secuencia de nucleótidos deseada. Como resultado, el paciente es capaz de producir, por ejemplo, un polipéptido o polinucleótido de la divulgación y, por tanto, restaurar las células a un fenotipo normal.

Las líneas celulares de empaquetado que se usan para preparar las partículas de vector retrovírico normalmente son líneas celulares de cultivo tisular de mamífero recombinantes que producen las proteínas estructurales víricas necesarias requeridas para el empaquetado, pero que son incapaces de producir viriones infecciosos. Los vectores retrovíricos defectuosos que se usan, por otro lado, carecen de estos genes estructurales, pero codifican las proteínas restantes necesarias para el empaquetado. Para preparar una línea celular de empaquetado, se puede construir con clon infeccioso de un retrovirus deseado en que se ha eliminado el sitio de empaquetado. Las células que comprenden esta construcción expresarán todas las proteínas víricas estructurales, pero el ADN introducido será incapaz de empaquetarse. Como alternativa, las líneas celulares de empaquetado pueden producirse transformando una línea celular con uno o más plásmidos de expresión que codifican las proteínas de núcleo y

envuelta apropiadas. En estas células, los genes *gag*, *pol* y *env* pueden obtenerse del mismo retrovirus o de diferentes retrovirus.

También están disponibles varias líneas celulares de empaquetado adecuadas para la presente divulgación en la técnica anterior. Los ejemplos de esas líneas celulares incluyen Crip, GPE86, PA317 y PG13 (véase, Miller *et al.*, J. Virol. 65:2220-2224 (1991)). Los ejemplos de otras líneas celulares de empaquetado se describen en Cone y Mulligan Proceedings of the National Academy of Sciences, EE. UU., 81:6349-6353 (1984); Danos y Mulligan Proceedings of the National Academy of Sciences, EE. UU., 85:6460-6464 (1988); Eglitis *et al.* (1988), *supra*; y Miller (1990), *supra*.

Pueden usarse líneas celulares de empaquetado capaces de producir partículas de vector retroviral con proteínas de envuelta quiméricas. Como alternativa, pueden usarse proteínas de envuelta anfotrópicas o xenotrópicas, tales como las producidas por las líneas celulares de empaquetado PA317 y GPX para empaquetar los vectores retrovirales.

En algunas realizaciones de la invención, se administra un polinucleótido antisentido que hibrida con un gen que codifica un polipéptido de la divulgación. El polipéptido antisentido puede proporcionarse como un oligonucleótido antisentido (véase, por ejemplo, Murayama *et al.*, Antisense Nucleic Acid Drug Dev. 7:109-114 (1997)). También pueden proporcionarse genes que codifican un ácido nucleico antisentido; dichos genes pueden introducirse en células por métodos conocidos para los expertos en la materia. Por ejemplo, se puede introducir una secuencia de nucleótidos antisentido en un vector vírico, tal como, por ejemplo, en el virus de la hepatitis B (véase, por ejemplo, Ji *et al.*, J. Viral Hepat. 4:167-173 (1997)), en un virus adenoasociado (véase, por ejemplo, Xiao *et al.*, Brain Res. 756:76-83 (1997)) o en otros sistemas incluyendo, aunque sin limitación, un sistema de suministro génico de HVJ (virus Sendai), liposoma (véase, por ejemplo, Kaneda *et al.*, Ann. NY Acad. Sci. 811:299-308 (1997)), un "vector peptídico" (véase, por ejemplo, Vidal *et al.*, CR Acad. Sci III 32:279-287 (1997)), como un gen en un vector episómico o plasmídico (véase, por ejemplo, Cooper *et al.*, Pro. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 94:6450-6455 (1997), Yew *et al.* Hum Gene Ther. 8:575-584 (1997)), como un gen en un agregado de péptido-ADN (véase, por ejemplo, Niidome *et al.*, J. Biol. Chem. 272:15307-15312 (1997)), como "ADN desnudo" (véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos n.º 5.580.859 y 5.589.466), en sistemas de vector lipídico (véase, por ejemplo, Lee *et al.*, Crit Rev Ther Drug Carrier Syst. 14:173-206 (1997)), liposomas recubiertos con polímero (patentes de Estados Unidos n.º 5.213.804 y 5.013.556), liposomas catiónicos (Epanand *et al.*, patentes de Estados Unidos n.º 5.283.185; 5.578.475; 5.279.833; y 5.334.761), microesferas rellenas de gas (patente de Estados Unidos n.º 5.542.935), macromoléculas encapsuladas dirigidas a ligando (patentes de Estados Unidos n.º 5.108.921; 5.521.291; 5.554.386; y 5.166.320).

Los transcritos regulados positivamente enumerados en las tablas de biomarcadores de este documento que están correlacionados con trastornos mentales pueden abordarse con una o más secuencias de ARN interferente pequeño (ARNip) que hibridan con secuencias específicas en la diana, como se describe anteriormente. Abordar ciertos transcritos cerebrales con ARNip *in vivo* también se ha informado, por ejemplo, por Zhang *et al.*, J. Gene. Med., 12:1039-45 (2003), que utilizó anticuerpos monoclonales contra el receptor de transferrina para facilitar el paso de las moléculas de ARNip encapsuladas con liposomas a través de la barrera hematoencefálica. Los ARNip dirigidos representan compuestos terapéuticos útiles para atenuar los transcritos sobreexpresados que están asociados con estados patológicos, por ejemplo, MDD, BP y otros trastornos mentales.

En otro caso, pueden usarse sistemas de expresión condicionados, tales como los tipificados por los sistemas regulados por tet y el sistema RU-486 (véase, por ejemplo, Gossen y Bujard, PNAS 89:5547 (1992); Oligino *et al.*, Gene Ther. 5:491-496 (1998); Wang *et al.*, Gene Ther. 4:432-441 (1997); Neering *et al.*, Blood 88:1147-1155 (1996); y Rendahl *et al.*, Nat. Biotechnol. 16:757-761 (1998)). Estos sistemas confieren un control de molécula pequeña sobre la expresión del gen o genes diana de interés.

En otro caso, pueden implantarse en el cerebro células madre modificadas por ingeniería para expresar un transcrito de interés.

C. Formulaciones farmacéuticas

Cuando se usan con fines farmacéuticos, los vectores usados para terapia génica se formulan en un tampón adecuado, que puede ser cualquier tampón farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina tamponada con fosfato o fosfato de sodio/sulfato de sodio, tampón Tris, tampón glicina, agua estéril y otros tampones conocidos para los expertos en la materia tales como los descritos por Good *et al.* Biochemistry 5:467 (1966).

Las composiciones pueden incluir además un estabilizante, potenciador u otros medios o vehículos farmacéuticamente aceptables. Un vehículo farmacéuticamente aceptable puede contener un compuesto fisiológicamente aceptable que actúa, por ejemplo, estabilizando los ácidos nucleicos de la invención y cualquier vector asociado. Un compuesto fisiológicamente aceptable puede incluir, por ejemplo, carbohidratos, tales como glucosa, sacarosa o dextranos; antioxidantes, tales como ácido ascórbico o glutatión; agentes quelantes; proteínas de bajo peso molecular u otros estabilizantes o excipientes. Otros compuestos fisiológicamente aceptables incluyen agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes dispersantes o conservantes, que son particularmente útiles

para prevenir el crecimiento o la acción de los microorganismos. Diversos conservantes son bien conocidos e incluyen, por ejemplo, fenol y ácido ascórbico, los ejemplos de vehículos, estabilizantes o adyuvantes pueden encontrarse en Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Filadelfia, PA, 17.^a ed. (1985).

5 **D. Administración de formulaciones**

Las formulaciones de la divulgación pueden suministrarse a cualquier tejido u órgano usando cualquier método de suministro conocido para los expertos en la materia. En algunos casos de la invención, los ácidos nucleicos de la divulgación se formulan en formulaciones para la mucosa, tópicos y/o bucales, particularmente formulaciones de gel mucoadhesivo y gel tópico. Las composiciones potenciadoras de la penetración a modo de ejemplo, las matrices poliméricas y preparaciones de gel mucoadhesivo para suministro transdérmico se divulgan en la patente de Estados Unidos n.º 5.346.701.

15 **E. Métodos de tratamiento**

Las formulaciones de terapia génica de la divulgación normalmente se administran a una célula. La célula puede proporcionarse como parte de un tejido, tal como una membrana epitelial o como una célula aislada, tal como en cultivo tisular. La célula puede proporcionarse *in vivo*, *ex vivo* o *in vitro*.

20 Las formulaciones pueden introducirse en el tejido de interés *in vivo* o *ex vivo* por diversos métodos. En algunos casos de la invención, los ácidos nucleicos de la divulgación se introducen en células por métodos tales como microinyección, precipitación con fosfato de calcio, fusión de liposomas o biolística. En casos adicionales, los ácidos nucleicos se captan directamente por el tejido de interés.

25 En algunos casos de la invención, los ácidos nucleicos de la divulgación se administran *ex vivo* a células o tejidos explantados de un paciente, después se devuelven al paciente. Los ejemplos de administración *ex vivo* de construcciones génicas terapéuticas incluyen Nolta *et al.*, Proc Natl. Acad. Sci. USA 93(6):2414-9 (1996); Koc *et al.*, Seminars in Oncology 23 (1):46-65 (1996); Raper *et al.*, Annals of Surgery 223(2):116-26 (1996); Dalesandro *et al.*, J. Thorac. Cardi. Surg., 11(2):416-22 (1996); y Makarov *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93(1):402-6(1996).

30 **X. Diagnóstico de trastornos del estado de ánimo y trastornos psicóticos**

La presente divulgación proporciona métodos de diagnóstico de los trastornos del estado de ánimo (tales como depresión mayor o trastorno bipolar), trastornos psicóticos (tales como esquizofrenia) o una predisposición de al menos algunas de las patologías de dichos trastornos. El diagnóstico implica determinar el nivel de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación en un paciente y después comparar el nivel de un valor inicial o intervalo. normalmente, el valor inicial es representativo de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación en una persona sana que no padece un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico o bajo los efectos de medicación u otros fármacos. La variación de los niveles de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación desde el intervalo basal (positivamente o negativamente) indica que el paciente tiene un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico o está en riesgo de desarrollar al menos algunos aspectos de un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico. En algunos casos, el nivel de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación se mide tomando una muestra de sangre, orina o tejido de un paciente y midiendo la cantidad de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación en la muestra usando cualquiera de varios métodos de detección, tales como los analizados en este documento.

Pueden usarse anticuerpos en ensayos para detectar expresión diferencial de proteínas en muestras de pacientes, por ejemplo, ensayos ELISA, ensayos de inmunoprecipitación y ensayos inmunohistoquímicos. Pueden usarse ensayos de PCR para detectar los niveles de expresión de ácidos nucleicos, así como para discriminar entre variantes en la estructura genómica, tales como mutaciones de inserción/eliminación (por ejemplo, PSPHL).

En el caso en el que la ausencia de expresión génica esté asociada con un trastorno, la estructura genómica de un gen tal como PSPHL puede evaluarse con métodos conocidos tales como PCR para detectar mutaciones de eliminación o inserción asociadas con susceptibilidad a la enfermedad. A la inversa, la presencia de ARNm o proteína correspondiente al gen PSPHL indicaría que un individuo no tiene la eliminación de PSPHL asociada con susceptibilidad a BP. Por tanto, el diagnóstico puede hacerse detectando la presencia o ausencia de ARNm o proteína, o examinando la estructura genómica del gen. Puede usarse cualquier combinación de exones o regiones no transcritas para detectar el alelo de eliminación. Por ejemplo, la presencia del exón 4, pero no de los exones 1, 2 y/o 3 indicaría la presencia del alelo de eliminación. Asimismo, la eliminación de la región promotora indicaría el alelo de eliminación. Cualquier detección significativa de ARNm, especialmente la detección de un ARNm que comprende los exones 1, 2 y/o 3 indicaría la ausencia del alelo de eliminación, que no se transcribe debido a la eliminación del promotor.

También es útil el análisis de polimorfismos de un único nucleótido (SNP) para detectar diferencias entre alelos de los polinucleótidos (por ejemplo, genes) de la invención. Los SNP ligados a genes que codifican polipéptidos de la divulgación son útiles, por ejemplo, para el diagnóstico de enfermedades (por ejemplo, trastorno del estado de ánimo

tales como enfermedad bipolar, depresión mayor y trastornos de esquizofrenia) cuya aparición está ligada las secuencias génicas de la invención. Por ejemplo, si un individuo porta al menos un SNP ligado a un alelo asociado a enfermedad de las secuencias génicas de la divulgación, el individuo probablemente esté predispuesto a una o más de esas enfermedades. Si el individuo es homocigótico para un SNP ligado a enfermedad, el individuo está particularmente predispuesto a que aparezca esa enfermedad. En algunas enfermedades, el SNP asociado con las secuencias génicas de la divulgación está localizado en 300 000; 200 000; 100 000; 75 000; 50 000; o 10 000 pares de bases desde la secuencia génica.

Pueden usarse diversos métodos de PCR a tiempo real para detectar los SNP incluyendo, por ejemplo, ensayos basados en Taqman o balizas moleculares (por ejemplo, patentes de Estados Unidos n.º 5.210.015; 5.487.972; Tyagi et al, Nature Biotechnology 14:303 (1996); y documento PCT WO 95/13399 son útiles para controlar la presencia o ausencia de un SNP. Los métodos de detección de SNP adicionales incluyen, por ejemplo, secuenciación de ADN, secuenciación por hibridación, transferencia puntual, análisis de hibridación de matrices de oligonucleótidos (chip de ADN) o se describen en, por ejemplo, la patente de Estados Unidos n.º 6.177.249; Landegren et al., Genome Research, 8:769-776 (1998); Botstein et al., Am J Human Genetics 32:314-331 (1980); Meyers et al., Methods in Enzymology 155:501-527 (1987); Keen et al., Trends in Genetics 7:5 (1991); Myers et al., Science 230:1242-1246 (1985); y Kwok et al., Genomics 23:138-144 (1994). También pueden usarse métodos de PCR para detectar polimorfismos de eliminación/inserción, tal como el polimorfismo de eliminación del gen de PSPHL asociado con susceptibilidad a BP.

En algunos casos, el nivel del producto enzimático de un polipéptido o polinucleótido de la divulgación se mide y compara con un valor basal de una persona o personas sanas. Los niveles modulados del producto comparados con el valor inicial indica que el paciente tiene un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico o está en riesgo de desarrollar al menos algunos aspectos de un trastorno del estado de ánimo o un trastorno psicótico. Las muestras de los pacientes, por ejemplo, pueden ser muestras de sangre, orina o tejido.

Se entiende que los ejemplos y realizaciones descritos en este documento son con fines ilustrativos únicamente y que se sugerirán diversas modificaciones o cambios a la luz de los mismos a los expertos en la materia y se pretenden que estén incluidos dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

Ejemplo 1: identificación de genes de la ruta de FGF regulados de forma incorrecta en MDD

El trastorno depresivo mayor (MDD) y el trastorno bipolar (BP) son enfermedades afectivas que afectan a una proporción significativa de la población. Estos trastornos genéticos complejos surgen de la interacción de genes de vulnerabilidad y factores de sobrecarga ambiental, que impactan en los circuitos neurales que controlan el estado de ánimo. Más allá de la función de las estructuras límbicas, se hipotetiza que los trastornos de ánimo implican la actividad aberrante de la corteza cerebral. Por tanto, las técnicas de imágenes han implicado a las cortezas prefrontal dorsolateral (DLPFC) y cingulada anterior (AnCg) en los trastornos del estado de ánimo ya que los sujetos afectados presentan cambios en las mediciones volumétricas (Harrison, P. J. Brain 125, 1428-49 (2002).) y actividad alterada en respuesta a un desafío cognitivo. (Kruger, S., Seminowicz, D., Goldapple, K., Kennedy, S. H. y Mayberg, H. S. Biol Psychiatry 54, 1274-83 (2003)). Usando una estrategia de candidatos, los estudios han demostrado una expresión cortical alterada de genes específicos relacionados con neurotransmisores y tensión en enfermedades afectivas. Sin embargo, la magnitud completa de la alteración en la actividad cortical no se había descrito, ni se había aplicado una estrategia "de descubrimiento" no sesgada para caracterizarla.

Se ha aplicado la tecnología de micromatrices para el estudio de DLPFC y AnCg en muestras de cadáver de MDD, BP y controles no psiquiátricos. Esto representa el primer estudio de perfilado transcripcional que demuestra alteraciones significativas de la expresión génica en depresión mayor y el primero en contrastar los dos trastornos principales del estado de ánimo (MDD y BP) con el mismo grupo de controles. En esta ocasión se informa de la regulación incorrecta de los transcritos del sistema de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) específicamente en MDD.

Estudios en seres humanos

Los estudios se realizaron en una cohorte seleccionada cuidadosamente de cerebros humanos de cadáver y se replicaron en una cohorte separada (véase la tabla 1a y 1b). La matriz Affymetrix HG-133A contiene conjuntos de sondas para 21 transcritos del sistema de FGF, incluyendo los 4 receptores (FGFR1, 2, 3, 4) y 12 ligandos del péptido FGF (FGF1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 13, 14, 17, 18, 20, 21, 22, 23). De estos, únicamente diez se detectaron de forma fiable en las regiones ensayadas e incluyen tres de los receptores de FGF (FGFR1, 2 y 3) y siete ligandos FGF (FGF1, 2, 7, 9, 12, 13, 14). De los diez transcritos de FGF detectados de forma fiable, siete estaban significativamente alterados en una de las dos regiones estudiadas - cuatro se expresaban de forma significativamente diferencial en el DLPFC de sujetos con MDD, incluyendo 2 receptores de FGF (FGFR2 y 3) y 2 ligandos FGF (FGF1 y 9); y seis se expresaban de forma significativamente diferencial en el AnCg incluyendo dos receptores (FGFR2 y 3) y cuatro ligandos (FGF1, 2, 9 y 12). La probabilidad de que esta familia de moléculas

hubiera surgido por casualidad, basándose en una distribución hipergeométrica, es de $p < 0,001$. Estos datos se resumen en la tabla 2, que también informa sobre los transcritos confirmados por análisis de PCR a tiempo real y/o los replicados en una segunda cohorte independiente de sujetos con MDD y de control. De forma importante, se observó que ninguno de los transcritos anteriores se expresaba de forma diferencial en BP por micromatriz en ninguna cohorte o por análisis de PCR a tiempo real, lo que demuestra la especificidad de esta regulación incorrecta para MDD.

Dada esta regulación incorrecta selectiva de los transcritos del sistema de FGF en MDD, nos preguntamos si estos cambios podrían ser secundarios a tratamiento con antidepresivos, ya que un subconjunto de los sujetos estaba con antidepresivos y la mayoría de ellos estaban con inhibidores específicos de la recaptación de serotonina (SSRI). Por tanto, separamos nuestros datos de micromatriz en sujetos con MDD prescritos con SSRI ($n=5$) y los no prescritos con SSRI ($n=4$) para comparaciones estadísticas. Este análisis demostró que FGFR3 y FGF2 tenían una tendencia hacia la regulación positiva ($p=0,15$ y $0,07$, respectivamente) y que FGF 9 mostraba una tendencia hacia regulación negativa ($p=0,12$) por tratamiento con SSRI, todos *oponiéndose a la direccionalidad* de la regulación incorrecta que se observa en sujetos con MDD respecto a los controles. Ningún otro transcrito del sistema de FGF se aproximaba a diferencias significativas en este análisis. Estos datos sugieren fuertemente que nuestras observaciones no son secundarias al tratamiento con SSRI. Además, la atenuación observada de la regulación incorrecta del transcrito de FGF en el grupo prescrito con SSRI, sugiere que la normalización del sistema de FGF podría ser un mecanismo de acción de esta clase de fármacos ya que varios transcritos de FGF parecen estar alterados en depresión grave y se revierten parcialmente por tratamiento con SSRI.

Estudios anatómicos en roedores: efecto de fluoxetina.

Se estudió la expresión anatómica de FGFR2 en ratas sometidas a tratamiento crónico con fluoxetina respecto a los controles (fig. 1). Se cuantificó la expresión del ARNm de FGFR2 en la corteza retrosplenial y en el hipocampo ya que esta área se ha implicado recientemente en el modo de acción de los antidepresivos (Santarelli, L. et al., Science 301, 805-9 (2003)). Los resultados muestran que el mensajero de FGFR2 se aumenta significativamente por fluoxetina en todos los subcampos del hipocampo (CA1, CA2, CA3 y giro dentado) y la corteza retrosplenial (PLSD de Fisher, $p=0,0049$).

La implicación del sistema de FGF en MDD ha surgido de nuestros estudios utilizando la tecnología de micromatrices para estudiar enfermedades psiquiátricas humanas. Se ha hipotetizado que otros factores de crecimiento contribuyen a la etiología y el mantenimiento de dichas enfermedades y pueden ofrecer un marco en el que situar nuestros propios hallazgos. De forma más notable, el factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF) se ha implicado repetidamente en MDD, BP y en SZ. Los niveles de ARNm de BDNF están supuestamente disminuidos en el DLPFC (Weickert, C. S., et al., Mol Psychiatry 8, 592-610 (2003)) de esquizofrénicos y los niveles de proteína BDNF están disminuidos en suero de pacientes con MDD (Shimizu, E. et al., Biol Psychiatry 54, 70-5 (2003)). Además, la expresión de BDNF se regula por fármacos antipsicóticos (Chlan-Fourney, J. et al., Brain Res 954, 11-20 (2002)) y antidepresivos (Shimizu, E. et al., Biol Psychiatry 54, 70-5 (2003)), (Dias, B. G., et al., Neuropharmacology 45, 553-63 (2003)). Un volumen más pequeño de la bibliografía implica a otros factores de crecimiento, incluyendo el factor de crecimiento de nervios (Parikh, V., Evans, D. R., Khan, M. M. y Mahadik, S. P. Schizophr Res 60, 117-23 (2003)), el factor de crecimiento epidérmico (Futamura, T. et al., Mol Psychiatry 7, 673-82 (2002)) y neurotrofina-3 (Hock, C. et al., Mol Psychiatry 5, 510-3 (2000)) en enfermedades psiquiátricas.

Los factores de crecimiento desempeñan funciones significativas en el desarrollo y el mantenimiento del sistema nervioso central. En el cerebro en desarrollo, están implicados en la diferenciación terminal neuronal específica y la migración a subcampos apropiados. En el cerebro adulto son críticos en la supervivencia neuronal, la ramificación de axones y la plasticidad sináptica. Específicamente, FGF2 (Viti, J., Gulacsi, A. y Lillien, L. J Neurosci 23, 5919-27 (2003)) y FGF8 (Gunhaga, L. et al., Nat Neurosci 6, 701-7 (2003)) han demostrado interactuar con Wnt en el desarrollo de la corteza en embriones de ratón y pollo, respectivamente. En el cerebro adulto, FGF2 promueve la supervivencia neuronal y la ramificación de axones (Abe, K. y Saito, H. Pharmacol Res 43, 307-12 (2001)) y su expresión está modulada por sobrecarga (Molteni, R. et al., Brain Res Rev 37, 249-58 (2001)).

En conjunto, estos resultados dan lugar a la novedosa hipótesis de que la regulación incorrecta del sistema de FGF contribuye a la vulnerabilidad a MDD o la expresión de la enfermedad, y que los antidepresivos podrían atenuar esta regulación incorrecta. Los modelos animales serán cruciales para definir la implicación del sistema de FGF en la emotividad y para dilucidar su función en la plasticidad neural y la acción antidepresiva.

Ejemplo 2: identificación de un novedoso polimorfismo de inserción/eliminación en el gen de PSPHL y asociación de la mutación de eliminación con susceptibilidad a BP

La evaluación de la expresión de PSPHL en la corteza cingulada anterior por RT-PCR cuantitativa revela que PSPHL muestra un patrón dicotómico (presente o ausente) de expresión en los individuos. En nuestra primera cohorte, ninguno de los 9 pacientes con BPD (0 %) muestra expresión de PSPHL, mientras que 7 de los 11 pacientes con MDD (64 %) y 8 de los 20 controles (40 %) muestran suficiente expresión de PSPHL. La probabilidad de distribución del patrón de expresión presente/ausente entre BPD y los controles es 0,018, y entre MDD y los

controles es 0,105 basándose en el ensayo exacto de Fisher. Para asegurar este contraste significativo entre BPD y los controles, se midió la expresión de PSPHL en 9 individuos con BPD y 20 individuos de control adicionales (para un total de 18 BPD y 40 controles) usando RT-PCR cuantitativa. En este conjunto de muestra más grande, ninguno de los 18 pacientes con BPD (0 %) muestra ninguna expresión de PSPHL, mientras que 16 de los 40 controles (40 %) muestran suficiente expresión del transcrito (valor $p = 0,0008$).

El hecho de que PSPHL muestre un patrón dicotómico presente/ausente de expresión entre los individuos con consistencia cerebral sugiere una variación genética en su regulación. Como la organización genómica de PSPHL no se ha caracterizado (Planitzer, *supra* (1998)), se ha identificado la organización genómica de PSPHL como se muestra en la figura 14. EL gen de PSPHL consiste en 4 exones. Los exones 1, 2, 3 y 4 son de 213 pb, 114 pb, 122 pb y 501 pb de longitud, respectivamente, y abarcan los intrones 1, 2 y 3 (3221 pb, 829 pb y 11939 pb de longitud, respectivamente). Además, el gen de PSPHL tiene dos transcritos alternativos, uno de los cuales utiliza los exones 1-4 (PSPHL-A en la figura 14), mientras que el otro utiliza los exones 1, 2 y 4 (PSPHL-B). También se ha identificado un polimorfismo de inserción/eliminación en el locus de PSPHL. La región genómica eliminada abarca más de 30 kb, incluyendo la región promotora y los exones 1, 2 y 3 del gen de PSPHL. Esta varianza genética explica el patrón presente/ausente de la expresión de PSPHL. Una sobrerrepresentación del alelo de eliminación que provoca la ausencia de expresión de PSPHL aumenta la susceptibilidad a BPD.

PSPHL y PSPH son altamente homólogos, pero parecen ser genes diferentes, que están separados en 200 kb entre sí en la región cromosómica 7p11.2. Especialmente, los exones 2-4 de PSPHL son muy homólogos a los exones 4 y 8 del gen de PSPH. Las secuencias de aminoácidos predichas de PSPH, PSPHL-A y PSPHL-B se muestran en la figura 15. PSPHL-A y PSPHL-B comparten los 57 aminoácidos comunes N-terminales, transcritos de los exones 1 y 2. PSPHL-A tiene 36 aminoácidos C-terminales únicos, transcritos del exón 3, mientras que PSPHL-B tiene 17 aminoácidos C-terminales únicos, transcritos del exón 4. PSPH y PSPHL-A y B tienen 31 aminoácidos en común. Los aminoácidos comunes están localizados en el extremo N-terminal de PSPH y la región intermedia (25° - 56° aminoácidos) de PSPHL-A y B. La región común contiene un sitio de fosforilación consenso de Na/K ATPasa y un sitio de fosforilación por caseína cinasa II. Basándose en la similitud en la estructura, PSPHL comparte alguna función con el gen de PSPH.

PSPH es la enzima limitante de la velocidad para la síntesis de serina. PSPH tiene un dominio de hidrolasa de tipo haloácido deshalogenasa, que es responsable de la actividad. Más de un 90 % de la L-serina en el cerebro se forma mediante la ruta fosforilada. PSPH puede ser la forma dimérica de la enzima con un peso molecular monomérico de 26 kDa. La L-serina se convierte en esfingomielinas y gangliósidos, así como L-glicina y D-serina, ambas cuales actúan como co-agonistas para el sitio de unión a glicina asociado al receptor de NMDA. La L-glicina también es un agonista para el receptor de glicina sensible a estricnina (figure 16). PSPHL está implicado en la ruta metabólica del aminoácido serina y puede estar implicado en otras rutas también.

Ejemplo 3: inyección postnatal de FGF2

Este ejemplo muestra que la administración neonatal de FGF-2 afecta a alteraciones a largo plazo en el volumen del hipocampo, la reactividad emocional y el aprendizaje y la memoria. A ratas Sprague-Dawley se les inyectó vehículo o FGF-2 (20 ng/g, s.c.) en el día 2 postnatal (PD2). Tres semanas después de la inyección, se evaluó el volumen del giro dentado y los recuentos celulares por tinción Niss1. También se evaluó la neurogénesis por inmunohistoquímica de BrdU y Ki-67 en el punto temporal del día 23. En ratas adultas, se ensayó la actividad locomotora, el comportamiento de ansiedad y el aprendizaje y la memoria. Los animales se sacrificaron y se recogieron los cerebros para hibridación *in situ* (marcadores de FGF, marcadores de sobrecarga). Los resultados hasta la fecha han demostrado lo siguiente: las ratas a las que se ha inyectado FGF-2 mostraban un aumento de un 10,5 % en el volumen del giro dentado. Los resultados muestran que FGF-2 aumentaba significativamente la actividad locomotora sobre los controles en un entorno novedoso. La actividad aumentada en respuesta a la novedad se ha asociado con una multitud de otras medidas incluyendo el comportamiento de tipo ansiedad disminuido. Además, las ratas adultas que recibieron FGF-2 como neonatos también se desenvolvían significativamente mejor que los controles en el laberinto de agua de Morris.

Ejemplo 4: expresión de FGF2

Aunque las evidencias han vinculado a los factores de crecimiento tales como BDNF a la complejidad ambiental (EC), la sensibilidad a la tensión y la acción antidepresiva, unos pocos estudios se centraron en la función del sistema de FGF en la reactividad emocional. Los datos recientes de nuestro laboratorio sugieren que una única inyección postnatal de FGF-2 altera significativamente la actividad locomotora en respuesta a un entorno novedoso (Turner et al., SFN resúmenes 2004). Como la sensibilidad aumentada a la novedad está asociada con un comportamiento de tipo ansiedad disminuido, se propone que FGF-2 puede estar correlacionado con otros índices de emotividad. Se ensayó la hipótesis de que cambios en la emotividad asociados con EC pueden estar relacionados con la expresión del gen de FGF-2 en el hipocampo. Ratas Sprague-Dawley macho adultas jóvenes se expusieron a un entorno complejo durante 21 días o a jaulas convencionales. Después de este tratamiento, las ratas se devolvieron a las jaulas convencionales durante dos semanas. Después se procesaron los cerebros para la neurogénesis por inmunohistoquímica de BrdU y Ki-67. Otro grupo de ratas se ensayó en el laberinto en forma de

cruz elevado (EPM) y después se sacrificaron para hibridación *in situ*. En comparación con los controles, las ratas EC mostraron significativamente menos comportamiento de tipo ansiedad en el EPM y mostraron un aumento de un 23 % en la expresión de FGF-2 en el hipocampo. Hubo una correlación positiva significativa entre los niveles de ARNm de FGF-2 en CA2 del hipocampo y el tiempo utilizado en los brazos abiertos del EPM. Si estos resultados están relacionados con los niveles de neurogénesis en el hipocampo se está determinando actualmente. Estos hallazgos son coherentes con nuestras observaciones en cerebros humanos de cadáver (Evans et al, SfN resúmenes 2004) que muestran que la expresión de varios miembros de la familia de FGF está disminuida en depresión mayor. En conjunto, estos hallazgos implican al sistema de FGF en la emotividad y trastornos del estado de ánimo.

Ejemplo 5

GENES DE LA RUTA DE SEÑALIZACIÓN DE AMP CÍCLICOS EXPRESADOS DE FORMA DIFERENCIAL EN PACIENTES CON BPD Y/O MDD

Se analizaron dos cohortes independientes A y B por separado en este estudio. La cohorte A consistía en 22 sujetos incluyendo 7 sujetos de control sanos, 6 pacientes con BPD y 9 pacientes con MDD. La cohorte B consistía en 12 sujetos incluyendo 5 MDD y 7 controles. Todos los sujetos en este estudio no tenían afecciones agónicas específicas incluyendo hipoxia, coma, pirexia, agarrotamiento, deshidratación, hipoglucemia, fallo multiorgánico, fractura de cráneo, ingesta de sustancias neurotóxicas o duración agónica prologada, que se sabe que afecta al pH del tejido, la integridad del ARN y el perfil de expresión génica en cerebro de cadáver, y mostraban un pH de tejido cerebral de más de 6,5. Para detectar las diferencias fiables en la expresión génica entre los grupos de diagnóstico, se realizaron experimentos replicados de forma experimental, así como de forma biológica de la siguiente manera. Experimento 1: Se extrajo el ARN total de AnCg, DLPFC y CB de la cohorte A, y se purificó con minicolumnas de centrifugación basadas en sílice (Qiagen RNeasy Mini Kit, Valencia, California). Los experimentos en micromatriz de oligonucleótidos se realizaron siguiendo el protocolo del fabricante (Affymetrix, Santa Clara, CA). Para la replicación técnica, cada una de las muestras de ARN se ejecutó en Affymetrix GeneChips U95Av2 en dos laboratorios. Experimento 2: Para una replicación técnica adicional, se volvieron a analizar muestras de los 22 sujetos de la cohorte A en AnCg y DLPFC utilizando GeneChips U133A en dos laboratorios. Experimento 3: Se analizaron muestras de la cohorte B adicional en GeneChips U133A en AnCg y DLPFC en dos laboratorios. Se extrajeron los datos de intensidad de señal con Robust Multi-array Average (RMA) para cada conjunto de sondas y cada sujeto. Se calcularon los coeficientes de correlación de Pearson en todo el gen entre los duplicados experimentales, y únicamente los genes correlacionados significativamente entre los duplicados experimentales se consideraron genes detectables de forma fiable, y se sometieron a los análisis posteriores. Para estos genes detectables de forma fiable, se emplearon análisis ANOVA de múltiples variables de modelo mixto utilizando Partek Pro 6.0 (Partek, St. Charles, MO) para ajustar el efecto de la clasificación de diagnóstico (BPD, MDD, control) para posibles factores de confusión, incluyendo el sitio para el experimento, el lote experimental y el género. Se ejecutaron ensayos *a posteriori* (diferencia de mínimos cuadrados) para generar el valor p para las diferencias entre la media de los casos y de los controles, y se aplicaron correcciones de comparaciones múltiples de tasa de falsos descubrimientos al nivel de aceptación de un 5 % de falsos positivos a cada resultado de ANOVA. Cuando el valor p pasaba la corrección de múltiples ensayos de tasa de falsos descubrimientos al nivel de aceptación de un 5 % de falsos positivos y el porcentaje de cambio factorial excedía de un 20 %, los genes se consideraban expresados de forma significativamente diferencial entre los grupos de casos y controles. Además, para evaluar diferencias de expresión más sutiles, pero coherentes entre los grupos de casos y controles, también se seleccionaron genes que pasaban el valor p de 0,05 independientemente de la corrección de FDR y el % FC > 10 % en ambos duplicados experimentales utilizando GeneChips U95Av2 o U133A.

La figura 26A y la tabla 14 resumen los genes relacionados con la ruta de señalización de AMPc que se expresaban de forma diferencial en la corteza cingulada anterior (AnCg) de pacientes con trastorno bipolar (BPD) en comparación con los controles. Entre los GPCR acoplados con la subunidad inhibidora de la proteína G (Gi), que inhibe la actividad adenilato ciclasa, el receptor 1 del neuropéptido Y (NPYR1) estaba significativamente aumentado en AnCg de BPD. El ligando, el neuropéptido Y también estaba aumentado significativamente en AnCg de BPD. El receptor 3 de glutamato metabotrópico ligado a Gi (GRM3) también estaba aumentado en AnCg, así como en la corteza prefrontal dorsolateral (DLPFC) de BPD. La somatostatina (SST), un ligando para GPCR acoplado a Gi, estaba significativamente aumentado en AnCg en nuestros datos de micromatriz.

En contraste con el hallazgo en AnCg, la expresión del ARNm de SST estaba disminuida en DLPFC de BPD, así como en trastorno depresivo mayor (MDD). El receptor adrenérgico beta-1 (ADRB) estaba disminuida en un 13-18 % en DLPFC de BPD, aunque el cambio no alcanzaba los criterios significativos (tabla 17). La proencefalina (PENK), un ligando para GPCR acoplado a Gi, no estaba alterada en AnCg y DLPFC de BPD y MDD, pero estaba aumentado significativamente en CB tanto de BPD como de MDD.

El nivel de expresión de ARN mensajero del péptido 1 inhibidor de la subunidad alfa de proteína G (GNAI1) y de fosfodiesterasa 1A (PDE1A) estaba significativamente aumentado en AnCg de pacientes con BPD. El inhibidor alfa de la proteína cinasa A (PKIA) y la cinasa 5 dependiente de ciclina (CDK5), la fosfodiesterasa 8A (PDE8A) y la proteína fosfatasa 1, subunidad catalítica alfa (PPP1CA) no alcanzaban criterios significativos, pero estaban

aumentadas en un 10 %-20 % en AnCg de BPD. Por tanto, la expresión del ARNm de moléculas que suprimen la concentración de AMPc y la actividad PKA estaba generalmente aumentada en BPD, mientras que las moléculas que activan la señalización de AMPc (GPCR acoplado a Gs, Gs, adenilato ciclasa, proteína cinasa A) no mostraban alteración significativa a nivel de transcrito.

5 La figura 26 y la tabla 14 resumen los genes relacionados con la ruta de señalización de AMPc que se expresaban de forma diferencial en AnCg de pacientes con MDD en comparación con los controles. El GPCR 1 de diferenciación endotelial ligando a Gi (EDG1) estaba disminuido significativamente en AnCg de MDD. El regulador de la
10 señalización de proteína G 20 (RGS20), la fosfodiesterasa 8A (PDE8A) y la subunidad 3C reguladora de la proteína fosfatasa 1 (PPP1R3C) mostraron expresión significativamente inferior en AnCg de pacientes con MDD en comparación con los controles. Los niveles de expresión de los ARNm de PDE8A y PPP1R3C eran significativamente inferiores también en DLPFC de MDD (tabla 15). Se observó disminución significativa en la
15 expresión de RGS20 en MDD también en CB (tabla 16). Por tanto, la expresión del ARNm de moléculas que suprimen la concentración de AMPc y la actividad PKA estaba generalmente disminuida en MDD, mientras que las moléculas que activan la señalización de AMPc no mostraban alteración significativa al nivel de transcrito.

RUTA DE SEÑALIZACIÓN DE FOSFATIDILINOSITOL

20 La figura 26C y la tabla 14 resumen los genes relacionados con la ruta de señalización de fosfatidilinositol (PI) que se expresaban de forma diferencial en AnCg de pacientes con BPD en comparación con los controles. El receptor 2 de taquicinina ligada a Gq (neuropéptido K) (TACR2) estaba significativamente disminuido en AnCg de BPD. La expresión del ARN mensajero de inositol polifosfato-1-fosfatasa (INPP1) era significativamente mayor, mientras que la CDP-diacilglicerol sintasa 1 (CDDS1), una subunidad reguladora de fosfatidilinositol 3 cinasa de clase I (PIK3R1) y proteína cinasa C iota (PKCI) estaban significativamente disminuidos en AnCg de pacientes con BPD en
25 comparación con el grupo de control. La inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa B (ITPKB) y la subunidad beta catalítica de fosfatidilinositol 3 cinasa de clase II (PIK3C2B) no alcanzaron criterios significativos, pero estaban aumentadas en un 10 %-20 % en AnCg de BPD.

30 La figura 26D y la tabla 14 resumen los genes relacionados con la ruta de señalización de PI que estaban expresados de forma diferencial en AnCg de pacientes con MDD en comparación con los controles. El receptor 2 de neurotensina ligada a Gq (NTSR2) y el receptor de endotelina de tipo B (EDNRB) estaban significativamente disminuidos en AnCg de MDD. La expresión del ARN mensajero de inositol polifosfato-5-fosfatasa F (INPP5F) era significativamente mayor, mientras que la inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa B (ITPKB) y la subunidad alfa catalítica de fosfatidilinositol 3 cinasa de clase II (PIK3C2A) estaban significativamente reducidos en AnCg de MDD en
35 comparación con el control. La inositol polifosfato-5-fosfatasa A (INPP5A) la proteína cinasa C beta 1 (PKCB 1) y el receptor de tipo 1 de inositol 1,4,5-trifosfato (ITPR1) no alcanzaron los criterios significativos, pero estaban aumentados en un 10-20 % en AnCg de pacientes con MDD. También se observó disminución significativa de la expresión del ARNm de ITPKB en DLPFC de MDD (tabla 15). Ni el ARNm de la subunidad alfa q de la proteína G ni el ARNm de la fosfolipasa C beta estaban alterados en ninguna de las regiones cerebrales de los grupos de
40 trastorno.

OTROS RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNA G

45 Entre todos los GPCR, los patrones de expresión diferencial más coherentes en todos nuestros experimentos se observaron en la familia C del receptor acoplado a proteína G, grupo 5, miembro B (GPRC5B) y el receptor 37 acoplado a proteína G (GPR37). GPRC5B estaba significativamente aumentado en AnCg y DLPFC de BPD. GPRC5B estaba significativamente disminuido en AnCg, DLPFC y CB de pacientes con MDD. Se replicó una disminución significativa de GPRC5B en AnCg y DLPFC de pacientes con MDD por los experimentos utilizando otra cohorte B independiente. GPR37 también estaba significativamente aumentado en AnCg de BPD y
50 significativamente disminuido en AnCg, DLPFC y CB de MDD.

RT-PCR CUANTITATIVA

55 Para una evaluación técnica adicional de los datos de micromatriz, se evaluaron los niveles de expresión de ARNm por PCR con transcriptasa inversa cuantitativa a tiempo real (qRT-PCR) para los siguientes 7 genes, en corteza cingulada anterior (AnCg): Somatostatina (SST), neuropéptido Y (NPY), receptor C-5-B acoplado a proteína G (GPRC5B), receptor 37 acoplado a proteína G (GPR37), regulador de la señalización de proteína G 20 (RGS20), inositol polifosfato 1-fosfatasa (INPP1) y subunidad 3C reguladora de proteína fosfatasa 1 (PPP1R3C),

60 En coherencia con los datos de micromatriz, los datos de qRT-PCR mostraron que las expresiones de ARNm de neuropéptido Y (NPY), receptor C-5-B acoplado a proteína G (GPRC5B), receptor 37 acoplado a proteína G (GPR37), inositol polifosfato-1-fosfatasa (INPP1) estaban significativamente aumentadas en AnCg de BPD, y el nivel de expresión de GPRC5B, GPR37, regulador de señalización de proteína G 20 (RGS20) y la subunidad 3C reguladora de proteína fosfatasa 1 (PPP1R3C) estaba significativamente disminuido en el AnCg del grupo con MDD.
65 Aunque la expresión del ARNm de somatostatina (SST) estaba aumentado en AnCg de BPD en ambos duplicados experimentales de micromatriz utilizando U95Av2 y U133A, el hallazgo no se replicó por qRT-PCR (tabla 17).

HIBRIDACIÓN *IN SITU*

Se realizó hibridación *in situ* para GPR37 usando el ARNm de GPR37 que se expresa de forma preferente en materia blanca subcortical. La expresión de GPR37 en las capas más profundas (V-VI) es relativamente mayor que en las capas superficiales (I-III). La expresión del ARNm de GPR37 en la materia blanca subcortical era mayor en AnCg de los sujetos con BPD en comparación con los sujetos de control. La expresión del ARNm de GPR37 se detectaba de forma infrecuente en AnCg de los sujetos con MDD analizados. La figura 27 muestra la regulación incorrecta de genes implicados en las rutas de señalización de AMPc y fosfatidilinositol en tejido cerebral de pacientes con BPD y MDD.

CAMBIOS EN LA EXPRESIÓN GÉNICA EN AMÍGDALA, HIPOCAMPO, NÚCLEO ACCUMBENS DE TRASTORNO BIPOLAR Y TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR.

Se aplicó el mismo diseño experimental en amígdala, hipocampo y núcleo accumbens de BPD y MDD. La tabla 18 resume os genes que se expresan de forma diferencial en amígdala, hipocampo y núcleo accumbens en pacientes con BPD. La tabla 19 resume los genes expresados de forma diferencial en las tres regiones cerebrales de MDD.

Ejemplo 6

Este ejemplo muestra la regulación génica incorrecta en las rutas relacionadas con mitocondria, proteasoma, apoptosis y chaperona en trastorno del estado de ánimo. Se estudiaron tres regiones cerebrales: AnCg, cerebelo y DLPFC. Los resultados están compilados en las tablas 20-22.

Ejemplo 7

ASOCIACIÓN DE NCAM1 CON TRASTORNO BIPOLAR Y ESQUIZOFRENIA Y VARIANTES DE CORTE Y EMPALME DE NCAM1.

Selección de SNP y muestra: Se extrajo el ADN genómico (ADNg) de tejido cerebelar de cerebro humano de cadáve. Se diseñaron cebadores para el SNP 9 y después se ensayó mediante PCR para determinar el tamaño de banda correcto. Usando los cebadores de SNP 9, se secuenció el ADNg de 40 casos (20 controles, 9 BPD y 11 MDD) con cebadores tanto directos como inversos. Los SNP estaban localizados en los exones a, b y c. Los SNP b y c son intrónicos y se encuentran justo antes del exón "b" (7 pb en dirección 5') "c" (12 pb en dirección 5') respectivamente. El exón "a" no tenía un SNP en cercana proximidad.

Los genotipos se recogieron en 26 muestras adicionales de ADN genómico bipolar extraídas de linfocitos del National Institute of Mental Health (NIMH) para los 4 SNP: SNP 6, SNP 9, SNP b y SNP c (véase la figura 26). Se genotipó una tercera cohorte que consistía en las 105 muestras de micromatriz de corte prefrontal dorsolateral (DLPFC) de la Stanley Foundation (n = 35 controles, n = 35 de trastorno bipolar, n = 35 de esquizofrenia) (tabla 24). Las muestras de Stanley se genotiparon para el SNP 9 y el SNP b. Para el análisis final, los tres grupos de casos bipolares se combinaron y se combinaron tres grupos de control y se usaron para comparaciones estadísticas del SNP 9 y el SNP b. Los resultados muestran una asociación del haplotipo del SNP 9 y el SNP b con trastorno bipolar y esquizofrenia.

INTERACCIÓN DE GENOTIPO X DIAGNÓSTICO PARA VARIANTES DE CORTE Y EMPALME DE NCAM1.

Las variantes de corte y empalme son combinaciones de corte y empalme alternativo de 3 minixones (a, b, c) con los cuatro exones SEC que se muestran en la figura 30. Se ensayaron dos trastornos del estado de ánimo (trastorno bipolar, trastorno depresivo de tipo I y mayor, recidivante) y ambos mostraron diferencias en las variantes de corte y empalme de NCAM1 en el DLPFC.

Los presentes datos se refieren a la variación polimórfica de NCAM1 para trastorno bipolar y variaciones de corte y empalme en el ARNm que se producen cerca de los polimorfismos. Se encontró una asociación genotípica entre el SNP b en NCAM1 y el trastorno bipolar y una asociación sugerida del SNP 9 con esquizofrenia. Tres de los dos haplotipos marcadores para SNP 9 y SNP b, CT, C(T/C) y (C/A)(T/C) presentan distribución de frecuencia variable entre los bipolares y los controles. Los de esquizofrenia y los controles muestran diferencias en la distribución de frecuencias en cuatro de los dos haplotipos marcadores de SNP 9 y SNP b, CT, C(T/C), (C/A)(T/C) y (C/A)C. El trastorno bipolar difiere de la esquizofrenia por SNP 9 y SNP b por diferencias de frecuencia de haplotipo. El SNP b y el SNP 9 no están en LD y están individualmente relacionados con esquizofrenia (SNP 9) y trastorno bipolar (SNP b).

La evidencia de la variante corte y empalme para SNP 9 y b confirman que cada SNP puede estar asociado con diferencias en el corte y empalme del exón SEC, proporcionando de este modo algunos mecanismos diferenciales para liberar NCAM1 en el cerebro. Se observaron diferencias notables entre los polimorfismos en NCAM1 y las variantes de isoformas relativas del exón SEC que pueden dar lugar a truncamiento y secreción de NCAM1 en el cerebro. Este hallazgo respecto a la diferencia en las cantidades relativas de variantes de corte y empalme como

una función de ciertos genotipos se demostró en tres de los cuatro SNP en los que al menos un genotipo mostró una diferencia en la cantidad de SEC por variante de corte y empalme. Esta evidencia sugiere que la cantidad de SEC en el cerebro no está regulada únicamente por un genotipo. Como los haplotipos compuestos de SNP 9 y SNP b son significativamente diferentes entre los controles y los bipolares y entre los controles y los de esquizofrenia esto puede apoyar la observación de patrones de corte y empalme diferenciales del exón SEC encontrados en muchas muestras. Adicionalmente, el SNP 9 y el SNP b no están en LD y, por tanto, las asociaciones individuales en esquizofrenia y trastorno bipolar con estos SNP también pueden transmitirse a través de patrones de corte y empalme diferencial. El exón SEC estaba claramente regulado por ciertas combinaciones de minixones. Se han identificado variantes de corte y empalme concretas que pueden estudiarse adicionalmente y están quizá asociadas con SNP intrónicos reguladores.

Ejemplo 8

El litio ha sido desde hace tiempo el fármaco de elección para tratar enfermedad depresiva maníaca (compulsión maníaca-depresión; trastorno afectivo bipolar, BPD). Este ejemplo muestra genes de primates no humanos que muestran expresión diferencial en respuesta al tratamiento con litio. Los resultados tienen implicaciones para comprender los efectos estabilizadores del estado de ánimo del litio en pacientes con depresión maníaca.

Se realizó el perfilado de expresión génica en la corteza cingulada anterior (AnCg) usando micromatrices de oligonucleótidos de alta densidad (Affymetrix GeneChips). Se determinaron los perfiles de expresión génica diferenciales de cerebros de cadáver de monos sanos tratados con litio sobre los de controles no tratados, y se validaron los genes candidatos frente a los que se saben sensible al litio o selectivos de enfermedad.

Algunos de los genes candidatos que respondían a tratamiento crónico con litio era los mismos que los encontrados con los niveles de expresión cambiados en cerebros de cadáver de sujetos con trastornos del estado de ánimo. Nuestros resultados muestran que el sistema de señalización de GSK3B está alterado en BPD y que es una diana fisiológica del litio. El cambio observado en el sistema de señalización de GSK3B, por tanto, constituye un endofenotipo que probablemente es común a BPD y esquizofrenia, a pesar de su disparidad clínica y fenotípica. Los resultados, facilitando la reconstrucción de las redes genética subyacentes a la fisiopatología de BPD facilitará dirigir los estabilizadores racionales del estado de ánimo a la red de transducción de señales mediante GSK3.

El trastorno depresivo mayor (MDD) y el trastorno afectivo bipolar (BPD) son dos trastornos muy graves del estado de ánimo. MDD se caracteriza por depresión clínica, mientras que BPD está marcada por oscilaciones recurrentes y drásticos de emociones altas (compulsión maníaca) y bajas (depresión). Durante décadas, el carbonato de litio (Li_2CO_3 , habitualmente conocido como "litio") ha sido la medicación de referencia para la compulsión maníaca (comportamiento hiperactivo, incoherente y delirante). El litio, a diferencia de otros agentes de tratamiento antimaniacos es único en su capacidad de anular la afeción maníaca y restaurar el estado mental equilibrado del paciente. Aunque se han propuesto numerosas hipótesis que justifican las propiedades neuroprotectoras del litio, el mecanismo o mecanismos moleculares precisos por el que el litio provoca sus efectos "estabilizadores del estado de ánimo" en pacientes maniaco-depresivos sigue sin aclararse. Se abordó el reto de usar una estrategia de micromatriz porque puede permitir la detección simultánea de múltiples genes sensibles a litio y rutas en primates tratados con fármaco y la comparación directa de los cambios de expresión génica observados con los encontrados en cerebros de cadáver de sujetos con BPD. Se administró por vía oral suspensión de carbonato de litio (Roxane Laboratories, Inc., Columbus, OH) diluido en zumo de frutas (18 mg/kg de peso corporal) a un nivel plasmático diana de 0,6 a 1,2 mg Eq/ml. Los animales recibieron el fármaco dos veces al día durante periodos variables que varían de 4 meses a 1 año y 5 meses hasta eludir su tendencia a expulsar el fármaco.

El AnCg mostró un total de 220 transcritos candidatos (65 regulados positivamente y 155 regulados negativamente). Los genes candidatos de AnCg se enumeran en la tabla 28. Las anotaciones ontológicas ubicaron genes candidatos a varios procesos biológicos y rutas diferentes, incluyendo el sistema de señalización de GSK3B, como se había predicho en el AnCg.

La implicación del AnCg demostrada en este estudio junto con los informes publicados de implicación del hipocampo en la respuesta al litio implica una afectación similar del sistema límbico en trastornos del estado de ánimo, así como en la expresión génica diferencial provocada por el tratamiento crónico con litio. El presente estudio también ilumina múltiples redes funcionales interrelacionadas de rutas de señalización neuronales que actúan en unidad con GSK3B como conmutador funcional central que regula la expresión génica en las enfermedades del comportamiento de aparente diversidad fenotípica dispar, BPD y SZ. Los resultados muestran que la manipulación de GSK3B podría afectar a una o más de las rutas de inositol trifosfato, familia NF- κ B, apoptosis mitocondrial y ubiquitina-proteasoma.

Ejemplo 9

SUBUNIDADES DE V-ATPASA COMO CANDIDATOS GÉNICOS DE INTERÉS PARA TRASTORNO DEPRESIVO MAYOR (MDD).

De las 14 subunidades de V-ATPasa que se han investigado con micromatrices Affy y micromatrices Illumina, 7 subunidades (50 %) se expresan de forma diferencial ($P < 0,05$) en hipocampo de MDD frente al control en las matrices Affymetrix o Illumina. Tres de las siete subunidades se expresan de forma diferencial en hipocampo de MDD de matrices tanto Affymetrix como Illumina (véase la tabla 29). Dos de las subunidades de V-ATPasa también se expresan de forma diferencial ($P < 0,05$) en nuestro estudio de micromatriz Affy de hipocampo de mono (es decir, tabla 30, que muestra la comparación de tensión social crónica frente a ausencia de tensión). Estos hallazgos demuestran que los fármacos que se están desarrollando ahora para inhibir la V-ATPasa en pacientes con cáncer y osteoporosis también pueden demostrar ser útiles como novedosos antidepressivos.

5 Los ejemplos anteriores se proporcionan para ilustrar la invención, pero no limitar su alcance. Otras variantes de la invención serán fácilmente evidentes para un experto en la materia y quedan abarcadas por las reivindicaciones adjuntas.

Tabla 1a. Datos de sujetos para cohorte A.

15

Id del sujeto	género	edad	diagnóstico	pH cerebral	PMI	AnCg 18S/28S	relación AnCg 3'/5'	relación DLPFC 3'/5'
1881	M	69	BPD	6,91	11	0,68	1,36	1,21
2311	M	23	BPD	7,12	9	1,80	1,47	1,13
2466	M	26	BPD	6,92	19	1,35	1,75	1,64
2566	F	56	BPD	6,83	29	1,05	1,48	1,34
3038	M	52	BPD	7,05	28	1,04	1,37	1,20
3241	M	59	BPD	6,99	16	1,38	1,33	1,17
promedios para BPD		47,5		6,97	18,6	1,22	1,46	1,28
2861	F	60	Ct	6,99	24	1,25	2,07	1,80
3018	M	70	Ct	7,03	27	0,91	1,57	1,20
2169	M	18	Ct	6,97	22	1,61	1,62	1,18
2316	M	58	Ct	7,02	26	1,27	1,47	1,27
2292	M	55	Ct	6,89	15	1,45	1,29	1,18
2805	M	45	Ct	6,86	21	1,84	1,61	1,06
3196	M	44	Ct	6,87	23	1,26	1,67	1,22
promedios para controles		50		6,95	22,6	1,37	1,61	1,27
2208	F	72	MD	7,13	21	1,26	1,83	1,19
2267	M	19	MD	7,11	18	2,05	1,75	1,44
2315	M	58	MD	6,93	24	1,34	1,52	1,31
3071	M	49	MD	7,00	31	1,58	1,44	1,25
3064	M	46	MD	6,91	27	2,18	1,28	1,19
3031	M	49	MD	7,19	27	1,60	1,60	1,04
2944	M	52	MD	6,82	16	1,37	1,91	1,43
3004	F	48	MD	6,95	37	1,31	1,81	1,20
3168	M	39	MD	6,79	28	1,34	1,49	1,19
promedios para MDD		48,0		6,98	25,4	1,56	1,63	1,25

Tabla 1b. Datos de los sujetos para la cohorte B.

Id del sujeto	género	edad	diagnóstico	pH cerebral	PMI	AnCg 18S/28S	relación AnCg 3'/5'	relación DLPFC 3'/5'
3145	M	77	Ct	6,62	7			
3281	F	70	Ct	6,9	21			
3516	M	41	Ct	7,01	23			
3519	M	65	Ct	6,88	14			
3523	M	40	Ct	7,07	37			
3572	M	49	Ct	6,68	28			
promedios para controles		57		6,86	21,67			
3169	M	35	MD	7,04	25			
3365	M	47	MD	7,25	29			
3398	F	80	MD	6,68	15			
3481	M	66	MD	7,05	32			
promedios para MDD		57		7,01	25,25			

20

Tabla 2. Datos de micromatriz para todos los transcritos de FGF detectados de forma fiable en DLPFC o AnCg y datos resumidos para los estudios de confirmación.

ID UniGene	Transcrito	DLPFC		AnCg	
		valor p	dirección	valor p	dirección
Hs.278954	FGF1	<0,01 ^{‡,†}	Disminuida	0,01	Disminuida
Hs.284244	FGF2	NS		<0,01 ^{**‡}	Disminuida
Hs.433252	FGF7	NS		NS	
Hs.111	FGF9	<0,01	Aumentada	<0,01*	Aumentada
Hs.343809	FGF12	NS		<0,01*	Aumentada
Hs.6540	FGF13	NS		NS	
Hs.223851	FGF14	0,05	Aumentada	NS	
Hs.748	FGFR1	NS	Aumentada	NS	
Hs.404081	FGFR2	<0,01 ^{**‡,†}	Disminuida	<0,01 ^{**‡}	Disminuida
Hs.1420	FGFR3	<0,01 ^{**‡,†}	Disminuida	<0,01*	Disminuida

*Corrección de ensayos múltiples de FDR Met a un nivel de aceptación de un 5 % de falsos positivos.

[‡]La observación se confirmó en una cohorte independiente de sujetos con MDD y de control dados en la tabla 1b, que cumplen valores p de <0,05 en todos los casos indicados.

[†]La observación se confirmó por análisis de PCR a tiempo real con p<0,05.

NS = no significativo.

Tabla 3. BPD

ID UniGene	Símbolo del gen	Nombre del gen	ID RefSeq	N.º Acc. GeneBank	Locus Link	Cromosoma	AnCg-BP	AnCg-MD	Criterios	DLPFC-BP	DLPFC-MD	Criterios
Hs.407520	CHN2	quimerina (quimera) 2	NM_004067	U07223	1124	Crom:7p15.3	AUMENTO	NC	2a, 3			
Hs.13351	LANCL1	componente C de tipo 1 de lantibiótico sintetasa LanC (bacteriana)	NM_006055	Y11395	10314	Crom:2q33-q35	AUMENTO	NC	1, 2a	AUMENTO	NC	2a
Hs.309090	SFRS7	factor de corte y empalme, rica en arginina/serina 7, 35 kDa	NM_006276	L41887	6432	Crom:2p22.1				AUMENTO	NC	1, 2a, 3
Hs.7910	RYBP	proteína de unión a RING1 e YY1	NM_012234	AL049940	23429	Crom:3p14.2				AUMENTO	NC	1, 2a, 3
Hs.150101	LAMP1	proteína 1 de membrana asociada a lisosomas	NM_005561	J04182	3916	Crom:13q34	AUMENTO	NC	2a, 3			
Hs.90458	SPTLC1	serina palmitoil transferasa, cadena larga subunidad básica 1	NM_006415	Y08685	10558	Crom:9q22.2			UP	AUMENTO	NC	1, 2a, 3
Hs.406532	RPN2	riboforina II	NM_002951	AL031659	6185	Crom:20q12-q13.1	AUMENTO	NC	2a	AUMENTO	NC	1, 2a
Hs.408883	SCN1B	canal de sodio, abierto por voltaje, tipo I, beta	NM_001037	L10338	6324	Crom:19q13.1	DISMINUCIÓN	NC	1, 3			
Hs.91971	CGEF2	factor II de intercambio de nucleótidos de guanina regulado por AMPc	NM_007023	U78516	11069	Crom:2q31-q32	DISMINUCIÓN	NC	1, 3			
Hs.49117	---	proteína hipotética DKFZp564 N1662	---	AL080093	---	---				AUMENTO	NC	1, 3
Hs.84244	KCNB1	voltaje de potasio	NM_004	L02840	3745	Crom:20q13.2	DISMINUCIÓN	NC	1, 3			

Tabla 4. MDD

ID UniGene	Símbolo del gen	Nombre del gen	ID RefSeq	N.º Acc. Gene Bank	Locus Link	Cromosoma	AnCg-BP	AnCg-MD	Criterios	DLPFC-BP	DLPFC-MD	Criterios
Hs.5462	SLC4A 4	transportador de solutos de familia 4, cotransportador de bicarbonato y sodio, miembro 4	NM_003759	AF007216	8671	Crom:4q21	NC	DISMINUCIÓN	2b	NC	DISMINUCIÓN	3
Hs.44	PTN	pleiotrofina (factor 8 de crecimiento de unión a heparina, factor 1 de promoción de crecimiento de neuritas)	NM_002825	M57399	5764	Crom:7q33-q34				NC	DISMINUCIÓN	1, 2b
Hs.144845	BBOX1	butirobetaína (gamma), 2-oxoglutarato dioxigenasa (gamma-butirobetaína hidroxilasa) 1	NM_003986	AF082868	8424	Crom:11p14.2				NC	DISMINUCIÓN	1, 2b, 3
Hs.170133	FOXO1 A	dominio forkhead O1A (rabdomiomasarcoma)	MM_002015	AF032885	2308	Crom:13q14.1	NC	DISMINUCIÓN	1, 2b	NC	DISMINUCIÓN	1, 3
Hs.62192	F3	factor III de coagulación (tromboplastina, factor tisular)	NM_001993	J02931	2152	Crom:1p22-p21				NC	DISMINUCIÓN	1, 2b, 3
Hs.166994	FAT	homólogo 1 del supresor tumoral FAT (<i>Drosophila</i>)	NM_005245	X87241	2195	Crom:4q34-q35				NC	DISMINUCIÓN	1, 2b, 3
Hs.82002	EDNRB	receptor de endotelina de tipo B	NM_000115	S57283	1910	13q22	NC	DISMINUCIÓN	1, 2b	NC	DISMINUCIÓN	1, 2b, 3
Hs.403997	VIL2	villina 2 (ezrina)	NM_003379	X51521	7430	Crom:6q25.2-q26				NC	DISMINUCIÓN	1, 2b
Hs.8022	TU3A	proteína TU3A	NM_007177	AF035283	11170	Crom:3p21.1	NC	DISMINUCIÓN	1, 2b			
Hs.356876	GPR125	receptor 125 acoplado a proteína G	XM_291111	AK027494	166647	4p15.32-p15.31				NC	DISMINUCIÓN	1, 2b, 3

Hs.450919	GPC5	glicipicano 5	NM_004466	U66033	2262	Crom:13q3 2				NC		DISMINUCIÓN	1, 2b
Hs.414151	DAAM2	activador asociado a dishevelled de morfogénesis 2	NM_015345	AB002379	23500	Crom:6p21. 1	NC	DISMINUCIÓN	2b	NC		DISMINUCIÓN	3
Hs.172089	PORIM IN	gen de lesión de membrana inductor del receptor de pro-oncosis	NM_052932	AL050161	11490 8	Crom:11q2 2.1	NC	DISMINUCIÓN	1, 3				
Hs.77546	ANKRD 15	dominio 15 de repetición de anquirina	NM_015158	D79994	23189	Crom:9p24. 3				NC		DISMINUCIÓN	1, 3
Hs.26208	COL16 A1	colágeno, tipo XVI, alfa 1	NM_001856	M92642	1307	Crom:1 p35 -p34				NC		DISMINUCIÓN	1, 3
Hs.434494	SYNJ2	sinaptotajamina 2	NM_003898	AF039945	8871	Crom:6q25. 3	NC	DISMINUCIÓN	1, 3				
Hs.434418	MYT1 L	factor de transcripción de mielina de tipo 1	---	AB029029	23040	Crom:2p25. 3	NC	AUMENTO	1, 3				
Hs.78748	RIMS3	exocitosis de membrana regulador 3	---	D87074	9783	Crom:1pter -p22.2	NC	AUMENTO	1, 3				
Hs.436987	ZNF28 8	proteína de dedos de cinc 288	NM_015642	AL050276	26137	Crom:3q13. 2	NC	DISMINUCIÓN	1	NC		DISMINUCIÓN	1
Hs.391392	ID4	inhibidor de la unión de ADN 4, proteína de hélice-bucle-hélice negativa dominante	NM_001546	AL022726	3400	Crom:6p22 -p21				NC		DISMINUCIÓN	1
Hs.109052	C14orf 2	fase de lectura abierta 2 del cromosoma 14	NM_004894	AF054175	9556	Crom:14q3 2.33	NC	AUMENTO	1				
Hs.33455	PADI2	peptidil arginina desiminasa, tipo II	NM_007365	AB023211	11240	Crom:1p35. 2-p35.1	NC	DISMINUCIÓN	1				
Hs.438240	ZFYVE 16	dedos de cinc, que contiene dominio FYVE 16	NM_014733	AB002303	9765	Crom:5p15. 2-q14.3	NC	DISMINUCIÓN	1				
Hs.75462	BTG2	familia BTG, miembro 2	NM_006763	U72649	7832	Crom:1q32				NC		DISMINUCIÓN	1

Tabla 5. Genes de la ruta del factor de crecimiento

ID UniGene	Símbolo del gen	Nombre del gen	ID transcritto RefSeq	LocusLink	Localización cromosómica	% P	Dirección DL PFC MD	Dirección DL PFC BP	Dirección AnCg MD	Dirección AnCg BP
Hs.433326	IGFBP2	proteína de unión 2 al factor de crecimiento de tipo insulina 36 kDa	NM_000597	3485	Crom:2q33-q34	25	aumento	ninguno	aumento	disminución
Hs.16512	OGFRL1	receptor de tipo 1 del factor de crecimiento opiode	NM_024576	79627	Crom:6q13	28	disminución	ninguno	ninguno	disminución
Hs.799	DTR	receptor de toxina diftérica (factor de crecimiento de tipo factor epidérmico de unión a heparina)	NM_001945	1839	Crom:5q23	38	ninguno	aumento	ninguno	ninguno
Hs.105689	L TBP2"	proteína 2 de unión al factor beta de crecimiento transformante latente	NM_000428	4053	Crom:14q24	42	ninguno	ninguno	ninguno	disminución
Hs.289019	L TBP3	proteína 3 de unión al factor beta de crecimiento transformante latente	NM_021070	4054	Crom:11q92	43	ninguno	ninguno	ninguno	aumento
Hs.376032	PDGFA	polipéptido alfa del factor de crecimiento derivado de plaquetas	NM_002607 /// NM_033023	5154	Crom:7p22	43	ninguno	ninguno	ninguno	disminución
Hs.839	IGFALS	proteína de unión al factor de crecimiento de tipo insulina, subunidad inestable en ácido	NM_004970	3483	Crom:16p13.3	48	ninguno	ninguno	ninguno	disminución
Hs.342874	TGFBR3	receptor III del factor de crecimiento transformante beta (betaglicano, 300 kDa)	NM_003243	7049	Crom:1p33-p32	54	ninguno	aumento	ninguno	ninguno
Hs.404081	FGFR2	receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (cinasa expresada en bacterias, receptor del factor de crecimiento de queratinocitos, disostosis craneofacial 1, síndrome de Crouzon,	NM_000141 /// NM_022969 /// NM_022970 /// NM_022971 /// NM_022972 /// NM_022973 /// NM_022974 /// NM_022975 /// NM_02297	2263	Crom:10q26	55	disminución	ninguno	disminución	aumento

Hs.433252	FGF7	síndrome de Pfeiffer, síndrome de Jackson-Weiss)	6 /// NM_023028 /// NM_Q23029 /// NM_023030 /// NM_02_3031	2252		ninguno	ninguno	ninguno	ninguno
Hs.67896	OGFR	factor 7 de crecimiento de fibroblastos (factor de crecimiento de queratinocitos)	NM_002009	11054	Crom:15q15-q2 1.1	ninguno	ninguno	ninguno	ninguno
Hs.446350	TGFBRA P1	receptor del factor de crecimiento opioide	NM_007346	9392	Crom:20q13.3	ninguno	ninguno	ninguno	disminución
Hs.194208	FRS3	proteína 1 asociada al receptor del factor de crecimiento transformante beta	NM_004257	10817	Crom:2q12.2	aumento	ninguno	ninguno	ninguno
Hs.169300	TGFB2	sustrato 3 del factor de crecimiento de fibroblastos	NM_006653	7042	Crom:6p21.1	ninguno	ninguno	aumento	disminución
Hs.411881	GRB14	factor de crecimiento transformante beta 2	NM_003238	2888	Crom:1q41	ninguno	ninguno	disminución	ninguno
Hs.1420	FGFR3	proteína 14 de unión al receptor del factor de crecimiento	NM_004490	2261	Crom:2q22-q24	ninguno	ninguno	aumento	aumento
Hs.450230	GBP3	receptor 3 del factor de crecimiento de fibroblastos (acondroplasia, enanismo tanatóforico)	NM_000142 /// NM_022965	3486	Crom:4p16.3	disminución	ninguno	disminución	ninguno
Hs.308053	IGF1	proteína 3 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina	NM_000598	3479	Crom:7p13-p12	ninguno	ninguno	disminución	disminución
Hs.419124	MET	factor 1 de crecimiento de tipo insulina (somatom edina C)	NM_000618	4233	Crom:12q22-q2 3	ninguno	ninguno	disminución	disminución
Hs.284244	FGF2	protooncogén met (receptor del factor de crecimiento de hepatocitos)	NM_000245	2247	Crom:7q31	ninguno	ninguno	aumento	ninguno
Hs.76473	IGF2R	factor 2 de crecimiento de fibroblastos (básico)	NM_002006	3482	Crom:4q26-q27	ninguno	ninguno	disminución	ninguno
Hs.410037	CTGF	receptor del factor 2 de crecimiento de tipo insulina	NM_000876	1490	Crom:6q26	ninguno	ninguno	disminución	disminución
		factor de crecimiento de tejido conjuntivo	M_001901		Crom:6q23.1	disminución	ninguno	ninguno	aumento

Hs.274313	IGBP6	proteína 6 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina	NM_002178	3489	Crom:12q13	94	ninguno	ninguno	aumento	disminución
Hs.111	FGF9	factor 9 de crecimiento de fibroblastos (factor activador de la glía)	NM_002010	2254	Crom:13q11-q12	99	aumento	aumento	aumento	ninguno
Hs.380833	IGFBP5	proteína 5 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina	NM_000599	3488	Crom:2q33-q36	99	disminución	ninguno	ninguno	disminución
Hs.79095	EPS15	sustrato 15 de la ruta del receptor del factor de crecimiento epidérmico	NM_001981	2060	Crom:1p32	100	ninguno	ninguno	ninguno	aumento
Hs.2132	EPS8	sustrato 8 de la ruta del receptor del factor de crecimiento epidérmico	NM_004447	2059	Crom:12q23-q24	100	disminución	aumento	disminución	ninguno
Hs.278954	FGF1	factor 1 de crecimiento de fibroblastos (ácido)	NM_000800 /// NM_013394 /// NM_033136 /// NM_033137	2246	Crom:5q31	100	disminución	ninguno	disminución	ninguno
Hs.343809	FGF12	factor 12 de crecimiento de fibroblastos	NM_004113 /// NM_021032	2257	Crom:3q28	100	ninguno	ninguno	ninguno	ninguno
Hs.7768	FIBP	proteína de unión intracelular al factor de crecimiento de fibroblastos (ácido)	NM_004214 /// NM_198897	9158	Crom:11q13.1	100	ninguno	ninguno	ninguno	aumento
Hs.127842	HDGFRP ₃	proteína 3 relacionada con el factor de crecimiento derivado de hepatoma	NM_016073	50810	Crom:15q11.2	100	ninguno	ninguno	aumento	ninguno
Hs.416959	HGS	sustrato de tirosina cinasa regulada por el factor de crecimiento de hepatocitos	NM_004712	9146	Crom:17q25	100	ninguno	ninguno	ninguno	aumento
Hs.239176	IGF1R	receptor del factor 1 de crecimiento de tipo insulina	NM_000875	3480	Crom:15q25-q2	100	ninguno	ninguno	ninguno	disminución
Hs.435795	IGFBP7	proteína 7 de unión al factor de crecimiento de tipo insulina	NM_001553	3490	Crom:4q12	100	disminución	disminución	disminución	ninguno
Hs.439109	NTRK2	tirosina cinasa neurotrófica, receptor, tipo 2	NM_006180	4915	Crom:9q22.1	100	disminución	ninguno	disminución	ninguno

Hs.26776	NTRK3	tirosina cinasa neurotrófica, receptor, tipo 3	NM_002530	4916	Crom:15q25	100	ninguno	ninguno	ninguno	disminución
Hs.43080	PDGFC	factor C de crecimiento derivado de plaquetas	NM_016205	56034	Crom:4q32	100	ninguno	ninguno	ninguno	aumento
Hs.44	PTN	pleiotrofina (factor 8 de crecimiento de unión a heparina, factor 1 de promoción del crecimiento de neuritas)/// pleiotrofina (factor 8 de crecimiento de unión a heparina, factor 1 que promueve el crecimiento de neuritas)	NM_002825	5764	Crom:7q33-q34 /// Crom:7q33-q34	100	disminución	ninguno	disminución	ninguno
Hs.114360	TSC22	proteína TSC-22 estimulada por el factor de crecimiento beta transformante	NM_006022 /// NM_183422	8848	Crom:13q14	100	ninguno	ninguno	aumento	ninguno
Hs.73793	VEGF	factor de crecimiento del endotelio vascular	NM_003376	7422	Crom:6p12	100	disminución	ninguno	disminución	ninguno

Tabla 6: Genes de la ruta de GPCR

Conjunto de sondas U95Av2	ID UniGene	Símbolo del gen	Nombre del gen	ID RefSeq	N.º de Acc. Gene Bank	Locus Link	Cromosoma	AnCg-BP	AnCg-MD	DLPFC-BP	DLPFC-MD
CINP 38604_at	Hs.1832	NPY	neuropeptido Y	NM_000905	NM_000905	4852	Crom:7p15.1	AUMENTO			
CINP 1430_at	Hs.12409	SST	somatostatina	NM_001048	NM_001048	6750	Crom:3q28	AUMENTO			
CINP 2083_at	Hs.203	CCKBR	receptor de colecitocinina B	BC000731	BC000740	887	Crom:11p15.4	AUMENTO		AUMENTO	
CINP 39928_at	Hs.512145	GRM3	receptor de glutamato, metabotropico 3	NM_000840	NM_000840	2913	Crom:7q21.1-q21.2	AUMENTO		AUMENTO	
CINP 32623_at	Hs.167017	GABBR1	receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA) B, 1	NM_001470	NM_001470	2550	Crom:6p21.31				
CINP 37095_L_at	Hs.99855	FPRL1	receptor de péptido de formilo de tipo 1	NM_001462	M88107	2358	Crom:19q13.3-q13.4	DISMINUCIÓN			
CINP 1198_at	Hs.82002	EDNRB	receptor de endotelina de tipo B	NM_000115	M74921	1910	Crom:13q22				DISMINUCIÓN
CINP 34297_at	Hs.406094	GPR37	receptor 37 acoplado a proteína G (receptor de endotelina de tipo B)	NM_005302	T16257	2861	Crom:7q31	AUMENTO	DISMINUCIÓN	AUMENTO	DISMINUCIÓN
CINP 40240_at	Hs.448805	GPRC5B	receptor acoplado a proteína G familia C, grupo 5, miembro B	NM_016235	AF202640	51704	Crom:16p12	AUMENTO	DISMINUCIÓN	AUMENTO	DISMINUCIÓN
CINP 38580_at	Hs.469951	GNAQ	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), polipéptido q	NM_002072	U40038	2776	Crom:9q21	AUMENTO			AUMENTO
CINP 38279_at	Hs.437081	GNAZ	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), polipéptido alfa z	NM_002073	NM_002073	2781	Crom:22q11.22	AUMENTO			
CINP 38176_at	Hs.155090	GNB5	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), beta 5	NM_006578	NM_0161194	10681	Crom:15q21.1				AUMENTO

41086_at	Hs.141492	RGS20	regulador de señalización de proteína G 20	NM_003702	AF074979	8601	Crom.:8q12.1		DISMINUCIÓN	DISMINUCIÓN
34727_at	Hs.386726	RGS4	regulador de señalización de proteína G 4	NM_005613	AL514445	5999	Crom.:1q23.2			AUMENTO
CINP 36311_at	Hs.416061	PDE1A	fosfodiesterasa 1A, dependiente de calmodulina	NM_005019	NM_005019	5136	Crom.:4	AUMENTO		
32645_at	Hs.502577	PDE4DIP	proteína de interacción con fosfodiesterasa 4D (miomegalina)	XM_380170	NM_022359	9659	Crom.:1q12	AUMENTO		
37676_at	Hs.78746	PDEBA	fosfodiesterasa 8A	NM_002605	BE568209	5151	Crom.:15q25.2			DISMINUCIÓN
CINP 226_at	Hs.280342	PRKAR1A	proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, tipo I, alfa (anulador 1 específico de tejido)	NM_002734	AL050038	5573	Crom.:17q23-q24	AUMENTO		
CINP 1383_at	Hs.512628	PPP2R2A	proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A), subunidad reguladora B (PR 52), isoforma alfa	NM_002717	NM_002717	5520	Crom.:8p21.1	AUMENTO		
39364_s_at	Hs.303090	PPP1R3C	proteína fosfatasa 1, subunidad 3C reguladora (inhibidora)	NM_005398	N26005	5507	Crom.:10q23-q24		DISMINUCIÓN	DISMINUCIÓN
39780_at	Hs.187543	PPP2CB	proteína fosfatasa 3 (antiguamente 2B), subunidad catalítica, isoforma beta (calcineurina A beta)	NM_021132	NM_021132	5532	Crom.:10q21-q22	AUMENTO		
CINP 40704_at	Hs.85701	PIK3CA	fosfoinosítido-3-quinasa, catalítica, polipeptido alfa	NM_006218	NM_006218	5290	Crom.:3q26.3	DISMINUCIÓN		
CINP 33628_g_at	Hs.426967	PIK3CD	fosfoinosítido-3-quinasa, catalítica, polipeptido delta	NM_005026	U86453	5293	Crom.:1p36.2	DISMINUCIÓN		

CINP	146_at	Hs.154846	PIK4CB	fosfatidilinositol-4-cinasa, catalítica, polipeptido beta	NM_002651	NM_002651	5298	Crom:1q21	AUMENTO			
CINP	40217_s_at	Hs.380684	CDS1	CDP-diacilglicerol sintasa (fosfatidato ciditililtransferasa)	NM_001263	NM_001263	1040	Crom:4q21.23	DISMINUCIÓN			
CINP	656_at	Hs.32309	INPP1	inositol fosfato-1-fosfatasa	NM_002194	NM_002194	3628	Crom:2q32	AUMENTO			
CINP	118_at	Hs.2722	TTPKA	inositol 1,4,5-trisfosfato 3-cinasa A	NM_002220	NM_002220	3706	Crom:15q14-q21				AUMENTO
	33508_at	Hs.334575	INPP4A	inositol polifosfato-4-fosfatasa, tipo I, 107 kDa	NM_001566	AA355179	3631	Crom:2q11.2				AUMENTO
		Hs.149900	ITPR1	receptor de inositol 1,4,5-trisfosfato, tipo I	NM_002222	NM_002222	3708	Crom:3p26-p25	AUMENTO			
		Hs.7370	PITPNB	proteína de transferencia de fosfatidilinositol, beta	NM_012399	AL031591	23760	Crom:22q12.1				AUMENTO
		Hs.349845	PRKCB1	proteína cinasa C, beta 1	NM_002738	NM_002738	5579	Crom:16p11.2	AUMENTO			AUMENTO
		Hs.407181	PRKCZ	proteína cinasa C, zeta	NM_002744	NM_002744	5590	Crom:1p36.33-p36.2	AUMENTO			
CINP		Hs.324473	MAPK1	proteína cinasa 1 activada por mitógenos	NM_002745	NM_002745	5694	Crom:22q11.2	AUMENTO			AUMENTO
CINP		Hs.132311	MAP2K1	proteína cinasa 1 activada por mitógenos	NM_002755	AI571419	5604	Crom:15q22.1-q22.33	AUMENTO			AUMENTO
CINP		Hs.134106	MAP2K4	proteína cinasa 4 activada por mitógenos	NM_003010	NM_003010	6416	Crom:17p11.2	AUMENTO			AUMENTO
CINP		Hs.64056	PAK1	cinasa 1 activada por p21/Cdc42/Rac1 (homólogo de STE20, levaduras)	NM_002576	U51120	5058	Crom:11q13-q14	AUMENTO			AUMENTO
CINP		Hs.152663	PAK3	cinasa 3 activada	NM_002478	AW085556	5063	Crom:Xq22.3-	AUMENTO			AUMENTO

CINP	Hs.355832	CDC42	por p21 (CDKN1A) 42 del ciclo de división celular (proteína de unión a GTP, 25 kDa)	NM_001791	NM_015858	998	q23 Crom:1p36.1	AUMENTO	AUMENTO
CINP	Hs.37003	HRAS	homólogo del oncogén vírico del sarcoma de rata de Harvey v-Ha-ras	NM_005343	NM_005343	3265	Crom:11p15.5	AUMENTO	AUMENTO

TABLA 7 FACTOR DE CRECIMIENTO

ID UniGene	Símbolo del gen	MDD Ami	AnCg	DLPFC	HC	nAcc	BPD Ami	AnCg	DLPFC	HC	nAcc
Sistema del factor de crecimiento epidérmico											
Hs.419815	EGF				-1,1						
Hs.79095	EPS15										1,3
Hs.147176	EPS15R										
Hs.2132	EPS8		-1,2								
Hs.799	DTR						-1,1				
Sistema del factor de crecimiento de fibroblastos											
Hs.278954	FGF1	-1,2			-1,4						
Hs.343809	FGF12	1,5		1,5							
Hs.6540	FGF13					1,5				1,5	
Hs.223851	FGF14	1,5					1,3			1,4	
Hs.284244	FGF2	-1,4	-1,3		-1,4						-1,8
Hs.433252	FGF7								-1,1		
Hs.111	FGF9	1,4	1,2	1,3	1,6						
Hs.748	FGFR1										
Hs.404081	FGFR2	-1,1	-1,3	-1,2	-1,3						
Hs.1420	FGFR3	-1,2	-1,4	-1,5							
Hs.7768	FIBP				1,3						
Hs.194208	FRS3										
Sistema del factor de crecimiento de tipo insulina											
Hs.308053	IGF1										
Hs.239176	IGF1R				-1,2		-1,3				
Hs.76473	IGF2R										
Hs.839	IGFALS										
Hs.433326	IGFBP2		1,4								
Hs.450230	IGFBP3	-1,3					-1,4				
Hs.1516	IGFBP4						-1,6				
Hs.380833	IGFBP2	-1,2	-1,2	-1,2							
Hs.274313	IGFBP6										
Hs.435795	IGFBP7										
Neurotrofinas											
Hs.439027	BDNF										
Hs.439109	NARK2	-1,2	-1,4	-1,3	-1,3						
Hs.26776	NTRK3										
Hs.194774	CNTFR										
Sistema del factor de crecimiento opiodeo											
Hs.67896	OGFR										
Hs.16512	OGFRL 1			-1,2				-1,2			
Sistema del factor de crecimiento derivado de plaquetas											
Hs.1976	PDGFB										
Hs.43080	PDGFC										
Hs.74615	PDGFR A	-1,3		-1,3	-1,3			-1,2		-	1,3
Hs.307783	PDGFR B										
Sistema del factor de crecimiento transformante											
Hs.25195	EBAF										
Hs.435067	ECGF1										
Hs.170009	TGFA									-	1,1
Hs.169300	TGFB2										
Hs.421496	TGFBI						-1,9				
Hs.82028	TGFBR 2										
Hs.342874	TGFBR 3						-1,3				
Hs.446350	TGFBR AP1										
Hs.114360	TSC22										
Hs.241257	LTBP1						-1,2	-1,1			
Hs.105689	LTBP2						-1,2				
Hs.289019	LTBP3										
Sistema del factor de crecimiento del endotelio vascular											

ES 2 660 765 T3

Hs.73793	-VEGF				-1,4							
Hs.78781	VEGFB											
Hs.79141	VEGFC											
Otros factores de crecimiento/receptores												
Hs.89525	HDGF											
Hs.127842	HDGFR P3				1,3	1,3					1,3	1,2
Hs.44	PTN		-1,2									
Hs.270833	AREG											
Hs.410037	CTGF											
Otras proteínas de señalización del receptor del factor de crecimiento												
Hs.512118	GRB10											
Hs.411881	GRB14											
Hs.411366	GRB2	1,1										
Hs.416959	HGS							1,1				
Hs.419124	MET											

Tabla 8: GLU/GABA
 Genes de señalización de GABA/glutamato en trastornos del estado de ánimo - genes SFN para la inclusión IDF

ID UniGene	Gen	Nombre común	Locus	BPD		MDD		Ami	HC	DLPFC	HC	Ami
				AnCg	HC	AnCg	HC					
Receptor GABA-érgico:												
receptor de GABA A												
Hs.24969	GABRA5	Receptor de GABA (A), alfa 5	GABA-A-Ra5	15q11.2	1,58	1,64	1,58					
Hs.302352	GABARB3	Receptor de GABA (A), beta 3	GABA-A-Rb3	15q11.2			1,54					
Hs.7195	GABARG2	Receptor de GABA (A), gamma 2	GABA-A-Rg2	5q3.1			1,58	1,64				1,59
Receptor de glutamato												
Hs.7117	GRIA1	Ionotrópico, AMPA1	IGluR1	5q31.1				1,18				
Hs.512145	GRM3	receptor de glutamato, metabotrópico 3	mGluR3	7q21.1	1,22		1,32					
Transportadores de glutamato												
Hs.349088	SLC1A2	Transportador de glutamato, dependiente de Na ⁺ , EAAT2	GLT-1; EAAT2	11p13	0,84		0,71		0,87			0,81
Hs.371369	SLC1A3	Transportador de glutamato, dependiente de Na ⁺ , EAAT1	GLAST; EAAT1	5p13			0,65					
Hs.442669	GLUL	Glutamina sintetasa Glutamato-amoniaco ligasa	Glutamina sintetasa	1q31			0,72					0,86

GABA, ácido gamma aminobutírico; glut/glutamato, ácido glutámico; MDD, trastorno depresivo mayor; BPD, trastorno bipolar; AnCg, corteza cingulada anterior; DLPFC, corteza prefrontal dorso-lateral; HC, hipocampo; Ami, amígdala. Los números (cambio factorial) en ROJO indican AUMENTOS y AZUL las DISMINUCIONES

Rutas de señalización de proteína G y GPCR y trastornos del estado de ánimo

Tabla 9

Análisis de rutas

Corteza prefrontal dorsolateral

Trastorno bipolar		Trastorno depresivo mayor					
Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE	Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE
PKC	GenMAPP	1.º	0,00495	Hs_metabolismo de glutamato	GenMAPP	1.º	0,338
Hs_señalización de proteína G	GenMAPP	2.º	0,121	Hs_ruta de señalización de G13	GenMAPP	2.º	0,387
Hs_cadena de transporte de electrones	GenMAPP	3.º	0,212	Proteína G beta, gamma	GenMAPP	3.º	0,478
Hs_proteínas ribosómicas	GenMAPP	4.º	0,29	Hs_GPCR peptídicos	GenMAPP	4.º	0,566
Hs_señalización de Wnt	GenMAPP	5.º	0,362	Hs_señalización de proteína G	GenMAPP	5.º	0,571

Corteza cingulada anterior

Trastorno bipolar		Trastorno depresivo mayor					
Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE	Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE
Hs_cadena de transporte de electrones	GenMAPP	1.º	0,0972	GPCR-huérfano	GenMAPP	1.º	0,0407
Hs_proteínas ribosómicas	GenMAPP	2.º	0,102	Hs_GPCR huérfanos	GenMAPP	2.º	0,0447
GPCR-huérfano	GenMAPP	3.º	0,289	Hs_cadena de transporte de electrones	GenMAPP	3.º	0,0677
PKA	GenMAPP	4.º	0,368	GPCR	GenMAPP	4.º	0,189
Hs_degradación del proteasoma	GenMAPP	5.º	0,427	Señalización de PI	GenMAPP	5.º	0,198

Amígdala

Trastorno bipolar		Trastorno depresivo mayor					
Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE	Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE
Hs_receptores nucleares	GenMAPP	1.º	0,0826	Hs_glucólisis y gluconeogénesis	GenMAPP	1.º	0,0022
Hs_apoptosis	GenMAPP	2.º	0,228	Hs_ciclo de Krebs-TCA	GenMAPP	2.º	0,00447
GPCR-huérfano	GenMAPP	3.º	0,46	Hs_cadena de transporte de electrones	GenMAPP	3.º	0,0563
GPCR	GenMAPP	4.º	0,555	Señalización de PI	GenMAPP	4.º	0,0846
Hs_ciclo de Krebs-TCA	GenMAPP	5.º	0,61	Hs_señalización de proteína G	GenMAPP	5.º	0,154

Hipocampo

Trastorno bipolar		Trastorno depresivo mayor					
Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE	Categoría del gen	Sistema	Rango	Valor EASE
Hs_cadena de transporte de electrones	GenMAPP	1.º	0,00000276	Hs_cadena de transporte de electrones	GenMAPP	1.º	2,41E-07
Hs_glucólisis y gluconeogénesis	GenMAPP	2.º	0,00838	Hs_glucólisis y gluconeogénesis	GenMAPP	2.º	0,0059
Señalización de AMPc	GenMAPP	3.º	0,134	Rn_proteínas ribosómicas	GenMAPP	3.º	0,16
PKA	GenMAPP	4.º	0,14	Hs_ciclo de Krebs-TCA	GenMAPP	4.º	0,179
GPCR	GenMAPP	5.º	0,187	Señalización de MAPK	GenMAPP	5.º	0,22

Tabla 9

Datos de matriz

Corteza prefrontal dorsolateral Trastorno bipolar frente a Control		Corteza cingulada anterior Trastorno bipolar frente a Control				
Grupo UniGene	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p (BP-Control)	FC (BP-Control)
Hs.458426	colecistocinina	CCK	ligando	ligando-neuropeptido	0,021	1,164
Hs.155090	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), beta 5	GNB5	proteína G beta, gamma	GNB	0,025	1,210
Hs.434387	proteína cinasa C, un	RKCN	señalización de PI	PKC	0,023	1,081
Hs.496511	proteína cinasa C, iota	PRKCI	señalización de PI	PKC	0,048	1,184
Hs.408049	proteína cinasa C, theta	PRKCQ	señalización de PI	PKC	0,046	1,104
Hs.2890	proteína cinasa C, gamma	PRKCG	señalización de PI	PKC	0,032	0,757
Trastorno depresivo mayor frente a Control		Corteza cingulada anterior Trastorno bipolar frente a Control				
Grupo UniGene	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p (BP-Control)	FC (BP-Control)
Hs.458426	colecistocinina	CCK	ligando	ligando-neuropeptido	0,0015	1,152
Hs.82002	receptor de endotelina de tipo B	EDNRB	GPCR	GPCR-neuropeptido	0,000	0,550
Hs.184841	receptor 2 de somatostatina	SSTR2	GPCR	GPCR-neuropeptido	0,007	1,142
Hs.448805	receptor acoplado a proteína G, familia C, grupo 5, miembro B	GPCR5B	GPCR	GPCR-huérfano	0,009	0,694
Hs.6527	receptor 56 acoplado a proteína G	GPR56	GPCR	GPCR-huérfano	0,010	0,790
Hs.155090	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), beta 5	GNB5	proteína G beta, gamma	GNB	0,024	1,184
Hs.8107	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), gamma 12	GNG12	proteína G beta, gamma	GNG	0,004	0,743
Hs.141492	regulador de señalización de proteína G 20	RGS20	regulador de proteína G	RGS	0,007	0,582
Corteza cingulada anterior Trastorno bipolar frente a Control		Corteza cingulada anterior Trastorno bipolar frente a Control				
Grupo UniGene	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p (BP-Control)	FC (BP-Control)
Hs.203	receptor de colecistocinina B	CCKBR	GPCR	GPCR-neuropeptido	0,019	1,215
Hs.188	fosfodiesterasa 4B, específica de AMPc (homólogo de fosfodiesterasa E4 duncce <i>Drosophila</i>)	PDE4B	señalización de AMPc	fosfodiesterasa	0,026	0,880
Hs.350631	proteína 13 de anclaje a cinasa A (PRKA)	AKAP13	señalización de AMPc	PKA	0,019	0,887
Hs.440404	proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, tipo II, alfa	PRKAR2A	señalización de AMPc	PKA	0,007	0,954
Hs.183994	proteína fosfatasa 1, subunidad catalítica, isoforma alfa	PPP1CA	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,004	1,152
Hs.435238	proteína fosfatasa 1, subunidad 1A reguladora (inhibidora)	PPP1R1A	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,017	1,233

Trastorno depresivo mayor frente a Control						
Grupo UniGene	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p (BP-Control)	FC (BP-Control)
Hs.82002	receptor de endotelina de tipo B	EDNRB	GPCR	GPCR-neuropeptido	0,001	0,565
Hs.203	receptor de colesticodina B	CCKBR	GPCR	GPCR-neuropeptido	0,011	1,205
Hs.406094	receptor 37 acoplado a proteína G	GPR37	GPCR	GPCR-huérfano	0,003	0,595
Hs.448805	receptor acoplado a proteína G, familia C, grupo 5, miembro B	GPRC5B	GPCR	GPCR-huérfano	0,000	0,662
Hs.6527	receptor 56 acoplado a proteína G	GPR56	GPCR	GPCR-huérfano	0,002	0,787
Hs.46332	receptor 6 acoplado a proteína G	GPR6	GPCR	GPCR-huérfano	0,042	1,249
Hs.160271	receptor 48 acoplado a proteína G	GPR48	GPCR	GPCR-huérfano	0,000	0,713
Hs.166705	receptor 49 acoplado a proteína G	GPR49	GPCR	GPCR-huérfano	0,011	0,839
Hs.198612	receptor 51 acoplado a proteína G	GPR51	GPCR	GPCR-huérfano	0,003	1,173
Hs.155090	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), beta 5	GNB5	proteína G beta, gamma	GNB	0,010	1,199
Hs.149900	receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, tipo 1	ITPR1	señalización de PI	receptor e IP3	0,003	1,227
Hs.153687	inositol polifosfato-4-fosfatasa, tipo II, 105 kDa	INPP4B	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,001	1,246
Hs.151408	fosfolipasa C, beta 4	PLCB4	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,005	1,215
Hs.52463	inositol polifosfato-5-fosfatasa F	INPP5F	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,003	1,181
Hs.158318	diacilglicerol cinasa, beta 90 kDa	DGKB	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,024	1,192
Hs.249235	fosfoinositido-3-cinasa, clase 2, polipeptido alfa	PIK3C2A	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,027	0,770
Hs.408063	inositol polifosfato-5-fosfatasa, 40 kDa	INPP5A	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,011	1,126
Hs.239818	fosfoinositido-3-cinasa, catalítica, polipeptido beta	PIK3CB	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,021	1,084
Hs.349845	proteína cinasa C, beta 1	PRKCB1	señalización de PI	PKC	0,014	1,125
Hs.79000	proteína 43 asociada al crecimiento	GAP43	señalización de PI	relacionado con PKC	0,006	1,133
Amígdala						
Trastorno bipolar frente a Control						
ID de columna	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p (BP-Control)	FC (BP-Control)
Hs.12409	somatostatina	SST	ligando	ligando-neuropeptido	0,011	1,672
Hs.46453	receptor 17 acoplado ac proteína G	GPR17	GPCR	GPCR-huérfano	0,034	1,457
Hs.118552	ortólogo probable de proteína de unión a GRP78 de rata	GBP	GPCR	GPCR-huérfano	0,009	1,170

Trastorno depresivo mayor frente a Control						
Grupo UniGene	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p (BP-Control)	FC (BP-Control)
Hs.22584	prodinorfina	PDYN	ligando	ligando-neuropéptido	0,003	2,184
Hs.131138	receptor 2 de neurotensina	NTSR2	GPCR	GPCR-neuropéptido	0,001	0,684
Hs.82002	receptor de endotelina de tipo B	EDNRB	GPCR	GPCR-neuropéptido	0,005	0,706
Hs.46453	receptor 17 acoplado a proteína G	GPR17	GPCR	GPCR-huérfano	0,003	0,661
Hs.6527	receptor 56 acoplado a proteína G	GPR56	GPCR	GPCR-huérfano	0,000	0,781
Hs.448805	receptor acoplado a proteína G, familia C, grupo 5, miembro B	GPCR5B	GPCR	GPCR-huérfano	0,039	0,870
Hs.155090	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), beta 5	GNB5	proteína G, beta, gamma	GNB	0,000	1,295
Hs.8107	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), gamma 12	GNG12	proteína G, beta, gamma	GNG	0,001	0,732
Hs.50612	proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), alfa 14	GNA14	señalización de PI	GNA	0,007	0,691
Hs.149900	receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, tipo 1	ITPR1	señalización de PI	receptor de IP3	0,003	1,454
Hs.158318	diacilglicerol cinasa, beta 90 kDa	DGKB	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,001	1,444
Hs.78877	inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa B	ITPKB	señalización de PI	metabolismo de fosfatidilinositol	0,001	0,727
Hs.2722	inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa A	ITPKA	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,011	1,461
Hs.408063	inositol polifosfato-5-fosfatasa 40 kDa	INPP5A	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,003	1,358
Hs.429643	fosfolipasa C, beta 1 (específica de fosoinositido)	PLCB1	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,004	1,203
Hs.249235	fosfoinositido-3-cinasa, clase 2, polipéptido alfa	PIK3C2A	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,013	0,782
Hs.52463	inositol polifosfato-5-fosfatasa F	INPP5F	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,004	1,282
Hs.334575	inositol polifosfato-4-fosfatasa, tipo I, 107 kDa	INPP4A	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,013	1,138
Hs.25156	inositol polifosfato-5-fosfatasa, 72 kDa	INPP5E	señalización de PI	fosfatidilinositol	0,014	0,914
Hs.349845	proteína cinasa C, beta 1	PRKCB1	señalización de PI	PKC	0,002	1,600
Hs.512640	proteína cinasa C. Sustrato 80K-H	PRKCSH	señalización de PI	PKC	0,004	0,916
Hs.349611	proteína cinasa C, alfa	PRKCA	señalización de PI	PKC	0,005	0,923

Hipocampo	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	valor-p	FC
Grupo UniGene	CAP, proteína 2, asociada a adenilato	CAP2	señalización de AMPc	relacionado con adenilato ciclasa	(BP-Control)	(BP-Control)
Hs.296341	ciclasa (levaduras)				0,035	1,396
Hs.13313	proteína de tipo 2 de unión a elemento sensible a AMPc	CREBL2	señalización de AMPc	CRE	0,033	1,341
Hs.203862	proteína de unión a nucleótido de guanidina (proteína G), polipéptido 1 de actividad de unión alfa	GNAI1	señalización de AMPc	GNA	0,000	2,075
Hs.157307	locus de complejo GNAS	GNAS	señalización de AMPc	GNA	0,038	1,127
Hs.416467	fosfodiesterasa 10A	PDE10A	señalización de AMPc	fosfodiesterasa	0,001	0,921
Hs.386791	fosfodiesterasa 3A, inhibida por GMPc	PDE3A	señalización de AMPc	fosfodiesterasa	0,005	0,790
Hs.337616	fosfodiesterasa 3B, inhibida por GMPc	PDE3B	señalización de AMPc	fosfodiesterasa	0,009	0,835
Hs.43322	proteína cinasa, activada por AMP, subunidad catalítica alfa 1	PRKAA1	señalización de AMPc	PKA	0,001	0,880
Hs.350631	proteína 13 de anclaje a cinasa A (PRKA)	AKAP13	señalización de AMPc	PKA	0,001	0,806
Hs.280342	proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, tipo 1 alfa (anulador 1 específico de tejido)	PRKAR1A	señalización de AMPc	PKA	0,003	1,569
Hs.156324	proteína cinasa, dependiente de AMPc, catalítica, beta	PRKACB	señalización de AMPc	PKA	0,012	1,418
Hs.3136	proteína cinasa, activada por AMP, subunidad no catalítica gamma 1	PRKAG1	señalización de AMPc	PKA	0,014	1,225
Hs.433700	inhibidor alfa de proteína cinasa (catalítica, dependiente de AMPc)	PKIA	señalización de AMPc	relacionado con PKA	0,014	1,385
Hs.79081	proteína fosfatasa 1, subunidad catalítica como isoforma gamma	PPP1CC	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,001	1,426
Hs.267819	proteína fosfatasa 1, subunidad 2 reguladora (inhibidor)	PPP1R2	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,002	1,933
Hs.187543	proteína fosfatasa 3 (antiguamente 2B), subunidad catalítica, isoforma beta (calcineurina A beta)	PPP3CB	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,007	1,476
Hs.166071	cinasa 5 dependiente de ciclina	CDK5	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,017	1,296
Hs.21537	proteína fosfatasa 1, subunidad catalítica, isoforma beta	PPP1CB	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,005	1,334
Hs.272458	proteína fosfatasa 3 (antiguamente 2B), subunidad catalítica, isoforma alfa (calcineurina A alfa)	PPP3CA	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,017	1,357
Hs.431156	proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A), subunidad reguladora A (PR 65), isoforma beta	PPP2R1B	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,017	0,927
Hs.380764	proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A)	PPP2R2B	señalización de AMPc	relacionado con PP	0,009	1,215

Hs.	subunidad reguladora B (PR 52) isoforma beta	PP	relacionado con	valor-p	FC (BP-Control)
Hs.	proteína fosfatasa 2, subunidad reguladora B (B56) isoforma delta	PP	relacionado con	0,007	0,845
Hs.	proteína fosfatasa 1, subunidad 8 reguladora (inhibidor)	PP	relacionado con	0,011	1,210
Hs.	proteína fosfatasa 1, subunidad 15A reguladora (inhibidora)	PP	relacionado con	0,045	0,828

Trastorno depresivo mayor frente a Control					
Grupo UniGene	NOMBRE	SÍMBOLO	Categoría grande	Subcategoría	FC (BP-Control)
Hs.234521	proteína cinasa 3 activada por proteína cinasa activada por mitógenos	MAPKAPK3		MAPK	0,845
Hs.324473	proteína cinasa 1 activada por mitógenos	MAPK1	señalización de MAPK	MAPK	1,612
Hs.348446	proteína cinasa 9 activada por mitógenos	MAPK9		MAPK	1,630
Hs.75074	proteína cinasa 2 activada por proteína cinasa activada por mitógenos	MAPKAPK2		MAPK	0,872
Hs.271980	proteína cinasa 6 activada por mitógenos	MAPK6		MAPK	1,471
Hs.25209	proteína cinasa 10 activada por mitógenos	MAPK10	señalización de MAPK	MAPK	1,374
Hs.134106	proteína cinasa cinasa 4 activada por mitógenos	MAP2K4	señalización de MAPK	MAPKK	1,657
Hs.432453	proteína cinasa cinasa 8 activada por mitógenos	MAP3K8		MAPKKK	0,807
Hs.437214	proteína cinasa cinasa 9 activada por mitógenos	MAP3K9		MAPKKK	1,162
Hs.28827	proteína cinasa cinasa 2 activada por mitógenos	MAP3K2		MAPKKK	0,873
Hs.403927	proteína 1 de interacción con proteína cinasa cinasa 7 activada por mitógenos	MAP3K7IP1		MAPKKK	0,847
Hs.206097	homólogo 2 del oncogén vírico RAS relacionado (f-ras)	RRAS2	señalización de MAPK	RAS-MAPK	0,863
Hs.37003	homólogo del oncogén vírico del sarcoma de rata de Harvey v-Ha-ras	HRAS	señalización de MAPK	RAS-MAPK	1,196
Hs.412107	homólogo del oncogén vírico del sarcoma de rata de Kirsten 2 v-Ki-ras2	KRAS2	señalización de MAPK	RAS-MAPK	1,451

Tabla 9

Trastorno bipolar frente a Control	UniGene	Nombre del gen	qRT-PCR	DLPFC
Trastorno bipolar frente a Control	CCKBR	receptor de colecistocinina B	gRT-PCR	U133A
			1,44	gRT-PCR
			1,21	U133A
Trastorno de presión mayor frente a Control	EDNRB	receptor de endotelina de tipo B	gRT-PCR	U133A
	CCKBR	receptor de colecistocinina B	0,57	U133A
	GPR37	receptor 37 acoplado a proteína G	1,21	U133A
	GPRC5B	receptor C-5-B acoplado a proteína G	0,59	U133A
	GNB5	proteína G, beta 5	0,66	U133A
	RGS20	regulador de señalización de proteína G 20	1,20	U133A

^ Micromatriz U133A, ANOVA p<0,05

* qRT-PCR, ensayo t de Student unilateral, p<0,1

*** qRT-PCR, ensayo t de Student unilateral, p<0,05

Tabla 10

Estado de ánimo y región	Hs. Unigene	Valor de expresión diferencial	Rango	Acceso	UniGene_ID	LocusLink_ID	símbolo	Descripción
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.20021_at	- 7,727057737	9	R17168	<u>Hs.20021</u>	<u>6843</u>	VAMP1	PROTEINA 1 DE MEMBRANA ASOCIADA A VESICULA (SINAPTOBREVINA 1)
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.119316_at	7,019916677	17	AI075114	<u>Hs.119316</u>	<u>5188</u>	PET112L	DE TIPO PET112 (LEVADURA)
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.194673_at	6,7399939746	24	AA954646	<u>Hs.194673</u>	<u>8682</u>	PEA15	FOSFOPROTEINA ENRIQUECIDA EN ASTROCITOS15
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.356231_at	- 6,670345597	28	AI038963	<u>Hs.356231</u>	<u>79085</u>	SLC25A23	FAMILIA 25 DE TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (PORTADOR MITOCONDRIAL; TRANSPORTADOR DE FOSFATO), MIEMBRO 23
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.438303_at	5,313202083	72	AA969386	<u>Hs.438303</u>	<u>23395</u>	LARS2	LEUCIL-ARNT SINTETASA 2, MITOCONDRIAL
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.109052_at	5,019252834	103	AA865834	<u>Hs.109052</u>	<u>9556</u>	C14orf2	FASE DE LECTURA ABIERTA 2 DEL CROMOSOMA 14
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.76366_at	4,693419228	127	AA999694	<u>Hs.76366</u>	<u>572</u>	BAD	ANTAGONISTA DE BCL2 DE MUERTE CELULAR
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.279939_at	4,582420323	138	AA977776	<u>Hs.279939</u>	<u>23787</u>	MTCH1	HOMÓLOGO 1 DEL TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL (C. ELEGANS)
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.74047_at	4,496465885	150		<u>Hs.74047</u>			
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.3100_at	4,309487236	169	AA954213	<u>Hs.3100</u>	<u>3735</u>	KARS	LISIL-ARNT SINTETASA
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.243491_at	- 4,224934266	183		<u>Hs.243491</u>			
Sonda_ID (BPDvC) AnCg	Hs.3254_at	4,193592918	195	AA971301	<u>Hs.3254</u>	<u>6150</u>	MRPL23	PROTEINA RIBOSOMICA L23 MITOCONDRIAL

Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.177584_at	4,165654802	200	AA961910	Hs.177584	5019	OXCT1	3-OXOÁCIDO COA TRASFERASA 1
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.14945_at	- 4,158983584	201	R17684	Hs.14945	23305	ACSL6	MIEMBRO 6 DE LA FAMILIA DE CADENA LARGA DE ACIL-COA SINTETASA
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.511880_at	4,005278821	239	NM_000498	Hs.511880	1585	CYP11B2	CITOCROMO P450, FAMILIA 11, SUBFAMILIA B, POLIPEPTIDO 2
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.149156_at	3,978596138	243	A1148899	Hs.149156	2731	GLDC	GLICINA DESHIDROGENASA (DECARBOXILANTE: GLICINA DECARBOXILASA, PROTEINA P DEL SISTEMA DE EXCISIÓN DE GLICINA)
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.433419_at	3,863300127	269	AA968887	Hs.433419	1327	COX4I1	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD IV ISOFORMA 1
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.107476_at	3,852124446	271	AA961439	Hs.107476	10632	ATP5L	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO FO MITOCONDRIAL, SUBUNIDAD G
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.198269_at	3,834264322	274	AA970515	Hs.198269	4696	NDUFA3	SUBCOMPLEJO 1 ALFA DE NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA), 3, 9 KDA
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.75859_at	3,825790421	277	AA975309	Hs.75859	740	MRPL49	PROTEINA RIBOSÓMICA L49 MITOCONDRIAL
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.144130_at	-3,81230531	284	AA865892	Hs.144130	55186	FLJ10618	PROTEINA HIPOTÉTICA FLJ10618
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.3548_at	3,79318498	290	AA972489	Hs.3548	4515	MTCP1	PROLIFERACIÓN 1 DE LINFOCITOS T MADUROS
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.7527_at	3,709781697	312	AA911794	Hs.7527	25996	DKFZP566E144	NUCLEASE DE FRAGMENTO PEQUEÑO
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.154672_at	- 3,613394429	338	AA962299	Hs.154672	10797	MTHFD2	METILENTETRAHIDROFOLATO DESHIDROGENASA (DEPENDIENTE DE NAD+), METILENTETRAHIDROFOLATO CICLOHIDROLASA
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.151573_at	3,581789697	347	AA905519	Hs.151573	1407	CRY1	CRITOCROMO 1 (TIPO FOTOLIASA)

Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.384944_at	-3,45700168	390	R15701	<u>Hs.384944</u>	<u>6648</u>	SOD2	SUPEROXIDO DISMUTASA 2, MITOCONDRIAL
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.8364_at	3,403571903	412	A1051630	<u>Hs.8364</u>	<u>5166</u>	PDK4	PIRUVATO DESHIDROGENASA CINASA, ISOENZIMA 4
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.139410_at	- 3,380539628	424	A1004719	<u>Hs.139410</u>	<u>1629</u>	DBT	DHIDROLIPOAMIDA DE CADENA RAMIFICADA TRANSACILASA (COMPONENTE E2 DEL COMPLEJO CETOACIDO DESHIDROGENASA DE CADENA RAMIFICADA; ENFERMEDAD DEL JARABE DE ARCE)
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.409430_at	3,374251626	427	AA954940	<u>Hs.409430</u>	<u>1716</u>	DGUOK	DESOXIGUANOSINA CINASA
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.300463_at	3,35163141	436		<u>Hs.300463</u>			
Sonda_ID (BPDv C) AnCg	Hs.211914_at	3,322183756	446	R15290	<u>Hs.211914</u>	<u>374291</u>	NDUFS7	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) PROTEINA 7 DE FE-S, 20 KDA (NADH-COENZIMA Q REDUCTASA)
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.3260_at	- 8,020507698	35	AA972181	<u>Hs.3260</u>	<u>5663</u>	PSEN1	PRESENILINA 1 (ENFERMEDAD DE ALZHEIMER 3)
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.109052_at	6,385329749	97	AA865834	<u>Hs.109052</u>	<u>9556</u>	C14orf2	FASE DE LECTURA ABIERTA 2 DEL CROMOSOMA 14
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.75335_at	-5,88132842	127	AA888620	<u>Hs.75335</u>	<u>145663</u>	GATM	GLICINA AMIDINOTRASFERASA (L-ARGININA:GLICINA AMIDINOTRASFERASA)
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.247309_at	- 5,878102056	128		<u>Hs.247309</u>			
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.433419_at	5,758749759	136	AA968887	<u>Hs.433419</u>	<u>1327</u>	COX411	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD IV ISOFORMA 1
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.1342_at	5,348334665	175	AA902930	<u>Hs.1342</u>	<u>1329</u>	COX5B	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD VB
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.49598_at	5,345843386	176	AA969459	<u>Hs.49598</u>	<u>23600</u>	AMACR	ALFA-METILACIL-COA RACEMASA

Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.353282_at	5,301845199	185		<u>Hs.353282</u>				
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.14945_at	- 5,275227195	190	R17684	<u>Hs.14945</u>	23305	ACSL6	MIEMBRO 6 DE LA FAMILIA DE CADENA LARGA DE	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.436405_at	5,186131647	200	AA976445	<u>Hs.436405</u>	3420	IDH3B	ISOCITRATO DESHIDROGENASA 3(NAD+)BETA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.20021_at	4,974117426	234	R17168	<u>Hs.20021</u>	6843	VAMP1	PROTEINA 1 DE MEMBRANA ASOCIADA A VESICULA (SINAPTOBREVINA 1)	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.182490_at	4,921605558	239	AA962471	<u>Hs.182490</u>	10128	LRPPRC	QUE CONTIENE MOTIVO prp RICO EN LEUCINA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.153792_at	- 4,902140124	243	AA905280	<u>Hs.153792</u>	4552	MTRR	5-METILTETRAHIDROFOLATO-HOMOCISTEINA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.3100_at	4,804444009	257	AA954213	<u>Hs.3100</u>	3735	KARS	METILTRANSFERASA REDUCTASA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.423404_at	4,802805566	259	AA975616	<u>Hs.423404</u>	9167	COX7A2L	LISIL-ARNT SINTETASA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.279939_at	4,722208682	269	AA977776	<u>Hs.279939</u>	23787	MTCH1	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD VIA DE TIPO POLIPEPTIDO 2	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.128410_at	4,581815327	287	AA886323	<u>Hs.128410</u>	2744	GLS	HOMÓLOGO 1 DE TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL (C. ELEGANS)	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.293970_at	- 4,511696936	306	AA975064	<u>Hs.293970</u>	4329	ALDH6A1	GLUTAMINASA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.528295_at	- 4,499310703	310	A1022321	<u>Hs.528295</u>	10157	AASS	FAMILIA DE ALDEHIDO DESHIDROGENASA 6, MIEMBRO A1	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.75760_at	- 4,363940471	336	R19294	<u>Hs.75760</u>	6342	SCP2	AMINOADIPATO-SEMIALDEHIDO SINTASA	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.9599_at	- 4,285016072	355	A1032701	<u>Hs.9599</u>	10165	SLC25A13	PROTEINA 2 TRANSPORTADORA DE ESTEROL	
Sonda_ID (MDD v C) AnCg								FAMILIA 25 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS, MIEMBRO 13 (CITRINA)	

Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.7744_at	4,058060577	409	AA954362	Hs.7744	4723	NDUFV1	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) FLAVOPROTEÍNA 1, 51 KDA
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.350702_at	4,051168637	410	AA968881	Hs.350702	23479	ISCU	ENZIMA DE ENSAMBLAJE DEL GRUPO DE HIERRO-AZUFRE
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.77690_at	- 4,044194861	414	R14803	Hs.77690	5869	RAB5B	RAB5B, MIEMBRO DE LA FAMILIA DEL ONCOGEN RAS
Sonda_ID (MDD v C) AnCg	Hs.287518_at	- 3,967121349	437	AA970122	Hs.287518	5414	PNUTL2	PEANUT DE TIPO 2 (DROSOPHILA)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.1342_at	8,751574623	7	AA902930	Hs.1342	1329	COX5B	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD VB
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.182490_at	8,000187313	18	AA962471	Hs.182490	10128	LRPPRC	QUE CONTIENE MOTIVO prp RICO EN LEUCINA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.128410_at	7,058759677	48	AA886323	Hs.128410	2744	GLS	GLUTAMINASA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.353282_at	6,886768262	54		Hs.353282			
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.173554_at	6,797907829	64	AA961851	Hs.173554	7385	UQCRC2	PROTEINA CENTRAL II DE UBIQUINOL-CITOCROMO C REDUCTASA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.405860_at	6,789034734	66	AA961135	Hs.405860	4191	MDH2	MALATO DESHIDROGENASA 2, NAD (MITOCONDRIAL)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.3100_at	6,757315126	70	AA954213	Hs.3100	3735	KARS	LISIL-ARNT SINTETASA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.505824_at	6,576861944	81	A1023273	Hs.505824	25813	CGI-51	PROTEINA CGI-51
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.81886_at	6,233700436	98	AA905726	Hs.81886	549	AUH	PROTEINA DE UNIÓN A ARN AU/ENOIL-COENZIMA A HIDRATASA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.279939_at	6,126403025	103	AA977776	Hs.279939	23787	MTCH1	HOMÓLOGO 1 DEL TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL (C. ELEGANS)

Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.290404_at	5,97126615	119	AA954185	Hs.290404	5250	SLC25A3	FAMILIA 25 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL; TRANSPORTADOR DE FOSFATO), MIEMBRO 3
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.196270_at	5,880975299	124	A1126840	Hs.196270	81034	MFTC	TRANSPORTADOR/PORTADOR DE FOLATO MITOCONDRIAL
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.350702_at	5,844647665	128	AA968881	Hs.350702	23479	ISCU	ENZIMA DEL ENSAMBLAJE DEL GRUPO DE HIERRO-AZUFRE
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.62185_at	5,820175161	130	AA954490	Hs.62185	10479	SLC9A6	FAMILIA 9 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (INTERCAMBIADOR DE SODIO/HIDRÓGENO), ISOFORMA 6
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.194673_at	5,818156637	131	AA954646	Hs.194673	8682	PEA15	FOSFOPROTEÍNA ENRIQUECIDA EN ASTROCITOS ¹⁵
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.439510_at	5,725481617	147	AA989107	Hs.439510	10730	YME1L1	YME1 DE TIPO 1 (S. CEREV/S/AE)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.109052_at	5,710330465	150	AA865834	Hs.109052	9556	C14orf2	FASE DE LECTURA ABIERTA 2 DEL CROMOSOMA 14
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.409140_at	5,639633997	156	AA864297	Hs.409140	539	ATP5O	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H ⁺ , COMPLEJO F1 MITOCONDRIAL, SUBUNIDAD O (PROTEINA QUE CONFIERE SENSIBILIDAD A OLIGOMICINA)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.250616_at	5,60246391	159		Hs.250616			
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.182217_at	5,57828738	164	AA984684	Hs.182217	8803	SUCLA2	SUCCINATO-COA LIGASA, FORMADORA DE ADP, SUBUNIDAD BETA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.7744_at	5,54184827	169	AA954362	Hs.7744	4723	NDUFB1	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) FLAVOPROTEÍNA 1, 51 KDA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.436405_at	5,39739172	196	AA976445	Hs.436405	3420	IDH3B	ISOCITRATO DESHIDROGENASA 3 (NAD ⁺) BETA

Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.126608_at	5,3276937	207	AA962235	Hs.126608	<u>2908</u>	NR3C1	SUBFAMILIA 3 DEL RECEPTOR NUCLEAR, GRUPO C, MIEMBRO 1 (RECEPTOR DE GLUCOCORTICOIDES)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.2043_at	5,280565636	214	AA977341	Hs.2043	<u>291</u>	SLC25A4	FAMILIA 25 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL; TRANSLLOCADOR DE NUCLEÓTIDOS DE ADENINA), MIEMBRO 4
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.144130_at	5,2188642	224	AA865892	Hs.144130	<u>55186</u>	FLJ10618	PROTEINA HIPOTÉTICA FLJ10618
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.78614_at	5,189788976	230		Hs.78614			
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.20716_at	5,188149858	231	A1021900	Hs.20716	<u>10440</u>	TIMM17A	TRANSLCOSA DEL HOMÓLOGO A DE MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERIOR 17 (LEVADURA)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.407860_at	5,099673885	245	AA973726	Hs.407860	<u>4718</u>	NDUFC2	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) 1, SUBCOMPLEJO DESCONOCIDO. 2, 14.5 KDA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.20021_at	5,093990486	246	R17168	Hs.20021	<u>6843</u>	VAMP1	PROTEINA 1 DE MEMBRANA ASOCIADA A VESÍCULA (SINAPTOBREVINA 1)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.268016_at	5,077587148	250	AA987838	Hs.268016	<u>64968</u>	MRPS6	PROTEINA RIBOSÓMICA S6 MITOCONDRIAL
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.44298_at	5,017621789	266	A1141870	Hs.44298	<u>51373</u>	MRPS17	PROTEINA RIBOSÓMICA S17 MITOCONDRIAL
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.19236_at	4,976913834	281	AA888160	Hs.19236	<u>4711</u>	NDUFB5	SUBCOMPLEJO 1 BETA DE NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA), 5, 16 KDA
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.429_at	4,87511346	311	B1761550	Hs.429	<u>518</u>	ATP5G3	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO F0
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.131273_at	4,855540013	318	AA978176	Hs.131273	<u>4976</u>	OPA1	MITOCONDRIAL, SUBUNIDAD C (SUBUNIDAD 9) ISOFORMA 3 (SUBUNIDAD 9) ISOFORMA 3 ATROFIA ÓPTICA 1 (DOMINANTE AUTOSÓMICO)
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.433419_at	4,837055096	325	AA968887	Hs.433419	<u>1327</u>	COX411	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD IV ISOFORMA 1

Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.436988_at	4,817176809	332	AI025620	Hs.436988	<u>1353</u>	COX11	HOMÓLOGO DE COX11, PROTEINA DE ENSAMBLAJE DE CITOCROMO C OXIDASA (LEVADURA)
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.119251_at	4,800384591	337	AA954171	Hs.119251	<u>7384</u>	UQCRC1	PROTEINA CENTRAL I DE UBIQUINOL-CITOCROMO C REDUCTASA
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.37_at	4,766384912	340	AI139512	Hs.37	<u>38</u>	ACAT1	ACETIL-COENZIMA A ACETILTRANSFERASA 1 (ACETOACETIL COENZIMA A TIOLASA)
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.11866_at	4,718266874	353	AA974086	Hs.11866	<u>10431</u>	TIMM23	TRANSLOCASA DE HOMÓLOGO DE MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERIOR 23 (LEVADURA)
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.444757_at	4,716048741	354	AA968467	Hs.444757	<u>23095</u>	KIF1B	MIEMBRO DE LA FAMILIA DE CINESINA 1 B
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.5556_at	4,68842541	358	AA961682	Hs.5556	<u>4706</u>	NDUFB1	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) 1, SUBCOMPLEJO ALFA/BETA, 1, 8 KDA
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.211571_at	4,682127722	362	AA923565	Hs.211571	<u>3052</u>	HCCS	HOLOCITOCROMO C SINTASA (CITOCROMO C HEMO-LIASA)
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.289271_at	4,679567034	365	AA863409	Hs.289271	<u>1537</u>	CYC1	CITOCROMO C-1
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.184860_at	4,647024454	373	AA973406	Hs.184860	<u>57128</u>	C6ort149	FASE DE LECTURA ABIERTA 149 DEL CROMOSOMA 6
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.247309_at	- 4,631146258	374		Hs.247309			
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.76366_at	4,541868883	388	AA999694	Hs.76366	<u>572</u>	BAD	ANTAGONISTA DE BCL2 DE MUERTE CELULAR
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.184233_at	4,524597014	395	AA961767	Hs.184233	<u>3313</u>	HSPA9B	PROTEINA 9B DE CHOQUE TÉRMICO 70 KDA (MORTALINA-2)
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.300463_at	4,491205579	403		Hs.300463			
Sonda_ID (MDD v C) DLRFC	Hs.107476_at	4,487968916	405	AA961439	Hs.107476	<u>10632</u>	ATP5L	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO MITOCONDRIAL F0, SUBUNIDAD G

Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.43549_at	4,482655426	407	AA975374	Hs.43549	55847	C10orf70	FASE DEL LECTURA ABIERTA 70 DEL CROMOSOMA 10	
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.161357_at	4,415481565	415	R14727	Hs.161357	5162	PDHB	PIRUVATO DESHIDROGENASA (LIPOAMIDA) BETA	
Sonda_ID (MDD v C) DLPFC	Hs.198269_at	4,313217236	434	AA970515	Hs.198269	4696	NDUFA3	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) SUBCOMPLEJO 1 ALFA, 3, 9 KDA	
Duplicado 1 1=N.º	Sumario de MDD con cambio directo								
	Estado de ánimo y región	Hs. Unigene	Valor de expresión diferencial	Rango	Acceso	UniGene_ID	LocusLink_ID	Simbolo	Descripción
0 2	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.107476_at	3,852124446	271	AA961439	Hs.107476	10632	ATP5L	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO F0 MITOCONDRIAL, SUBUNIDAD G
1 3	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.107476_at	4,487968916	405	AA961439	Hs.107476	10632	ATP5L	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO F0 MITOCONDRIAL, SUBUNIDAD G
0 4	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.109052_at	5,019252834	103	AA865834	Hs.109052	9556	C14orf2	FASE DE LECTURA ABIERTA 2 DEL CROMOSOMA 14
0 5	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.109052_at	6,385329749	97	AA865834	Hs.109052	9556	C14orf2	FASE DE LECTURA ABIERTA 2 DEL CROMOSOMA 14
1 6	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.109052_at	5,710330465	150	AA865834	Hs.109052	9556	C14orf2	FASE DE LECTURA ABIERTA 2 DEL CROMOSOMA 14
1 7	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.11866_at	4,718266874	353	AA974086	Hs.11866	10431	TIMM23	TRANSLOCASA DEL HOMÓLOGO DE MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERIOR 23 (LEVADURA)
1 8	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.119251_at	4,800384591	337	AA954171	Hs.119251	7384	UQCRC1	PROTEÍNA CENTRAL I DE UBIQUINOL-CITOCROMO C REDUCTASA
1 9	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.119316_at	7,019916677	17	A1075114	Hs.119316	5188	PET112L	DE TIPO PET112 (LEVADURA)

1	10	Sonda J D (MDD v C) DLPFC	Hs.126608_at	5,3276937	207	AA962235	Hs.126608	2908	NR3C1	SUBFAMILIA 3 DEL RECEPTOR NUCLEAR, GRUPO C; MIEMBRO 1 (RECEPTOR DE GLUCOCORTICOIDE)
0	11	Sonda J D (MDD v C) AnCg	Hs.128410_at	4,581815327	287	AA886323	Hs.128410	2744	GLS	GLUTAMINASA
1	12	Sonda J D (MDD v C) DLPFC	Hs.128410_at	7,058759677	48	AA886323	Hs.128410	2744	GLS	GLUTAMINASA
1	13	Sonda J D (MDD v C) DLPFC	Hs.131273_at	4,855540013	318	AA978176	Hs.131273	4976	OPA1	ATROFIA ÓPTICA 1 (DOMINANTE AUTOSÓMICO)
0	14	Sonda J D (MDD v C) AnCg	Hs.1342_at	5,348334665	175	AA902930	Hs.1342	1329	COX5B	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD VB
1	15	Sonda J D (MDD v C) DLPFC	Hs.1342_at	8,751574623	7	AA902930	Hs.1342	1329	COX5B	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD VB
1	16	Sonda J D (BPDv C) AnCg	Hs.139410_at	-3,380539628	424	AI004719	Hs.139410	1629	DBT	DIHIDROLIPOAMIDA TRANSACILASA DE CADENA RAMIFICADA (COMPONENTE E2 DEL COMPLEJO DE CETOÁCIDO DESHIDROGENASA DE CADENA RAMIFICADA; ENFERMEDAD DE JARABE DE ARCE)
0	17	Sonda J D (BPDv C) AnCg	Hs.144130_at	-3,81230531	284	AA865892	Hs.144130	55186	FLJ10618	PROTEINA HIPOTÉTICA FLJ10618
1	18	Sonda J D (MDD v C) DLPFC	Hs.144130_at	5,2188642	224	AA865892	Hs.144130	55186	FLJ10618	PROTEINA HIPOTÉTICA FLJ10618
1	19	Sonda J D (BPDv C) AnCg	Hs.149156_at	3,978596138	243	AI148899	Hs.149156	2731	GLDC	GLICINA DESHIDROGENASA (DESCARBOXILANTE; GLICINA DESCARBOXILASA, PROTEINA P DEL SISTEMA DE ESCISIÓN DE GLICINA)

0	20	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.14945_at	4,158983584	201	R17684	Hs.14945	23305	ACSL6	MIEMBRO 6 DE LA FAMILIA DE ACIL-COA SINTETASA DE CADENA LARGA
1	21	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.14945_at	5,275227195	190	R17684	Hs.14945	23305	ACSL6	MIEMBRO 6 DE LA FAMILIA DE ACIL-COA SINTETASA DE CADENA LARGA
1	22	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.151573_at	3,581789697	347	AA905519	Hs.151573	1407	CRY1	CRIOCROMO 1 (DE TIPO FOTOLIASA)
1	23	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.153792_at	4,902140124	243	AA905280	Hs.153792	4552	MTRR	5-METILTETRAHIDROFOLATO-HOMOCISTEINA METILTRANSFERASA REDUCTASA
1	24	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.154672_at	3,6133394429	338	AA962299	Hs.154672	10797	MTHFD2	METILEN TETRAHIDROFOLATO DESHIDROGENASA (DEPENDIENTE DE NAD+), METENILTETRAHIDROFOLATO CICLOHIDROLASA
1	25	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.161357_at	4,415481565	415	R14727	Hs.161357	5162	PDHB	PIRUVATO DESHIDROGENASA (LIPOAMIDA) BETA
1	26	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.173554_at	6,797907829	64	AA961851	Hs.173554	7385	UQCRC2	PROTEINA CENTRAL II DE UBIQUINOL-CITOCROMO C REDUCTASA
1	27	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.177584_at	4,165654802	200	AA961910	Hs.177584	5019	OXCT1	3-OXOÁCIDO COA TRANSFERASA 1
1	28	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.182217_at	5,57828738	164	AA984684	Hs.182217	8803	SUCLA2	SUCCINATO-COA LIGASA, FORMADORA DE ADP, SUBUNIDAD BETA
0	29	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.182490_at	4,921605558	239	AA962471	Hs.182490	10128	LRPPRC	QUE CONTIENE MOTIVO PPR RICO EN LEUCINA
1	30	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.182490_at	8,000187313	18	AA962471	Hs.182490	10128	LRPPRC	QUE CONTIENE MOTIVO PPR RICO EN LEUCINA

1	31	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.184233_at	4,524597014	395	AA961767	Hs.184233	3313	HSPA9B	PROTEINA 9B DE CHOQUE TERMICO DE 70 KDA (MORTALINA-2)
1	32	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.184860_at	4,647024454	373	AA973406	Hs.184860	57128	C6orf149	FASE DE LECTURA ABIERTA 149 DEL CROMOSOMA 6
1	33	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.19236_at	4,976913834	281	AA888160	Hs.19236	4711	NDUFB5	SUBCOMPLEJO 1 BETA DE NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA), 5, 16 KDA
0	34	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.194673_at	6,739939746	24	AA954646	Hs.194673	8682	PEA15	FOSFOPROTEINA ENRIQUECIDA EN ASTROCITOS15
1	35	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.194673_at	5,818156637 -	131	AA954646	Hs.194673	8682	PEA15	FOSFOPROTEINA ENRIQUECIDA EN ASTROCITOS 15
1	36	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.196270_at	5,880975299	124	A1126840	Hs.196270	81034	MFTC	TRANSPORTADOR/PORTADOR DE FOLATO MITOCONDRIAL
0	37	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.198269_at	3,834264322	274	AA970515	Hs.198269	4696	NDUFA3	SUBCOMPLEJO 1 ALFA DE NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA), 3, 9 KDA
1	38	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.198269_at	4,313217236	434	AA970515	Hs.198269	4696	NDUFA3	SUBCOMPLEJO 1 ALFA DE NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA), 3, 9 KDA
0	39	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.20021_at	7,727057737	9	R17168	Hs.20021	6843	VAMP1	PROTEINA 1 DE MEMBRANA ASOCIADA A VESICULA (SINAPTOBREVINA 1)
0	40	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.20021_at	4,974117426	234	R17168	Hs.20021	6843	VAMP1	PROTEINA 1 DE MEMBRANA ASOCIADA A VESICULA (SINAPTOBREVINA 1)
1	41	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.20021_at	5,093990486	246	R17168	Hs.20021	6843	VAMP1	PROTEINA 1 DE MEMBRANA ASOCIADA A VESICULA (SINAPTOBREVINA 1)

1	42	Sonda_I D (MDD vC) DLPFC	Hs.2043_at	5,280565636	214	AA977341	<u>Hs.2043</u>	<u>291</u>	SLC25A4	FAMILIA 25 DE TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL; TRANSLOCADOR DE NUCLEÓTIDOS DE ADENINA), MIEMBRO 4
1	43	Sonda_I D (MDD vC) DLPFC	Hs.20716_at	5,188149858	231	A1021900	<u>Hs.20716</u>	<u>10440</u>	TIMM17A	TRANSLOCASA DEL HOMÓLOGO A DE MEMBRANA MITOCONDRIAL INTERIOR 17 (LEVADURA)
1	44	Sonda_I D (MDD vC) DLPFC	Hs.211571_at	4,682127722	362	AA923565	<u>Hs.211571</u>	<u>3052</u>	HCCS	HOLOCITOCROMO C SINTASA (CITOCROMO C HEMO-LIASA)
1	45	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.211914_at	3,322183756	446	R15290	<u>Hs.211914</u>	<u>374291</u>	NDUFS7	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) PROTEÍNA 7 DE FE-S. 20 KDA (NADH-COENZIMA Q REDUCTASA)
1	46	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.243491_at	-4,224934266	183		<u>Hs.243491</u>			
0	47	Sonda_I D (MDD vC) AnCg	Hs.247309_at	-5,878102056	128		<u>Hs.247309</u>			
1	48	Sonda_I D (MDD vC) DLPFC	Hs.247309_at	-4,631146258	374		<u>Hs.247309</u>			
1	49	Sonda_I D (MDD vC) DLPFC	Hs.250616_at	5,60246391	159		<u>Hs.250616</u>			
1	50	Sonda_I D (MDD vC) DLPFC	Hs.268016_at	5,077587148	250	AA987838	<u>Hs.268016</u>	<u>64968</u>	MRPS6	PROTEÍNA RIBOSÓMICA S6 MITOCONDRIAL
0	51	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.279939_at	4,582420323	138	AA977776	<u>Hs.279939</u>	<u>23787</u>	MTCH1	HOMÓLOGO 1 DEL TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL (C. ELEGANS)
0	52	Sonda_I D (MDD vC) AnCg	Hs.279939_at	4,722208682	269	AA977776	<u>Hs.279939</u>	<u>23787</u>	MTCH1	HOMÓLOGO 1 DEL TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL (C. ELEGANS)

1	53	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.279939_at	6,126403025	103	AA977776	Hs.279939	23787	MTCH1	HOMOLOGO 1 DEL TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL (C. ELEGANS)
1	54	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.287518_at	-3,967121349	437	AA970122	Hs.287518	5414	PNUTL2	PEANUT DE TIPO 2 (DROSOPHILA)
1	55	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.289271_at	4,679567034	365	AA863409	Hs.289271	1537	CYC1	CITOCROMO C-1
1	56	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.290404_at	5,971266153	119	AA954185	Hs.290404	5250	SLC25A3	FAMILIA 25 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL; TRANSPORTADOR DE FOSFATO), MIEMBRO 3
1	57	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.293970_at	-4,511696936	306	AA975064	Hs.293970	4329	ALDH6A1	FAMILIA DE ALDEHIDO DESHIDROGENASA 6, MIEMBRO A1
0	58	Sonda_I D (BPDv C)/AnCg	Hs.300463_at	3,35163141	436		Hs.300463			
1	59	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.300463_at	4,491205579	403		Hs.300463			
0	60	Sonda_I D (BPDv C)/AnCg	Hs.3100_at	4,309487236	169	AA954213	Hs.3100	3735	KARS	LISIL-ARNT SINTETASA
0	61	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.3100_at	4,804444009	257	AA954213	Hs.3100	3735	KARS	LISIL-ARNT SINTETASA
1	62	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.3100_at	6,757315126	70	AA954213	Hs.3100	3735	KARS	LISIL-ARNT SINTETASA
1	63	Sonda_I D (BPDv C)/AnCg	Hs.3254_at	4,193592918	195	AA971301	Hs.3254	6150	MRPL23	PROTEINA RIBOSOMICA L23 MITOCONDRIAL

1	64	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.3260_at	-8,020507698	35	AA972181	Hs.3260	5663	PSEN1	PRESENILINA 1 (ENFERMEDAD DE ALZHEIMER 3)
0	65	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.350702_at	4,051168637	410	AA968881	Hs.350702	23479	ISCU	ENZIMA DE ENSAMBLAJE DEL GRUPO DE HIERRO-AZUFRE
1	66	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.350702_at	5,844647665	128	AA968881	Hs.350702	23479	ISCU	ENZIMA DE ENSAMBLAJE DEL GRUPO DE HIERRO-AZUFRE
0	67	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.353282_at	5,301845199	185		Hs.353282			
1	68	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.353282_at	6,886768262	54		Hs.353282			
1	69	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.3548_at	3,79318498	290	AA972489	Hs.3548	4515	MTCP1	PROLIFERACIÓN 1 DE LINFOCITOS T MADUROS
1	70	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.356231_at	-6,670345597	28	A1038963	Hs.356231	79085	SLC25A23	FAMILIA 25 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (TRANSPORTADOR MITOCONDRIAL; TRANSPORTADOR DE FOSFATO), MIEMBRO 23
1	71	Sonda_I D C) DLPFC	Hs.37_at	4,766384912	340	A1139512	Hs.37	38	ACAT1	ACETIL-COENZIMA A ACETILTRANSFERASA 1 (ACETOACETIL COENZIMA A TIOLASA)
1	72	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.384944_at	-3,45700168	390	R15701	Hs.384944	6648	SOD2	SUPERÓXIDO DISMUTASA 2, MITOCONDRIAL
1	73	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.405860_at	6,789034734	66	AA961135	Hs.405860	4191	MDH2	MALATO DESHIDROGENASA 2, NAD (MITOCONDRIAL)
1	74	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.407860_at	5,099673885	245	AA973726	Hs.407860	4718	NDUFC2	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) 1, SUBCOMPLEJO DESCONOCIDO, 2, 14,5 KDA

1	75	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.409140_at	5.6396333997	156	AA864297	Hs.409140	539	ATP5O	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO F1 MITOCONDRIAL SUBUNIDAD O (PROTEINA QUE CONFIERE SENSIBILIDAD A OLIGOMICINA)
1	76	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.409430_at	3.374251626	427	AA954940	Hs.409430	1716	DGUOK	DESOXIGUANOSINA CINASA
1	77	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.423404_at	4.802805566	259	AA975616	Hs.423404	9167	COX7A2L	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD VIIA DE TIPO POLIPEPTIDO 2
1	78	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.429_at	4.87511346	311	BI761550	Hs.429	518	ATP5G3	ATP SINTASA, TRANSPORTADOR DE H+, COMPLEJO FO MITOCONDRIAL, SUBUNIDAD C (SUBUNIDAD 9) ISOFORMA 3
0	79	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.433419_at	3.863300127	269	AA968887	Hs.433419	1327	COX411	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD IV ISOFORMA 1
0	80	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.433419_at	5.758749759	136	AA968887	Hs.433419	1327	COX411	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD IV ISOFORMA 1
1	81	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.433419_at	4.837055096	325	AA968887	Hs.433419	1327	COX411	CITOCROMO C OXIDASA SUBUNIDAD IV ISOFORMA 1
1	82	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.43549_at	4.482655426	407	AA975374	Hs.43549	55847	C10orf70	FASE DE LECTURA ABIERTA 70 DEL CROMOSOMA 10
0	83	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.436405_at	5.186131647	200	AA976445	Hs.436405	3420	IDH3B	ISOCITRATO DESHIDROGENASA 3 (NAD+) BETA
1	84	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.436405_at	5.39739172	196	AA976445	Hs.436405	3420	IDH3B	ISOCITRATO DESHIDROGENASA 3 (NAD+) BETA
1	85	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.436988_at	4.817176809	332	A1025620	Hs.436988	1353	COX11	HOMÓLOGO DE COX11, PROTEINA DE ENSAMBLAJE DE CITOCROMO C OXIDASA (LEVADURA)

1	86	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.438303_at	5,313202083	72	AA969386	Hs.438303	23395	LARS2	LEUCIL-ARNT SINTETASA 2, MITOCONDRIAL
1	87	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.439510_at	5,725481617	147	AA989107	Hs.439510	10730	YME1L1	IME1 DE TIPO 1 (S. CEREBISIAE)
1	88	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.44298_at	5,017621789	266	A1141870	Hs.44298	51373	MRPS17	PROTEINA RIBOSÓMICA S17 MITOCONDRIAL
1	89	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.444757_at	4,716048741	354	AA968467	Hs.444757	23095	KIF1B	MIEMBRO 1B DE LA FAMILIA DE CINESINA
1	90	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.49598_at	5,345843386	176	AA969459	Hs.49598	23600	AMACR	ALFA-METILACIL-COA RACEMASA
1	91	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.505824_at	6,576861944	81	A1023273	Hs.505824	25813	CGI-51	PROTEINA CGI-51
1	92	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.511880_at	4,005278821	239	NM_00049 8	Hs.511880	1585	CYP11B2	CITOCROMO P450, FAMILIA 11, SUBFAMILIA B, POLIPEPTIDO 2
1	93	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.528295_at	4,499310703	310	A1022321	Hs.528295	10157	AASS	AMINOADIPATO-SEMIALDEHIDO SINTASA
1	94	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.5556_at	4,68842541	358	AA961682	Hs.5556	4706	NDUFAB1	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) 1, SUBCOMPLEJO ALFA/BETA, 1, 8 KDA
1	95	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.62185_at	5,820175161	130	AA954490	Hs.62185	10479	SLC9A6	FAMILIA 9 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS (INTERCAMBIADOR DE SODIO/HIDRÓGENO), ISOFORMA 6
1	96	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.74047_at	4,496465885	150		Hs.74047			
1	97	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.7527_at	3,709781697	312	AA911794	Hs.7527	25996	DKFZP566E144	NUCLEASA DE FRAGMENTO PEQUEÑO

1	98	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.75335_at	-5,88132842	127	AA888620	<u>Hs.75335</u>	145663	GATM	GLICINA AMIDINOTRANSFERASA (L-ARGININA:GLICINA AMIDINOTRANSFERASA)
1	99	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.75760_at	4,363940471	336	R19294	<u>Hs.75760</u>	<u>6342</u>	SCP2	PROTEINA 2 DEL TRANSPORTADOR DE ESTEROL
1	100	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.75859_at	3,825790421	277	AA975309	<u>Hs.75859</u>	<u>740</u>	MRPL49	PROTEINA L49 RIBOSÓMICA MITOCONDRIAL
0	101	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.76366_at	4,693419228	127	AA999694	<u>Hs.76366</u>	<u>572</u>	BAD	ANTAGONISTA DE BCL2 DE MUERTE CELULAR
1	102	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.76366_at	4,541868883	388	AA999694	<u>Hs.76366</u>	<u>572</u>	BAD	ANTAGONISTA DE BCL2 DE MUERTE CELULAR
0	103	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.7744_at	4,058060577	409	AA954362	<u>Hs.7744</u>	<u>4723</u>	NDUFV1	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) FLAVOPROTEINA 1, 51 KDA
1	104	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.7744_at	5,54184827	169	AA954362	<u>Hs.7744</u>	<u>4723</u>	NDUFV1	NADH DESHIDROGENASA (UBIQUINONA) FLAVOPROTEINA 1, 51 KDA
1	105	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.77690_at	4,044194861	414	R14803	<u>Hs.77690</u>	<u>5869</u>	RAB5B	RAB5B, MIEMBRO DE LA FAMILIA DEL ONCOGÉN RAS
1	106	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.78614_at	5,189788976	230		<u>Hs.78614A</u>			
1	107	Sonda_I D (MDD v C) DLPFC	Hs.81886_at	6,233700436	98	AA905726	<u>Hs.81886</u>	<u>549</u>	AUH	PROTEINA DE UNION A ARN AUI/ENOIL-COENZIMA A HIDRATASA
1	108	Sonda_I D (BPDv C) AnCg	Hs.8364_at	3,403571903	412	A1051630	<u>Hs.8364</u>	<u>5166</u>	PDK4	PIRUVATO DESHIDROGENASA CINASA, ISOENZIMA 4

1	109	Sonda_I D (MDD v C) AnCg	Hs.9599_at	- 4.285016072	355	A1032701	Hs.9599	10165	SLC25A13	FAMILIA 25 DEL TRANSPORTADOR DE SOLUTOS, MIEMBRO 13 (CITRINA)
---	-----	-----------------------------------	------------	---------------	-----	----------	---------	-------	----------	---

Tabla 11
Genes regulados de forma incorrecta en MD, BP y esquizofrenia

ID	UniGene	conjunto de sonda	Acc	Nombre	Símbolo	Dirección de cambio
1						
2	Hs.282878	Hs.282878_at	NM_021633	Keich de tipo 12 (<i>Drosophila</i>)	KLHL12	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-U
3	Hs.435039	Hs.435039_at	NM_014914	Que contiene repetición trinucleotídica 17	GENTG2	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-U
4	Hs.530712	Hs.530712_at	NM_017917	Fase de lectura abierta 10 del cromosoma 14	C14orf10	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-U
5	Hs.56294	Hs.56294_at	NM_004794	RAB33A, miembro de la familia del oncogén RAS	RAB33A	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-U
6	Hs.21577	Hs.21577_at	NM_005701	ARN, transportador de U 1	RNU11	DLPFC-BPD&SCZ-U
7	Hs.274479	Hs.274479_at	NM_197972	Proteína expresada en células no metastásicas 7, (nucleósido difosfato cinasa)	NME7	DLPFC-BPD&SCZ-U
8	Hs.368486	Hs.368486_at	NM_001649	Tipo de proteína apical (<i>Xenopus laevis</i>)	APXL	DLPFC-BPD&SCZ-U
9	Hs.468415	Hs.468415_at	NM_002643	Fosfatidilinositol glucano, clase F	PIGF	DLPFC-BPD&SCZ-U
10	Hs.471401	Hs.471401_at	NM_004328	Tipo BCS1 (levadura)	BCS1L	DLPFC-BPD&SCZ-U
11	Hs.502145	Hs.502145_at	NM_006157	NEL tipo 1 (pollo)	NELL1	DLPFC-BPD&SCZ-U
12	Hs.514036	Hs.514036_at	NM_006923	Factor 2 derivado de células estromáticas	SDF2	DLPFC-BPD&SCZ-U
13	Hs.532853	Hs.532853+_at	NM_004146	NADH deshidrogenasa (ubiquinona) subcomplejo 1 beta, 7, 18 kDa	NDUFB7	DLPFC-BPD&SCZ-U
14	Hs.111779	Hs.111779_at	NM_003118	Proteína secretada, ácida, rica en cisteína (osteonectina)	SPARC	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
15	Hs.171695	Hs.171695_at	NM_004417	Fosfatasa 1 de especificidad doble	DUSP1	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
16	Hs.212838	Hs.212838_at	NM_000014	Alfa-2 macroglobulina	A2M	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
17	Hs.34560	Hs.34560_at	NM_005574	Dominio LIM únicamente 2 (rombotina de tipo 1)	LMO2	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
18	Hs.347270	Hs.347270_at	NM_033554	Completo principal de histocompatibilidad, clase II, DP alfa 1	HLA-DPA1	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
19	Hs.436568	Hs.436568_at	BC024272	Antígeno CD74 (polipéptido invariante del completo principal de histocompatibilidad, clase II asociado a antígeno)	CD74	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
20	Hs.491582	Hs.491582_at	NM_000931	Activador de plasminógeno, tisular	PLAT	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
21	Hs.534115	Hs.534115_at	NM_006988	Un tipo de desintegrina y metaloproteasa (tipo reprotisina) con motivo de trombospondina de tipo 1, 1	ADAMTS1	DLPFC-BPD&MDD&SCZ-D
22	Hs.17109	Hs.17109_at	NM_004867	Proteína 2A integrada de membrana	ITM2A	DLPFC-BPD&SCZ-D
23	Hs.485130	Hs.485130_at	K01615	Complejo principal de histocompatibilidad, clase II, DP beta 1	HLA-DPB1	DLPFC-BPD&SCZ-D
24	Hs.504877	Hs.504877_at	X69549	Inhibidor de disociación de GDP Rho (GDI) beta	ARHGDI1B	DLPFC-BPD&SCZ-D
25	Hs.520048	Hs.520048_at	NM_019111	Completo principal de histocompatibilidad, clase II, DR alfa	HLA-DRA	DLPFC-BPD&SCZ-D

Tabla 12

Genes regulados de forma incorrecta en MD, BP y esquizofrenia						
Símbolo	Nombre	ID UniGene	AnCg	DLPFC	CB	nAcc
PTGDS	Prostaglandina	Hs.446429			CB-D	nAcc-D
PLAT	Activador de plasminógeno, tisular	Hs.491582	AnCg-D	DLPFC-D		
ADAMTS1	Tipo desintegrina y metaloproteasa	Hs.534115		DLPFC-D		nAcc-D

Tabla 13

ID UniGene	N.º de acceso GDB	Nombre	Símbolo Citobanda	Trastorno bipolar			Trastorno depresivo mayor			
				U95Av2 Cohorte A	U133A Cohorte A	U133A Cohorte B	U95Av2 Cohorte A	U133A Cohorte A	U133A Cohorte B	
				Valor P	% de cambio factorial	% de cambio factorial	Valor P	% de cambio factorial	% de cambio factorial	
Metabolismo de monoamina										
Hs.370408	AL390148	Catecol-O-metiltransferasa	COMT	22q11.21-q11.23	< 0,01	15,8	< 0,01	11,5		
Hs.46732	NM_000898	Monoamina oxidasa B	MAOB	Xp11.23	< 0,01	15,9	< 0,01	18,9		
Ligando de neuropéptido										
Hs.1832	BF680552	Neuropéptido Y	NPY	7p15.1	< 0,01*	22,1	< 0,01*	33,0		
Hs.12409	BI918626	Somatostatina	SST	3q28	< 0,01*	29,0	< 0,01*	22,1		
Hs.1408	BC053866	Endotelina 3	EDN3	20q13.2-q13.3	< 0,01	-12,3	< 0,01	-10,0		
GPCR										
Hs.519057	L07615	Receptor Y1 de neuropéptido Y	NPY1R	4q31.3-q32	< 0,01*	24,4	< 0,01*	21,9	< 0,05	-17,7
Hs.131138	NM_012344	Receptor 2 de neurotensina	NTSR2	2p25.1			< 0,01	-13,9	< 0,01	-18,6
Hs.112621	BC041407	Receptor 3 de glutamato metabotrópico	GRM3	7q21.1-q21.2	< 0,01*	33,4	< 0,01*	34,4		
Hs.88372	BC033742	Receptor 2 taquicinina	TACR2	10q11-q21			< 0,01*	-22,9		
Ligando de neuropéptido										
Hs.154210	BC018650	Receptor 1 acoplado a proteína G de diferenciación endotelial	EDG1	1p21			< 0,01	-19,7	< 0,01*	-21,2
Hs.126667	BC036034	Receptor 2 acoplado a proteína G de diferenciación endotelial	EDG2	9q31.3	< 0,05	24,1	< 0,01	18,2		

Hs.374613	D26070	Receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, tipo 1	ITPR1	3p26-p25	< 0,05	13,0	< 0,01	17,4
Hs.460355	AL833252	Proteína cinasa C, PRKCB1 beta 1	PRKCB1	16p11.2	< 0,01	14,8	< 0,01	11,5
Hs.478199	NM_002740	Proteína cinasa C, PRKCI iota	PRKCI	0	< 0,01*	-29,5		
Hs.444924	NM_001263	CDP de diacilglicerol sintasa 1	CDS1	4q21.23	< 0,01*	-29,5		
Hs.32309	AK093560	Polifosfato-1-fosfatasa	INPP1	2q32	< 0,01*	21,5	< 0,01*	24,9
Hs.369755	NM_014937	Inositol polifosfato-5-fosfatasa F	INPP5F	10q26.11-q26.12			< 0,01*	21,8
Hs.528087	NM_002221	Inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa B	ITPKB	0	< 0,01	14,8	< 0,05	11,5
							< 0,01*	-12,3
							< 0,05	-34,0
Hs.175343	BX648778	Fosfoinositido-3-cinasa, clase 2, polipeptido alfa	PIK3C2A	11p15.5-p14	< 0,05	22,3	< 0,01*	-14,1
Hs.497487	Y11312	Fosfoinositido-3-cinasa, clase 2, polipeptido beta	PIK3C2B	1q32	< 0,01	16,6	< 0,01	14,8
Hs.132225	NM_181523	Fosfoinositido-3-cinasa, subunidad reguladora 1	PIK3R1	5q13.1	< 0,01*	-32,0		
Hs.467192	AK090488	Proteína fosfatasa 2, subunidad A reguladora, isoforma alfa	PPP2R1A	19q13.41	< 0,01	12,1	< 0,01	10,1
Hs.146339	NM_002717	Proteína fosfatasa 2, subunidad B reguladora, isoforma alfa	PPP2R2A	8p21.2	< 0,01*	32,3		

Tabla 14

Nombre	Símbolo	ID UniGene	N.º de acceso GDB	Proteína G	Citobanda	Trastorno bipolar			Trastorno depresivo mayor							
						U95Av2	U133A	U133A	U95Av2	U133A	U133A					
						Cohorte A	Cohorte A	Cohorte B	Cohorte A	Cohorte A	Cohorte B					
Valor	%FC	Valor	%FC	Valor	%FC	Valor	%FC	Valor	%FC	Valor	%FC					
Metabolismo de monoamina																
Catecol-O-metiltransferasa	COMT	Hs.370408	AL390148		22q11.21-q11.23	<0,01	15,8	<0,01	11,5							
Monoamina oxidasa B	MAOB	Hs.46732	NM_000898		Xp11.23	<0,01	15,9	<0,01	18,9							
Peptido ligando																
Neuropéptido Y	NPY	Hs.1832	BF680552	Gi, Gq	7p15	<0,01*	22,1	<0,01*	33,0							
Somatostatina	SST	Hs.12409	BI918626	Gi	3q28	<0,01*	29,0	<0,01*	22,1							
Endotelina 3	EDN3	Hs.1408	BC053866	Gq	20q13.2-q13.3	<0,01	-12,3	<0,01	-10,0							
GPCR																
Receptor Y1 de neuropéptido Y	NPY1R	Hs.519057	L07615	Gi	4q31-q32		<0,01*	24,4								
Receptor 2 de taquicina	TACR2	Hs.88372	BC033742	Gq	10q11-q21		<0,01*	-22,9								
Receptor 2 de neurotensina	NTSR2	Hs.131138	NM_012344	Gq	2p25.1		<0,01	-13,9	<0,01	-18,6	<0,01*	-24,7				
Receptor de endotelina de tipo B	EDNRB	Hs.82002	NM_000115	Gq	13q22						<0,01*	-31,2	<0,01	-15,9		
Receptor 3 de glutamato metabotrópico	GRM3	Hs.112621	BC041407	Gi	7q21		<0,01*	33,4	<0,01*	34,4						
GPCR 1 de diferenciación endotelial	EDG1	Hs.154210	BC018650	Gi, G12	1p21						<0,01	-19,7	<0,01*	-21,2	<0,01	-10,4
GPCR 2 de diferenciación endotelial	EDG2	Hs.126667	BC036034	Gi, Gq, G12	9q31.3		<0,05				<0,01	18,2				
Receptor 37 acoplado a proteína G	GPR37	Hs.406094	BX649006		7q31		<0,01*	53,1	<0,01*	38,3	<0,01*	-53,5	<0,01*	-40,5	<0,01*	-27,0
Receptor C-5-B acoplado a proteína G B	GPRC5B	Hs.148685	NM_016235	Desconocida	16p12		<0,01*	38,4	<0,01*	24,6	<0,01*	-36,5	<0,01*	-38,3	<0,01*	-30,3
Receptor 56 acoplado a proteína G	GPR56	Hs.513633	NM_201524	Desconocida	16q13						<0,01	-12,0	<0,01	-15,9	<0,01	-14,9
Receptor 125 acoplado a proteína G	GPR125	Hs.99195	XM_291111	Desconocida	4p15						<0,05	-14,1	<0,05	-11,5		
Ruta de señalización de AMPc																
Proteína G de actividad inhibidora alfa 1	GNAI1	Hs.134587	BC026326		7q21						<0,01*	40,4				

Regulador de la señalización de proteína G 20	RGS20	Hs.368733	AK094559	8q12	< 0,01*	-28,2	< 0,01*	-29,2	< 0,01	-13,9
Fosfodiesterasa 1A	PDE1A	Hs.416061	NM_005019	2q32	< 0,01*	20,1	< 0,01*	24,1		
Fosfodiesterasa 8A	PDE8A	Hs.9333	NM_173457	15q25	< 0,01	16,3	< 0,01	12,5	< 0,01*	-23,1
Inhibidor alfa de proteína cinasa A	PKIA	Hs.433700	NM_006823	8q21	< 0,05	14,2	< 0,01	16,6		-17,8
Cinasa 5 dependiente de ciclina	CDK5	Hs.166071	AK026533	7q36	< 0,01	10,5	< 0,01	12,0		
Proteína fosfatasa 1, catalítica alfa	PPP1CA	Hs.183994	AK098311	11q13	< 0,01	13,1	< 0,01	16,8		
Proteína fosfatasa 1, reguladora 3C	PPP1R3C	Hs.303090	BX537399	10q23-q24	< 0,01*	-35,4	< 0,01*	-63,2	< 0,01*	-21,4
Ruta de señalización de fosfatidilinositol										
Inositol polifosfato-5-fosfatasa A	INPP5A	Hs.523360	NM_005539	10q26			< 0,01	13,2	< 0,05	12,2
Inositol polifosfato-5-fosfatasa F	INPP5F	Hs.369755	NM_014937	10q26					< 0,01*	21,8
Inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa B	ITPKB	Hs.528087	NM_002221	1q41-q43	< 0,01	14,8	< 0,05	11,5	< 0,01	-12,3
Inositol polifosfato-1-fosfatasa	INPP1	Hs.32309	AK093560	2q32	< 0,01*	21,5	< 0,01*	24,9		-34,0
GDP-diacilglicerol sintasa 1	CDS1	Hs.444924	NM_001263	4q21.23	< 0,01*	-29,5				
Fosfoinositido-3-cinasa catalítica 2A	PIK3C2A	Hs.175343	BX648778	11p15-p14			< 0,05	-14,1	< 0,01*	-35,9
Fosfoinositido-3-cinasa catalítica 2B	PIK3C2B	Hs.497487	Y11312	1q32	< 0,01	16,6	< 0,01	14,8		
Fosfoinositido-3-cinasa reguladora 1	PIK3R1	Hs.132225	NM_181523	5q13	< 0,01*	-32,0				
Proteína cinasa C iota	PRKCI	Hs.478199	NM_002740	3p25-q27	< 0,01*	-29,5				
Receptor 1 de inositol 1,4,5-trifosfato	ITPR1	Hs.374613	D26070	3p26-p25			< 0,05	13,0	< 0,01	17,4
Proteína cinasa C beta 1	PRKCB1	Hs.460355	AL833252	16p11			< 0,01	14,8	< 0,01	11,5

Tabla 15

Nombre	Símbolo	UniGene	ID	N.º de acceso	GDB	Proteína G	Citobanda	Trastorno bipolar				Trastorno depresivo mayor			
								U95Av2		U133A		U95Av2		U133A	
								Cohorte A	Cohorte B	Cohorte A	Cohorte B	Cohorte A	Cohorte B	Cohorte A	Cohorte B
Valor P	%FC	Valor P	%FC	Valor P	%FC	Valor P	%FC	Valor P	%FC	Valor P	%FC	Valor P	%FC		
Proteína fosfatasa 1 reguladora 3C	PPP1R3C	Hs.303090	BX537399				10q23-q24	< 0,01*	-26,4	< 0,01*	-26,4	< 0,01*	-62,5	< 0,01*	-29,6
Fosfodiesterasa 8A	PDE8A	Hs.9333	NM_173457				15q25	< 0,01*	-32,0						
Inositol 1,4,5-trifosfato 3- α -hidroxasa B	ITPKB	Hs.528087	AJ242780				1q42	< 0,01	-12,5						< 0,01*
Proteína G beta 5	GNB5	Hs.155090	AK092059				15q21					< 0,05	12,8	< 0,01	18,7
Somatostatina	SST	Hs.12409	BI918626	Gi			3q28	< 0,01	-16,8	< 0,01*	-25,7	< 0,01*	-26,6	< 0,01*	-34,2
Receptor beta-1, adrenérgico	ADRB1	Hs.99913	BC045633	Gs			10q24-q26	< 0,01	-18,4	< 0,05	-13,4				
Receptor de glutamato, metabotrópico 3	GRM3	Hs.112621	BC041407	Gi			7q21	< 0,01*	28,4						
Receptor C-5-B acoplado a proteína G	GPRC5B	Hs.148685	NM_016235	Desconocida			16p12	< 0,01*	31,8	< 0,01*	-35,6	< 0,01*	-34,3	< 0,01*	-24,0
Receptor 37 acoplado a proteína G	GPR37	Hs.406094	BX649006	Desconocida			7q31			< 0,01*	-62,5				
Receptor 56 acoplado a proteína G	GPR56	Hs.513633	NM_201524	Desconocida			16q13			< 0,01	-14,2	< 0,01*	-20,0	< 0,01*	-23,2
Fosfodiesterasa 4B	PDE4B	Hs.198072	CR749667				1p31					< 0,01*			-45,3
Inositol polifosfato-5- α -hidroxasa A	INPP5A	Hs.523360	NM_005539				10q26	< 0,01*	26,1						
Regulador de la señalización de proteína G 20	RGS20	Hs.368733	AK094559				8q12					< 0,01*			-23,8
Proencefalina	PENK	Hs.339831	AK091563	Gi			8q23-q24	< 0,01*	83,4			< 0,01*			34,5
Receptor C-5-B acoplado a proteína G	GPRC5B	Hs.148685	NM_016235	Desconocida			16p12					< 0,01*			-31,7
Receptor 37 acoplado a proteína G	GPR37	Hs.406094	BX649006	Desconocida			7q31					< 0,01*			-42,4

Tabla 17

UniGene	Nombre del gen	Símbolo	BPD frente a Control				MDD frente a Control						
			U95Av2	%FC	U133A	%FC	U95Av2	%FC	U133A	%FC	qRT-PCR	%FC	
Hs.1832	Neuropéptido Y	NPY	22,1	**	33,0	**	37,6						
Hs.12409	Somatostatina	SST	29,0	**	22,1	**	N.S.						
Hs.148685	Receptor C-5-B acoplado a proteína G	GPRC5B	38,4	**	24,6	**	46,8	*	-36,5	**	-38,3	**	-54,0
Hs.406094	Receptor 37 acoplado a proteína G	GPR37	53,1	**	38,3	**	54,1	*	-53,5	**	-40,5	**	-62,7
Hs.368733	Regulador de la señalización de proteína G 20	RGS20				**			-28,2	**	-29,2	**	-36,9
Hs.303090	Proteína fosfatasa 1 subunidad reguladora 3C	PPP1R3C							-35,4	**	-63,2	**	-46,1
Hs.32309	Inositol polifosfato-1-fosfatasa	INPP1	21,5	**	24,9	**	21,7	*					**

Tabla 18

Nombre	Ligandos	Símbolo	UniGene	Ac. UGRRep	Citobanda	BP - Control			nAcc 133A-22			
						Ami 133A-22	HC 133A-22	%FC	Valor-P	%FC	Valor-P	%FC
Adrenomedulina		ADM	Hs.441047	CR603703	11p15	<0,01*	31,53					
Inhibidor 3 de angiogénesis específico del cerebro		BAI3	Hs.13261	AB011122	6q12	<0,01*	22,18	<0,01*	36,44			
Colestocinina		CCK	Hs.458426	BC028133	3p22-p21	<0,01*	43,64	<0,01*	58,95	<0,01*	75,64	
Somatostatina		SST	Hs.12409	BI918626	3q28	<0,01*	43,64					
Ligando 29 de quimiocina (motivo C-C)		CCL25	Hs.310511	CR603063	19p13	<0,01*	-21,63	<0,01*	-37,40	<0,01*	-26,52	
Ligando 14 de quimiocina (motivo C-X-C)		CXCL14	Hs.483444	NM_004887	5q31	<0,01*	-21,63	<0,01*	-37,40	<0,01*	-26,52	
Homólogo 7 de Frizzled (<i>Drosophila</i>)		FZD7	Hs.173859	AB017365	2q33	<0,01*	21,95	<0,01*	26,17			
Monoamino oxidasa B		MAOB	Hs.46732	NM_000898	Xp113	<0,01*	21,95					
Neuropéptido Y		NPY	Hs.1832	BF680552	7p15	<0,01*	27,35					
Neurotensina		NTS	Hs.80962	BF698911	12q21	<0,01*	31,10					
Prodinorfina		PDYN	Hs.22584	BC026334	20pter-p12	<0,01*	73,04	<0,01*	20,40			
Proencefalina		PENK	Hs.339831	A091563	8q23-q24	<0,01*	121,58			<0,01	19,08	
GPCR												
Receptor Y1 de neuropéptido Y		NPY1R	Hs.519057	L07615	4q31-q32	<0,01*	42,45					
Receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA) A, delta		GABRD	Hs.113882	NM_000815	1p					<0,01*	27,99	
Receptor 2 de neurotensina		NTSR2	Hs.131138	NM_012344	2p25					<0,01*	-26,66	
Receptor de oxitocina		OXTR	Hs.2820	NM_000916	3p25					<0,01*	-27,98	
Receptor de adenosina A2a		ADORA2A	Hs.197029	BC013780	22q11	<0,01*	42,45					
Cadherina, receptor 2 de tipo G de siete dominios LAG de EGF		CELSR2	Hs.57652	AF234887	1p21			<0,01*	20,09			
Receptor 116 acoplado a proteína G		GPR116	Hs.362806	BC066121	6p12			<0,01*	-33,15			
Receptor 125 acoplado a proteína G		GPR125	Hs.99195	XM_291111	4p15	<0,05	-11,08					
Receptor 17 acoplado a proteína G		GPR17	Hs.46453	AK126849	2q21	<0,05	8,77					
Receptor 22 acoplado a proteína G		GPR22	Hs.432557	AK122621	7q22-q31			<0,05	12,47			
Receptor 37 acoplado a proteína G		GPR37	Hs.406094	BX649006	7q31			<0,01	-16,70			
Receptor 51 acoplado a proteína G		GPR51	Hs.198612	AF056085	9q22-q22	<0,01	-19,60	<0,01	15,51	<0,01*	23,38	
Receptor 6 acoplado a proteína G		GPR6	Hs.46332	NM_005284	6q21	<0,01*	78,20			<0,01*	24,14	
Receptor C-5-B acoplado a proteína G		GPRC5B	Hs.148685	NM_016235	16p12	<0,01	11,08					
Receptor de glutamato, metabotrópico 3		GRM3	Hs.112621	BC041407	7q21	<0,01*	28,68					
Receptor H3 de histamina		HRH3	Hs.251399	NM_007232	20q13					<0,01	18,90	
Receptor D1 de dopamina		DRD1	Hs.2624	NM_000794	5q35	<0,01*	53,37			<0,05	17,68	
Receptor de endotelina de tipo B		EDNRB	Hs.82002	NM_000115	13q22	<0,01*	24,03	<0,01*	24,03	<0,01*	-37,40	
Receptor 2C de 5-hidroxitriptamina (serotonina)		HTR2C	Hs.149037	NM_000868	Xq24	<0,01*	97,85	<0,01*	24,17	<0,01*	33,87	
Proteína G												
Proteína G, polipeptido 1 de actividad inhibidora alfa		GNAI1	Hs.134587	BC026326	7q21	<0,01*	22,98	<0,01*	32,60			
Proteína de unión a nucleótido de guanina, polipeptido beta 1		GNB1	Hs.430425	AK123609	1p36	<0,01	19,19					
Proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), beta 5		GNB5	Hs.155090	AK092059	15q21	<0,01	19,68	<0,01*	21,92			

3	Proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), gamma	GNG3	Hs.179915	BM668891	11p11	<0,05	9,70	<0,01*	28,84	<0,01*	31,30
7	Proteína de unión a nucleótido de guanina (proteína G), gamma	GNG7	Hs.515544	AK024465	19p13	<0,01*	25,24				
	Regulador de la señalización de proteína G										
	Regulador de la señalización de proteína G 1	RGS1	Hs.75256	AK093544	1q31			<0,05	-9,16		
	Regulador de la señalización de proteína G 2	RGS2	Hs.78944	BC042755	1q31	<0,01*	23,56	<0,01*	20,60		
	Regulador de la señalización de proteína G 20	RGS20	Hs.368733	AK094559	8q12			<0,01*	25,58		
	Regulador de la señalización de proteína G 4	RGS4	Hs.386726	NM_005613	1q23			<0,05	-8,25	<0,01*	21,82
	Regulador de la señalización de proteína G 5	RGS5	Hs.24950	NM_003617	1q23	<0,01*	-26,85	<0,01*	-32,51	<0,01*	-20,65
	Regulador de la señalización de proteína G 7	RGS7	Hs.130171	CR627366	1q43	<0,01	18,39				
	Regulador de la señalización de proteína G 9	RGS9	Hs.132327	BC022504	17q23-q24	<0,01*	25,58				
	Señalización de AMP cíclico										
	Proteína cinasa, dependiente de AMPc, catalítica, beta	PRKACB	Hs.487325	BX537705	1p36	<0,01*	26,80	<0,01*	20,88	<0,01*	22,95
	Proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, tipo I, alfa	PRKAR1A	Hs.280342	CR749311	17q23-q24	<0,01*	21,71	<0,01*	23,64	<0,01*	26,15
	Proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, tipo II, beta	PRKAR2B	Hs.433068	BC075800	7q22	<0,01*	23,30	<0,01*	54,89		
	Inhibidor alfa de proteína cinasa, (dependiente de AMPc, catalítica)	PKIA	Hs.433700	NM_006823	8q21			<0,01*	30,00		
	Fosfodiesterasa 8A	PDE8A	Hs.9333	NM_173457	15q25			<0,01*	-25,56		
	Fosfoproteína de AMP cíclico, 19 kDa	ARPP-19	Hs.512908	AL833077	15q21	<0,01*	27,29			<0,01	19,35
	Proteína asociada a adenilato ciclasa 2	CAP2	Hs.132902	NM_006366	6p22	<0,05	10,52	<0,01*	35,43		
	Cinasa 5 dependiente de ciclina	CDK5	Hs.166071	AK026533	7q36			<0,01*	20,85		
	Señalización de fosfatidilinositol										
	Diacilglicerol cinasa, beta 90 kDa	DGKB	Hs.487619	NM_004080	7p21	<0,01	18,61			<0,01*	26,46
	Inositol polifosfato-5-fosfatasa	INPP5A	Hs.523360	NM_005539	10q26	<0,01*	34,39	<0,01*	27,86		
	Inositol polifosfato-5-fosfatasa F	INPP5F	Hs.369755	NM_014937	10q26	<0,01*	31,06	<0,01*	29,81		
	Receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, tipo 1	ITPR1	Hs.374613	D26070	3p26-p25	<0,01*	23,50	<0,01*	29,24		
	Fosfatidilinositol-4-fosfato 5-cinasa, tipo I, beta	PIP5K1B	Hs.534371	BC030587	9q13	<0,01*	20,75				
	Fosfatidilinositol-4-fosfato 5-cinasa, tipo II, gamma	PIP5K2C	Hs.144502	AK125526	12q13			<0,01*	23,03		
	Fosfolipasa C, beta 1 (especifica de fosfoinositido)	PLCB1	Hs.310537	NM_182734	20p12			<0,01	19,28		
	Proteína cinasa C, beta 1	PRKCB1	Hs.460355	AL833252	16p11	<0,01*	23,66	<0,01	18,25		
	Sustrato de proteína cinasa C rico en alanina miristoilado	MARCKS	Hs.519909	NM_002356	6q22			<0,01*	23,12		
	Proteína 43 asociada al crecimiento	GAP43	Hs.134974	AK091466	3q13			<0,01*	27,99	<0,01*	46,79
	YWHA										
	Proteína de activación de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa, polipéptido beta	YWHAH	Hs.279920	NM_003404	20q13			<0,01*	37,20	<0,01*	22,45
	Fase de lectura abierta 24 de cromosoma 22	YWHAH	Hs.226755	CR622695	22q12			<0,01*	73,39	<0,01*	66,65
	Proteína de activación de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa, polipéptido theta	YWHAQ	Hs.74405	NM_006826	2p25			<0,01*	32,96		
	Proteína de activación de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa, polipéptido zeta	YWHAZ	Hs.492407	BC051814	8q23	<0,01	13,55	<0,01*	42,25	<0,01*	31,83
	Señalización de calcio										
	Calmodulina 1 (fosforilasa cinasa, delta)	CALM1	Hs.282410	BC047523	14q24-q31			<0,01*	21,80		

Familia de genes homólogos a Ras, miembro I	ARHI	Hs.194695	AK096393	1p31	<0,01*	132,94		<0,01*	33,15
Familia DIRAS, RAS de unión a GTP de tipo 2	DIRAS2	Hs.165636	NM_017594	9q22					
RAB31, miembro de la familia del oncogén RAS	RAB31	Hs.99528	NM_006868	18p11	<0,05	-9,44			
RAB33A, miembro de la familia del oncogén RAS	RAB33A	Hs.56294	AK094927	Xq25				<0,01*	21,72
Aceptor 1 de Rab (preñilado)	RABAC1	Hs.11417	BE779053	19q13				<0,01*	21,97
Proteína 6 de unión a RAN	RANBP6	Hs.167496	BX537405	9p24			<0,01*	25,82	
RAP1, proteína 1 activadora de GTPasa	RAP1GA1	Hs.148178	BC035030	1p36-p35	<0,01*	52,74			
Proteína hipotética LOC145899	RASGRF1	Hs.459035	NM_002891	15q24			<0,01*	28,36	
Proteína 1 de liberación de RAS guanilo (regulada por calcio y DAG-)	RASGRP1	Hs.511010	AF081195	15q15	<0,01*	24,37			
Proteína 3 de liberación de RAS guanilo (regulada por calcio y DAG-)	RASGRP3	Hs.143674	BC027849	2p25-p24			<0,01	-14,27	
De tipo Ras sin CAAX 2	RIT2	Hs.464985	AL713637	18q12				<0,01*	32,56
Relacionada con RAS en el cromosoma 22	RRP22	Hs.73088	M_001007279	22q12				<0,01*	20,87
Homólogo del oncogén vírico del sarcoma de rata Kirsten 2 V-Ki-ras2	KRAS2	Hs.505033	NM_033360	12p12			<0,01*	22,38	
Proteína 2 de unión a dominio SH3 de proteína activadora de Ras-GTPasa	G3BP2	Hs.303676	NM_203505	4q21			<0,01*	23,35	36,80
Canal de Potasio									
Factor 1 modulador del canal de potasio	KCMF1	Hs.345694	NM_020122	2p11			<0,01*	22,07	
Canal de potasio abierto por voltaje, relacionado con shaker beta 2	KCNAB2	Hs.440497	AK124696	1p36			<0,01*	24,09	
Canal de potasio abierto por voltaje, relacionado con Shal 2	KCND2	Hs.21703	AB028967	7q31			<0,01*	20,05	
Canal de potasio de rectificación interior, subfamilia J 2	KCNJ2	Hs.1547	NM_000891	17q23-q24			<0,01*	-28,13	
Canal de potasio de rectificación interior, subfamilia J 6	KCNJ6	Hs.50927	AK058042	21q22			<0,01*	26,12	
Canal de potasio de rectificación interior, subfamilia J 13	KCNJ13	Hs.467338	NM_002242	2q37			<0,01*	31,87	
Canal de potasio, subfamilia K, miembro 1	KCNK1	Hs.208544	AL833343	1q42-q43				<0,01*	23,33
Canal activado por intermedio de potasio/pequeña conductancia de calcio, subfamilia N, miembro 2	KCNN2	Hs.98280	NM_021614	5q22			<0,01*	28,96	
Canal activado por intermedio de potasio/pequeña conductancia de calcio, subfamilia N, miembro 3	KCNN3	Hs.490765	BX649146	1q21	<0,01	-13,90			
Canal de potasio, subfamilia V, miembro 1	KCNV1	Hs.13285	NM_014379	8q22-q24			<0,01	11,16	
Canal de sodio									
Canal de sodio, abierto por voltaje, tipo III, beta	SCN3B	Hs.4865	AB032984	11q24			<0,01*	41,71	37,41
Familia 12 del transportador de solutos (transportador de potasio-cloruro) miembro 5	SLC12A5	Hs.21413	NM_020708	20q132	<0,01	11,53	<0,01*	21,22	
Familia 24 del transportador de solutos (intercambiador de sodio/potasio-calcio) miembro 3	SLC24A3	Hs.211252	AL833544	20p13			<0,01*	60,32	
Canal 1 de antones dependiente de voltaje	VDAC1	Hs.519320	AK122953	5q31			<0,01*	27,48	
Canal de calcio									
Canal de calcio, dependiente de voltaje, alfa 2/delta 3	CACNA2D3	Hs.369421	NM_018398	3p21			<0,01*	36,34	
Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad beta 2	CACNB2	Hs.59093	NM_000724	10p12			<0,01*	21,04	<0,01*
Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad beta 3	CACNB3	Hs.250712	AK122911	12q13			<0,01*	22,11	

Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad gamma 3	CACNG3	Hs.7235	AK095553	16p12-p13		<0,01*	32,54	
Canal de cloruro								
Canal 4 intracelular de cloruro	CLIC4	Hs.440544	AL117424	1p36		<0,05	-17,97	

Tabla 19

Nombre Ligandos	Símbolo	ID UniGene	Ac. UGRRep	Citobanda	MD - Control		HC 133A-22		nAcc 133A-22	
					Ami 133A-22 Valor p	% FC	Valor p	% FC	Valor p	% FC
Adrenomedulina	ADM	Hs.441047	CR603703	11p15	<0,05	-7,16	<0,01*	-34,24		
Inhibidor 3 de angiogénesis específico de cerebro	BAI3	Hs.13261	AB011122	6q12	<0,01*	20,13	<0,01*	20,61		
Colesticocina	CCK	Hs.458426	BC028133	3p22-p21	<0,01*	29,74	<0,01*	81,09		
Somatostatina	SST	Hs.12409	BI918626	3q28	<0,01*	20,70				
Homólogo 7 de Frizzled (<i>Drosophila</i>)	FZD7	Hs.173859	AB017365	2q33			<0,05	8,11		
Latrofilina 2	LPHN2	Hs.24212	AF104266	1p31	<0,01*	29,33				
Prodinorfina	PDYN	Hs.22584	BC026334	20pter-p12	<0,01*	34,43			<0,01*	31,55
Proencefalina	PENK	Hs.339831	AK091563	8q23-q24	<0,01*	57,92	<0,01*	21,80	<0,01*	22,13
Prostaglandina D2 sintasa 21 kDa (cerebro)	PTGDS	Hs.446429	BM805807	9q34-q34			<0,01*	-23,24		
GPCR										
Receptor Y1 de neuropéptido Y	NPY1R	Hs.519057	L07615	4q31-q32	<0,01*	44,09				
Receptor de ácido gamma-aminobutírico (GABA) A, delta	GABRD	Hs.113882	NM_000815	1p			<0,01*	22,04	<0,01*	22,85
Receptor 2 de neurotensina	NTSR2	Hs.131138	NM_012344	2p25	<0,01*	-37,48			<0,01	-17,42
Receptor de oxicocina	OXTR	Hs.2820	NM_000916	3p25					<0,01	-15,90
Receptor de colesticocina B	CCKBR	Hs.203	AF239668	11p15			<0,01*	27,01		
Receptor de adenosina A2a	ADORA2A	Hs.197029	BC013780	22q11	<0,01	18,30			<0,01*	23,23
Receptor de angiotensina II de tipo 1I	AGTRL1	Hs.438311	AK075252	11q12			<0,01*	-22,99		
Receptor 125 acoplado a proteína G	GPR125	Hs.99195	XM_291111	4p15	<0,01*	-22,88				
Receptor 17 acoplado a proteína G	GPR17	Hs.46453	AK126849	2q21	<0,01*	-27,08				
Receptor 22 acoplado a proteína G	GPR22	Hs.432557	AK122621	7q22-q31			<0,01*	24,51		
Receptor 37 acoplado a proteína G	GPR37	Hs.406094	BX649006	7q31			<0,01*	-43,90		
Receptor 37 acoplado a proteína G de tipo 1	GPR37L1	Hs.132049	BC050334	1q32	<0,01*	-27,67				
Receptor 51 acoplado a proteína G	GPR51	Hs.198612	AF056085	9q22-q22	<0,01*	31,80	<0,01*	29,07		
Receptor 56 acoplado a proteína G	GPR56	Hs.513633	NM_201524	16q13	<0,01*	-24,98				
Receptor 6 acoplado a proteína G	GPR6	Hs.46332	NM_005284	6q21	<0,01*	27,88			<0,01*	41,21
Receptor 4 de quimiocinas (motivo C-X-C)	CXCR4	Hs.421986	CR614663	2q21			<0,01*	-20,68		
Receptor C-5-B acoplado a proteína G	GPRC5B	Hs.148685	NM_016235	16p12	<0,01*	-27,94	<0,01*	-36,01		
Receptor de histamina H3	HRH3	Hs.251399	NM_007232	20q13					<0,01*	30,42
Receptor de dopamina D1	DRD1	Hs.2624	NM_000794	5q35	<0,01*	27,79			<0,01*	25,88
GPCR 1 de esfingolipidos, diferenciación endotelial	EDG1	Hs.154210	BC018650	1p21	<0,01*	-20,04				
Receptor de endotelina de tipo B	EDNRB	Hs.82002	NM_000115	13q22	<0,01*	-64,83	<0,01	-14,45	<0,01*	-37,17
Receptor 2A de 5-hidroxitriptamina (serotonina)	HTR2A	Hs.424980	NM_000621	13q14-q21	<0,01*	45,03	<0,01*	42,32		
Receptor 2C de 5-hidroxitriptamina (serotonina)	HTR2C	Hs.149037	NM_000668	Xq24	<0,01	14,27	<0,01	-18,49	<0,01*	31,98
Proteína G										
Proteína de unión a nucleótidos de guanina (proteína G), alfa 13	GNA13	Hs.515018	NM_006572	17q24	<0,01*	-20,84				
proteína G, polipéptido 1 de actividad inhibidora alfa	GNAI1	Hs.134587	BC026326	7q21	<0,05	17,13				

Proteína de unión a nucleótidos de guanina, polipeptido 1 beta	GNB1	Hs.430425	AK123609	1p36				<0,01*	22,06	
Proteína de unión a nucleótidos de guanina (proteína G), beta 5	GNB5	Hs.155090	AK092059	15q21	<0,01*	24,99		<0,01*	32,65	
Proteína de unión a nucleótidos de guanina (proteína G), gamma 12	GNB12	Hs.431101	NM_018841	1p31	<0,01*	-21,46				
Proteína de unión a nucleótidos de guanina (proteína G), gamma 3	GNB3	Hs.179915	BM668891	11p11	<0,01*	26,57		<0,01*	41,14	<0,05 14,55
Regulador de la señalización de proteína G										
Regulador de la señalización de la proteína G 1	RGS1	Hs.75256	AK093544	1q31				<0,01*	-34,56	
Regulador de la señalización de la proteína G 2	RGS2	Hs.78944	BC042755	1q31	<0,01*	36,07		<0,01	17,15	
Regulador de la señalización de la proteína G 20	RGS20	Hs.368733	AK094559	8q12	<0,01*	-32,34				
Regulador de la señalización de la proteína G 4	RGS4	Hs.386726	NM_005613	1q23	<0,01*	72,22		<0,01*	40,31	<0,05 10,50
Regulador de la señalización de la proteína G 5	RGS5	Hs.24950	NM_003617	1q23	<0,01	8,03				
Regulador de la señalización de la proteína G 7	RGS7	Hs.130171	CR627366	1q43	<0,01*	36,06		<0,01*	36,42	
Regulador de la señalización de la proteína G 9	RGS9	Hs.132327	BC022504	17q23-q24	<0,01	11,68				
Señalización de AMP cíclico										
Proteína cinasa, dependiente de AMPc, catalítica, beta	PRKACB	Hs.487325	BX537705	1p36	<0,01	17,60		<0,01	16,51	
Proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, de tipo I, alfa (anulador 1 específico de tejido)	PRKAR1A	Hs.280342	CR749311	17q23-q24	<0,01	11,92		<0,05	10,27	
Proteína cinasa, dependiente de AMPc, reguladora, de tipo II, beta	PRKAR2B	Hs.433068	BC075800	7q22	<0,01*	26,41		<0,01*	52,17	
Inhibidor alfa de proteína cinasa (dependiente de AMPc, catalítica)	PKIA	Hs.433700	NM_006823	8q21				<0,05	14,78	
Proteína de interacción con fosfodiesterasa 4D (micomegalina)	PDE4DIP	Hs.487925	NM_014644	1q12	<0,01*	-21,98				
Fosfodiesterasa 8A	PDE8A	Hs.9333	NM_173457	15q25	<0,01*	-20,78		<0,01*	-39,39	
Fosfodiesterasa 8B	PDE8B	Hs.78106	AF079529	5q13	<0,01*	20,36				
Fosfoproteína de AMP cíclico, 19 kD	ARPP-19	Hs.512908	AL833077	15q21	<0,01*	24,18		<0,01*	25,33	<0,01* 27,45
Proteína asociada a adenilato ciclasa, 2	CAP2	Hs.132902	NM_006366	6p22	<0,01*	32,38		<0,01*	27,21	
Cinasa 5 dependiente de ciclina	CDK5	Hs.166071	AK026533	7q36				<0,01	18,67	
Señalización de fosfatidilinositol										
Diacylglicerol cinasa, beta 90 kDa	DGKB	Hs.487619	NM_004080	7p21	<0,01*	32,70		<0,01*	26,36	
Inositol polifosfato-5-fosfatasa, 40 kDa	INPP5A	Hs.523360	NM_005539	10q26	<0,01*	22,52		<0,01*	40,16	<0,01* 22,98
Inositol polifosfato-5-fosfatasa F	INPP5F	Hs.369755	NM_014937	10q26	<0,01*	40,58		<0,01*	45,18	<0,01* 32,42
Inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa A	ITPKA	Hs.2722	BC026331	15q14-q21	<0,01*	29,49		<0,01*	32,18	
Inositol 1,4,5-trifosfato 3-cinasa B	ITPKB	Hs.528087	AJ242780	1q423	<0,01*	-34,51		<0,01*	-34,14	
Receptor de inositol 1,4,5-trifosfato, tipo 1	ITPR1	Hs.374613	D26070	3p26-p25	<0,01*	45,62		<0,01*	51,25	
Fosfoinositol-3-cinasa, clase 2, polipeptido alfa	PIK3C2A	Hs.175343	BX648778	11p15-p14	<0,01*	-63,06				
Fosfoinositol-3-cinasa, clase 2, polipeptido alfa	PIK3C2A	Hs.175343	BX648778	11p15-p14	<0,01*	-63,06				
Fosfatidilinositol-4-fosfato 5-cinasa, tipo I, beta	PIP5K1B	Hs.534371	BC030587	9q13	<0,01*	24,44				
Fosfatidilinositol-4-fosfato 5-cinasa, tipo II, gamma	PIP5K2C	Hs.144502	AK125526	12q13				<0,05	17,13	
Fosfolipasa C, beta 1 (específica de fosfoinosítido)	PLCB1	Hs.310537	M_182734	20p12				<0,01*	26,19	

Proteína cinasa C, beta 1	PRKCB1	Hs.460355	AL833252	16p11	<0,01*	51,20	<0,01*	43,94	<0,01*	30,12
Proteína 43 asociada al crecimiento	GAP43	Hs.134974	AK091466	3q13				49,55		
YWHA										
Proteína de activación de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa, polipéptido beta	YWHAH	Hs.279920	NM_003404	20q13	<0,01*	20,42	<0,01*	30,24	<0,05	13,58
Fase de lectura abierta 24 del cromosoma 22	YWHAH	Hs.226755	CR622695	22q12	<0,01*	31,18	<0,01*	56,74	<0,01*	26,27
Proteína de activación de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5-monooxigenasa, polipéptido zeta	YWHAZ	Hs.492407	BC051814	8q23	<0,01*	20,06	<0,01*	30,03	<0,01*	20,91
Señalización de calcio										
Calmodulina 1 (fosforilasa cinasa, delta)	CALM1	Hs.282410	BC047523	14q24-q31			<0,01	16,48		
Calmodulina 3 (fosforilasa cinasa, delta)	CALM3	Hs.515487	AK094964	19q13					<0,01	14,08
Proteína cinasa I dependiente de calcio/calmodulina	CAMK1	Hs.434875	AK094026	3p25			<0,01*	20,75		
Proteína cinasa II alfa dependiente de calcio/calmodulina	CAMK2A	Hs.143535	NM_015981	5q32			<0,01*	30,59		
Proteína cinasa II beta dependiente de calcio/calmodulina	CAMK2B	Hs.351887	NM_001220	22q12			<0,05	13,91		
Proteína cinasa II dependiente de calcio/calmodulina	CaMKIIInal									
Proteína cinasa 2, beta dependiente de calcio/calmodulina	pha	Hs.197922	CR604926	1p36			<0,01*	21,16		
Proteína cinasa 2, beta dependiente de calcio/calmodulina	CAMKK2	Hs.297343	NM_006549	12q24			<0,01*	22,16		
Activador 1 de la transcripción de unión a calmodulina	CAMTA1	Hs.397705	NM_015215	1p36	<0,01*	31,29	<0,01*	41,27		
Doblecortina y CaM cinasa de tipo 1	DCAMK1	Hs.507755	NM_004734	13q13					<0,05	16,77
Señalización de MAPK										
Cinasa 1 activada por P21/Cdc42/Rac1 (homólogo de STE20, levadura)	PAK1	Hs.435714	NM_002576	11q13-q14	<0,01*	32,71	<0,01*	36,58		
Proteína cinasa cinasa 1 activada por mitógenos	MAP2K1	Hs.145442	NM_002755	15q22	<0,01*	23,61	<0,01*	35,94	<0,01*	26,19
Proteína 1 de interacción con proteína cinasa cinasa 1 activada por mitógenos	MAP2K1IP1	Hs.433332	AK022313	4q23			<0,05	13,15		
Proteína cinasa cinasa 4 activada por mitógenos	MAP2K4	Hs.514681	AK131544	17p11	<0,01*	23,15	<0,01	19,77	<0,05	8,77
Proteína cinasa cinasa cinasa 4 activada por mitógenos	MAP4K4	Hs.431550	NM_145686	2q11-q12	<0,01*	-24,08				
Proteína cinasa cinasa cinasa cinasa 5 activada por mitógenos	MAP4K5	Hs.130491	NM_198794	14q11-q21			<0,01*	-24,23		
Proteína cinasa 1 activada por mitógenos	MAPK1	Hs.431850	NM_002745	22q11	<0,05	9,57	<0,01*	22,13	<0,01*	
Proteína cinasa 10 activada por mitógenos	MAPK10	Hs.25209	AK124791	4q22-q23			<0,01*	21,09	<0,01*	
Proteína cinasa 6 activada por mitógenos	MAPK6	Hs.411847	NM_002748	15q21			<0,01*	23,03	<0,01*	
Proteína cinasa 9 activada por mitógenos	MAPK9	Hs.484371	BC032539	5q35			<0,01*	21,30	<0,05	12,07
Proteína Fosfatasa										
Proteína fosfatasa 1, reguladora (inhibidora) subunidad 2	PPP1R2	Hs.184840	NM_006241	3q29			<0,01*	20,02		
Proteína fosfatasa 1, reguladora subunidad 3C	PPP1R3C	Hs.303090	BX537399	10q23-q24	<0,01*	-54,15	<0,01*	-47,47	<0,01*	-43,72
Proteína fosfatasa 2C, dependiente de magnesio, subunidad catalítica	PPM2C	Hs.222665	NM_018444	8q22	<0,01*	35,09	<0,01*	47,45		

Proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A), subunidad catalítica, isoforma alfa	PPP2CA	Hs.483408	BX640662	5q23-q31		<0,01	17,92		
Proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A), subunidad A reguladora (PR 65), isoforma alfa	PPP2R1A	Hs.467192	AK090488	19q13		<0,05	16,04	<0,05	12,64
Proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A), subunidad B reguladora (PR 52), isoforma beta	PPP2R2B	Hs.193825	M64930	5q31-5q32		<0,01*	29,87		
Proteína fosfatasa 2, subunidad B reguladora (B56), isoforma gamma	PPP2R5C	Hs.368264	NM_002719	14q32		<0,01	18,07		
Proteína fosfatasa 3 (antiguamente 2B), subunidad catalítica, isoforma alfa (calcineurina A alfa)	PPP3CA	Hs.435512	NM_000944	4q21-q24	<0,01*	<0,01*	26,06		
Proteína fosfatasa 3 (antiguamente 2B), subunidad catalítica, isoforma beta (calcineurina A beta)	PPP3CB	Hs.500067	BC028049	10q21-q22	<0,01*	<0,01*	47,07	<0,01	17,08
Proteína fosfatasa 3 (antiguamente 2B), subunidad B reguladora, 19 kDa, isoforma alfa (calcineurina B, tipo I)	PPP3R1	Hs.280604	BC027913	2p15	<0,01*	<0,01*	31,25		
Homólogo del oncogén vírico del osteosarcoma murino FBJ V-fos	FOS	Hs.25647	BX647104	14q24		<0,01*	-55,69	<0,01*	-46,49
Proteína G pequeña									
Factor 3 de intercambio de nucleótidos de guanina a Rho (GEF)	ARHGEF3	Hs.476402	AL833224	3p21-p13		<0,01*	28,51		
Familia génica del homólogo Ras, miembro I	ARHI	Hs.194695	AK096393	1p31	<0,05	20,60		<0,01*	28,06
Familia DIRAS, RAS de unión a GTP de tipo 2	DIRAS2	Hs.165636	M_017594	9q22	<0,01*	63,78			
RAB31, miembro de la familia del oncogén RAS	RAB31	Hs.99528	NM_006868	18p11	<0,01*	-27,47			
Aceptor 1 de Rab (premiado)	RABAC1	Hs.11417	BE779053	19q13				<0,01	16,11
Proteína 6 de unión a RAN	RANBP6	Hs.167496	BX537405	9p24		<0,05	17,28		
RAP1, proteína 1 activadora de GTPasa	RAP1GA1	Hs.148178	BC035030	1 p36-p35	<0,01*	22,75			
Proteína hipotética LOC145899	RASGRF1	Hs.459035	NM_002891	15q24		<0,01*	26,84		
Proteína 1 de liberación de RAS guanilo (regulada por calcio y DAG)	RASGRP1	Hs.511010	AF081195	15q15	<0,05	18,52			
Proteína 3 de liberación de RAS guanilo (regulada por calcio y DAG)	RASGRP3	Hs.143674	BC027849	2p25-p24		<0,01*	-20,95		
Que contiene dominio BTB relacionado con Rho 3	RHOBTB3	Hs.445030	NM_014899	5q15	<0,01*	-24,67			
Factor de interacción 2 de Ras y Rab	RIN2	Hs.472270	NM_018993				-37,60		
De tipo Ras sin CAAX 2	RIT2	Hs.464985	AL713637	18q12		<0,01*		<0,01*	29,34
GTPasa 1 de la familia Rho	RND1	Hs.124940	AK124288	12q12-q13		<0,01*	28,02		
Homólogo del oncogén vírico del sarcoma de rata de Kirsten 2 V-Ki-ras2	KRAS2	Hs.505033	M_033360	12p12		<0,01*	20,01		
Proteína 2 de unión al dominio SH3 de la proteína activadora de Ras-GTPasa	G3BP2	Hs.303676	NM_203505	4q21		<0,01*	25,13	<0,05	17,74
Canal de potasio									
Factor 1 modulador del canal de potasio	KCMF1	Hs.345694	NM_020122	2p11		<0,01*	23,55		
Canal de potasio abierto por voltaje, relacionado con shaker beta 2	KCNAB2	Hs.440497	AK124696	1p36		<0,05	19,97		

Canal de calcio de rectificación interior, subfamilia J 2	KCNJ2	Hs.1547	NM_000891	17q23-q24			<0,01*	-41,14		<0,01*	
Canal de calcio de rectificación interior, subfamilia J 10	KCNJ10	Hs.408960	NM_002241	1q22-q23						<0,01*	-25,25
Canal de potasio, subfamilia C, miembro 1	KCNK1	Hs.208544	AL833343	1q42-q43						<0,05	11,05
Canal activado por intermedios de potasio/calcio de pequeña conductancia, subfamilia N, miembro 3	KCNN3	Hs.490765	BX649146	1q21			<0,01*	-23,10			
Canal de potasio, subfamilia V, miembro 1	KCNV1	Hs.13285	NM_014379	8q22-q24			<0,01*	21,10			
Canal de sodio											
Canal de sodio, abierto por voltaje, tipo II, alfa 2	SCN2A2	Hs.470470	NM_021007	2q23-q24			<0,01*	26,22			
Canal de sodio, abierto por voltaje, tipo III, beta	SCN3B	Hs.4865	AB032984	11q24			<0,01*	22,62		<0,01	17,61
Familia 12 del transportador de solutos, (transportador de potasio-cloruro) miembro 5	SLC12A5	Hs.21413	NM_020708	20q132			<0,01*	23,76			
Canal 1 de aniones dependiente de voltaje	VDAC1	Hs.519320	AK122953	5q31			<0,01	18,44			
Canal de calcio											
Canal de calcio, dependiente de voltaje, alfa 2/delta 3	CACNA2D3	Hs.369421	NM_018398	3p21			<0,01*	31,61			
Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad beta 2	CACNB2	Hs.59093	NM_000724	10p12			<0,01*	32,21			
Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad beta 3	CACNB3	Hs.250712	AK122911	12q13			<0,01*	43,88			
Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad 3 gamma	CACNG3	Hs.7235	AK095553	16p12-p13			<0,01*	32,10			
Canal de cloruro											
Canal 4 intracelular de cloruro	CLIC4	Hs.440544	AL117424	1p36			<0,01*	-34,30			

Tabla 20

Símbolo del gen	Acceso	Nombre del gen	Localización cromosómica	Grupos Unigene	Ruta	Corteza cingulada anterior						Corteza prefrontal dorsolateral					
						FC BPD	FC MDD	FC Control	T BPD	TMDD	T Control	FC BPD	FC MDD	FC Control	T BPD	T MDD	T Control
HSPA2	NM_021979	Proteína 2 de choque térmico de 70 kDa	14q24.1	Hs.432548	Chaperona	1,36	0,68	0,69	9,00	-11,58	-12,22	1,21	0,69	1,01	5,95	-12,25	0,36
SPP1	NM_000582	Fosfoproteína 1 secretada (osteopontina, sialoproteína I de los huesos, activación 1 de linfocitos T tempranos)	4q21-q25	Hs.313	Apoptosis	1,28	0,84	0,36	7,67	-5,88	-35,42	1,32	0,86	0,70	8,49	-5,10	-12,35
TMASF10	NM_031442	Miembro 10 de la superfamilia transmembrana 4	Xp11.4	Hs.8769	Apoptosis	1,27	0,86	0,75	7,34	-4,73	-10,03	1,48	0,92	0,69	10,52	-2,30	-10,96
CAT	NM_001752	Catalasa	11p13	Hs.395771	Estrés oxidativo	1,22	0,89	0,68	6,28	-3,94	-13,28	1,22	0,85	0,78	6,14	-4,94	-8,30
S100B	NM_006272	Proteína de unión a calcio S100, beta (neural)	21 q22.3	Hs.422181	Apoptosis	1,21	0,94	0,68	6,39	-2,25	-14,39	1,19	0,89	0,75	5,16	-3,57	-9,70
NR4A1	NM_173157	Subfamilia 4 de receptores nucleares, grupo A, miembro 1	12q13	Hs.11119	Mitocondria	0,83	0,86	1,17	-9,63	-8,30	9,19	0,83	0,90	1,15	8,36	-5,21	7,06
BZRAP1	NM_004758	Proteína 1 asociada al receptor de benzodiazepina (periférico)	17q22-q23	Hs.112499	Mitocondria	0,82	1,02	1,16	-7,05	0,68	6,01	1,00	0,96	1,21	0,10	-1,13	5,47
GSK3B	NM_002093	Glucógeno sintetasa cinasa 3 beta	3q13.3	Hs.282359	Apoptosis	0,76	1,03	1,20	-9,16	0,94	7,11	0,93	1,00	1,05	-2,43	0,02	1,76
COX7A1	NM_001864	Polipéptido 1 de citocromo c oxidasa subunidad VIIa (muscúlo)	19q13.1	Hs.421621	Mitocondria	0,73	1,15	1,36	-7,65	3,54	8,57	0,94	1,08	1,16	-1,73	2,08	4,48
UQCRCB	NM_006294	Proteína de unión a ubiquinol-citocromo c reductasa	8q22	Hs.131255	Mitocondria	1,06	1,20	0,98	1,64	5,37	-0,58	1,15	1,09	1,14	3,48	2,16	3,62
DUSP1	NM_004417	Fosfatasa 1 de especificidad doble	5q34	Hs.171695	Estrés oxidativo	0,87	0,74	1,10	-4,00	-8,65	2,92	0,84	0,83	1,13	-4,06	-4,54	3,31
DUSP6	NM_001946	Fosfatasa 6 de especificidad doble	12q22-q23	Hs.298654	Apoptosis	0,84	0,70	1,59	-4,15	-8,89	12,26	0,96	0,77	1,77	-0,93	-5,46	13,19
TMASF10	NM_031442	Miembro 10 de la superfamilia transmembrana 4	Xp11.4	Hs.8769	Apoptosis	1,27	0,86	0,75	7,34	-4,73	-10,03	1,48	0,92	0,69	10,52	-2,30	-10,96
ATP6V0E	NM_003945	ATPasa, transportadora de H+, lisosómica de 9 kDa, subunidad V0	5q35.2	Hs.440165	Lisosoma	1,15	0,88	0,59	2,89	-2,87	-12,33	1,36	0,90	0,63	6,10	-2,23	-10,14
GLUL	S70290	glutamato-amoniaco ligasa (glutamina sintasa)	1q31	Hs.442869	Mitocondria	1,00	0,67	0,78	-0,07	-7,65	-5,22	1,33	0,78	0,70	4,96	-4,42	-7,06
SPP1	NM_000582	Fosfoproteína 1 secretada (osteopontina, sialoproteína I de huesos, activación 1 de linfocitos T tempranos)	4q21-q25	Hs.313	Apoptosis	1,28	0,84	0,36	7,67	-5,88	-35,42	1,32	0,86	0,70	8,49	-5,10	-12,35
APG-1	NM_014278	Proteína de choque térmico (familia hsp110)	4q28	Hs.135554	Chaperona	0,98	1,05	1,06	-0,22	0,64	0,92	1,26	1,19	0,95	2,81	2,20	-0,77
HSPA5	NM_005347	Proteína 5 de choque térmico de 70 kDa (proteína regulada por glucosa, 78 kDa)	9q33-q34.1	Hs.310769	Chaperona	1,07	0,98	0,94	1,78	-0,42	-1,76	1,25	1,19	1,00	5,09	4,08	0,09
GATM	NM_001482	Glicina amidinotransferasa (L-arginina, glicina amidinotransferasa)	15q15.1	Hs.75335	Mitocondria	1,08	0,80	0,61	2,62	-7,64	-18,24	1,23	0,78	0,79	7,34	-8,90	-9,41
CAT	NM_001752	Catalasa	11p13	Hs.395771	Estrés oxidativo	1,22	0,89	0,68	6,28	-3,94	-13,28	1,22	0,85	0,78	6,14	-4,94	-8,30

HADHB	NM_000183	hidroxilaci-coenzima A deshidrogenasa(3-cetocoi-coenzima A tiolasa/enoli-coenzima A hidrataasa (proteina trifuncional), subunidad beta)	2p23	Hs.269878	Mitocondria	1,11	0,88	0,71	3,71	-5,10	-14,11	1,22	0,87	0,74	6,30	-4,74	-10,47
OCT3	NM_005998	chaperonina	1q23	Hs.1708	Chaperona	1,15	1,07	0,96	4,98	2,43	-1,67	1,22	1,04	1,03	5,97	1,34	0,96
		Que contiene TCP1, subunidad 3 (gamma)															
DAD1	NM_001344	Defensor contra muerte celular 1	14q11-q12	Hs.82890	Apoptosis	1,13	1,00	0,88	4,36	0,15	-5,31	1,21	1,00	0,93	6,31	0,05	-2,86
HSPA2	NM_021979	Proteina 2 de choque térmico de 70 kDa	14q24.1	Hs.432648	Chaperona	1,36	0,68	0,69	9,00	-11,58	-12,22	1,21	0,69	1,01	5,95	-12,25	0,36
NR4A1	NM_173157	Subfamilia 4 del receptor nuclear, grupo A, miembro 1	12q13	Hs.1119	Mitocondria	0,83	0,86	1,17	-9,63	-8,30	9,19	0,83	0,90	1,15	-8,36	-5,21	7,06
NAPG	NM_003826	Proteina de unión al factor sensible a N-etilmaleimida, gamma	18p11.21	Hs.370431	Mitocondria	0,94	1,07	1,69	-1,32	1,53	12,83	0,83	1,04	1,83	-3,06	0,60	10,97
MAPK1	NM_002745	Proteina cinasa 1 activada por mitógeno	22q11.21	Hs.324473	Mitocondria	0,85	0,99	1,12	-4,35	-0,95	3,34	0,82	0,96	1,07	-4,77	-1,10	1,82
DAD1	NM_001344	Defensor contra muerte celular 1	14q11-q12	Hs.82890	Apoptosis	1,04	1,04	1,39	0,94	0,91	8,60	0,79	1,07	1,46	-3,99	1,14	7,17
STIP1	NM_006819	Fosfoproteina 1 inducida por estrés (proteina organizadora de Hsp70/Hsp90)	11q13	Hs.257827	Chaperona	1,17	1,16	0,97	4,50	4,51	-0,86	1,06	1,23	1,00	1,49	5,06	0,06
DUSP1	NM_004417	Fosfatasa 1 de especificidad doble	5q34	Hs.171695	Estrés oxidativo	0,87	0,74	1,10	-4,00	-8,85	2,92	0,84	0,83	1,13	-4,06	-4,54	3,31
SLC25A13	NM_014251	Familia 25 del transportador de solutos, miembro 13 (citina)	7q21.3	Hs.9599	Mitocondria	1,06	0,91	0,87	2,33	-3,94	-1,55	1,03	0,83	1,03	1,11	-6,61	1,10
PER2	NM_022817	Homólogo de periodo 2 (<i>Drosophila</i>)	2q37.3	Hs.410692	Ciclado	0,90	0,83	1,31	-3,22	-5,79	8,81	0,97	0,80	1,35	-0,76	-5,58	8,02
SST	NM_001046	Somatostatina	3q28	Hs.12409	Apoptosis	1,16	0,88	3,34	3,92	-3,70	36,03	0,85	0,78	3,71	4,96	-7,89	45,04
DUSP6	NM_001946	Fosfatasa 6 de especificidad doble	12q22-q23	Hs.298654	Apoptosis	0,84	0,70	1,59	-4,15	-8,89	12,26	0,96	0,77	1,77	-0,93	-5,46	13,19
USP9Y	NM_004654	Proteasa 9 específica de ubiquitina, ligada al Y (de tipo fat lacets, <i>Drosophila</i>)	Yq11.2	Hs.371255	Proteasoma 26S	1,05	0,85	1,91	0,89	-3,32	13,69	1,17	0,75	2,20	2,39	-4,51	13,38
HSPA2	NM_021979	Proteina 2 de choque térmico de 70 kDa	14q24.1	Hs.432648	Chaperona	1,36	0,68	0,69	9,00	-11,58	-12,22	1,21	0,69	1,01	5,95	-12,25	0,36
SEM6A	NM_020796	Dominio sema, dominio transmembrana (TM), y dominio citoplasmático, (sematorina) 6A	5q23.1	Hs.443012	Apoptosis	0,84	0,74	0,68	-4,41	-8,25	-11,00	0,92	0,62	1,10	-1,70	-10,66	2,29

Tabla 21

Acceso	Símbolo	Nombre	Citobanda	Región cerebral	Cambio factorial de BPD (BPD Control)	Cambio factorial de micromatriz frente QPCR (BPD Control)	Cambio factorial de BPD (MIDD Control)	Cambio factorial de QPCR frente Control)
NM_001001935	ATP5A1	ATP sintasa, transportadora de H ⁺ , complejo F1 mitocondrial, subunidad alfa, isoforma 1, músculo cardíaco	18q12-q21	DLPFC	1,203	1,587*	1,149	1,135
NM_004047	ATP6V0B	ATPasa, transportadora de H ⁺ , lisosómica de 21 kDa, subunidad V0 c'	1p32.3	DLPFC	1,183	1,014	1,074	1,483*
NM_001696	ATP6V1E1	ATPasa, transportadora de H ⁺ , lisosómica de 3 kDa, subunidad V1 E isoforma 1	22pter-q11.2	DLPFC	1,138	1,694*	1,081	0,939
NM_004458	ACSL4	Miembro 4 de la familia de acil-CoA sintetasa de cadena larga	Xq22.3-q23	DLPFC	1,165	1,266*	1,105	1,095
NM_174855	IDH3B	Isocitrato deshidrogenasa 3 (NAD+) beta	20p13	DLPFC	1,148	1,007	1,084	1,189*
NM_133259	LRPPRC	Que contiene motivo PPR rico en leucina	2p21	DLPFC	1,218	1,62*	1,164	1,802*
NM_021107	MRPS12	Proteína ribosómica mitocondrial S12	19q13.1-q13.2	DLPFC	1,091	1,140	1,110	1,276*
NM_007103	NDUFB1	NADH deshidrogenasa (ubiquinona) flavoproteína 1, 51 kDa	11q13	DLPFC	1,115	0,989	1,104	1,430*
NM_173157	NR4A1	Subfamilia 4 del receptor nuclear, grupo A miembro 1	12q13	DLPFC	0,832	0,584*	0,895	0,516*
NM_000021	PSEN1	Presenilina 1 (enfermedad de Alzheimer 3)	14q24.3	DLPFC	1,081	1,306*	0,882	0,825
NM_001183	ATP6AP1	ATPasa, transportadora de H ⁺ , proteína accesoria lisosómica 1	Xq28	AnCg	1,134	1,448	1,112	1,385
NM_021979	HSPA2	Proteína 2 de choque térmico de 70 kDa	14q24.1	AnCg	1,360	2,552*	0,684	0,703
NM_174855	IDH3B	Isocitrato deshidrogenasa 3 (NAD+) beta	20p13	AnCg	1,136	0,998	1,099	0,985
NM_133259	LRPPRC	Que contiene motivo PPR rico en leucina	2p21	AnCg	1,198	1,079	1,08	1,023
NM_007103	NDUFB1	NADH deshidrogenasa (ubiquinona) flavoproteína 1, 51 kDa	11q13	AnCg	1,169	1,480	1,148	1,107
NM_173157	NR4A1	Subfamilia 4 del receptor nuclear, grupo A, miembro 1	12q13	AnCg	0,833	0,599*	0,859	0,484*
NM_000021	PSEN1	Presenilina 1 (enfermedad de Alzheimer 3)	14q24.3	AnCg	1,109	1,460*	0,845	1,089
AK125435	PSMB1	Proteasoma (prosome, macropalina) subunidad, beta tipo, 1	6q27	AnCg	1,271	1,615*	1,020	1,162
NM_002812	PSMD8	Proteasoma (prosome, macropalina) subunidad 26S, no ATPasa, 8	19q13.2	AnCg	1,155	1,358*	1,104	1,231*

Tabla 22

Acceso	Gen codificado en ADNmt	Símbolo	Región cerebral	Cambio factorial de QPCR BPD	Cambio factorial de QPCR MDD	Descripción	pb de inicio y final	Tabla 1	Complejo	Hs. Unigen e
AY882398	MtATP6	ATP6	DLPFC	0,853	0,876	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	8528..9208	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	V	Hs.4509
AY882398	MtATP6	ATP6	AnCg	0,588*	0,721*	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	8528..9208	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	V	Hs.4509
AY882398	MtCO1	COX1	DLPFC	0,687	0,875	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	5905..7446	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	IV	Hs.4512
AY882398	MtCO1	COX1	AnCg	0,527*	0,808	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	5905..7446	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	IV	Hs.4512
AY882398	MtCO2	COX2	DLPFC	0,836	1,078	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	7587..8270	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	IV	Hs.4513
AY882398	MtCO2	COX2	AnCg	0,758#	0,895	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	7587..8270	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	IV	Hs.4513
AY882398	MtND1	ND1	DLPFC	0,563#	1,007	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	3308..4264	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	I	Hs.4535

AY882398	MitND1	ND1	AnCg	NADH deshidrogenasa, subunidad I	0,855	0,957	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	3308..4264	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	I	Hs.4535
AY882398	MitND2	ND2	DLPFC	NADH deshidrogenasa, subunidad II	0,539	0,921	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	4471..5514	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	I	Hs.4536
AY882398	MitND3	ND3	DLPFC	NADH deshidrogenasa, subunidad III	1,074	0,856	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	10060..10405	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	I	Hs.4537
AY882398	MitND3	ND3	AnCg	NADH deshidrogenasa, subunidad III	0,752#	0,918	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	10060..10405	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	I	Hs.4537
AY882398	MitATP6	ATP6	DLPFC	ATP sintasa F0 subunidad 6	0,853	0,876	Aislado 20_U5a1(Tor13) de <i>Homo sapiens</i> mitocondrial, genoma completo.	8528..9208	Artículo Mito Tabla 11 (mt)	V	Hs.4509

* significativo a p <0,05 bilateral
tendencia p < 0,1 bilateral

Tabla 23

Cebador	Directo	Inverso
VASE	5'-GACCCCATTCCTCCATCAC-3'	5'-GGCTACGCACCACCATGTG-3'
Exón a	5"-GACGCAGCCAGTCCATAGC-3"	*1
Exón b	5'-CGTCTACCCCTGTTCCATTGTC-3'	5'-TCTGGTGGAGACAATGGAACAG-3'
Exón c	5'-TCCTGCCCTTGCAACCA-3'	5'-GGTTGCAAGGGCAGGAAGA-3'
Exón SEC	5'-CCAAGCTGGTCTTCATAATGCTCTA-3'	5'-TTTGATGCTTGAACACTATGAACATG-3'
Exón 3	5'-GGCGGCGCTCAATGG-3'	*2
Exón 8	*3	5'-GATCAGGTTCACTTTAATAGAGTTTCCA-3'
SNP9 para secuenciación	5'-CGCAGCCAGTCCGTAAGTAAAG-3'	5'-AAGCTGGACCGGCTACTAGGA-3'

Tabla 24

Ensayos para asociación genotípica (Alelo de riesgo 1)						
SNP 9	Heterocigótico A/A<->C/A		Homocigótico C/C<->A/A		Positividad de alelo [C/C+C/A]<->A/A	
	Relación de probabilidad [C.I.]	χ^2 (valor-p)	Relación de probabilidad [C.I.]	χ^2 (valor-p)	Relación de probabilidad [C.I.]	χ^2 (valor-p)
SZ	0,054 [0,003 - 1,16]	6,6 (0,01)	9,57 [0,47 - 193,92]	3,86 (0,049)	0,084 [0,004 - 1,67]	4,88 (0,027)
SNP b C/C<->T/C		T/T<->C/C		[T/T+T/C]<->C/C		
BPD	4,05 [1,16 - 14,12]	5,33 (0,02)	2,97 [0,78 - 11,30]	2,65 (0,103)	3,66 [1,08 - 11,30]	4,81 (0,028)

5

Tabla 25

Haplotipo		Frecuencia (Relación de probabilidad)		
SNP 9 - SNP b	Control	BPD*	SZ#	
C - T	0,2	0,19 (0,95)	0,31 (1,54)	
C - (T/C)	0,31	0,46 (1,48)	0,37 (1,19)	
(C/A) - (T/C)	0,22	0,21 (0,95)	0,11 (0,50)	
		(valor) p		
*BPD frente a Control		<0,0001		
#SZ frente a Control		<0,0001		
SZ frente a BPD		0,0003		

Tabla 26

Polimorfismo	n	Genotipo Recuentos (Frecuencia)			Recuentos de alelo (Frecuencia)		p (ensayo exacto de Fisher)
		C/C	C/A	A/A	C	A	
SNP 9							
Control	55	33 (0,60)	22 (0,40)	0 (0)	88 (0,80)	22 (0,20)	
BPD	70	47 (0,67)	23 (0,33)	0 (0)	117 (0,84)	23 (,16)	0,466
SZ	35	24 (0,69)	8 (0,23)	3 (0,09)	56 (0,80)	14 (0,20)	1
BPD+SZ	105	71 (0,68)	31 (0,30)	3 (0,02)	173 (0,82)	37 (0,18)	0,602
SNP b							
Control	55	16 (0,29)	29 (0,53)	10 (0,18)	61 (0,55)	49 (0,45)	
BPD	70	19 (0,27)	47 (0,67)	4 (0,06)	85 (0,61)	55 (,39)	0,402
SZ	35	13 (0,37)	19 (0,54)	3 (0,09)	45 (0,64)	25 (0,36)	0,24
BPD+SZ	105	32 (0,30)	66 (0,63)	7 (0,07)	130 (0,62)	80 (0,38)	0,264

Tabla 27

SNP	Genotipo	Variante de corte y empalme	BPD frente a C	MDD frente a C
SNP 9	C/C	a-b-c	0,052 ↑	
SNP 6	G/C	b-c-SEC		0,05 ↑
SNP b	T/T	VASE (-)		0,056 ↑
SNP b	T/C	c-SEC	0,013 ↓	
SNP b	T/C	NCAM1 Ct Q-PCR		0,053 ↑

10

Tabla 28.1

Grupo UG	Símbolo	Nombre del gen	Citobanda	fc_AnCg
Hs.549038				1,919839205
Hs.547062		Locus transcrito		1,773637669
Hs.483454	CNN3	Calponina 3, ácida	1p22-p21	1,71410127
Hs.534365	ZNF43	Proteína 43 con dedos de zinc (HTF6)	19p13.1-p12	1,653473114
Hs.534314	EIF5A	Factor 5A de inicio de la traducción eucariota	17p13-p12	1,616760481
Hs.427236		locus transcrito		1,57275662
Hs.336957	ZNF479	Proteína 479 con dedos de zinc	7p11.2	1,561114027

ES 2 660 765 T3

Hs.534385	THOC4	Complejo 4 de THO	17q25.3	1,545094715
Hs.114084	ENPP7	Ectonucleótido pirofosfatasa/fosfodiesterasa 7	17q25.3	1,490770143
Hs.315369	AQP4	Acuaporina 4	18q11.2-q12.1	1,478027231
Hs.370410	KIAA1145	Proteína KIAA1145	12q22	1,435347843
Hs.75914	RNP24	Proteína de membrana de vesícula recubierta	12q24.31	1,419831899
Hs.406708	ILT7	Receptor de tipo inmunoglobulina de leucocitos, subfamilia A (sin dominio TM), miembro 4	19q13.4	1,410439598
Hs.234249	MAPK8IP1	Proteína 1 de interacción con proteína cinasa 8 activada por mitógenos	11p12-p11.2	1,371562585
Hs.534525	LOC114984	Proteína hipotética BC014089	16p13.3	1,368785293
Hs.212838	A2M	Alfa-2-macroglobulina	12p13.3-p12.3	1,365561844
Hs.402752	TAF15	ARN polimerasa II TAF15, factor asociado a proteína de unión a dominio TATA (TBP), 68 kDa	17q11.1-q11.2	1,362205401
Hs.535415		ARNm de cadena gamma reordenada de Ig, subgrupo VH2, región V-D-J	1.355666889	
Hs.467138		Locus transcrito, moderadamente similar a XP_507997.1 similar a la proteína 2 de interacción con el canal Kv isoforma 4; proteína 2 moduladora del canal de potasio de tipo A; subunidad moduladora del canal de potasio abierto por voltaje cardíaco; proteína 2 de interacción con el canal Kv [Pan tr]	1.351924341	
Hs.513600		Locus transcrito		1,347512479
Hs.380218		Locus transcrito		1,327051286
Hs.458607	NOPE	Probable ortólogo del vecino de ratón de Punc E11	15q22.31	1,324220424
Hs.42034	TCP10L	Complejo-T de tipo 10 (ratón)	21q22.11	1,322514626
Hs.521286	RARRES2	Respondedor del receptor de ácido retinoico (inducido por tazaroteno) 2	7q36.1	1,31025151
Hs.25422		ADNc FLJ42519 fis, clon BRACE3000787		1,309835897
Hs.293379		Locus transcrito		1,307793259
Hs.356766		Similar a RPE-espondina	20q13.13	1,290259345
Hs.379010	PSCA	Antígeno de células madre de próstata	8q24.2	1,287232595
Hs.511757	GJB6	Proteína de unión a gap, beta 6 (conexina 30)	13q11-q12.1	1,287226239
Hs.59106	CGRRF1	Regulador del crecimiento celular con dominio 1 de dedos cíclicos	14q22.2	1,284552431
Hs.83916	NDUFA5	Subcomplejo 1 alfa de NADH deshidrogenasa (ubiquinona), 5, 13 kDa	7q32	1,283862892
Hs.119878	FLJ34389	Proteína hipotética FLJ34389	16q22.3	1,28271805
Hs.494261	PSAT1	Fosfoserina aminotransferasa 1	9q21.2	1,276727208
Hs.75969	PNRC1	Coactivador 1 de receptor nuclear rico en prolina	6q15	1,273555895
Hs.467273	CACNG8	Canal de calcio, dependiente de voltaje, subunidad gamma 8	19q13.4	1,270119391
Hs.280805	MGC20579	Proteína hipotética MGC20579	13q34	1,269164507
Hs.145480		Locus transcrito		1,266189386
Hs.511454	PLXNA4	Plexina A4	7q32.3	1,263673467
Hs.80132	SNX15	Nexina 15 de clasificación	11q12	1,26259913
Hs.514819	AP2B1	Complejo 2 de proteína relacionada con adaptador, subunidad beta 1	17q11.2-q12	1,250901951
Hs.385772	LOC283914	Proteína hipotética LOC283914	16p11.1	1,247941693
Hs.151536	RAB13	RAB13, miembro de la familia del oncogén RAS	1q21.2	1,247404054
Hs.548424		Locus transcrito		1,245303451
Hs.519930	C6orf62	Fase de lectura abierta 62 del cromosoma 6	6p22.2	1,233111115
Hs.45140	TMEM35	Proteína transmembrana 35	Xq22.1	1,232645678
Hs.505295	MADP-1	Proteína MADP-1	12q12	1,226870897
Hs.513883	PELP1	Proteína 1 rica en leucina, en ácido glutámico, en prolina	17p13.2	1,224880728
Hs.474836	LOC387593	Seudogén TPTE/TPIP	22q13	1,223415544
Hs.115284	ZNF213	Proteína 213 con dedos de zinc	16p13.3	1,223309419
Hs.369624	15E1.2	Proteína hipotética 15E1.2	12q24.31	1,223144605
Hs.467960	RAB10	RAB10, miembro de la familia del oncogén RAS	2p23.3	1,222273799
Hs.533282	NONO	Que contiene dominio Non-POU, de unión a octámero	Xq13.1	1,219220007
Hs.181272	PKD2	Enfermedad renal poliquística 2 (dominante autosómica)	4q21-q23	1,212879872

ES 2 660 765 T3

Hs.80720	GAB1	Proteína 1 de unión asociada a GRB2	4q31.21	1,211569918
Hs.123464	P2RY5	Receptor P2Y, purinérgico, acoplado a proteína G, 5	13q14	1,210914564
Hs.507185	ZFPM1	Proteína con dedos de zinc, múltiple 1	16q24.2	1,210160133
Hs.5324	C2orf25	Fase de lectura abierta 25 del cromosoma 2	2q23.3	1,209212561
Hs.374847	LOC400794	Gen hipotético mantenido por BC030596	1q23.2	1,208951568
Hs.517792	C3orf10	Fase de lectura abierta 10 del cromosoma 3	3p25.3	1,208760837
Hs.517352	PRODH	Prolina deshidrogenasa (oxidasa) 1	22q11.21	1,206253745
Hs.483561	ORF1-FL49	Proteína nuclear putativa ORF1-FL49	5q31.2	1,205748855
Hs.75640	NPPA	Precursor A del péptido natriurético	1p36.21	1,20542617
Hs.491695	UBE2V2	Variante 2 de la enzima E2 de conjugación con ubiquitina	8q11.21	1,204850064
Hs.335057	NEDD5	Expresado en células precursoras neurales, regulada negativamente en el desarrollo 5	2q37	1,202774491
Hs.28280	SLC35F4	Familia 35 del transportador de solutos, miembro F4	14q22.2	1,201026204

Tabla 28.2

Grupo UG	Símbolo	Nombre del gen	Citobanda	fc_AnCg
Hs.134974	GAP43	Proteína 43 asociada al crecimiento	3q13.1-q13.2	0,833001805
Hs.444637	LRP8	Proteína 8 relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad, receptor de apolipoproteína e	1p34	0,832591468
Hs.268849	GLO1	Glioxilasa I	6p21.3-p21.1	0,832479968
Hs.435952	CDK5RAP1	Proteína 1 asociada a la subunidad reguladora de CDK5	20pter-q11.23	0,831820461
Hs.360940	dJ222E13.1	De tipo kraken	22q13	0,828943053
Hs.500721	MMS19L	De tipo MMS19 (homólogo de MET18, <i>S. cerevisiae</i>)	10q24-q25	0,827060597
Hs.200285	TCF4	Factor 4 de transcripción	18q21.1	0,826908526
Hs.2890	PRKCG	Proteína cinasa C, gamma	19q13.4	0,82630472
Hs.153661		Locus transcrito		0,825857073
Hs.483924	MRPL22	Proteína ribosómica mitocondrial L22	5q33.1-q33.3	0,825300862
Hs.210385	HERC1	Dominio Hect (homólogo al extremo carboxilo de E6-AP (UBE3A)) y dominio de tipo RCC1 (CHC1) (RLD) 1	15q22	0,82523312
Hs.353454	FLJ10276	Proteína hipotética FLJ10276	1p35.1	0,825093453
Hs.157234		ARNm; ADNc DKFZp547A0515 (del clon DKFZp547A0515)		0,824586185
Hs.75667	SYP	Sinaptofisina	Xp11.23-p11.22	0,824282156
Hs.451353		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE:5288537, ARNm		0,823552515
Hs.514373	MTMR4	Proteína 4 relacionada con miotubularina	17q22-q23	0,823152304
Hs.102696	MCTS1	Secuencia 1 amplificada en linfocitos T malignos	Xq22-q24	0,822759185
Hs.445503	SYN2	Sinapsina II	3p25	0,822588683
Hs.524094	PS1D	Proteína del dominio de unión a ARN S1 putativo	1p35.2	0,822570466
Hs.522668	UBQLN2	Ubiquilina 2	Xp11.23-p11.1	0,821156426
Hs.517148	TH1L	De tipo TH1 (<i>Drosophila</i>)	20q13	0,821107397
Hs.380334	ZNF148	Proteína 148 con dedos de zinc (pHZ-52)	3q21	0,821027253
Hs.534575	MGC2198	Proteína hipotética MGC2198	5q35.2	0,819426558
Hs.47546	C6orf70	Fase de lectura abierta 70 del cromosoma 6	6q27	0,819049461
Hs.25601	CHD3	Proteína 3 de unión a ADN de helicasa de cromodominio	17p13.1	0,818740301
Hs.460978	APPBP1	Proteína 1 de unión a proteína precursora beta amiloide, 59 kDa	16q22	0,818504577
Hs.448851	USP6	Proteasa 6 específica de ubiquitina (oncogén Tre-2)	17q11	0,818420142
Hs.532755	GTL3	Probable ortólogo del locus 3 del gen trap de ratón	16q21	0,816593983
Hs.98510	WDR44	dominio 44 de repetición WD	Xq24	0,815070227
Hs.189119	CXXC5	Dedos CXXC 5	5q31.2	0,814065874
Hs.134060	FNBP1L	Proteína de unión a formina de tipo 1	1p22.1	0,813237448
Hs.549821		Datos no encontrados		0,812556603
Hs.78944	RGS2	Regulador de señalización de proteína G 2, 24 kDa	1q31	0,811942329
Hs.535060		LOC441385	9p24.1	0,811837917
Hs.549166		Datos no encontrados		0,811572937
Hs.224418		Locus transcrito		0,811556308
Hs.5258	MAGED1	Antígeno de melanoma, familia D, 1	Xp11.23	0,811035568
Hs.537449		Locus transcrito		0,810141577

ES 2 660 765 T3

Hs.515545	TBC1 D17	Familia del dominio TBC1, miembro 17	19q13.33	0,809453648
Hs.268122	LOC51321	Proteína hipotética LOC51321	17q24.2	0,808975121
Hs.502910	NKIRAS2	Inhibidor NFKB de la interacción de Ras de tipo 2	17q21.2	0,808919755
Hs.471876	ING5	Inhibidor de la familia de crecimiento, miembro 5	2q37.3	0,806159689
Hs.198612	GPR51	Receptor 51 acoplado a proteína G	9q22.1-q22.3	0,806097527
Hs.401509	RBM10	Proteína 10 con motivo de unión a ARN	Xp11.23	0,806076882
Hs.380857	TD-60	De tipo RCC1	1p36.13	0,805526827
Hs.49582	PPP1R12A	Proteína fosfatasa 1, reguladora (inhibidora) subunidad 12A	12q15-q21	0,805427552
Hs.515162	CALR	Calreticulina	19p13.3-p13.2	0,804252658
Hs.444558	KHDRBS3	Que contiene dominio KH, de unión a ARN, asociada a transducción de señales 3	8q24.2	0,803823019
Hs.317632	CDH18	Cadherina 18, tipo 2	5p15.2-p15.1	0,803613164
Hs.471104	NOP5/NOP58	Proteína nucleolar NOP5/NOP58	2q33.1	0,802352232
Hs.348526	LOC474358	Locus hipotético BC042079	10q23-q25	0,802291667
Hs.475018	TCF20	Factor 20 de transcripción (AR1)	22q13.3	0,801897074
Hs.463074	ATP6V0A1	ATPasa, transportadora de H+, subunidad V0 lisosómica a, isoforma 1	17q21	0,801766875
Hs.28144	FSD1	Fibronectina de tipo 3 y que contiene el dominio SPRY 1	19p13.3	0,800329999
Hs.32309	INPP1	Inositol polifosfato-1-fosfatasa	2q32	0,796446965
Hs.512973	HSPC121	Transcrito 1 inducido por butirato	15q22.2	0,796376497
Hs.13245	LPPR4	Gen 1 relacionado con plasticidad	1p21.3	0,794472742
Hs.199743	ME3	Enzima málica 3, dependiente de NADP(+), mitocondrial	11cen-q22.3	0,794075417
Hs.523755	FLRT1	Proteína 1 transmembrana rica en leucina fibronectina	11q12-q13	0,792664481
Hs.515785	BLVRB	Reductasa B biliverdina (flavina reductasa (NADPH))	19q13.1-q13.2	0,792511112
Hs.437277	MGAT4B	Manosil (alfa-1,3-)-glucoproteína beta-1,4-N-acetilglucosaminiltransferasa, isoenzima B	5q35	0,790721678
Hs.387982		Clon de ADNc IMAGE:5261489, cds parcial		0,789879979
Hs.136164	TSPYL2	TSPY de tipo 2	Xp11.2	0,788609957
Hs.332847	CRIM1	Neurona motora rica en cisteína 1	2p21	0,786568887
Hs.348493	GPRASP2	Proteína 2 de clasificación asociada al receptor acoplado a proteína G	Xq22.1	0,786263129
Hs.7736	MRPL27	Proteína ribosómica mitocondrial L27	17q21.3-q22	0,785613917
Hs.177275	ANKRD6	Dominio 6 de repetición de anquirina	6q14.2-q16.1	0,783389812
Hs.124015	HAGHL	De tipo hidroxiacilglutatin hidrolasa	16p13.3	0,782617204
Hs.79322	QARS	Glutaminil ARNt sintetasa	3p21.3-p21.1	0,781931967
Hs.158748	SLC35F3	Familia 35 del transportador de solutos, miembro F3	1q42.2	0,780681609
Hs.158460	CDK5R2	Cinasa 5 dependiente de ciclina, subunidad reguladora 2 (p39)	2q35	0,779713574
Hs.337730	LCMT1	Leucina carboxil metiltransferasa 1	16p12.3-16p12.1	0,777655555
Hs.282998	RBM9	Proteína 9 de motivo de unión a ARN	22q13.1	0,775799713
Hs.60300	ZNF622	Proteína 622 con dedos de zinc	5p15.1	0,775473024
Hs.405590	EIF3S6	Factor 3 de inicio de la traducción eucariota, subunidad 6 48 kDa	8q22-q23	0,775166314
Hs.373952	CAMTA2	Activador 2 de la transcripción de unión a calmodulina	17p13.2	0,775135303
Hs.528187		Gen hipotético mantenido por AK096649	2q33.1	0,774877993
Hs.536326		Locus transcrito		0,774173869
Hs.532231	COPG2	Complejo de proteína coatomérica, subunidad gamma 2	7q32	0,773663441
Hs.114169	LRRTM2	Repetición rica en leucina transmembrana neuronal 2	5q31.3	0,773056562
Hs.496267	IGBP1	Proteína 1 de unión a inmunoglobulina (CD79A)	Xq13.1-q13.3	0,771399953
Hs.190722	HSPC142	Proteína HSPC142	19p13.11	0,770969106
Hs.130197	KIAA1889	Proteína KIAA1889	8q12.1	0,770498302
Hs.436446	ARMET	Rica en arginina, mutada en tumores en fase temprana	3p21.1	0,769942554
Hs.381300	MGC57858	Proteína hipotética MGC57858	6p21.31	0,769698647
Hs.33191	UNC5A	Unc-5 homólogo A (<i>C. elegans</i>)	5q35.2	0,769489374

ES 2 660 765 T3

Hs.350065	PLXNA2	Plexina A2	1q32.2	0,767903428
Hs.48372		ADNc de inserto de longitud completa clon YZ87G11		0,766810973
Hs.3797	RAB26	RAB26, miembro de la familia del oncogén RAS	16p13.3	0,765394204
Hs.21925		Locus transcrito		0,764561674
Hs.336588	LOC147670	Proteína hipotética LOC147670	19q13.43	0,763351376
Hs.78466	PSMD8	Subunidad 26S del proteasoma (prosoma, macropaína), no ATPasa, 8	19q13.2	0,76234581
Hs.121520	AMIGO2	Gen 2 inducido por anfoterina	12q13.11	0,760653807
Hs.443731	USP8	Proteasa 8 específica de ubiquitina	15q21.2	0,75760815
Hs.171501	USP11	Proteasa 11 específica de ubiquitina	Xp11.23	0,755609225
Hs.187861	THRB	Receptor de hormonas tiroideas, beta (homólogo 2 del oncogén vírico de leucemia eritroblástica (verb-a), aviar)	3p24.3	0,755503889
Hs.272284	SLITRK4	Familia de tipo SLIT y NTRK, miembro 4	Xq27.3	0,755411535
Hs.509736	HSPCB	Proteína 1 de choque térmico de 90 kDa, beta	6p12	0,755057388
Hs.188594		Locus transcrito		0,755026908
Hs.497806	MARK1	Cinasa 1 reguladora de MAP/afinidad de microtúbulos	1q41	0,751792399
Hs.549761		Datos no encontrados		0,749944
Hs.479867	CENPC1	Proteína C 1 del centrómero	4q12-q13.3	0,749713558
Hs.135736	NGL-1	Ligando de netrina-G1	11p12	0,747993997
Hs.463466	CA10	Anhidrasa carbónica X	17q21	0,746516358
Hs.143587		Locus transcrito		0,745018326
Hs.549196		Datos no encontrados		0,744120055
Hs.534913		Gen hipotético mantenido por BC019717	16p11.2	0,743499122
Hs.523550	ZNF364	Proteína 364 con dedos de zinc	1q21.1	0,742420643
Hs.90242		<i>Homo sapiens</i> , clon IMAGE:4796172, ARNm		0,741848633
Hs.475150	KIAA0767	Proteína KIAA0767	22q13.31	0,741559246
Hs.530698	CHD8	Proteína 8 de unión a ADN de helicasa de cromodominio	14q11.2	0,738476834
Hs.55879	ABCC10	Casete de unión a ATP, subfamilia C (CFTR/MRP), miembro 10	6p21.1	0,738455293
Hs.323537	FLJ12953	Proteína hipotética FLJ12953 similar a D3Mm3e de <i>Mus musculus</i>	2p13.1	0,737391028
Hs.301296		ADNc: FLJ23131 fis, clon LNG08502		0,737354551
Hs.502461	DGKZ	Diacilglicerol cinasa, zeta 104 kDa	11p11.2	0,734852399
Hs.471096	ALS2	Esclerosis lateral amiotrófica (juvenil)	2q33.1	0,73175125
Hs.92732	PDZK4	Que contiene dominio PDZ 4	Xq28	0,727016153
Hs.537841		Locus transcrito		0,726748437
Hs.7744	NDUFV1	NADH deshidrogenasa (ubiquinona) flavoproteína 1, 51 kDa	11q13	0,726496223
Hs.100890	RPRM	Reprimo, candidato mediador de la detención en G2 dependiente de TP53	2q23.3	0,719810824
Hs.6132	CPNE6	Copina VI (neuronal)	14q11.2	0,718586854
Hs.412019	C6orf80	Fase de lectura abierta 80 del cromosoma 6	6q23.1-q24.1	0,715749314
Hs.119594	CIT	Citron (de interacción con rho, serina/treonina cinasa 21)	12q24	0,712998565
Hs.518460	AP2M1	Complejo 2 de proteína relacionada con adaptador, subunidad mu 1	3q28	0,709632072
Hs.65425	CALB1	Calbindina 1,28 kDa	8q21.3-q22.1	0,70924145
Hs.479116	SH3TC1	Dominio SH3 y repeticiones tetratricopeptídicas 1	4p16.1	0,704347818
Hs.173859	FZD7	Homólogo 7 de frizzled (<i>Drosophila</i>)	2q33	0,697933574
Hs.363137	ACAT2	Acetil-coenzima A acetiltransferasa 2 (acetoacetil coenzima A tiolasa)	6q25.3-q26	0,695447549
Hs.153648	PPFIA4	Proteína tirosina fosfatasa, de tipo receptor, polipéptido f (PTPRF), proteína de interacción (liprina), alfa 4	1q32.1	0,694615615
Hs.524071		Locus transcrito, muy similar a XP_084672.3 similar a secuencia de ADNc de BC021608 [<i>Homo sapiens</i>]		0,691986755
Hs.506784	LNK	Proteína adaptadora de linfocitos	12q24	0,688023619
Hs.516617	SATB2	Miembro 2 de la familia SATB	2q33	0,681642635
Hs.23406	KCTD4	Que contiene dominio de tetramerización del canal de potasio 4	13q14.12	0,676435668

ES 2 660 765 T3

Hs.220950	FOXO3A	Dominio forkhead O3A	6q21	0,669990152
Hs.370549	BCL11A	CLL de linfocitos B/linfoma 11A (proteína con dedos de zinc)	2p16.1	0,654002694
Hs.483239	ALDH7A1	Familia de aldehído deshidrogenasa 7, miembro A1	5q31	0,651849727
Hs.445733	GSK3B	Glucógeno sintasa cinasa 3 beta	3q13.3	0,647879909
Hs.268515	MN1	Meningioma (alterada en traslocación equilibrada) 1	22q11	0,64462122
Hs.319503	PTCHD1	Que contiene dominio patched 1	Xp22.11	0,644497163
Hs.106511	PCDH17	Proteína hipotética LOC144997	13q21.1	0,644270897
Hs.91448	DUSP14	fosfatasa 14 de especificidad doble	17q12	0,639891125
Hs.448041	FLJ32363	Proteína FLJ32363	5p12	0,633100428
Hs.22584	PDYN	Prodinorfina	20pter-p12	0,630525299
Hs.215839	DLG2	Discs, homólogo 2 grande, chapsina-110 (<i>Drosophila</i>)	11q21	0,620144715
Hs.11899	HMGCR	3-hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A reductasa	5q13.3-q14	0,619486994
Hs.23539		ADNc FLJ42249 fis, clon TKIDN2007667		0,614085673
Hs.314436	NEDL2	Ubiquitina ligasa NEDL2 de E3 relacionada con NEDD4	2q32.3	0,605505392
Hs.490294	KIAA1549	Proteína KIAA1549	7q34	0,548338996
Hs.518469	FLJ10560	Proteína hipotética FLJ10560	3q27.3	0,498445319
Hs.546322	NOL4	Proteína nucleolar 4	18q12	0,491050809
Hs.282177	PIP5K1C	fosfatidilinositol-4-fosfato 5-cinasa, tipo I, gamma	19p13.3	0,490622069
Hs.2785	KRT17	Queratina 17	17q12-q21	0,474185311
Hs.536506		Locus transcrito		0,467413109
Hs.435001	KLF10	Factor 10 de tipo Kruppel	8q22.2	0,463636382
Hs.537539		Locus transcrito		0,358666831

Tabla 29

Resultados de matriz de v-ATPasa en MDD humana frente a mono estresado

Ac. UGRep	Nombre	Símbolo	Ensayo-T humano Affy HIP t2hcmd.affy	Ensayo-T humano illu HIP tHCMdd.illu	Cambio de estrés en la edad mediana del momo
BQ230447	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 9 kDa, subunidad V0 e	ATP6V0E	-2,8565	-2,2254	-1,07
AF245517	ATPasa, transportador de H+, lisosómica subunidad V0 a isoforma 4	ATP6V0A4	-1,6935	-1,5208	1,01
NM_012463	ATPasa, transportador de H+, lisosómica subunidad V0 a isoforma 2	ATP6V0A2	-0,8322	-1,6802	-1,05
CR607789	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 13 kDa, subunidad V1 G isoforma 1	ATP6V1G1	-0,0535	-0,0440	-1,08
AK127853	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 56/58 kDa, subunidad V1 B, isoforma 1 (acidosis tubular renal con sordera)	ATP6V1B1	0,3202	-0,8313	1,02
BF214530	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 31 kDa, subunidad V1 E isoforma 1	ATP6V1E1	1,3703	1,9643	-1,01
AK024101	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 34 kDa, subunidad V1 D	ATP6V1D	1,6380	2,6589	1,09
NM_001690	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 70 kDa, subunidad V1 A	ATP6V1A	1,7837	2,4222	1,15
NM_001695	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 42 kDa, subunidad V1 C, isoforma 1	ATP6V1C1	1,7882	1,0692	-1,01
AK128641	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 38 kDa, subunidad V0 d isoforma 1	ATP6V0D1	1,8249	2,4330	1,03

ES 2 660 765 T3

BC053601	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 21 kDa, subunidad V0 c''	ATP6V0B	1,8268	-0,2217	1,10
AK127505	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 16 kDa, subunidad V0 c	ATP6V0C	2,5856	2,2705	-1,04
NM_001693	ATPasa, transportador de H+, lisosómica 56/58 kDa, subunidad V1 B, isoforma 2	ATP6V1B2	2,6827	2,6120	1,04
AK125927	ATPasa, transportador de H+, lisosómica subunidad V0 a isoforma 1	ATP6V0A1	3,3021	1,2269	1,04

Tabla 30

Nombre del conjunto de sondas	Identificador	LocusLink	Nombre	Todo AD H2O Prom	Todo AD CUS Prom	CUS T	CUS FC	Todo CUS+AD T	Todo CUS+AD FC
1370043_at	NIM_031753	79559	molécula de adhesión celular de leucocitos activados	8,564991091	8,737278	0,305517	1,134681103	-0,337997115	0,875516222
1375424_at	B107525	64040	familia 9 de aldehído deshidrogenasa, subfamilia A1	7,7269596	7,985884	0,253566	1,196585931	-0,275888751	0,815851533
1370176_at	BG378620	171086	región cromosómica de esclerosis lateral amiotrófica 2 (juvenil) candidato 3	8,289171999	8,644384	0,549287	1,279173789	-0,422598222	0,816014485
1370050_at	NM_053311	29598	ATPasa, transportador de Ca ⁺⁺ , membrana plasmática 1	10,02156406	10,47301	0,407594	1,367412006	-0,303601287	0,776657575
1367585_a_at	M28647	24211	ATPasa, transportador de Na ⁺ K ⁺ , alfa 1	10,86677482	10,70967	-0,27986	0,896825718	0,365553735	1,117986929
1398781_at	NM_053884	116664	ATPasa, vacuolar, 14 kDa	9,794708887	9,635878	-0,40588	0,895750971	0,501130634	1,131514226
1367595_s_at	NM_012512	24223	beta-2-microglobulina	10,16168978	9,88582	-0,59779	0,825952261	0,384629381	1,135862492
1370074_at	NM_057196	117542	proteína 2 asociada a inhibidor de angiogénesis 1 específico de cerebro	8,394268852	8,230674	-0,55098	0,892797502	0,467062082	1,118839281
1369993_at	NM_133605	171140	proteína cinasa dependiente de calcio/calmodulina (CaM cinasa) II gamma	8,242780231	8,480603	0,338888	1,179211766	-0,2924444973	0,860882267
1389824_at	BF404381	25400	proteína cinasa II dependiente de calcio/calmodulina subunidad alfa	7,810218827	7,950381	0,416069	1,102029271	-0,470849794	0,896960966
1398251_a_at	NM_021739	24245	proteína cinasa II dependiente de calcio/calmodulina subunidad beta	8,228441025	8,843395	0,474736	1,531509499	-0,367083116	0,701179029
1367462_at	U10861	29156	calpaina, subunidad pequeña 1	9,116789268	8,937121	-0,50886	0,882905842	0,648775676	1,158940404
1389876_at	BE111167	287005	inhibidor alfa de CaM cinasa II	8,411415385	8,683458	0,388539	1,207516219	-0,331393094	0,833810939
1370853_at	AA858621	287005	inhibidor alfa de CaM cinasa II	9,552520138	9,824481	0,484035	1,207447775	-0,302368972	0,879487359
1369215_a_at	NM_012836	25306	carboxipeptidasa D	7,60221365	7,851067	0,409687	1,188262417	-0,318247147	0,865883498
1389974_at	BF555171	116549	caseína cinasa II, polipeptido alfa 1	7,070655253	7,33655	0,576709	1,20238131	-0,509595002	0,849661157
1387436_at	NM_022616	64551	CDC10 (ciclo de división celular 10, <i>S. cerevisiae</i> , homólogo)	8,264076026	7,838606	-0,82282	0,744596339	0,558756443	1,170398833
1370922_at	L15011	29145	cortexina	10,52034023	10,29252	-0,39042	0,853925826	0,642216784	1,297259097
1368059_at	NM_053955	117024	crystalina, mu	9,15043777	8,934658	-0,55932	0,861080678	0,40726188	1,109586413
1370438_at	AF037071	192363	ligando de dominio PDZ C-terminal de óxido nítrico sintasa neuronal	8,478106643	8,941752	0,528156	1,37902155	-0,286782718	0,819872562
1370810_at	L09752	64033	ciclina D2	7,552338207	7,824805	0,627432	1,207871164	-0,510232497	0,856351578
1370180_at	AA891213	94267	difosfoinositol polifosfato fosfolipasa de tipo II	9,720407691	9,551001	-0,32062	0,889208564	0,33907154	1,112564538
1399090_at	AA944459	252902	dineína, citoplasmática, cadena 1 intermedia ligera	8,708970325	9,160194	0,592983	1,36719938	-0,611477208	0,713171499

1370048_at	NIM_053936	116744	receptor acoplado a proteína G de ácido lisosfático de diferenciación endotelial, 2	8,190874036	8,434857	0,460008	1,184257781	-0,276403406	0,889262666
1370341_at	AF019973	24334	enolasa 2, gamma	10,25966095	10,09239	-0,27444	0,890528386	0,511287186	1,226632739
1367958_at	NM_024397	79249	proteína de unión a eps8 (e3B1), con corte y empalme alternativo	7,501336434	7,734993	0,390605	1,175811622	-0,214182288	0,899358171
1373067_at	A102738		EST	9,097780684	9,795279	0,560829	1,621690153	-0,394405591	0,691167336
7375687_at	BE097926		EST	9,102908418	9,589148	0,67554	1,400788553	-0,668809291	0,710828697
1375343_at	BE116572		EST	9,636710979	10,05569	0,637477	1,336979858	-0,600017235	0,721789025
1390722_at	AW531272		EST	8,052433351	8,445177	0,563541	1,312887882	-0,564580433	0,737665796
1371776_at	AA819268		EST	8,792612117	9,070286	0,439984	1,21223885	-0,60941328	0,751754214
1377029_at	AI235414		EST	7,519789299	8,066421	0,538435	1,460671268	-0,347221628	0,758851202
1374002_at	AI045904		EST	7,891491864	8,3451	0,66405	1,369460535	-0,489475041	0,773784892
1372183_at	AI230596		EST	7,499883481	7,870917	0,59093	1,293279024	-0,538050749	0,787917813
1390100_s_at	BG371810		EST	8,847513531	9,335307	0,623353	1,402298615	-0,383584226	0,796768397
1376463_at	AA955579		EST	8,580618929	8,884818	0,477979	1,234732891	-0,512299476	0,797964077
1380433_at	AI229240		EST	8,198656524	8,544649	0,807649	1,271025354	-0,703481364	0,812645109
1376911_at	BM386385		EST	8,998969791	9,304256	0,378751	1,2356663347	-0,292496741	0,834798828
1374276_at	BE104102		EST	8,042219162	8,352924	0,479598	1,24031378	-0,357883889	0,8433066633
1393268_at	AI071071		EST	7,760844879	8,008586	0,670383	1,187346647	-0,604731486	0,847734973
1385889_at	AA893212		EST	7,456567924	7,681123	0,541819	1,168417012	-0,524932857	0,856389756
1388985_at	AI012869		EST	10,3902729	10,71161	0,771777	1,249486875	-0,374963851	0,861337025
1375144_at	BM388843		EST	9,305640348	9,77995	0,689094	1,389253394	-0,247358915	0,862096412
1375850_at	BG371810		EST	10,32943696	10,5907	0,646492	1,198530654	-0,463027833	0,863301098
1376685_at	AW532489		EST	7,03405558	7,31854	0,585335	1,217975253	-0,362402037	0,873963777
1375538_at	AI230737		EST	7,60108064	7,77676	0,590257	1,129498994	-0,611495294	0,87898368
1377232_at	BF406608		EST	7,50385238	7,649913	0,456061	1,106543988	-0,555511902	0,885897068
1374485_at	AI137762		EST	7,635036986	7,803592	0,478724	1,123932187	-0,480827091	0,88597741
1389104_s_at	BF389420		EST	7,793627056	7,97877	0,44046	1,136929557	-0,340035773	0,897093342
1372790_at	BG671530		EST	9,913991148	9,6554	-0,42594	0,835903569	0,333317197	1,121671745
1388738_at	AI411227		EST	9,013127784	8,836253	-0,32841	0,884617394	0,421781411	1,134002323
1389600_at	AW524433		EST	9,341707252	9,136027	-0,31744	0,867129737	0,294052169	1,146455757
1388195_at	AW140475		EST	8,841214015	8,623431	-0,48629	0,859885815	0,493109601	1,177343855
1389867_at	BI281086		EST	9,622618423	9,295352	-0,44041	0,797045168	0,527626149	1,325364171
1371977_at	BG381477		EST, muy similar a complejo de proteína 2/3 relacionada con actina, subunidad 3 (21 kDa); complejo Arp2/3 subunidad p21-Arc [<i>Mus musculus</i>] [<i>M. musculus</i>]	8,22534466	7,988656	-0,43238	0,848690922	0,274472639	1,102307933
1388683_at	AI411174		EST, muy similar a proteína hipotética MGC14151 [<i>Homo sapiens</i>] [<i>H. sapiens</i>]	8,66963072	8,511747	-0,43469	0,896338715	0,466659704	1,111224693

1375245_at	AA800669			EST, muy similar a proteína transformante A36180 61 K - humana [<i>H. sapiens</i>]	10,09883803	9,917245	-0,40076	0,881728933	0,482696461	1,136988127
1383054_at	BE111631			EST, muy similar a proteína con dedos de zinc I48724 PZF - ratón [<i>M. musculus</i>]	7,47092638	7,691487	0,684678	1,165186416	-0,438439828	0,895791948
1389957_at	BG378149			EST, muy similar a proteína mtpd JW0059 - ratón [<i>M. musculus</i>]	9,604565474	9,852639	0,339593	1,187620315	-0,23684341	0,879305448
1374593_at	AA799421			EST, muy similar a proteína cinasa C KPCE_RATE de tipo épsilon (NPKC-EPSILON) [<i>R. norvegicus</i>]	8,436415302	8,757416	0,610494	1,249196498	-0,371471138	0,855707419
1375119_at	BI284798			EST, muy similar a ubiquitina ligasa S70642 Nedd4 - rata (fragmento) [<i>R. norvegicus</i>]	9,262421398	9,747071	0,469691	1,399245716	-0,269750886	0,795573103
1375305_at	BI282028			EST, muy similar a sintaxina ST1B_RATON 1B (P35B) [<i>R. norvegicus</i>]	10,64049686	10,86651	0,543331	1,169598117	-0,407433833	0,884962553
1390423_at	B104245			EST, muy similar a proteína hipotética T14792 DKFZp586G0322. 1 - humana (fragmento) [<i>H. sapiens</i>]	8,796017809	9,069358	0,231788	1,208602479	-0,333710591	0,783587436
1398971_at	BI283725			EST, moderadamente similar a producto génico KIAA0100 [<i>Homo sapiens</i>] [<i>H. sapiens</i>]	9,374401563	9,553263	0,485723	1,13199048	-0,397357886	0,8957128
1388850_at	BG671521			EST, moderadamente similar a proteína de choque térmico HSP 90-beta HS9B_RATE (HSP 84) [<i>R. norvegicus</i>]	9,638454301	9,957086	0,267318	1,247146979	-0,37021886	0,693183088
1390592_at	BM389412			EST, moderadamente similar a proteína 106 con dedos de zinc T14273 - ratón [<i>M. musculus</i>]	7,927245389	8,209323	0,666237	1,215944997	-0,373953853	0,883872321
1390097_at	BI281738			EST, moderadamente similar a proteína hipotética Y193_HUMANA KIAA0193 [<i>H. sapiens</i>]	9,3184521	9,600735	0,359884	1,216117474	-0,289309137	0,840945647
1371590_s_at	BM386159			EST, débilmente similar a e-tropomodulina [<i>Rattus norvegicus</i>] [<i>R. norvegicus</i>]	8,508270545	8,290722	-0,40327	0,860025673	0,715808502	1,286471079
1390048_at	BF408990			EST, débilmente similar a proteína hipotética, MNCb-4760 [<i>Mus musculus</i>] [<i>M. musculus</i>]	7,825368912	8,242474	0,608206	1,335245393	-0,241815196	0,891226221
1375231_a_at	BI281838			EST, débilmente similar al inhibidor del complejo de Dvl y axina [<i>Rattus norvegicus</i>] [<i>R. norvegicus</i>]	9,410742003	9,628854	0,530944	1,163210616	-0,387267422	0,888752574

1399079_at	A1101659			EST, débilmente similar a la proteína del complejo sinaptónico SC65 [<i>Rattus norvegicus</i>] [<i>R. norvegicus</i>]	9,836360668	10,16998	0,396804	1,260170799	-0,239640185	0,859334251
1388903_at	A1179335			EST, débilmente similar al complejo-t expresado en testículos 1 [<i>Rattus norvegicus</i>] [<i>R. norvegicus</i>]	8,332638336	8,114142	-0,5078	0,859460826	0,35815011	1,110966168
1373063_at	B1277000			EST, débilmente similar a enzima E2N de conjugación con ubiquitina (homólogo a UBC13 de levadura); proteína bendless [<i>Rattus norvegicus</i>] [<i>R. norvegicus</i>]	8,697615098	8,502515	-0,43031	0,87351232	0,463990102	1,15709537
1371337_art	BG378939			EST, débilmente similar a citocromo-c oxidasa S13099 (EC 1.9.3.1) precursor de cadena Villa - rata [<i>R. norvegicus</i>]	9,813332563	9,642615	-0,3672	0,888400916	0,325054592	1,106521553
1398846_at	BE107346	56783		factor 5 de inicio eucariota (eIF-5)	8,361376446	9,008593	0,495006	1,566143804	-0,414497851	0,664667317
1387383_at	NM_031802	83633		receptor 51 acoplado a proteína G	9,961560372	9,722226	-0,41601	0,847135806	0,740340744	1,292462812
1368401_at	W85035	29627		receptor de glutamato, ionotrópico 2	9,7450637	10,12056	0,388163	1,297283064	-0,370340093	0,761334957
1388189_at	AW522430	24416		receptor de glutamato, metabotrópico 3	7,922810149	8,369635	0,603662	1,363036876	-0,282310414	0,857046994
1387659_at	AF245172	83585		guanina desaminasa	8,579875817	8,970425	0,419618	1,310892245	-0,310557432	0,801387052
1375705_at	A1103622	24400		proteína beta 1 de unión a nucleótidos de guanina	11,052428	11,43942	0,624776	1,307666247	-0,713058008	0,698548881
1370053_at	BE116953	65040		proteína asociada a guanilato cinasa	8,181514198	8,416934	0,402124	1,177248901	-0,304521974	0,873239295
1375532_at	A1008792	25587		inhibidor de unión a ADN 2, proteína de hélice-bucle-hélice dominante negativa	8,470555381	9,278552	0,655617	1,750778223	-0,467889277	0,6448088
1371148_s at	X52017	24503		internexina, alfa	8,348395102	8,742675	0,442247	1,314286384	-0,351712988	0,790245803
1370865_at	B1277627	25179		isocitrato deshidrogenasa 3, gamma	9,508280943	9,334029	-0,41328	0,886227042	0,430076542	1,117948633
1387071_a_at	BE107978	29477		proteína tau asociada a microtúbulos	10,20988985	11,06574	0,440253	1,809820398	-0,40915131	0,566925482
1370831_at	AY081195	29254		monoglicérido lipasa	7,997950072	8,519811	0,691492	1,435806237	-0,370997892	0,797665306
1370016_at	NM_031070	81734		homólogo de nel de tipo 2 (pollo)	9,366440831	9,130241	-0,3398	0,84897858	0,629322922	1,313198487
1369690_at	A1547471	60355		factor sensible a N-etilmaleimida	9,871860703	9,66198	-0,40131	0,864608826	0,356371725	1,111739806
1368993_at	NM_020088	56762		neuresina	7,578732705	8,063511	0,624639	1,399370323	-0,459690254	0,755545133
1369404_a at	NM_021767	60391		neurexina 1	7,850829037	8,133737	0,400729	1,216644537	-0,47177386	0,798122143
1370058_at	NM_031783	83613		neurofilamento, polipéptido ligero	9,844994746	9,631533	-0,42188	0,862465188	0,366920816	1,10425063
1370517_at	U18772	266777		pentaxina neuronal 1	9,516316885	9,313932	-0,51492	0,869112366	0,522032631	1,16884432
1368255_at	NM_017354	50864		neurotrifina	8,456459057	8,628735	0,372202	1,126834366	-0,377704419	0,883893225
1367851_at	J04488	25526		prostaglandina D sintasa	11,49214354	11,29404	-0,3933	0,871692914	0,290393494	1,108310809
1368790_at	NM_017039	24672		proteína fosfatasa 2 (antiguamente 2A), subunidad catalítica, isoforma alfa	9,819878116	9,61136	-0,34567	0,865425423	0,311060317	1,132692891

1398825_at	D01046	79434	RAB11B, miembro de la familia del oncogén RAS	8,467885101	8,303234	-0,51417	0,892144413	0,494808325	1,119497348
1370087_at	NM_031718	65158	RAB2, miembro de la familia del oncogén RAS	8,267117217	8,013845	-0,58443	0,838991442	0,408100105	1,123112511
1370372_at	AF134409	171099	familia RASD, miembro 2	8,98764962	8,822419	-0,40481	0,891785751	0,417570782	1,12716855
1369816_at	NM_013018	25531	proteína 3A de unión a GTP pequeña relacionada con Ras	9,593343909	9,380739	-0,35073	0,862977618	0,546884115	1,248974009
1369958_at	NM_022542	64373	gen rhoB	8,970515013	8,798449	-0,38451	0,887570983	0,423174482	1,123272591
1375421_a_at	A1600019	192256	proteína que transporta el motivo de secuencia RING-H2	9,594165696	10,03902	0,3913	1,361178681	-0,323072636	0,74473796
1375621_at	A1575254	261737	sideroflexina 5	7,407218485	7,669141	0,495738	1,199075642	-0,417215583	0,848997619
1370224_at	BE113920	25125	transductor de señales y activador de transcripción 3	7,635173326	7,857439	0,709037	1,166564469	-0,459754483	0,890983344
1388000_at	AF021923	84550	familia 24 del transportador de solutos (intercambiador de sodio/potasio/calcio), miembro 2	7,301200621	7,512385	0,309079	1,157637879	-0,25114173	0,870463115
1388440_at	NM_017216	29484	familia 3 del transportador de solutos, miembro 1	9,398846616	9,93355	0,749691	1,448643968	-0,727328652	0,650057604
1389986_at	A1008409	117556	glucoproteína 2 b de vesícula sináptica	8,015724584	8,590117	0,656167	1,489050598	-0,357264595	0,775227175
1369627_at	L10362	117556	glucoproteína 2 b de vesícula sináptica	8,663172726	8,82176	0,204444	1,116193334	-0,243485248	0,864656842
1387662_at	L38247	64440	sinaptotagmina 4	8,677669502	9,157806	0,309263	1,394875371	-0,334811005	0,692224654
1369879_a_at	NM_019381	24822	transcrito del gen potenciado en testículos	8,733602786	8,580479	-0,38722	0,899301003	0,378082787	1,115748654
1368841_at	NM_053369	84382	factor 4 de transcripción	8,639946736	8,85393	0,486185	1,159885847	-0,374241086	0,892103037
1386999_at	BG380730	56011	proteína de activación de tirosina 3-monooxigenasa/triptófano 5 monooxigenasa, polipeptido beta	8,669827204	8,515457	-0,44737	0,898624607	0,533133344	1,130282208
1398843_at	A1411103	58857	proteína de membrana asociada a vesículas, proteína a asociada	10,04441626	9,889542	-0,34531	0,898210852	0,35733192	1,10078515
1386909_a_at	AF268467	83529	canal 1 de antones dependiente de voltaje	8,025008371	7,83859	-0,4422	0,87878463	0,44171122	1,146114211

La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. No obstante, la presente divulgación también incluye las siguientes realizaciones numeradas:

- 5 1. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia selectivamente con un polinucleótido o polipéptido codificado por un ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos de la tabla 3-6; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia selectivamente con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo.
- 10 2. El método de la realización 1, en el que el reactivo es un anticuerpo.
3. El método de la realización 1, en el que el reactivo es un ácido nucleico.
4. El método de la realización 1, en el que el reactivo se asocia con un polinucleótido.
5. El método de la realización 1, en el que el reactivo se asocia con polipéptido.
- 15 6. El método de la realización 1, en el que la muestra biológica se obtiene de líquido amniótico.
7. El método de la realización 1, en el que el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.
8. El método de la realización 1, en el que el nivel de reactivo que se asocia con la muestra es mayor que un nivel asociado con seres humanos sin un trastorno del estado de ánimo.
- 20 9. El método de la realización 1, en el que el nivel de reactivo que se asocia con la muestra es inferior a un nivel asociado con seres humanos sin un trastorno del estado de ánimo.
10. Un método de identificación de un compuesto para el tratamiento o prevención de un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método las etapas de: (i) poner en contacto el compuesto con un polipéptido, el polipéptido codificado por un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos enumerada en la tabla 3-6 o una secuencia de ácido nucleico del gen de PSPHL; y (ii) determinar el efecto funcional del compuesto sobre el polipéptido, identificando de ese modo un compuesto para el tratamiento o la prevención de un trastorno del estado de ánimo.
- 25 11. El método de la realización 10, en el que la etapa de contacto se realiza *in vitro*.
12. El método de la realización 10, en el que el polipéptido se expresa en una célula o la célula se pone en contacto con el compuesto.
- 30 13. El método de la realización 10, en el que el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.
14. El método de la realización 10, que comprende además administrar el compuesto a un animal y determinar el efecto sobre el animal.
- 35 15. El método de la realización 14, en el que la etapa de determinación comprende ensayar la función mental del animal.
16. Un método de identificación de un compuesto para el tratamiento de un trastorno del estado de ánimo en un sujeto, comprendiendo el método las etapas de: (i) poner en contacto el compuesto con una célula, comprendiendo la célula un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos enumerada en las tablas 3-10 de una secuencia de nucleótidos del gen de PSPHL; y (ii) seleccionar un compuesto que modula la expresión del polinucleótido, identificando de ese modo un compuesto para el tratamiento de un trastorno del estado de ánimo.
- 40 17. El método de la realización 16, en el que la expresión del polinucleótido está potenciada.
18. El método de la realización 16, en el que la expresión del polinucleótido está disminuida.
- 45 19. El método de la realización 16, que comprende además administrar el compuesto a un animal y determinar el efecto sobre el animal.
20. El método de la realización 19, en el que la etapa de determinación comprende ensayar la función mental del animal.
21. El método de la realización 16, en el que el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.
- 50 22. Un método de tratamiento de un trastorno del estado de ánimo en un sujeto, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto identificado usando el método de la realización 10 o la realización 16.
23. El método de la realización 22, en el que el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.
- 55 24. El método de la realización 22, en el que el compuesto es una molécula orgánica pequeña.
25. Un método de tratamiento de un trastorno del estado de ánimo en un sujeto, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un polipéptido, el polipéptido codificado por un polinucleótido que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos enumerada en las tablas 3-10 o una secuencia de nucleótidos del gen de PSPHL.
- 60 26. El método de la realización 25, en el que el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.
27. Un método de tratamiento de un trastorno del estado de ánimo en un sujeto, comprendiendo el método la etapa de administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de un ácido nucleico, en el que el ácido nucleico hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos enumerada en la tabla 3-6 o una secuencia de ácido nucleico del gen de PSPHL.
- 65 28. El método de la realización 27, en el que el trastorno del estado de ánimo se selecciona del grupo que

consiste en trastorno bipolar y trastorno de depresión mayor.

29. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a trastorno bipolar, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica del sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia selectivamente con un polinucleótido o polipéptido codificado por el gen de PSPHL; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia selectivamente con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a trastorno bipolar.

30. El método de la realización 29, en el que el reactivo es un anticuerpo.

31. El método de la realización 29, en el que el reactivo es un ácido nucleico.

32. El método de la realización 29, en el que el reactivo se asocia con un polinucleótido de PSPHL.

33. El método de la realización 29, en el que el reactivo se asocia con un ARNm de PSPHL.

34. El método de la realización 29, en el que el reactivo se asocia con un gen de PSPHL.

35. El método de la realización 29, en el que el reactivo se asocia con un polipéptido de PSPHL.

36. El método de la realización 29, en el que la muestra biológica se obtiene de líquido amniótico.

37. El método de la realización 29, en el que el nivel de reactivo que se asocia con la muestra es inferior a un nivel asociado con seres humanos sin trastorno bipolar.

38. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a trastorno bipolar, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un par de cebadores de PCR que se une selectivamente al gen de PSPHL; y (iii) amplificar el gen de PSPHL y detectar el producto génico amplificado en la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a trastorno bipolar.

39. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método: (i) poner en contacto el tejido de una o más regiones del cerebro del sujeto con una molécula marcada de forma detectable que se une selectivamente a un gen enumerado en cualquiera de las tablas 1-30; (ii) visualizar la distribución de la molécula marcada de forma detectable en el tejido cerebral; y (iii) correlacionar la distribución de la molécula marcada de forma detectable con la presencia o predisposición a un trastorno del estado de ánimo en el sujeto.

40. El método de la realización 39, en el que dicha una o más regiones se seleccionan del grupo que consiste en la corteza cingulada anterior (AnCg), la corteza prefrontal dorsolateral (DLPFC), la corteza cerebelar (CB), el giro temporal superior (STG), la corteza parietal (PC) y el núcleo accumbens (nAcc).

41. El método de la realización 39, en el que dicha molécula marcada es una molécula de ARN antisentido.

42. El método de la realización 39, en el que dicho contacto se produce *in vivo*.

43. El método de la realización 39, en el que dicho trastorno del estado de ánimo es trastorno depresivo mayor.

44. El método de la realización 39, en el que dicho trastorno del estado de ánimo es trastorno bipolar.

45. Un método para determinar el curso de la progresión o regresión de un trastorno del estado de ánimo:

(a) medir en una muestra biológica, en un primer momento, un transcrito regulado de forma incorrecta asociado con dicho trastorno del estado de ánimo de las tablas 1-30; (b) medir, en un segundo momento, dicho transcrito de forma incorrecta en una muestra biológica del sujeto; (c) comparar la primera medición y la segunda medición; en el que las mediciones comparativas determinan el curso del trastorno del estado de ánimo.

46. El método de la realización 45, en el que dicho trastorno del estado de ánimo es trastorno depresivo mayor.

47. El método de la realización 45, en el que dicho trastorno del estado de ánimo es trastorno bipolar.

48. Un método para tratar a un sujeto con un trastorno del estado de ánimo, en el que dicho trastorno del estado de ánimo se diagnosticó de acuerdo con un método de cualquiera de las realizaciones 1, 16, 29 o 38, que comprende administrar una formulación terapéutica que aumenta la actividad de un producto génico de FGF en dicho sujeto.

49. El método de la realización 48, en el que dicha formulación comprende un producto génico recombinante de FGF.

50. El método de la realización 49, en el que dicho producto génico de FGF es FGF-2.

51. El método de la realización 48, en el que dicha formulación comprende un vector capaz de expresar un producto génico de FGF en células diana de dicho sujeto.

52. El método de la realización 51, en el que dicho producto génico de FGF es FGF-2.

53. El método de la realización 48, en el que dicho trastorno del estado de ánimo es MDD.

54. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia selectivamente con un polinucleótido o polipéptido codificado por un ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos de la tabla 10; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia selectivamente con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo.

55. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia selectivamente con un polinucleótido o polipéptido codificado por un ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos de las tablas 18-19; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia selectivamente con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo.

56. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia selectivamente con un polinucleótido o polipéptido codificado por un ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos de la tabla 20; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia selectivamente con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo.

57. Un método para determinar si un sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo, comprendiendo el método las etapas de: (i) obtener una muestra biológica de un sujeto; (ii) poner en contacto la muestra con un reactivo que se asocia selectivamente con un polinucleótido o polipéptido codificado por un ácido nucleico que hibrida en condiciones rigurosas con una secuencia de nucleótidos de las tablas 29-30; y (iii) detectar el nivel de reactivo que se asocia selectivamente con la muestra, determinando de ese modo si el sujeto tiene o está predispuesto a un trastorno del estado de ánimo.

58. El método de la realización 57, en el que dicho ácido nucleico codifica una subunidad V-ATPasa y en el que dicho trastorno del estado de ánimo es MDD o estrés crónico.

LISTADO DE SECUENCIAS

<110> The Board of Trustees of the Leland Stanford Junior University

<120> Genes y rutas expresadas de forma diferencial en trastorno bipolar y/o trastorno depresivo mayor

<130> AHB/FP6781082

<140>

<141> 21-06-2005

<150> 05762518.8

<151> 21-06-2005

<150> WO PCT/US05/22111

<151> 21-06-2005

<150> US 60/581.998

<151> 21-06-2004

<150> US 60/621.252

<151> 22-10-2004

<150> US 60/667.296

<151> 31-03-2005

<160> 25

<170> PatentIn versión 3.3

<210> 1

<211> 20

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador directo de VASE

<400> 1

gaccccatc cctccatcac 20

<210> 2

<211> 19

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cebador directo de VASE

<400> 2

ggctacgcac caccatgtg 19
 <210> 3
 <211> 19
 5 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador directo del exón a
 10 <400> 3
 gacgcagcca gtccatagc 19
 <210> 4
 15 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial
 <220>
 20 <223> Cebador directo del exón b
 <400> 4
 cgtctacccc tgttccattg tc 22
 25 <210> 5
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial
 30 <220>
 <223> Cebador directo del exón b
 <400> 5
 35 tctggggag acaatggaac ag 22
 <210> 6
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> Cebador directo del exón c
 <400> 6
 45 tctgtccctt gcaacca 17
 <210> 7
 <211> 19
 <212> ADN
 50 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador directo del exón c
 55 <400> 7
 ggttgcaagg gcaggaaga 19
 <210> 8
 <211> 25
 <212> ADN
 60 <213> Artificial
 <220>
 <223> Cebador directo del exón SEC

<400> 8
 ccaagctggt cttcataatg ctcta 25

5
 <210> 9
 <211> 26
 <212> ADN
 <213> Artificial

10
 <220>
 <223> Cebador directo del exón SEC

<400> 9
 ttgatgctt gaacactatg aacatg 26

15
 <210> 10
 <211> 15
 <212> ADN
 <213> Artificial

20
 <220>
 <223> Cebador directo del exón 3

<400> 10
 ggcggcgctc aatgg 15

25
 <210> 11
 <211> 28
 <212> ADN
 <213> Artificial

30
 <220>
 <223> Cebador directo del exón 8

<400> 11
 gatcagggtc actttaatag agttcca 28

35
 <210> 12
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cebador de secuenciación directo de SNP9

45
 <400> 12
 cgcagccagt ccgtaagtaa ag 22

<210> 13
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial

50
 <220>
 <223> Cebador de secuenciación inverso de SNP9

55
 <400> 13
 aagctggacc ggctactagg a 21

60
 <210> 14
 <211> 166
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<220>

ES 2 660 765 T3

<223> fosfoserina fosfatasa de tipo A (PSPHL-A) exón 1

<400> 14

	ccgcaggctt ctgcctggcc gccgcgcct ataagctacc aggaggagct ttacgacttc	60
	ccgtcctgcg ggaagtggcg ggcacgatcg caaggtagcg cagaagcttc tcaatggcca	120
5	gcgccagctg cagccccggc ggcgcactcg cctcacctga gcttgg	166

<210> 15

<211> 113

<212> ADN

10 <213> *Homo sapiens*

<220>

<223> fosfoserina fosfatasa de tipo A (PSPHL-A) exón 2

15 <400> 15

	gaggaaaatt cttccaagga tgatctccca ctacagagctg aggaagcttt tctactcagc	60
	agatgctgtg tgttttgatg ttgacagcac ggtcatcagt gaagaaggaa tcg	113

<210> 16

20 <211> 122

<212> ADN

<213> *Homo sapiens*

<220>

25 <223> fosfoserina fosfatasa de tipo A (PSPHL-A) exón 3

<400> 16

	gacggagtct cgctctgtca ccaggetgga gtgcaatggt gcaatctcgg ctactgcaa	60
	cctccgcctc ctgggttcag gcagttctcc tgccctccacc tctgagtag ctgaaactac	120
30	ag	122

<210> 17

<211> 440

<212> ADN

35 <213> *Homo sapiens*

<220>

<223> phosphoserine phosphatase-like A (PSPHL-A) Exon 4

<400> 17

40

ES 2 660 765 T3

gatgctttca ttggctttgg aggaaatgtg atcaggcaac aagtcaagga taacgcaaaa 60
 tggatatatca ctgattttgt agagetgctg ggagaaccgg aagaataaca tccattgtca 120
 tacagctcca aacaacttca gatgaatfff tacaagttac acagattgat actgtttgct 180
 tacaattgcc tattacaact tgctatagaa agttgggtaca gatgatctgc actgtcaagt 240
 aaactacagt taggaatcct caaagattgg tttgtttggt ttttaactgta gttccagtat 300
 tatatgatca ctattgattt cctggagagt tttgtaatct gaattcttta tgtatattcc 360
 tagctatatt tcatacaaag tgttttaaga gtggagagtc aattaaacac ctttactott 420
 aggaaaaaaaa aaaaaaaaaa 440

5 <210> 18
 <211> 214
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <223> fosfoserina fosfatasa de tipo B (PSPHL-B) exón 1

<400> 18

aagccacagg ctccctggct ggcgtcagct aaagtggctg ttgggtgtcc gcaggcttct 60
 gcctggecgc cgccgcctat aagctaccag gaggagcttt acgacttccc gtctgcggg 120
 aagtggcggg cacgatcgca aggtagcgca gaagcttctc aatggccagc gccagctgca 180
 gccccggcgg cgcaactcgcc tcacctgagc ctgg 214

15 <210> 19
 <211> 113
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

20 <220>
 <223> fosfoserina fosfatasa de tipo B (PSPHL-B) exón 2

<400> 19

gaggaaaatt cttccaagga tgatctccca ctcagagctg aggaagcttt tctactcagc 60
 agatgctgtg tgttttgatg ttgacagcac ggtcatcagt gaagaaggaa tcg 113

30 <210> 20
 <211> 512
 <212> ADN
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <223> fosfoserina fosfatasa de tipo B (PSPHL-B) exón 4

35 <400> 20

ES 2 660 765 T3

gatgctttca ttggatttgg aggaaatgtg atcaggcaac aagtcaagga taacgcoaaa 60
 tggatatatca ctgattttgt agagctgctg ggagaaccgg aagaataaca tccattgtca 120
 tacagctcca aacaacttca gatgaatfff tacaagttac acagattgat actgtttgct 180
 tacaattgcc tattacaact tgctataaaa agttggtaca gatgatctgc actgtcaagt 240
 aaactacagt taggaatcct caaagattgg tttgtttggt tttaactgta gttccagtat 300
 tatatgatca ctatcgattt cctggagagt tttgtaatct gaattcttta tgtatattcc 360
 tagctatatt tcatacaaag tgttttaaga gtggagagtc aattaaacac ctttactctt 420
 aggaatatag attcggcagc cttcagtgaa tattggtttt tttccctttg gtatgtcaat 480
 aaaagtttat ccatgtgtca gaaaaaaaaa aa 512

5 <210> 21
 <211> 16
 <212> ADN
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> cebador PSPHL-F1

<400> 21
 aggctccctg gctggc 16

15 <210> 22
 <211> 17
 <212> ADN
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> cebador PSPHL-R1

<400> 22
 caggctcagg tgaggcg 17

25 <210> 23
 <211> 21
 <212> ADN
 <213> Artificial

30 <220>
 <223> cebador PSPHL-G-F2

<400> 23
 aagccagtcg gtctacaggt g 21

35 <210> 24
 <211> 22
 <212> ADN
 <213> Artificial

40 <220>
 <223> cebador PSPHL-G-R2

<400> 24

ES 2 660 765 T3

gtgccagaag aaccacacag tc 22

5 <210> 25
 <211> 200
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> conector felxible de poli-Gly

15 <220>
 <221> MOD_RES
 <222> (6)...(200)
 <223> Gly o ausente

<400> 25

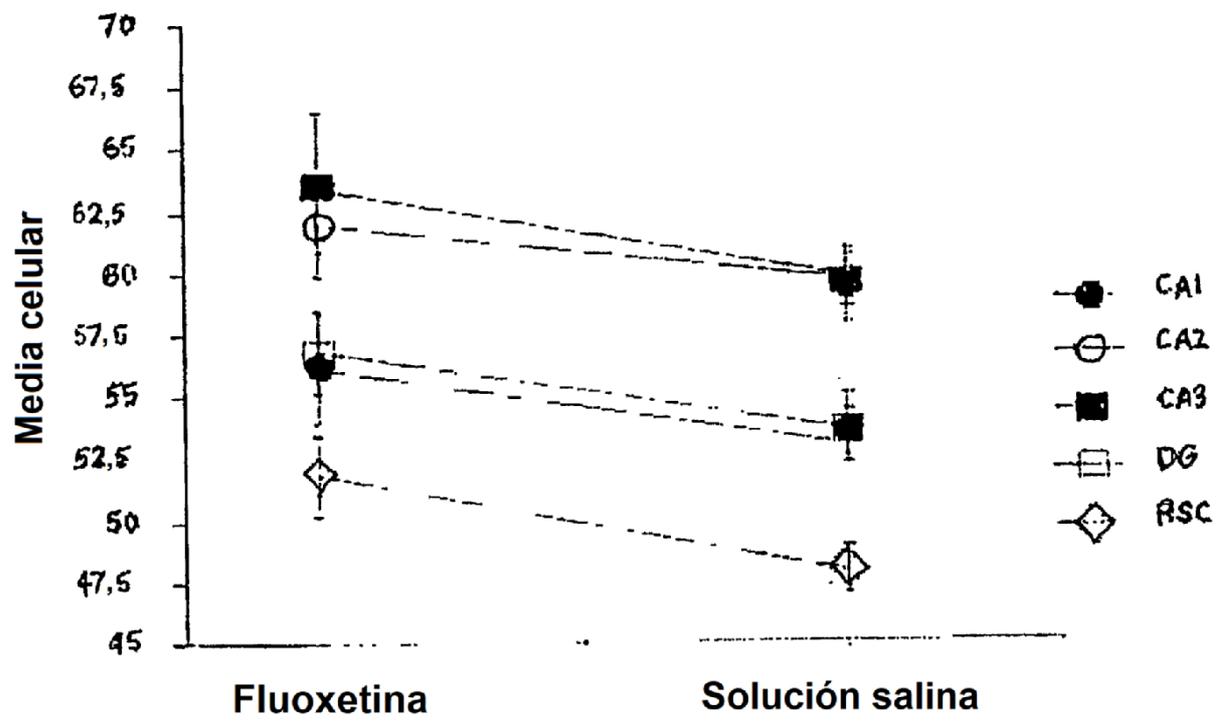
Gly															
1				5					10					15	
Gly															
			20					25					30		
Gly															
			35				40						45		
Gly															
			50				55					60			
Gly															
65						70					75				80
Gly															
						85				90					95
Gly															
						100				105					110
Gly															
						115				120				125	
Gly															
						130				135				140	
Gly															
145						150						155			160
Gly															
						165				170					175
Gly															
						180				185					190
Gly															
						195									200

20

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un inhibidor de FGF9 para su uso en un método de prevención o de tratamiento de un trastorno de depresión mayor en un sujeto, en donde dicho inhibidor se une a FGF9 o hibrida con un transcrito de FGF9.
- 10 2. Un inhibidor para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho sujeto muestra cualquiera de los siguientes síntomas: tristeza persistente, ansiedad o un estado de ánimo "vacío"; sentimientos de desesperanza o pesimismo; sentimientos de culpabilidad, inutilidad o impotencia; pérdida de interés o placer en aficiones y actividades que antes se disfrutaban, incluyendo el sexo; energía disminuida, fatiga, estar "ralentizado"; dificultad en concentrarse, recordar o tomar decisiones; insomnio, despertarse temprano o dormir en exceso; pérdida de apetito y/o peso o comer en exceso y ganancia de peso; pensamiento de muerte o suicidio o intentos de suicidio; intranquilidad o irritabilidad; o síntomas físicos persistentes que no responden al tratamiento, tales como cefaleas, trastornos digestivos y dolor crónico.
- 15 3. Un inhibidor para su uso de acuerdo con las reivindicaciones 1 o 2, en donde dicho sujeto es un ser humano.
- 20 4. Un inhibidor que hibrida con un transcrito de FGF9 para su uso de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho inhibidor comprende ARNip.
- 25 5. Un inhibidor para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho método comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho inhibidor.
- 30 6. Un inhibidor para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicha cantidad terapéuticamente eficaz es de 1 nanogramo a 10 miligramos por kilogramo de peso corporal de dicho sujeto.
- 35 7. Un inhibidor para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho inhibidor se administra por vía oral, nasal, tópica, intravenosa, intraperitoneal o intratecal.
8. Un inhibidor para su uso de acuerdo con la reivindicación 5, en donde dicho inhibidor se administra por inhalación.
9. Un inhibidor para su uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8, en donde dicho inhibidor se administra con un vehículo farmacéuticamente aceptable.
10. Uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un inhibidor de FGF9 para la fabricación de un medicamento para un método de prevención o de tratamiento de un trastorno de depresión mayor en un sujeto, en donde dicho inhibidor se une a FGF9 o hibrida con un transcrito de FGF9.

Figura 1



**Expresión diferencial de transcritos
el sistema de FGF en corteza de MDD**

Hs.278954	FGF1	<0,01**	Disminuido	0,01	Disminuido
Hs.284244	FGF2	NS		<0,01*	Disminuido
Hs.433252	FGF7	NS		NS	
Hs.111	FGF9	<0,01	Aumentado	<0,01*	Aumentado
Hs.343809	FGF12	NS		<0,01*	Aumentado
Hs.6540	FGF13	NS		NS	
Hs.223851	FGF14	0,05	Aumentado	NS	
Hs.748	FGFR1	NS		NS	
Hs.404081	FGFR2	<0,01**	Disminuido	<0,01*	Disminuido
Hs.1420	FGFR3	<0,01**	Disminuido	<0,01	Disminuido

*La observación se confirmó en una cohorte independiente de sujetos con MDD y de control.

*La observación se confirmó por análisis de PCR a tiempo real con $p < 0,05$.

NS = no significativo.

FIG. 2

La regulación incorrecta de FGF se atenúa por tratamiento con antidepresivos

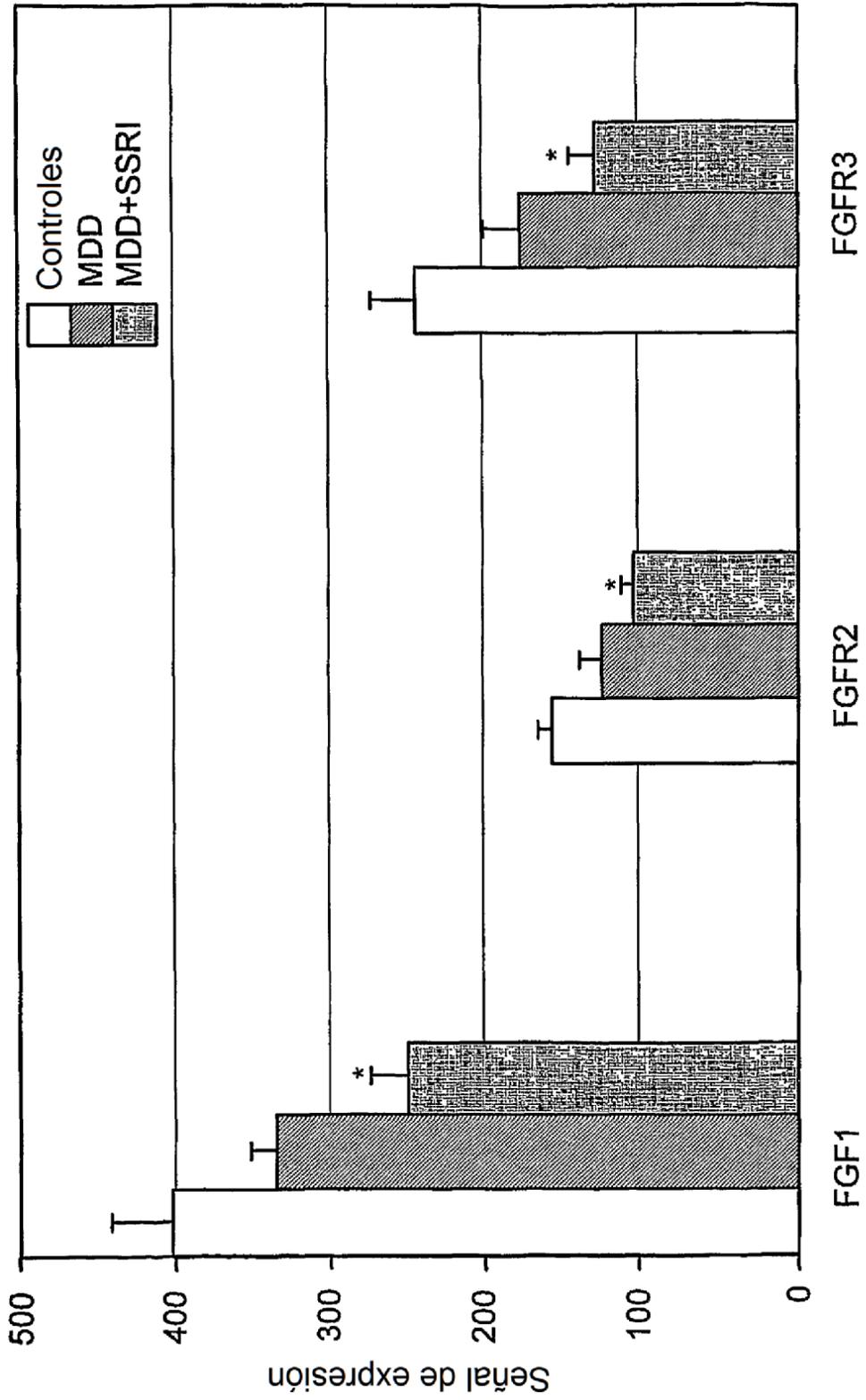


FIG. 3

El tratamiento crónico con fluoxetina aumenta la expresión de FGFR2 en prosencéfalo de rata

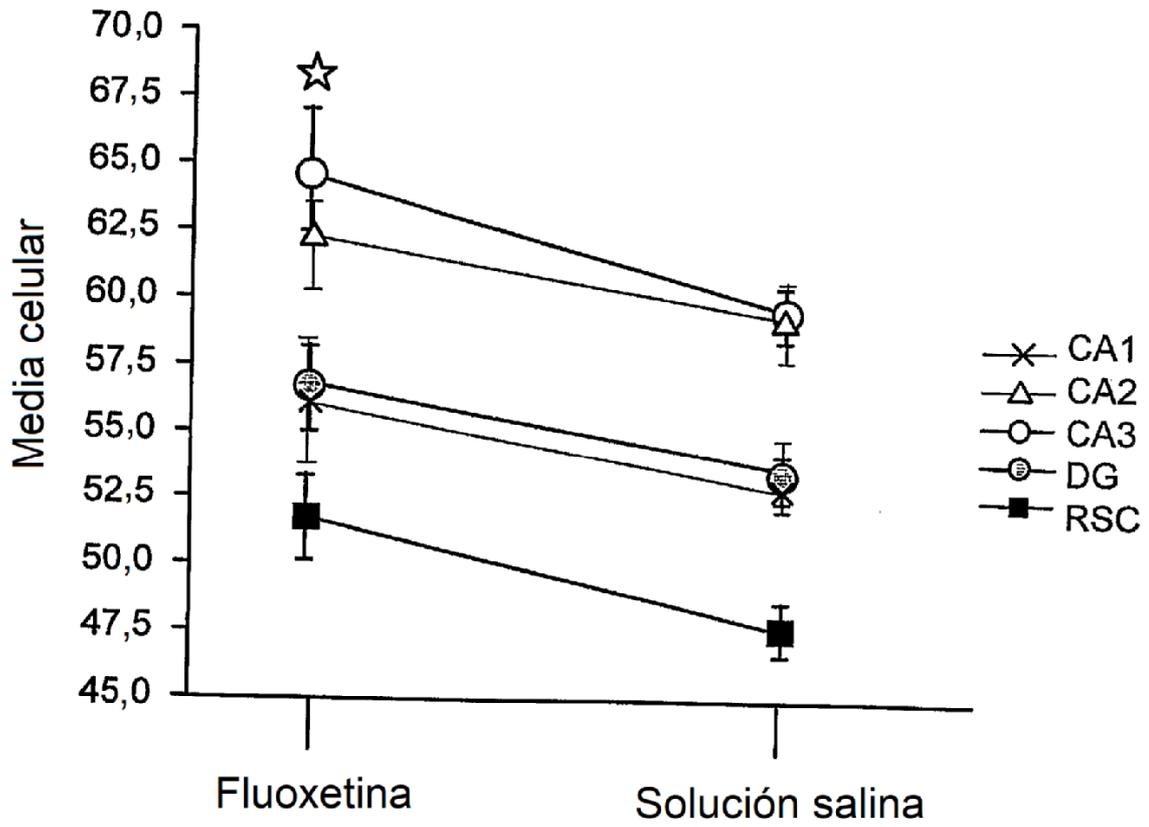


FIG. 4

Complejidad ambiental:
FGF2 y comportamiento de tipo ansiedad

- Ratas adultas jóvenes: 21 días de complejidad ambiental (EC) frente a los controles
- Observar neurogénesis, expresión génica de FGF2, aprendizaje espacial, comportamiento de tipo ansiedad
- EC da lugar a aumento en la expresión de FGF2
- EC da lugar a rendimiento mejorado en MWM
- EC da lugar a comportamiento de tipo ansiedad disminuido
- Correlación positiva entre la expresión de FGF2 en el tiempo empleado en la tarea de provocar ansiedad

FIG. 5

La expresión de FGF2 se correlaciona negativamente con el comportamiento de tipo ansiedad

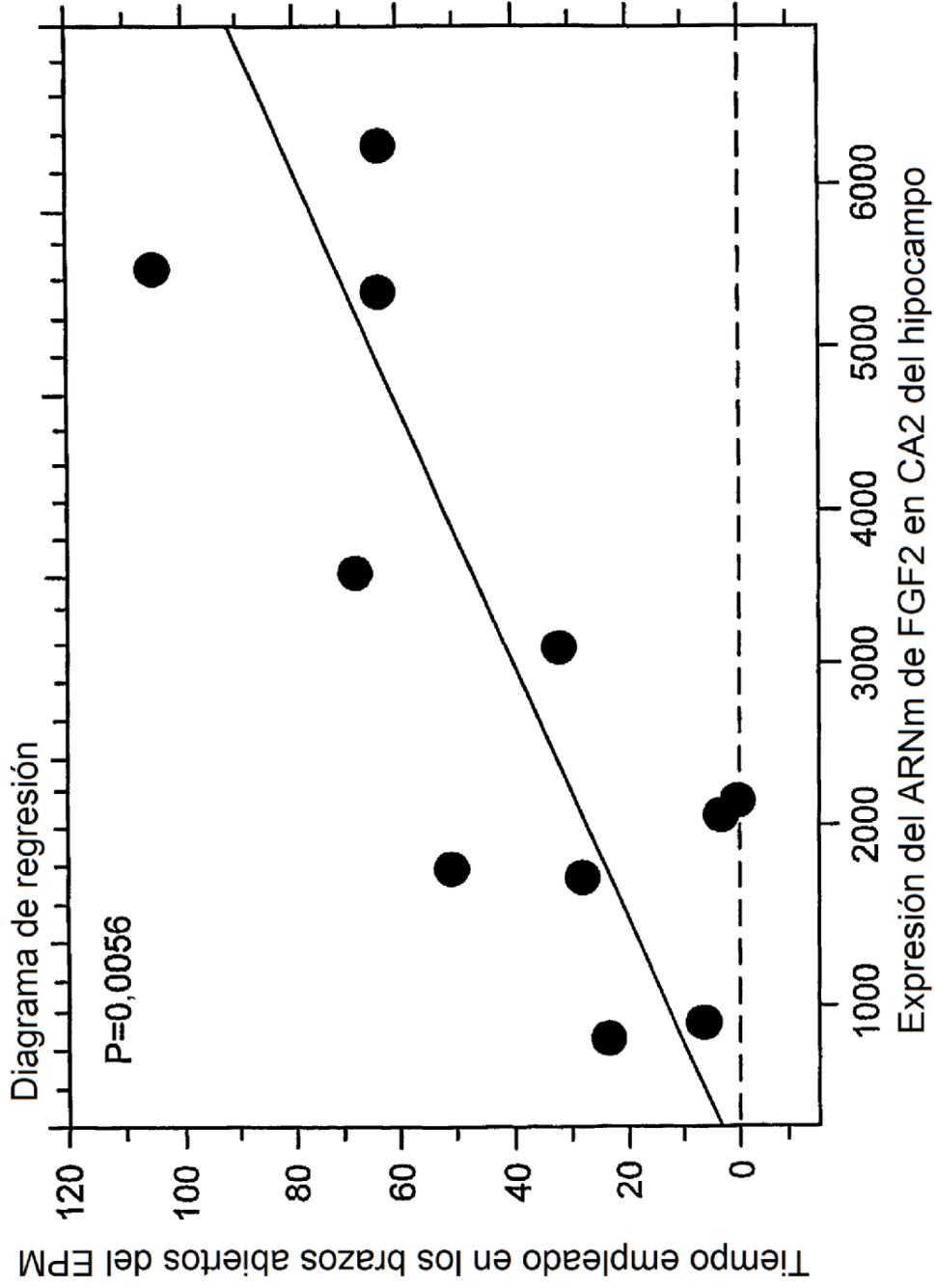


FIG. 6

Conclusiones: FGF y efecto negativo

- Varios transcritos del sistema de FGF se expresan de forma diferencial las regiones de la corteza frontal de sujetos con MDD. Este efecto es específico para MDD y no se observa en BPD.
- Confirmación por qRT-PCR para FGF1, FGFR2 y FGFR3.
- Confirmación por micromatriz en una cohorte independiente para FGF1, FGF13, FGFR2 y FGFR3.
- El efecto no se debe a tratamiento con antidepresivos
 - En muestras humanas: efecto mayor en sujetos no tratados.
 - En ratas: FGFR2 se aumenta por fluoxetina en las regiones del hipocampo y de la corteza frontal, un cambio opuesto al observado en MDD.
- Se están iniciando estudios en roedores para implicar el sistema de FGF en la reactividad emocional: la exposición temprana a FGF2 aumenta la exploración y el enriquecimiento ambiental aumenta FGF2 y disminuye la ansiedad

FIG. 7

Figura 8
Validación por qRT-PCR de los datos de micromatriz

Corteza cingulada anterior		Cambio factorial			
		BPD		MDD	
Símbolo	UniGene	Nombre del gen	U95Av2	qRT-PCR	U95Av2 qRT-PCR
Ligando					
NPY	Hs.1832	neuropéptido Y	1,33*	1,46**	
SST	Hs.12409	somatostatina	1,48*	1,38	
GPCR					
CCKBR	Hs.203	Receptor de colecistocinina B	1,24*	1,44**	
GPR37	Hs.406094	Receptor 37 acoplado a proteína G	1,52*	1,87**	-1,44*
GPRC5B	Hs.448805	Receptor C-5-B acoplado a proteína G	1,27*	1,34	-1,43*
Proteína G					
GNAQ	Hs.469951	proteína G, polipéptido q	1,3*	1,29**	
GNAZ	Hs.437081	proteína G, polipéptido alfa z	1,34*	1,20**	
Corteza prefrontal dorsolateral					
		BPD		MDD	
Símbolo	UniGene	Nombre del gen	U95Av2	qRT-PCR	U95Av2 qRT-PCR
GPCR					
EDNRB	Hs.82002	Receptor de endotelina de tipo B			-1,22*
GPR37	Hs.406094	Receptor 37 acoplado a proteína G	1,45*	1,97**	-1,44*
GPRC5B	Hs.448805	Receptor C-5-B acoplado a proteína G	1,34*	1,56**	-1,36*
Proteína G					
GNAQ	Hs.469951	Proteína G, polipéptido q			1,26*
GNB5	Hs.155090	Proteína G, polipéptido beta 5	1,24*	1,98**	1,31*
					1,61**

Regulación positiva

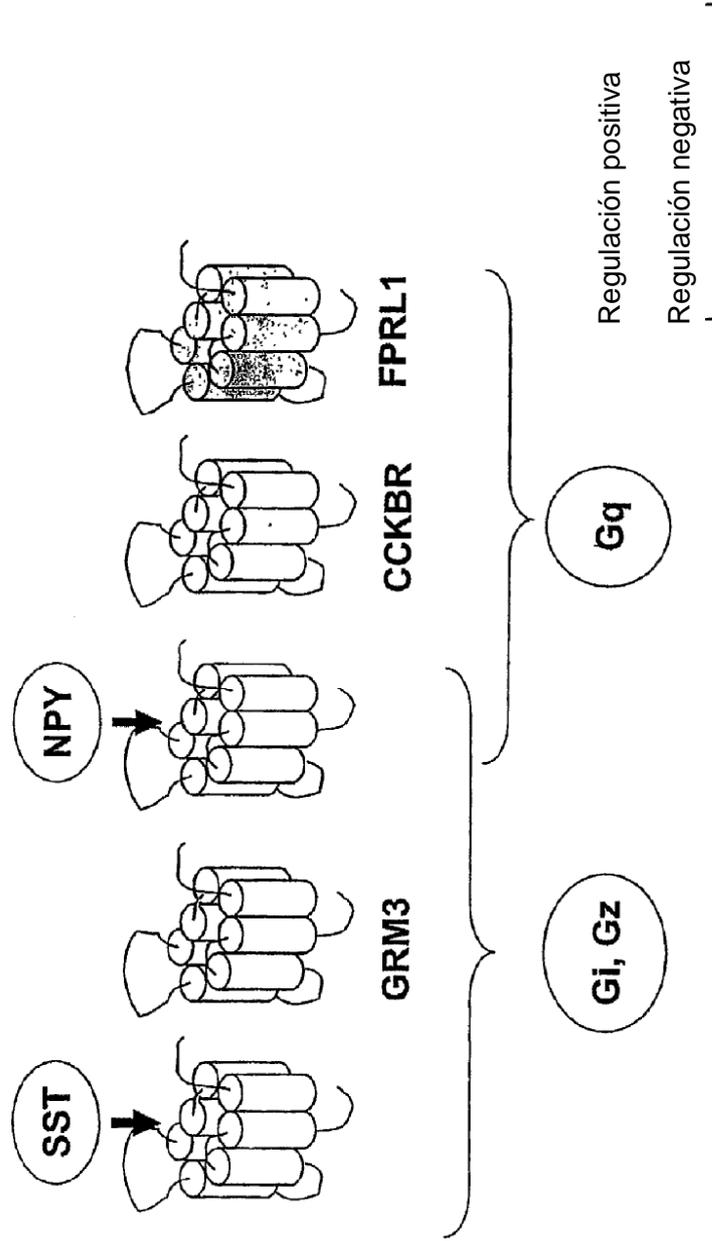
Regulación negativa

Criterios de significación
*Análisis de micromatriz U95Av2 PLMfit, superior 5% T
**qRT-PCR, ensayo t de Student unilateral, p<0,05

H. Tomita et al. 2004

Figura 9

Receptores acoplados a proteína G (GPCR) y ligandos, regulados incorrectamente en corteza cingulada anterior de pacientes con trastorno bipolar



H. Tomita et. al. 2004

Figura 10

**Análisis de sobrerrepresentación de categorías génicas
en las 3 rutas de señalización posteriores
(valor p)**

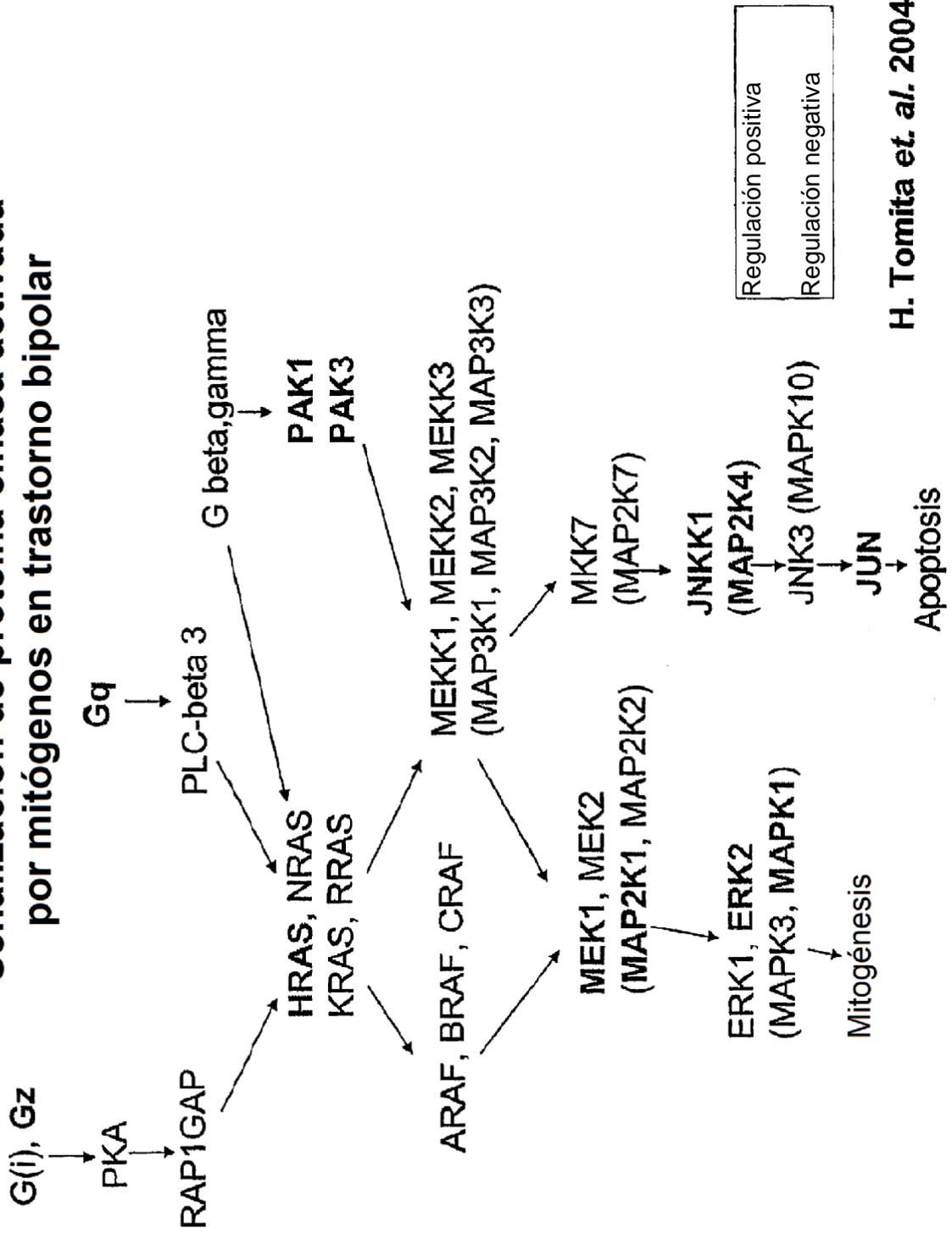
	BPD		MDD	
	AnCg	DLPFC	AnCg	DLPFC
Señalización de AMPc	N.S.	N.S.	N.S.	N.S.
Señalización de fosfatidilinositol	0,018	N.S.	N.S.	0,005
Señalización de MAPK	0,008	N.S.	N.S.	0,01

N.S.; no significativo

H. Tomita *et. al.* 2004

Figura 12

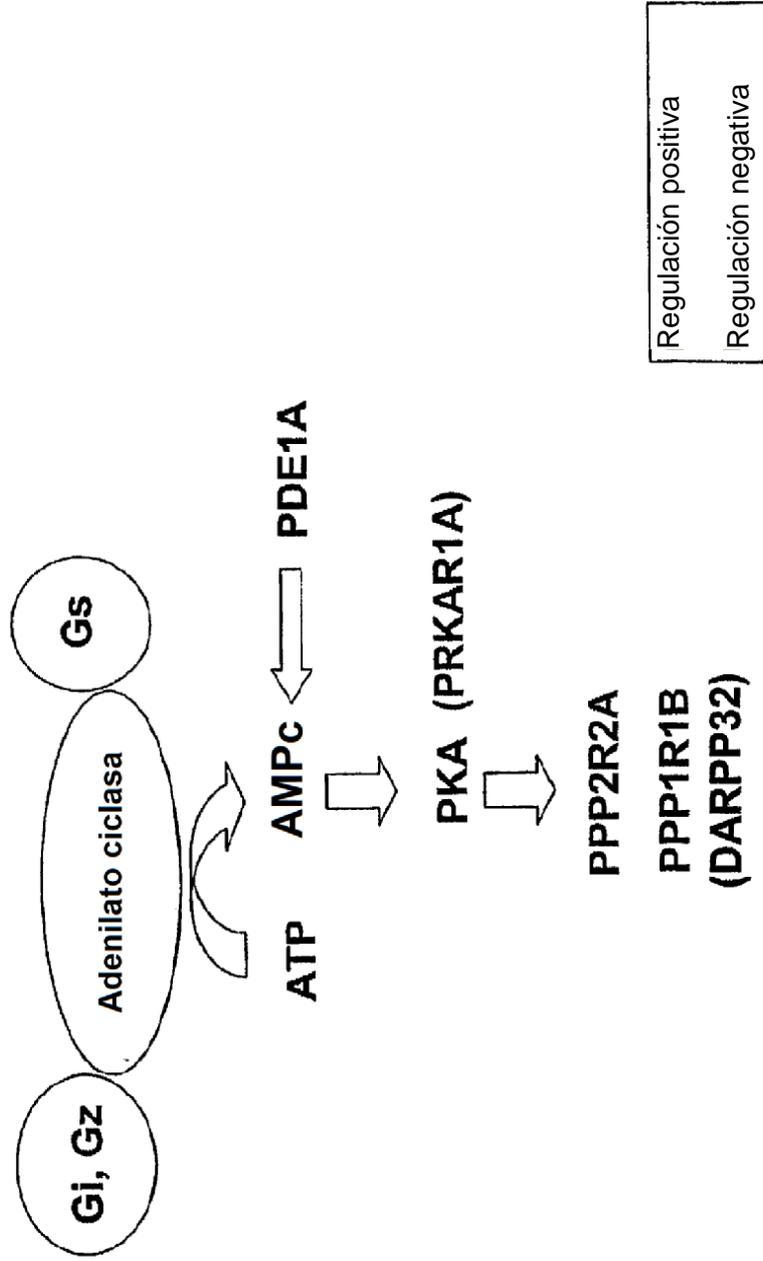
Señalización de proteína cinasa activada por mitógenos en trastorno bipolar



H. Tomita *et. al.* 2004

Figura 13

Ruta de señalización de AMPc en trastorno bipolar



H. Tomita et al. 2004

Figura 14

Polimorfismo de inserción/delección en el gen de PSPHL

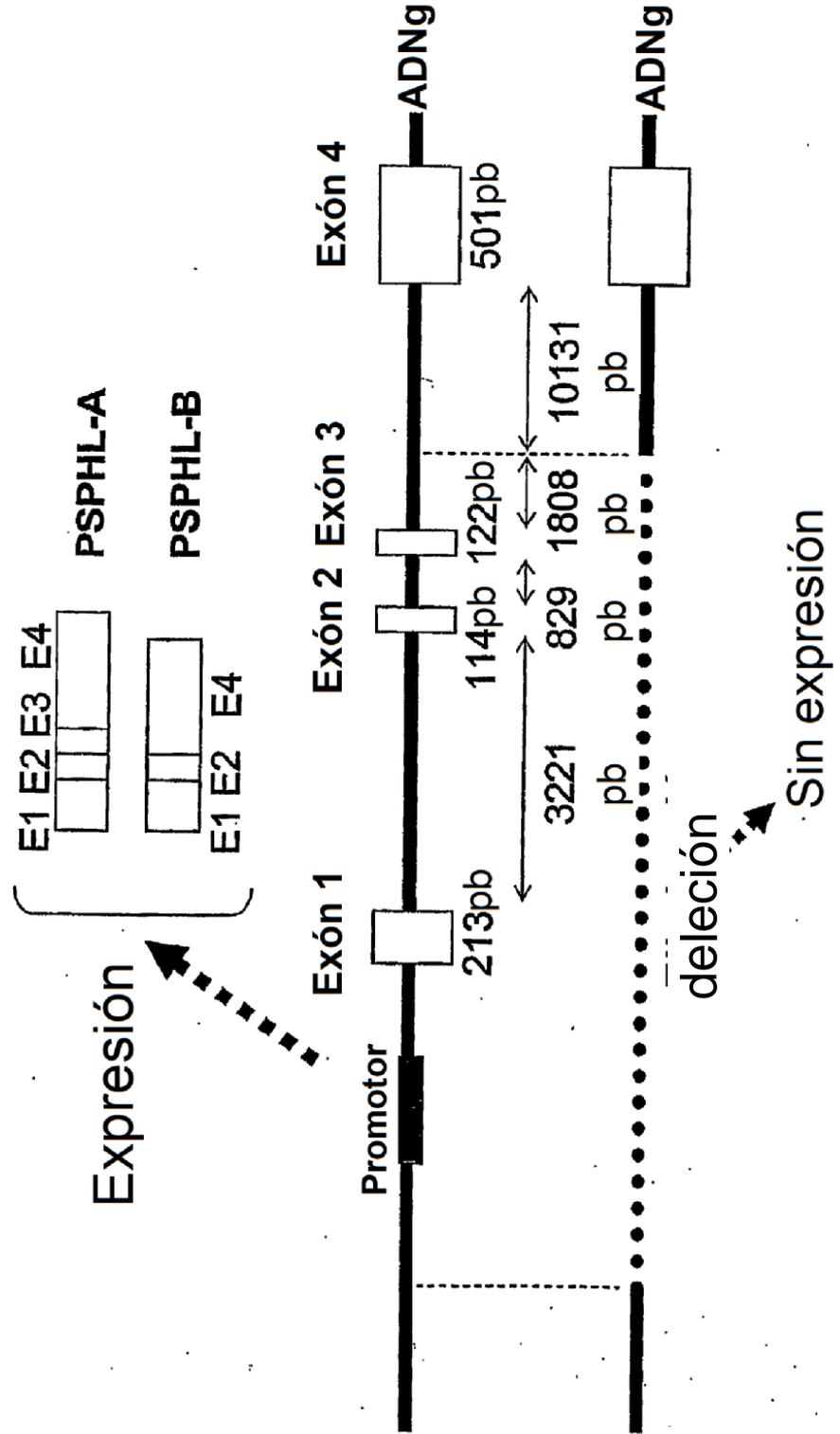
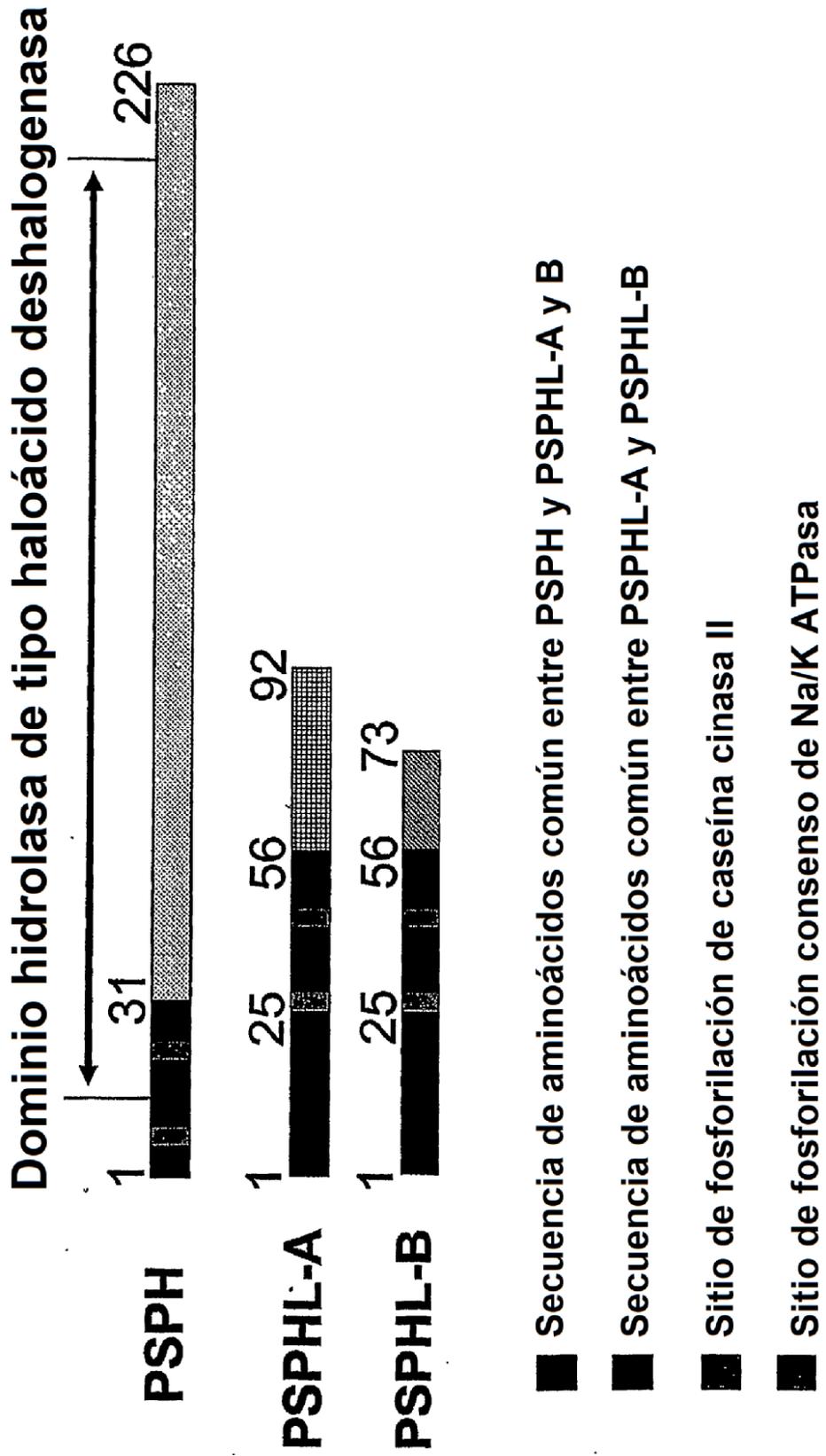


Figura 15



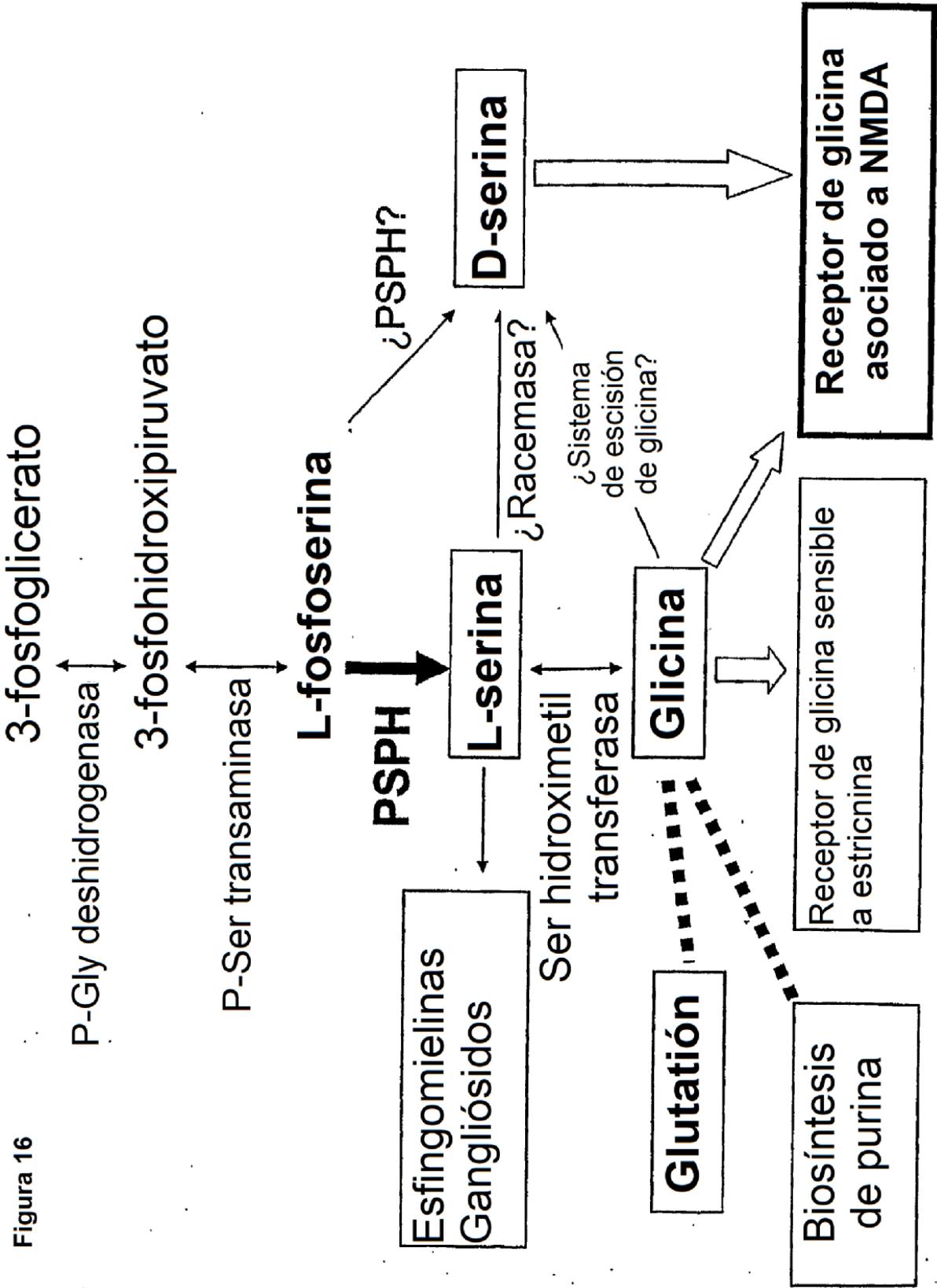


Figura 17 - hoja 1

1. Donde cada exón empieza y acaba en la secuencia de ARNm de PSPHL-A y PSPHL-B

PSPHL-A (BC065228) 841 pb Clon de ADNc IMAGE:552627

Exón 1

1 ccgcaggctt ctgcctggcc gccgcggcct ataagctacc aggagagct ttacgaactt
 61 ccgtcctcgc ggaagtggcg ggcacgatcg caaggtagcg cagaagcttc tcaatggcca
 121 gcgccagctg cagccccggc ggcgcactcg cctcacctga gcctgg

Exón 2

181 caaggatgat ctcccactca gagctgagga agcttttcta ctccagagat gctgtgtgtt
 241 ttgatgttga cagcacggtc atcagtgaa gaaagaaatcg gagg aaaattcttc

Exón 3

301 caggctggag tgcgaatgtg caatctcggc tcaactgcaac ctccgctcc tgggttcagg
 361 cagttctctt gccctccact cctgagtagc tgaactaca g acggagtctc gctctgtcac

Exón 4

421 gaggaatgt gatcaggcaa caagtcaagg ataacgcca atggtatato actgattttg
 481 tagagctgct gggagaaccg gaagataaac atccattgc atacagctcc aaacaacttc
 541 agatgaattt ttacaagtta cacagattga tactgtttgc ttaaatggc ctattacaac
 601 ttgctataga aagttgggtac agatgatctg cactgtcaag taaactacag ttaggaaatcc
 661 tcaagattg gtttgtttgt ttttaactgt agttccagta ttatgatc actattgatt
 721 tcctggagag ttttgaatc tgaattcttt agtataatc ctagtatat tccatacaaa
 781 gtgttttaag agtggagagt caattaaaca ccttacctct taggaaaaaa aaaaaaaaa
 841 a

PSPHL-B (AJ001612) 839 pb

Exón 1

1 aagccacagg ctcccctggct ggcgtcagct aaagtggctg ttgggtgtcc gcaggctctc

Figura 17 - hoja 2

61 gctgggccc cgcgcctat aagtaccag gaggagcttt acgactcgc gtcctggggg
 121 aagtggggg cagcagcga aggtagcga gaagcttctc aatggccagc gccagctgca
 181 gccccgggg cgcactgcc tcacctgagc ctgg

Exón 2

241 ccactcaga gctgaggaag cttttctact cagcagatgc tgtgtgtttt gatgttgaca
 301 gcacggtcat cagtgaagaa ggaatcg

Exón 4

361 aggcaacaag tcaaggataa cgccaatgg tatactactg atttttaga gctgctggga
 421 gaaccggag aataacatcc attgcatac agtccaac aacttcagat gaatttttac
 481 aagttacaca gattgatact gttgcttac aatgctat tacaactgc tataaaaagt
 541 tggtaacag gatctgact gtaagtaaa ctacagttag gaactcoca agattggttt
 601 gtttgtttt aactgtagt ccagattat atgatcacta tgcatttcc gtagagttt
 661 gtaactgaa tctttatgt atattctag ctatattca tacaagtgt ttaagagtt
 721 gagagtcaat taaacacctt tactcttagg aatatagatt cggcagcctt cagtgaatat
 781 tggtttttt ccttttgga tgtcaataaa agtttatcca tgtgtcagaa aaaaaaaaa

2. Cebadores para detectar polimorfismo de inserción/delección del locus de PSPHL

Secuencia de cebador para detectar alelo de inserción

PSPHL-F1	aggctcccggctggc
PSPHL-R1	caggctcaggtagggcg

Secuencia de cebador para detectar alelo de delección

PSPHL-G-F2	aagccagtgctctacaggig
PSPHL-G-R2	gtccagagaagaccacagtc

Figura 18

3. Imagen de gel representativa para alelos de inserción/delección de PSPHL

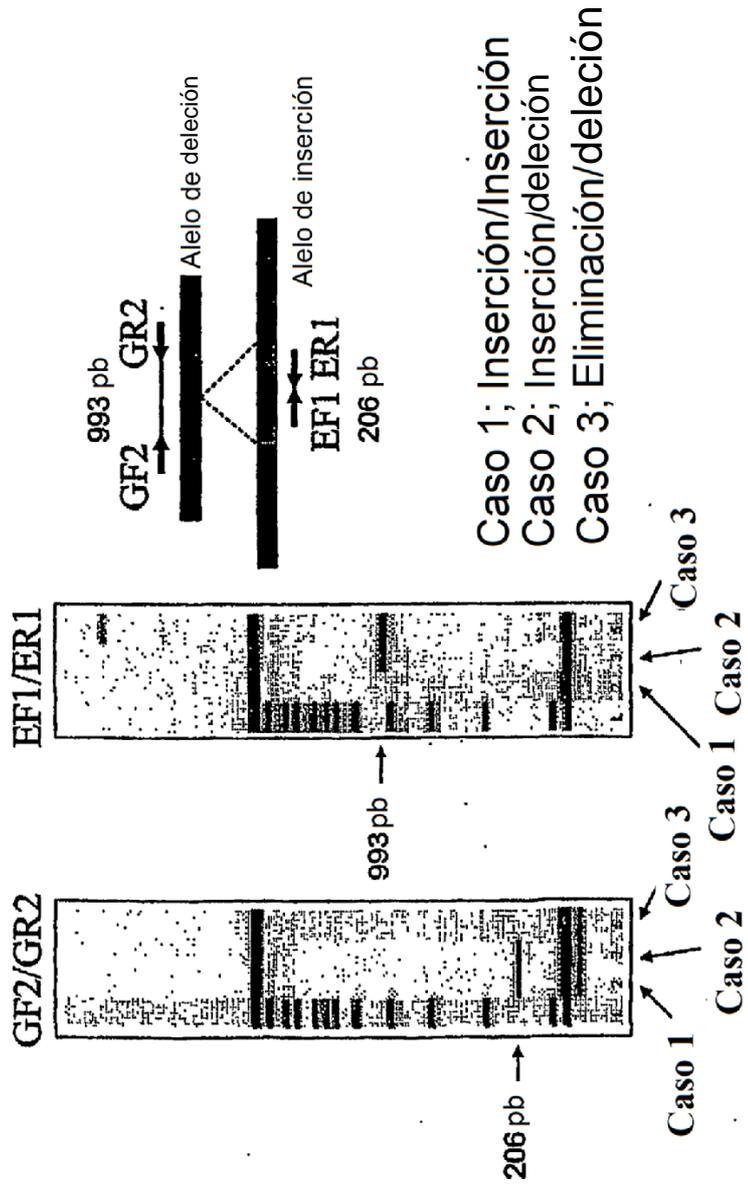


Figura 19

Ruta de señalización de AMPc en el sistema límbico de trastorno bipolar

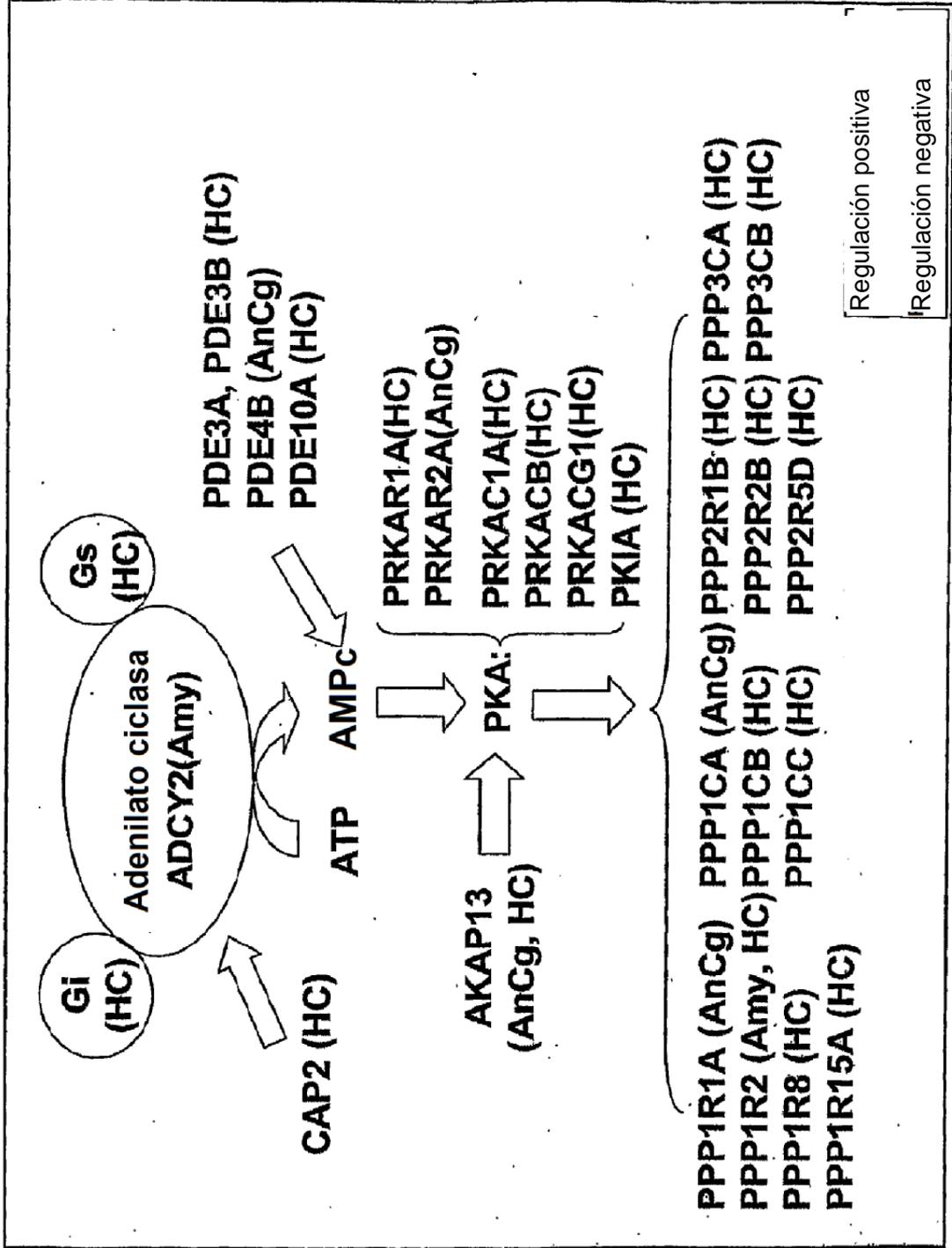
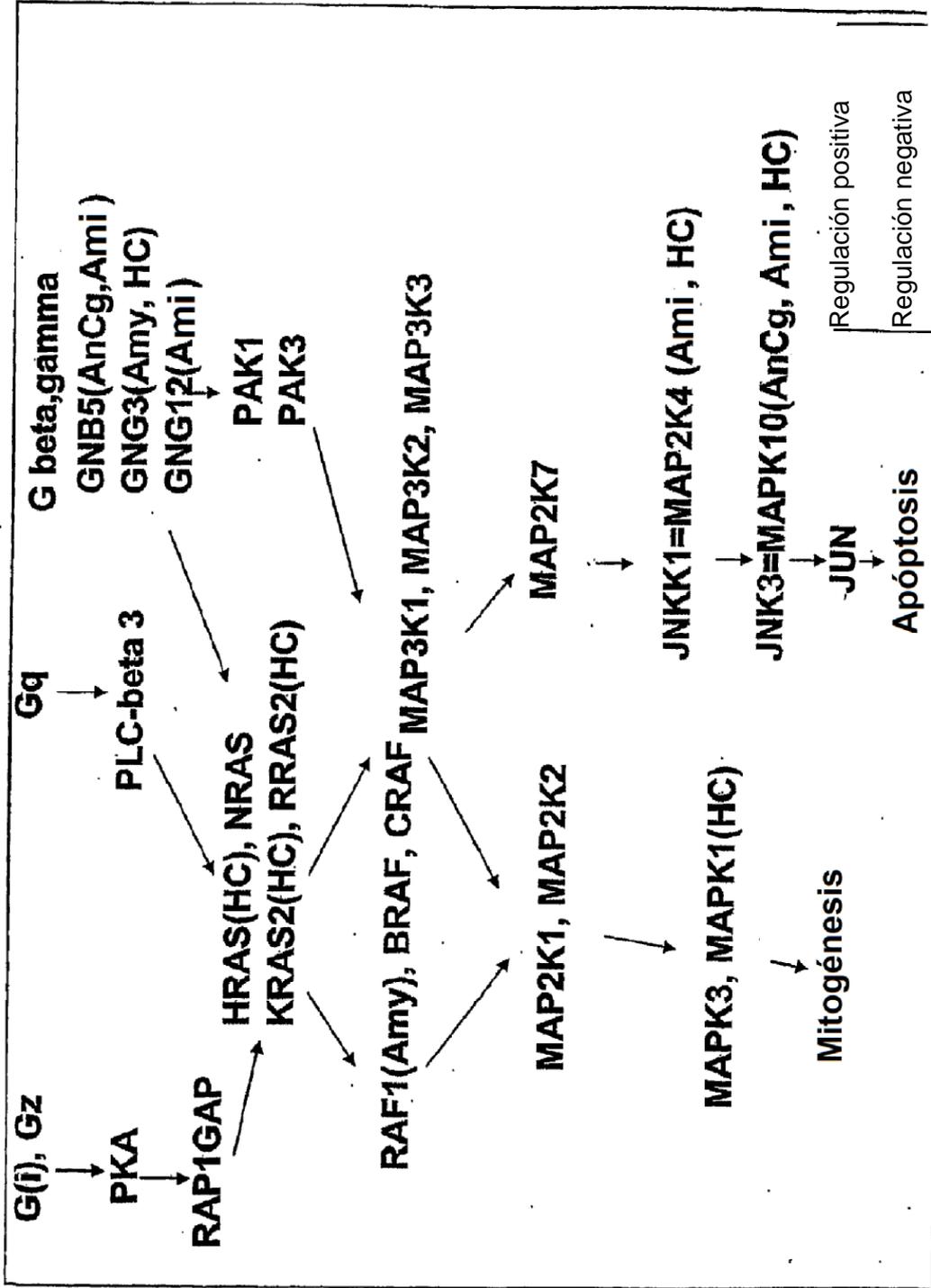


Figura 21

Ruta de señalización de la proteína cinasa activada por mitógenos en el sistema límbico de trastorno depresivo mayor



MATERIALES Y MÉTODOS

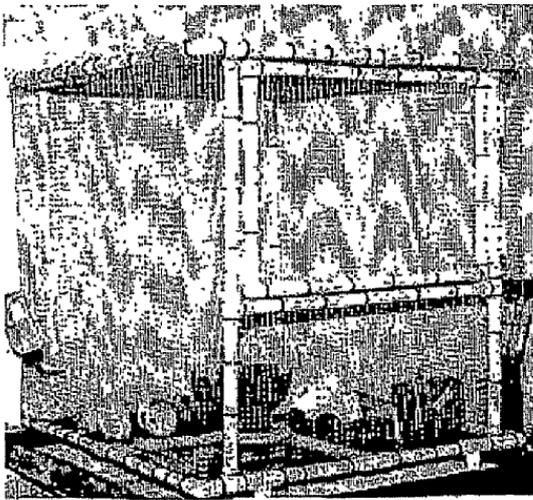
Animales: Sesenta ratas Sprague-Dawley macho de una colonia criada en el propio laboratorio selectiva de la generación F5 que pesa 385-450 g se alojaron en parejas o en un entorno complejo y se mantuvieron en un ciclo de 12 h de luz/oscuridad (luces encendidas a las 7 a.m.). El alimento y el agua estaban disponibles ad libitum.

Ensayo locomotor: La actividad locomotora se evaluó a las seis semanas de edad entre las horas de las 09:00 y las 11:00. Durante el periodo de ensayo de 60 min, los animales se colocaron en jaulas acrílicas transparentes de 43 x 21,5 x 25,5 cm (altas) equipadas con emisores fotocelulares infrarrojos montados 2,3 cm y 6,5 cm por encima del suelo de rejilla para controlar los movimientos horizontales y de alzado, respectivamente. La actividad locomotora se controló en intervalos de 5 min durante 60 min y se contaron por un microordenador. Los valores de locomoción totales para cada rata se calcularon añadiendo el número total de movimientos horizontales y de alzado. Las ratas que mostraban valores locomotores en el tercio más elevado de la población de muestra se clasificaron como de alta respuesta (HR), mientras que los animales con valores en el tercio inferior de la población se clasificaron como de baja respuesta (LR). Los animales cuyos valores estaban en el tercio central de la población se clasificaron como de respuesta intermedio (IR).

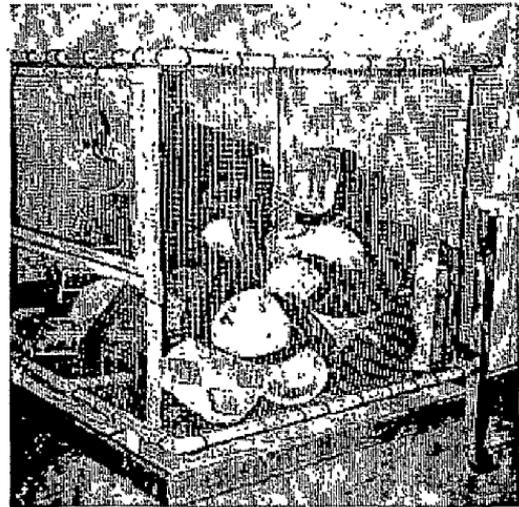
Complejidad ambiental: (Véase la siguiente foto): Dos semanas después del ensayo de locomoción los animales se alojaron en jaulas convencionales o en un entorno complejo durante 21 días (n = 6 por grupo). Las jaulas E.C. estaban hechas de malla de alambre con dimensiones de 91,44 cm x 91,44 cm x 91,44 cm (3 pies x 3 pies x 3 pies). Al inicio del entrenamiento las jaulas estaban vacías. La complejidad del entorno aumentó cada día de modo que se añadieron juguetes cada 24 h, por tanto, al final de 21 días la E.C. alcanzó la complejidad máxima. Cada día los animales se colocaban en un campo abierto con diversos juguetes nuevos durante 45 minutos para permitir al experimentador que desinfectara y aumentara la complejidad de las jaulas E.C. Durante la primera semana se midió la latencia en explorar la nueva configuración de juguetes en el campo abierto.

Laberinto en cruz-elevado: El aparato se construyó de plexiglás negro con cuatro brazos abiertos elevados (70 cm desde el suelo, 45 cm de longitud y 12 cm de anchura). La iluminación se proporcionó por una lámpara de escritorio de 40 W enfocada hacia la pared y colocada por detrás de uno de los brazos cerrados (n = 9 por grupo).

Hibridación in situ: Al final del periodo de 21 días los animales se sacrificaron y se retiraron los cerebros y se congelaron rápidamente con isopentano. Los cerebros se seccionaron al nivel del hipocampo con un grosor de 20 µm y a intervalos de 200 µm. Después de seguir los procedimientos convencionales, se marcó el ARNm de FGF-2 usando una sonda de ARN-C de 35S de un fragmento de 278 pb en una localización de 716-994 de la secuencia codificante (NM_019305), (n = 6 por grupo).



E.C. en la semana 1



E.C. en la semana 3

FIG. 22-1

Los HR muestran menor comportamiento de tipo ansiedad que los LR, como se ilustra por su tiempo aumentado empleado en los brazos abiertos. De forma similar a los informes previos, 4 animales E.C. mostraron ansiedad disminuida en comparación los animales de control convencionales.

Tiempo total en el brazo abierto

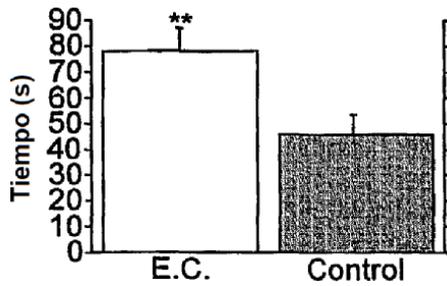


Figura 22A. La media \pm ETM para el tiempo total empleado en el brazo abierto. Dos ANOVA revelaron un efecto de E.C. frente al grupo de control; los animales E.C. obtuvieron un aumento en el tiempo total empleado en los brazos abiertos respecto a los animales de control (** P = 0,006).

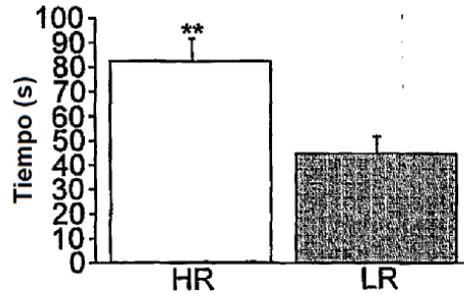


Figura 22B. La media \pm ETM para el tiempo empleado en el brazo abierto. Una ANOVA bidireccional reveló un efecto del grupo Loco, los animales HR emplearon más tiempo en los brazos abiertos en comparación con los animales LR (** P = 0,002).

Los animales E.C. mostraron expresión génica de FGF-2 potenciada en el hipocampo. De forma interesante, estos efectos parecen ser más robustos en los LR que en los HR.

Expresión génica de FGF-2 en el hipocampo



FIG. 22-2

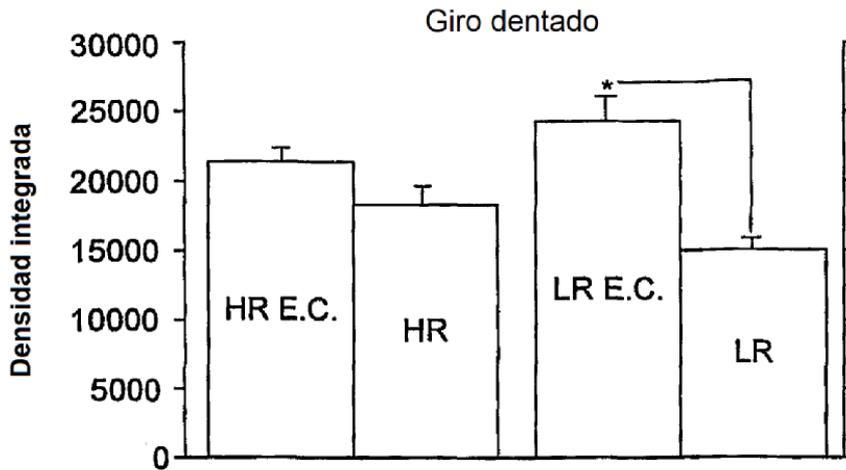


Figura 22C. La media ± ETM para la densidad integrada de la expresión del ARNm de FGF-2. Una ANOVA bidireccional reveló un efecto de E.C. frente al grupo de control y un efecto de interacción; los animales E.C. obtuvieron un aumento en la expresión del ARNm de FGF-2 (** $P = 0,0001$) El efecto de E.C. fue más robusto en LR que en HR (* $P = 0,02$).

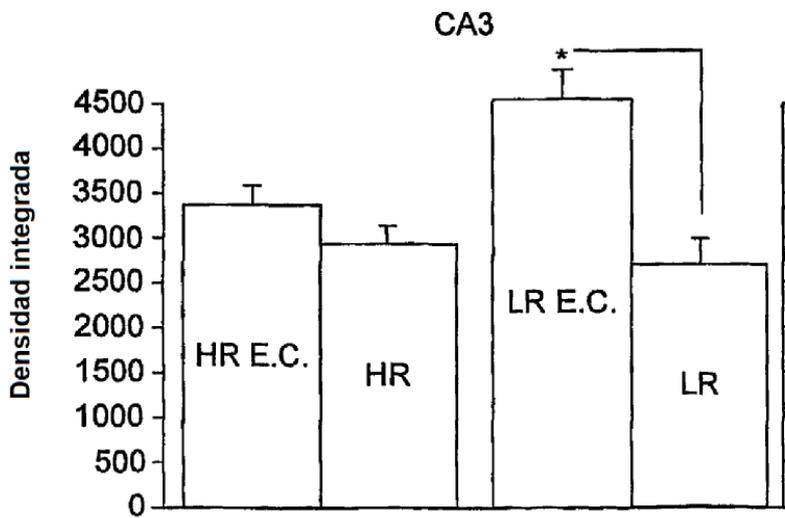


Figura 22D. La media ± ETM para la densidad integrada de la expresión del ARNm de FGF-2. Una ANOVA bidireccional reveló un efecto de E.C. frente al grupo de control y un efecto de interacción; los animales E.C. obtuvieron un aumento en la expresión del ARNm de FGF-2 (** $P = 0,0006$) Se observó un efecto mayor de E.C. en LR que en HR (* $P = 0,02$).

FIG. 22-3

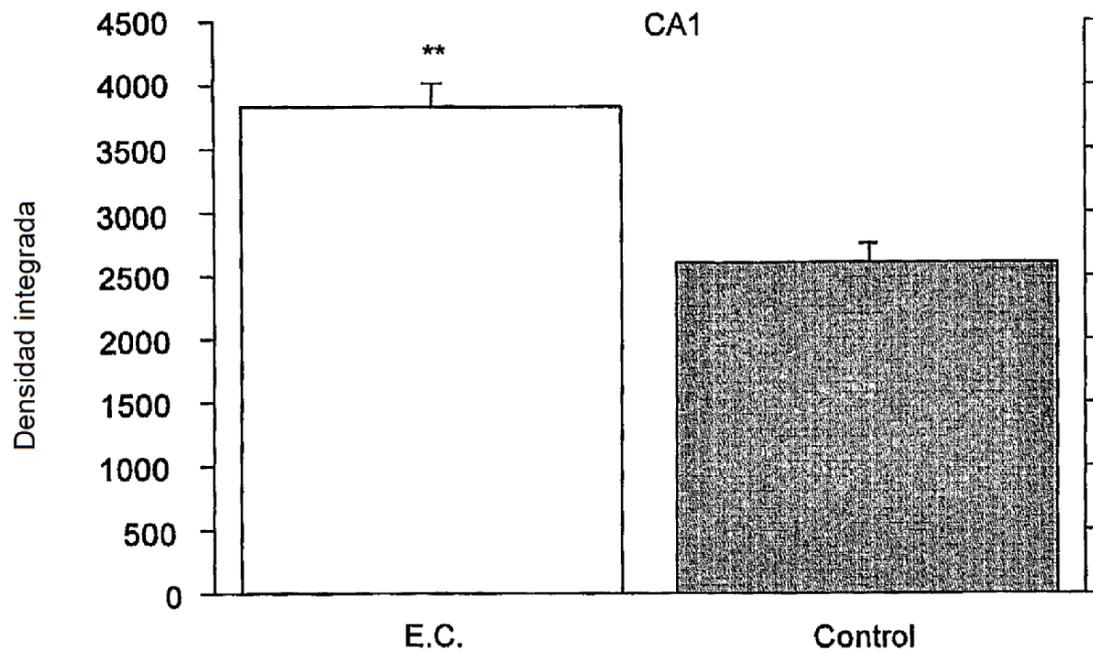


Figura 22E. La media \pm ETM para la densidad integrada de la expresión del ARNm de FGF-2. Una ANOVA bidireccional reveló un efecto de E.C. frente al grupo de control; los animales E.C. obtuvieron un aumento en la expresión del ARNm de FGF-2 (***) $P < 0,0001$)

FIG. 22-4

Los animales E.C. obtuvieron un aumento significativo en el volumen de la capa de células granulares del giro dentado en comparación con los controles convencionales. Los análisis de correlación revelaron patrones de interacción interesantes entre la expresión de FGF-2 y el volumen de la capa de células granulares del giro dentado, lo que sugiere que el FGF-2 puede mediar la plasticidad neuronal en el hipocampo.

Volumen de la capa de células granulares

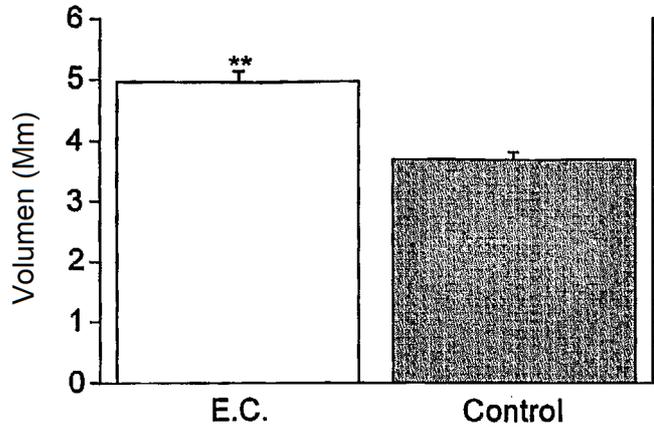


Figura 22F-1. La media \pm ETM para el volumen de la capa de células granulares. Una ANOVA unidireccional reveló un efecto de E.C. frente al grupo de control; los animales E.C. obtuvieron un volumen significativamente mayor en la capa de células granulares (***) $P < 0,0001$).

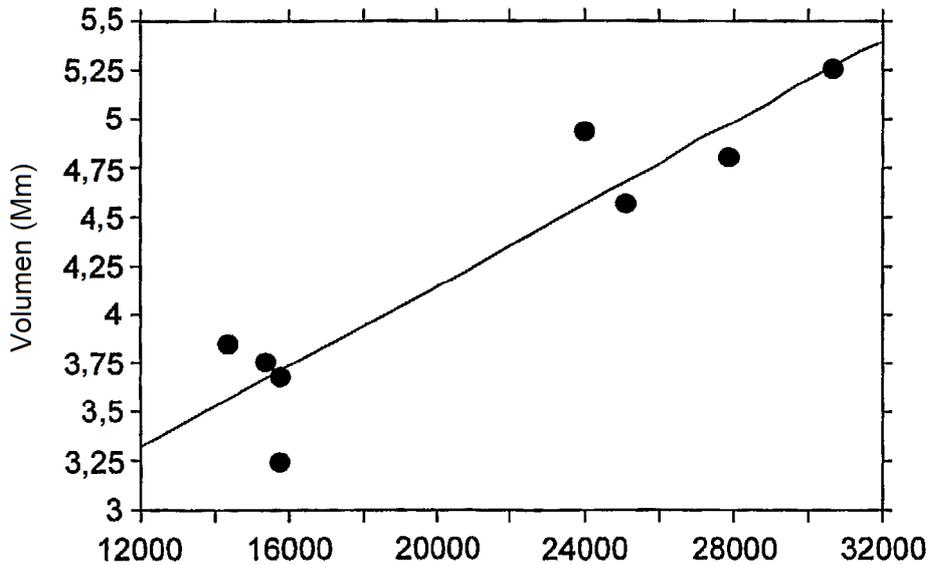


Figura 22F-2: La expresión génica de FGF-2 en el giro dentado.

Coefficiente de correlación
Correlación hipotetizada = 0

Correlación	Recuento	Valor Z	Valor P	99 % inferior	99 % superior
0,935	8	3,799	0,0001	0,676	0,988

Valor *in situ*
Volumen de capa de células granulares

FIG. 22-5

ANÁLISIS

El presente estudio examinó los efectos de la complejidad ambiental sobre las diferencias individuales en el comportamiento de ansiedad y la expresión génica de FGF-2. La complejidad ambiental es uno de los modelos más habituales de plasticidad neuroconductual que proporciona efectos fiables sobre diferentes comportamientos tales como ansiedad y aprendizaje. Usando un modelo animal de diferencias individuales en el comportamiento de ansiedad, búsqueda de sensaciones, se esperaba observar diferencias en los efectos de E.C. sobre los comportamientos típicos de animales HR y LR. Como se esperaba, los HR mostraron comportamiento de ansiedad disminuido en comparación con los LR. Por otro lado, aunque E.C. redujo la ansiedad de los LR, también se potenció el comportamiento de toma de riesgos de los HR. Estos resultados estuvieron acompañados por un aumento en la expresión génica de FGF-2 en el giro dentado, las regiones CA3 y CA1 del hipocampo. Los efectos sobre la expresión génica de FGF-2 parecieron favorecer principalmente a los LR y en menor grado a los HR. Estos resultados sugieren que FGF-2 puede desempeñar, en parte, una función en la reducción del comportamiento de tipo ansiedad en los animales LR, mientras que un efecto de saturación puede haber explicado los cambios de expresión génica pequeños observados en los HR. Por otro lado, los animales que se expusieron a E.C. también obtuvieron un aumento en el volumen de la capa de células granulares del giro dentado. Los análisis de correlación revelaron además que la expresión génica de FGF-2 puede beneficiar a los animales E.C. mediante una potenciación en la plasticidad de la capa de células granulares. Los animales que obtuvieron una mayor expresión génica de FGF-2 obtuvieron mayor volumen en la capa de células granulares. Los siguientes resultados sugieren que el FGF-2 puede ser un factor en la reducción del comportamiento de tipo ansiedad y que su mecanismo de acción puede implicar efectos sobre la plasticidad neuronal.

CONCLUSIONES

- Los HR muestran ansiedad disminuida en comparación con los LR.
- E.C. reduce la ansiedad tanto en HR como en LR, aunque aún se mantienen diferencias individuales.
- E.C. aumenta la expresión génica de FGF-2 en el giro dentado y CA3 en los LR, mientras que FGF-2 aumenta en la región CA1 tanto de animales HR como de animales LR.
- E.C. aumenta el volumen de la capa de células granulares del giro dentado, un efecto que se correlaciona positivamente con la expresión génica de FGF-2

REFERENCIAS

Kabbaj M, Devine D, Savage V and Akil H. *Journal of Neuroscience* 20(18): 6983-6988, 2000.

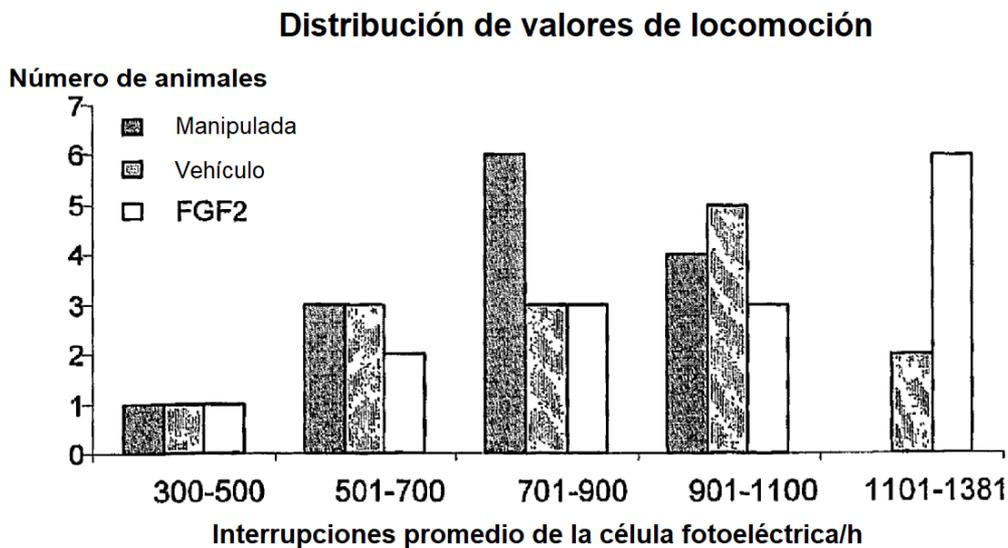
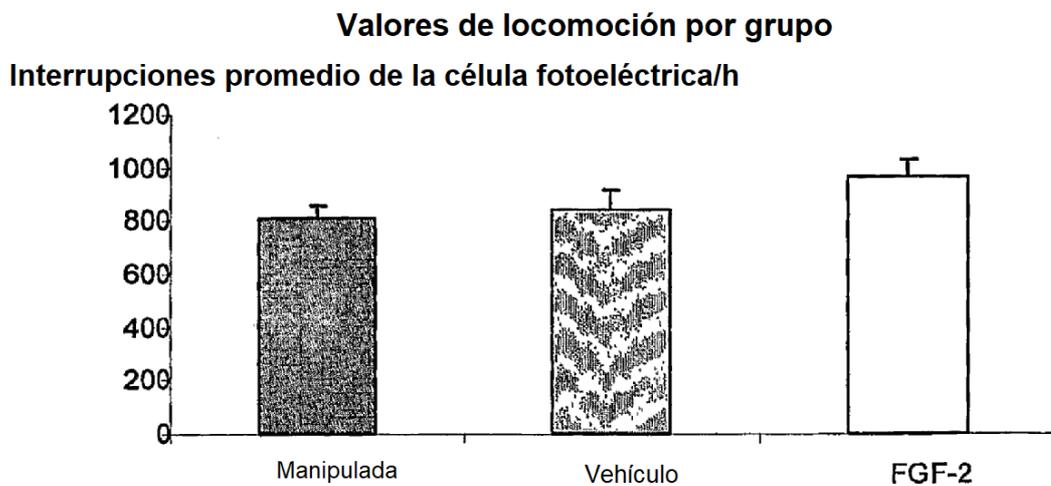
FIG. 22-6

MÉTODOS

- A ratas Sprague-Dawley se les inyectó vehículo o rhFGF2 (20 ng/g, s.c.) en PD2 y se dejaron crecer hasta que fueron adultas.
- Las ratas adultas entonces se evaluaron para el comportamiento locomotor, el comportamiento de tipo ansiedad (EPM, LD), la depresión (FST, SD) y el aprendizaje y la memoria (MWM).
- Las ratas adultas también se evaluaron en cuanto a diferencias en el volumen, la cantidad total de células, la proliferación celular, los números decélulas de la glía y los números de neuronas en el giro dentado.
- Finalmente, se sacrificaron las ratas adultas una semana después del ensayo locomotor y la evaluación para diferencias en los niveles de ARNm de FGF2, FGF9, FGFR1, MR y GR en el hipocampo por hibridación *in situ*.

RESULTADOS

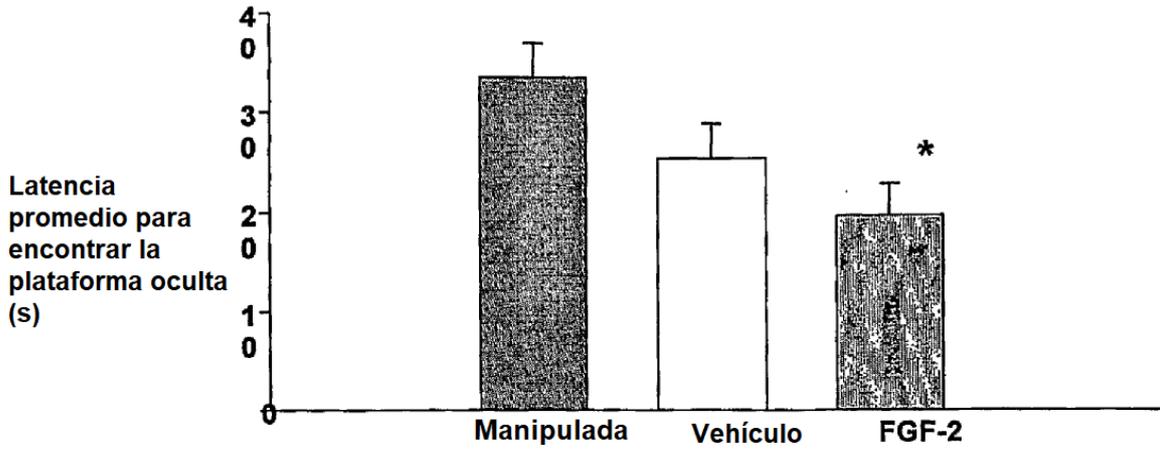
Locomoción



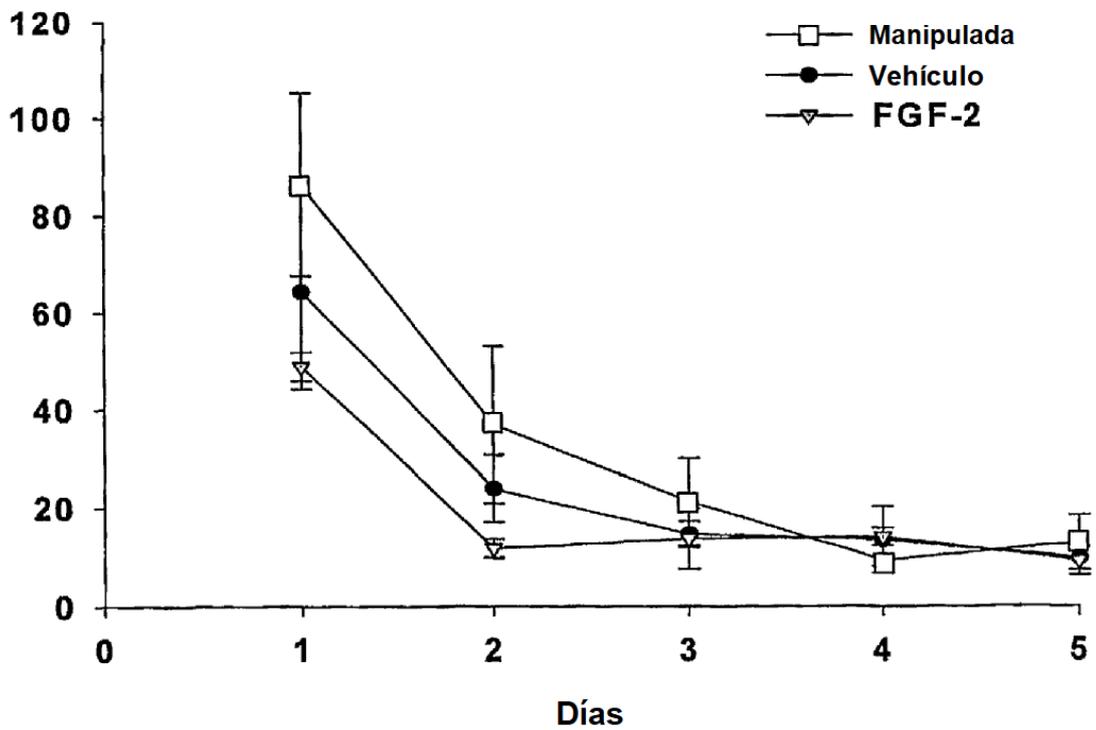
Los animales FGF-2 mostraron niveles significativamente mayores de actividad locomotora en un nuevo entorno, un índice de ansiedad inferior.

FIG. 23-1

Laberinto de agua de Morris



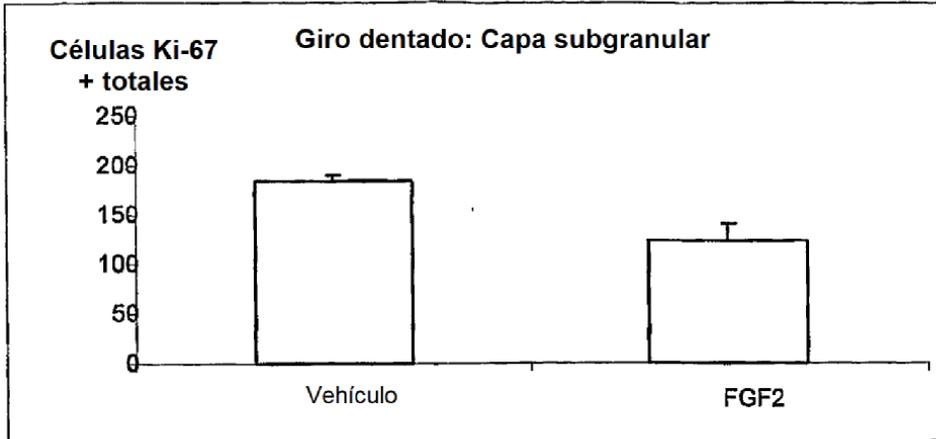
Laberinto de agua de Morris



Los animales FGF2 tuvieron un rendimiento significativamente mejor en una tarea de aprendizaje y memoria, efecto evidente a partir del segundo ensayo

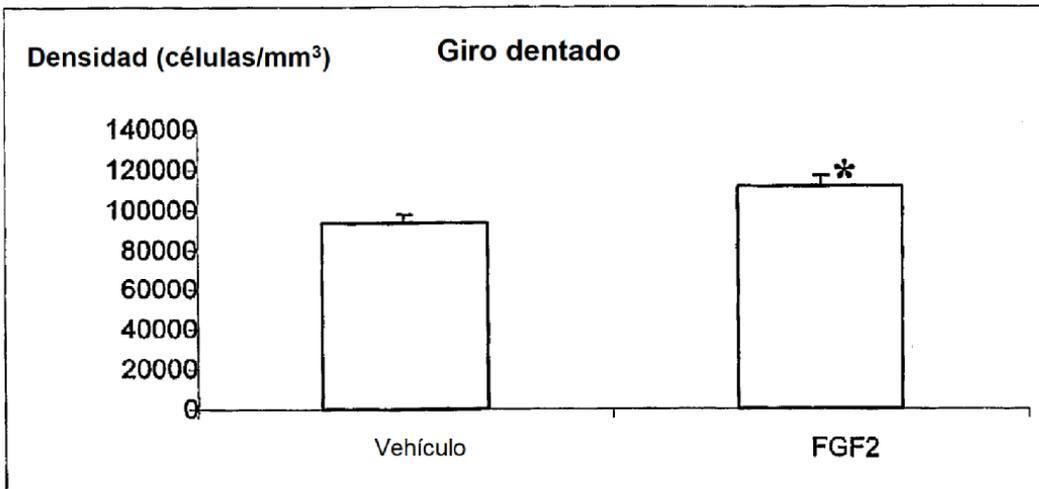
FIG. 23-2

Proliferación celular



Los animales FGF2 tuvieron una proliferación celular significativamente menor que los controles en el giro dentado

Densidad celular



Los animales FGF2 tuvieron una densidad celular significativamente mayor en el giro dentado que los controles.

Número de neuronas

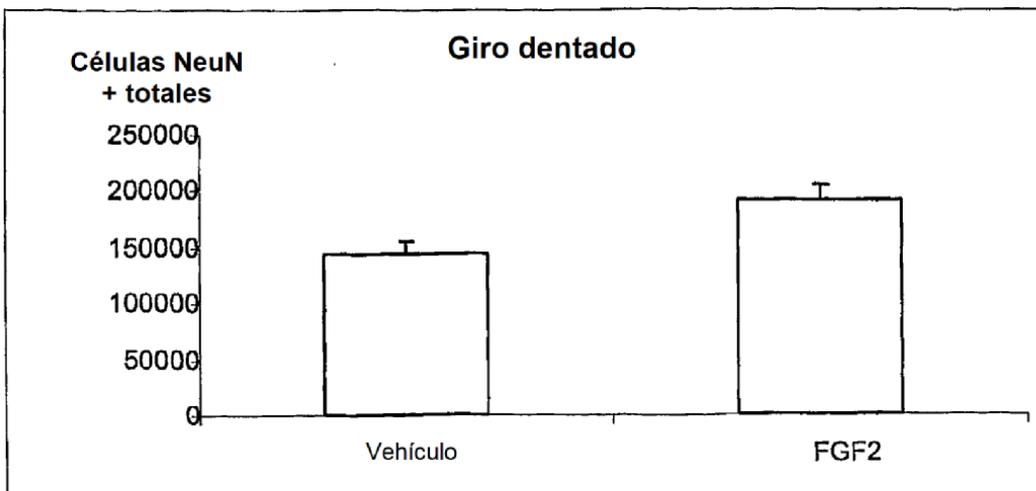
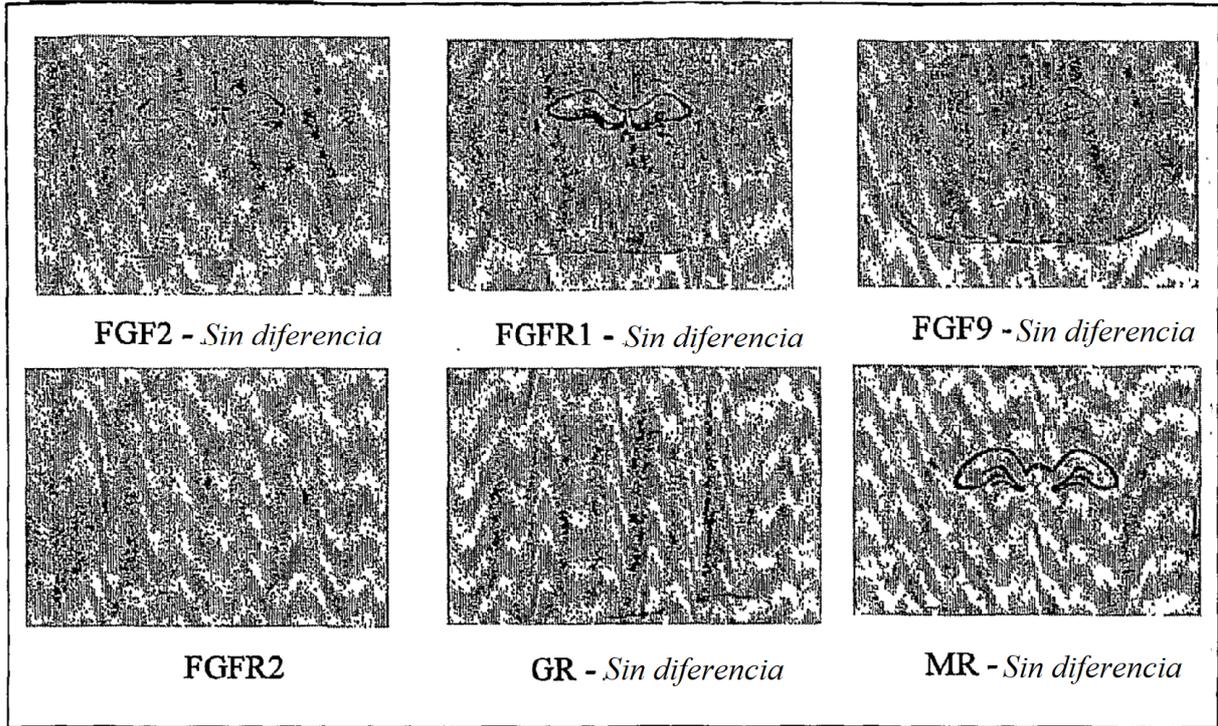


FIG. 23-3

Hibridación *in situ*



ANÁLISIS

- **Comportamiento:** como adultos, los animales FGF2 mostraron niveles significativamente mayores de actividad locomotora en un entorno novedoso que los controles, un índice de menores niveles de ansiedad. El grupo de FGF2 también tuvo un rendimiento significativamente mejor en una tarea de aprendizaje y memoria que los controles. No hubo diferencias, sin embargo, en los ensayos de ansiedad o depresión.
- **Morfología:** Como adultos, los animales FGF2 mostraron una densidad celular significativamente más aumentada en el giro dentado que los controles. El grupo de FGF2 también mostraron significativamente más neuronas en el giro dentado y significativamente menos proliferación celular que los controles. (Los animales de mayor locomoción han demostrado previamente mostrar niveles inferiores de proliferación celular.) No hubo diferencias significativas en los números de células de la glía, las células totales o el volumen del giro dentado.
- **Expresión génica:** No hubo diferencias entre los animales FGF2 y los controles en los niveles de FGF2, FGF9, FGFR1, MR o GR en ningún área del hipocampo.
- En resumen, los efectos de la administración temprana de FGF2 provocan hiperactividad en un entorno novedoso, mejor aprendizaje y memoria, menos proliferación celular, más neuronas y una mayor densidad celular en el giro dentado en el animal adulto.
- Estos resultados pueden sugerir un desplazamiento hacia la izquierda en la cronología de la neurogénesis y el desarrollo del giro dentado después de la administración de FGF2 neonatal.

FIG. 23-4

Para entender la fisiopatología de los trastornos del estado de ánimo, el trastorno afectivo bipolar (BPD) y el trastorno depresivo mayor (MDD), se han comparado los perfiles de expresión génica de pacientes y sujetos sanos. Las muestras de ARN total de cuatro regiones diferentes, es decir, la corteza cingulada anterior (AnCg), la corteza prefrontal dorsolateral (DLPFC), la amígdala (Ami) y el hipocampo (HC), de cerebros de cadáver se sondearon cada uno con micromatrices de oligonucleótidos de alta densidad Affymetrix. El análisis de los conjuntos de datos por duplicado usando el modelo de nivel de sonda (PLM) y GCRMA mostraron una transmisión de señal como un proceso biológico prominente con un patrón de expresión génica claramente alterado. BPD y MDD mostraron ambos una tendencia a regulación positiva de los genes que codifican diversas subunidades de los receptores GABA y los receptores de glutamato. Algunos miembros de la superfamilia de genes del transportador de solutos también mostraron niveles de expresión alterados, lo que indica un transporte alterado de las moléculas pequeñas y una receptación selectiva de neurotransmisores. Los resultados, junto con el metabolismo alterado de la energía, el ciclo celular y las funciones de crecimiento, sobrecarga y apoptosis, sugieren una posible alteración de las rutas de señalización de GABA y glutamato en trastornos del estado de ánimo. La validación de un subconjunto de genes candidatos está en curso usando PCR a tiempo real cuantitativa (qRT-PCR) y análisis de histoquímica por hibridación *in situ* (ISHH). La confirmación de nuestros hallazgos apoyará los modelos basados en cerebro de depresión, proporcionará ideas sobre la implicación de diversas regiones en los trastornos del estado de ánimo y definirá dianas farmacológicas novedosas.

INTRODUCCIÓN:

Los trastornos de los estados de ánimo, BPD y MDD, son un grupo muy prevalente y heterogéneo de enfermedades neuropsiquiátricas, que afectan a 121 millones de personas en el mundo según se estima. Comparando los perfiles de expresión génica por regiones de cerebros de cadáver de individuos con depresión e individuos no afectados, se han identificado varios genes candidatos. La anotación de Ontología Génica (GO), seguida por la validación por otras técnicas, por ejemplo, qRT-PCR y ISHH o por los resultados de los estudios publicados usando otras estrategias, por ejemplo, imágenes o análisis de exploración de todo el genoma, permitió la identificación de los procesos biológicos correspondientes a los subconjuntos específicos de estos genes candidatos. El sistema de factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) es un ejemplo de los procesos biológicos que encontramos de este modo alterados en MDD (véase, 114.10; Evans *et al.*, 2004). Las otras rutas afectadas incluyen: señalización de proteína G (799.16); función mitocondrial (799.20); y rutas de señalización de GABA/glutamato, que es el objeto de este póster.

MÉTODOS:

- Se obtuvo el tejido cerebral de sujetos con depresión (diagnosticados de acuerdo con los criterios DSM-IV) e individuos de control no afectados, coincidentes en género, edad y estado agónico. Se registraron los datos de los pacientes sobre la causa o causas de muerte, historial de tabaquismo, historial de medicación, estado agónico e intervalo después de la muerte (véase, Walsh *et al.*, 799.17). Los cerebros se recogieron en la autopsia, se almacenaron y se diseccionaron como se ha descrito anteriormente (Jones *et al.* 1992).
- Se controló el pH de los extractos en solución salina tamponada con fosfato de bloques tisulares de 2,545 cm (1 pulgada) (diámetro) perforados a partir de cortes cerebrales seleccionados de forma aleatoria de cerebros cadavéricos. Se extrajo el ARN total de cortes de cerebro cadavérico congelado rápidamente usando reactivo Trizol de acuerdo con las instrucciones del proveedor (véase, Atz *et al.*, 799.6; Vawter *et al.*, 799.20).
- Se consultaron simultáneamente alícuotas de diez microlitros de cada muestra de ARN total en dos o tres laboratorios diferentes (del Consorcio) con Affymetrix GeneChips, conjunto HG_U133 o U133 plus 2.0, y se exploraron usando el escáner GeneChip 2500, siguiendo los protocolos del fabricante. Esta etapa nos proporcionó réplicas de los chips.
- Los datos de las réplicas de los chips se inspeccionaron (véase, Atz *et al.*, 799.6) y los que pasaban los criterios QC (Li *et al.*, 2004; Tomita *et al.*, 2004) se analizaron como se describe a continuación (véase, Evans *et al.*, 144.10).

ANÁLISIS DE DATOS:

Los archivos CEL creados a partir de los archivos DAT se normalizaron y condensaron a valores de intensidad de señal usando el algoritmo GCRMA (Wu e Irizarry, 2004) y un archivo de identificación CDF personalizado disponible en (<http://brainarray.mhri.med.umich.edu/brainarray>). El archivo CDF personalizado se diseñó para asignar todas las sondas a grupos Unigene basándose en la última construcción UniGene, eliminando de este modo la redundancia de los conjuntos de sondas. El resultado de GCRMA se importó al software Partek para análisis estadístico, que usó un ANOVA de modelo mixto de múltiples variables, usando sitio de procesamiento, lote (cohorte) y diagnóstico como factores. Se ejecutaron simultáneamente ensayos *a posteriori* para evaluar las diferencias de expresión entre MDD y los controles o BPD y los controles. Los genes de cada una de las regiones diana que muestran un valor p de < 0,05 y un cambio factorial de $\geq 1,2$ se seleccionaron como candidatos regulados positivamente y aquellos con un cambio factorial de $\leq 0,83$ como candidatos regulados negativamente, respectivamente. Los genes candidatos se anotaron usando los términos de Ontología Génica (GO) para procesos biológicos, funciones moleculares

FIG. 24-1

y componentes celulares (www.geneontology.org). Los genes individuales de los procesos biológicos se catalogaron y analizaron para su implicación en cada una de las regiones para la función o funciones específicas de región y para la concordancia o discordancia en los patrones de expresión.

VALIDACIÓN DE GENES CANDIDATOS:

Los genes candidatos se validaron usando qRT-PCR como se describe (Li *et al.*, 2004) e histoquímica por hibridación *in situ* (Molnar *et al.*, 2003).

SUMARIO DE RESULTADOS:

1. El sistema de señalización de GABA/glutamato mostraba expresión diferencial de una gran cantidad de genes, que codifican tres subunidades del receptor de GABA-A ($\alpha 5$, $\beta 3$ y $\gamma 2$) y dos transportadores de glutamato de la glía (EAAT1 y EAAT2) en MDD.
2. Por comparación con MDD, la implicación de BPD estaba limitada a unos pocos genes seleccionados del sistema de GABA/glutamato, es decir, GABA-A-Ra5, mGluR3 y EAAT1.
3. La alteración de las rutas de señalización de GABA/glutamato en MDD abarcaba la mayoría de las áreas límbicas examinadas, es decir, AnCg, HC y Ami.
4. Por el contrario, la expresión diferencial en BPD era dispersa, con EAAT1 restringido a HC, mGluR3 a DLPFC y GABA-A-Ra5 a DLPFC y AnCg, pero ninguno que abarcara el sistema límbico.
5. El solapamiento escaso de BPD con MDD estaba en los genes regulados positivamente, que codifica las subunidades de los receptores de GABA y de glutamato, que comprenden el segmento principal de su expresión diferencial.
6. De un total de 9 genes del sistema GABA/glutamato que se expresaban de forma diferencial, únicamente dos están compartidos entre BPD y MDD.

CONCLUSIONES:

- La transmisión de señales probablemente está significativamente alterada en los trastornos del estado de ánimo - MDD y BPD - debido a un transporte alterado de moléculas pequeñas y mecanismos selectivos de recaptación de neurotransmisores.
- La regulación negativa concertada de la función de recaptación de glutamato y la destoxificación de glutamato - propagada en el sistema límbico, con aumento concomitante en la acción inhibitoria GABA-érgica, tiene implicaciones "exicótóxicas" para la fisiopatología de MDD y un efecto comparativamente más suave sobre BPD.
- Los trastornos del estado de ánimo comparten combinaciones seleccionadas de diversos elementos de la alteración de la señalización de GABA/glutamato con enfermedades dispares. Incluyendo esquizofrenia, enfermedad de Lou Gehrig, enfermedad Alzheimer, enfermedad de Huntington y enfermedad de Parkinson (Maragakis y Rothstein, 2004).
- Nuestro estudio proporciona nuevas ideas sobre la fisiopatología de los trastornos del estado de ánimo y la implicación de diversas áreas cerebrales en el proceso de la enfermedad.
- Estudios adicionales que validen nuestros hallazgos podrían proporcionar nuevas dianas terapéuticas en forma de moléculas/rutas específicas identificadas en este estudio o sus equivalentes funcionales.

REFERENCIAS

1. Evans SJ *et al.* Dysregulation of the fibroblast growth factor system in major depression. *Proc Natl Acad Sci USA* 101:15506-15511.
2. Jones EG *et al.* A method for fixation of previously fresh-frozen human adult and fetal brains that preserves histological quality and immunoreactivity. *J Neurosci Methods* 44:133-44, 1992.
3. Li J *et al.* Systematic changes in gene expression in postmortem human brains associated with tissue pH and terminal medical conditions. *Human Molecular Genetics* 13: 609-616.
4. Maragakis NJ, Rothstein JD. Glutamate transporters: animal models to neurologic disease. *Neurobiol Dis.* 15: 461-73, 2004.
5. Molnar M *et al.* mRNA expression patterns and distribution of white matter neurons in dorsolateral prefrontal cortex of depressed patients differ from those in schizophrenia patients. *Biol Psychiatry* 53: 39-47, 2003.
6. Tomita H *et al.* Effect of agonal and postmortem factors on gene expression profile: quality control in microarray analyses of postmortem human brain. *Biological Psychiatry* 55: 346-352.
7. Wu 2, Irizarry. Preprocessing of oligonucleotide array data. *Nature Bio/Technology* 22: 656658, 2004.

FIG. 24-2

AGRADECIMIENTOS:

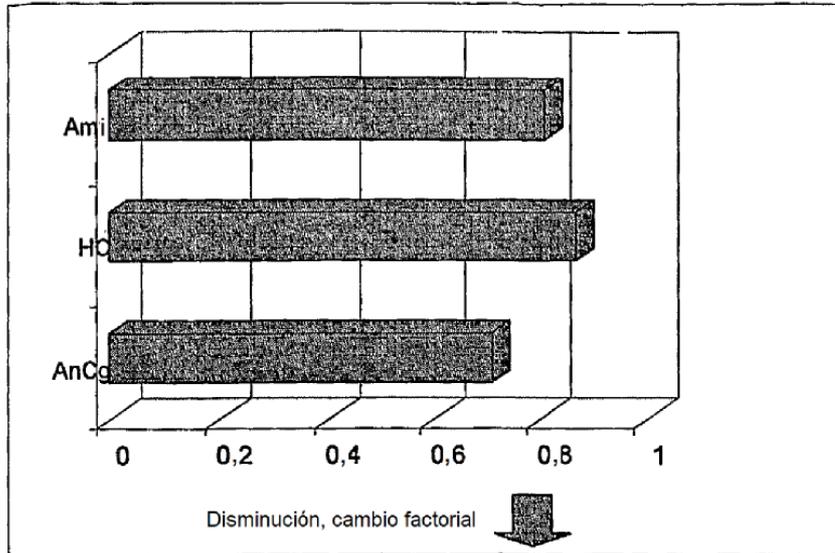
Agradecemos con reconocimiento las valiosas contribuciones de Xiaohong Fan, Phong Nguyen y Maialai Yusufzai de UCD; Sharon Burke, Mary Hoversten, Fan Meng, y Manhong Dai de UMICH; David Walsh, Mary Atz, Kevin Overman, y Preston Cartenaga de UCI; la oficina forense de Orange County (CA); Terrence Speed, Ben Bolstad y Julia Brettschneider de UCB; y todos los demás miembros del Pritzker Neuropsychiatric Disorders Research Consortium. Los fondos para este trabajo los proporcionó Pritzker Family Philanthropic Fund*, NIH Conte Center concesión n.º L99MH60398, WM Keck Foundation y Penzner Foundation.

*DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES:

Todos los autores de este trabajo son miembros del Pritzker Neuropsychiatric Disorders Research Consortium, respaldado por el Pritzker Family Philanthropic Fund. Para fomentar el desarrollo de investigación adicional y aplicaciones clínicas de los presentes hallazgos, se han presentado solicitudes de patente conjuntamente por las entidades académica y filantrópica implicadas, bajo un acuerdo de propiedad intelectual compartido.

FIG. 24-3

1) Tres estructuras límbicas diferentes en MDD muestran expresión disminuida del transportador-1 de glutamato, que da lugar potencialmente a la acumulación de glutamato extracelular



- ❖ Las tres estructuras límbicas examinadas en MDD eran coherentes en su patrón de expresión disminuida de EAAT1 (transportador-1 de glutamato/SLC1A3).
- ❖ La actividad disminuida de la recaptación del glutamato puede provocar una rápida acumulación de niveles de glutamato extracelular.
- ❖ La acumulación extracelular de glutamato puede alterar la terminación de la transmisión glutamatérgica.

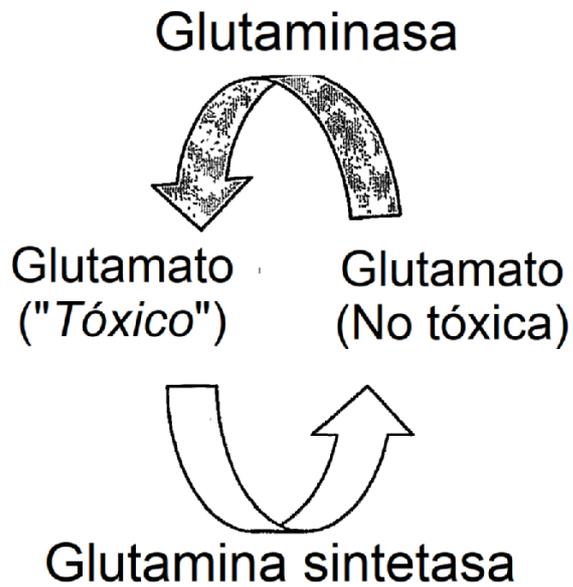
2) La expresión disminuida del transportador-1 de glutamato y de glutamina sintetasa en MDD converge en AnCg y Ami

Gen	Símbolo	MDD	
		Cambio factorial	
		AnCg	Ami
Transportador-1 de Glu	EAAT1	0,71	0,81
Transportador-2 de Glu	EAAT2	0,65	
Gln sintetasa	GLUL	0,72	0,86

- ❖ Tanto AnCg como Ami en MDD mostraron una disminución simultánea de EAAT1 y GLUL, mientras que AnCg mostró adicionalmente niveles disminuidos de EAAT2.
- ❖ Estos resultados indican alteración del sistema de recaptación de glutamato, así como un mecanismo de detoxificación de glutamato.
- ❖ La implicación del HC estuvo limitada a la disminución de EAAT1.
- ❖ De forma colectiva, estos resultados predicen el sistema límbico, especialmente AnCg y Ami, como un sitio de función incorrecta del transporte de glutamato en MDD.

FIG. 24-4

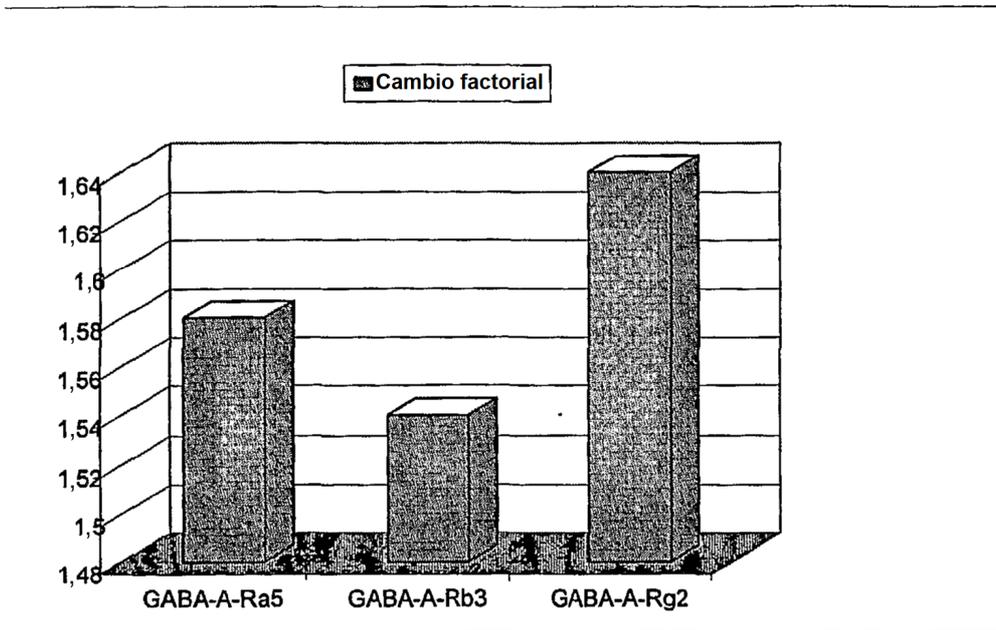
3) Una disminución concertada de los transportadores de glutamato y glutamina sintetasa en el sistema límbico podría dar lugar "excitotoxicidad" mediada por glutamato en MDD



- ❖ La glutamina sintetasa convierte el glutamato "tóxico" en glutamina no tóxica.
- ❖ La descomposición del "ciclo de glutamina-glutamato" culmina en "excitotoxicidad".

FIG. 24-5

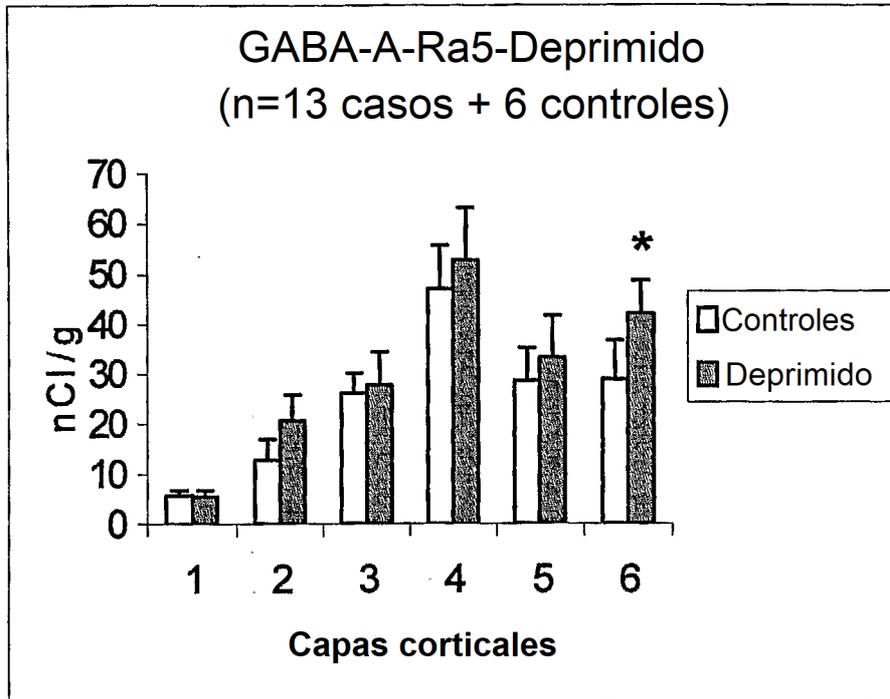
Aumento de 3 subunidades diferentes del receptor de GABA-A en DLPFC puede potenciar la señalización inhibitora en MDD



- La regulación positiva concurrente de 3 de las 5 subunidades del receptor de GABA-A, es decir, a5 (a5), (b3) (b3) y g2 (g2) sugiere la probable implicación de la ruta de señalización de GABA en MDD.
- Tanto GABA-A-Ra5 como GABA-A-Rb3 están localizados en el mismo locus, 15q11.2.
- Esto apoya la implicación previa de GABA-A-Ra5 en MDD
- Obsérvese los niveles relativamente mayores de expresión de GABA-A-Rg2 que en el resto.

FIG. 24-6

5) Hibridación *in situ*: La expresión de GABA-A-Ra5 está aumentada tanto en AnCg como en DLPFC en BPD y en DLPFC en MDD



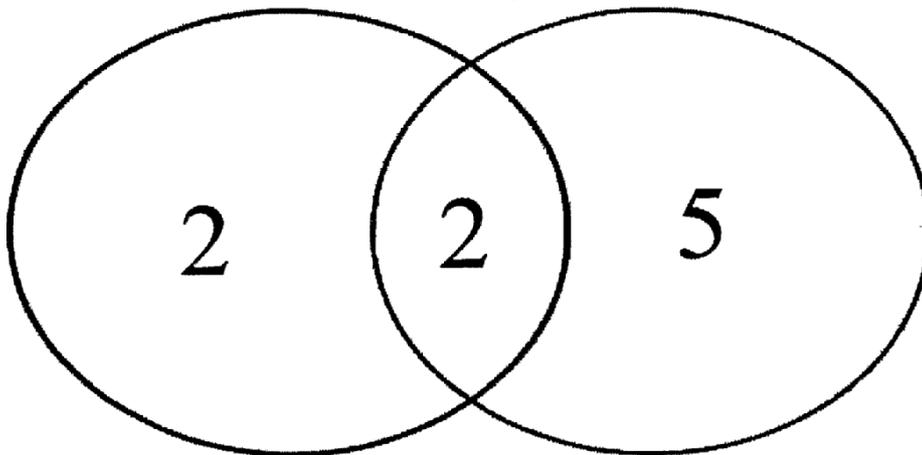
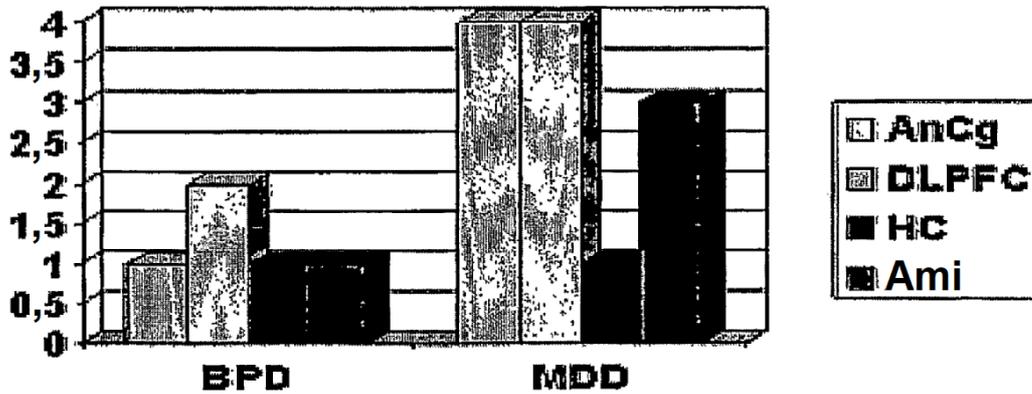
Obsérvese la tendencia hacia un aumento de los niveles de ARNm de GABA-A-Ra5 en todas las capas corticales, excepto la capa 1. El aumento fue estadísticamente significativo en la capa 6, determinado por el análisis de ensayo t de muestras emparejadas bilateral ($p \leq 0,02$).

La dirección y la magnitud del cambio se confirmaron por qRT-PCR (resultados no mostrados).

FIG. 24-7

6) Los genes de señalización de GABA/glu expresados de forma diferencial eran de número y anchura relativamente mayor en la distribución regional en MDD que en BPD.

Genes de GABA/glu: número y patrones de distribución



- ◆ En ambos trastornos, los genes GABA-érgicos estaban regulados positivamente y los genes del transportador de glutamato estaban regulados negativamente (con la excepción de mGluR3)
- ◆ Globalmente, la alteración del sistema de señalización de GABA/glutamato era pronunciada en MDD (figura 6a).
- ◆ De los nueve genes de GABA/glutamato que estaban afectados en individuos deprimidos, únicamente dos genes (1 GABAérgico y 1 glutamatérgico) eran comunes entre BPD y MDD (figura 6b).

FIG. 24-8

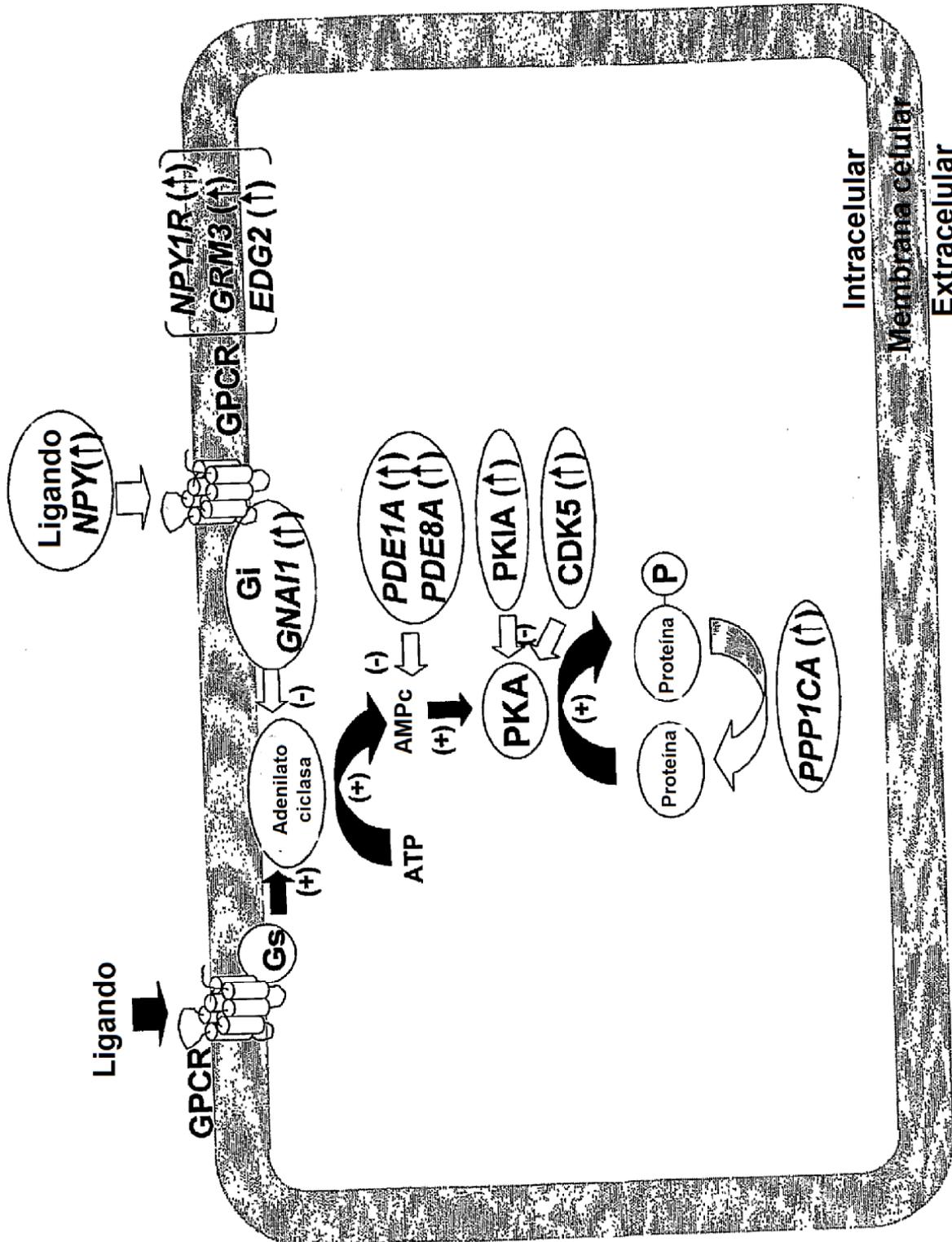


FIG. 26A

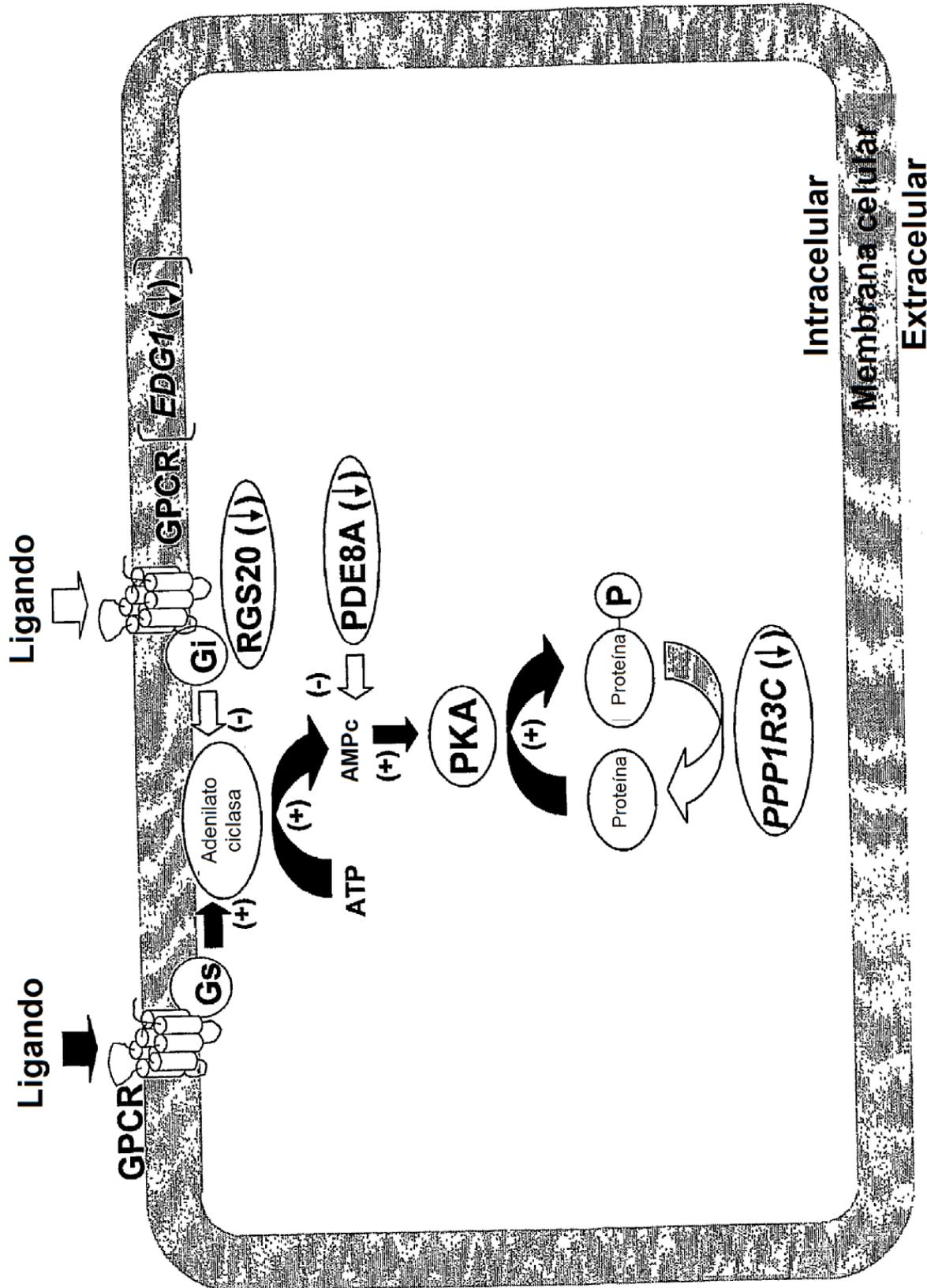


FIG. 26B

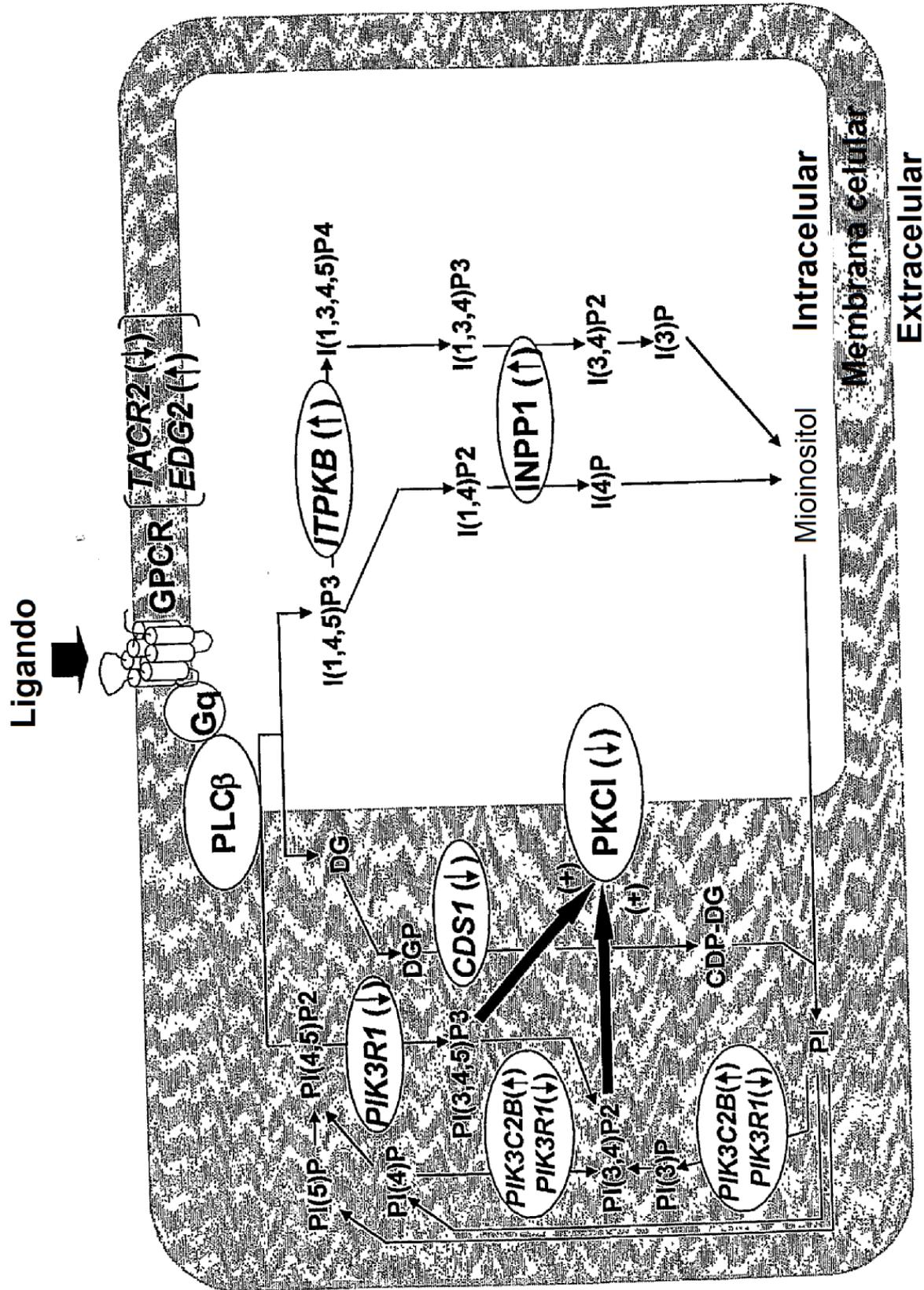


FIG. 26C

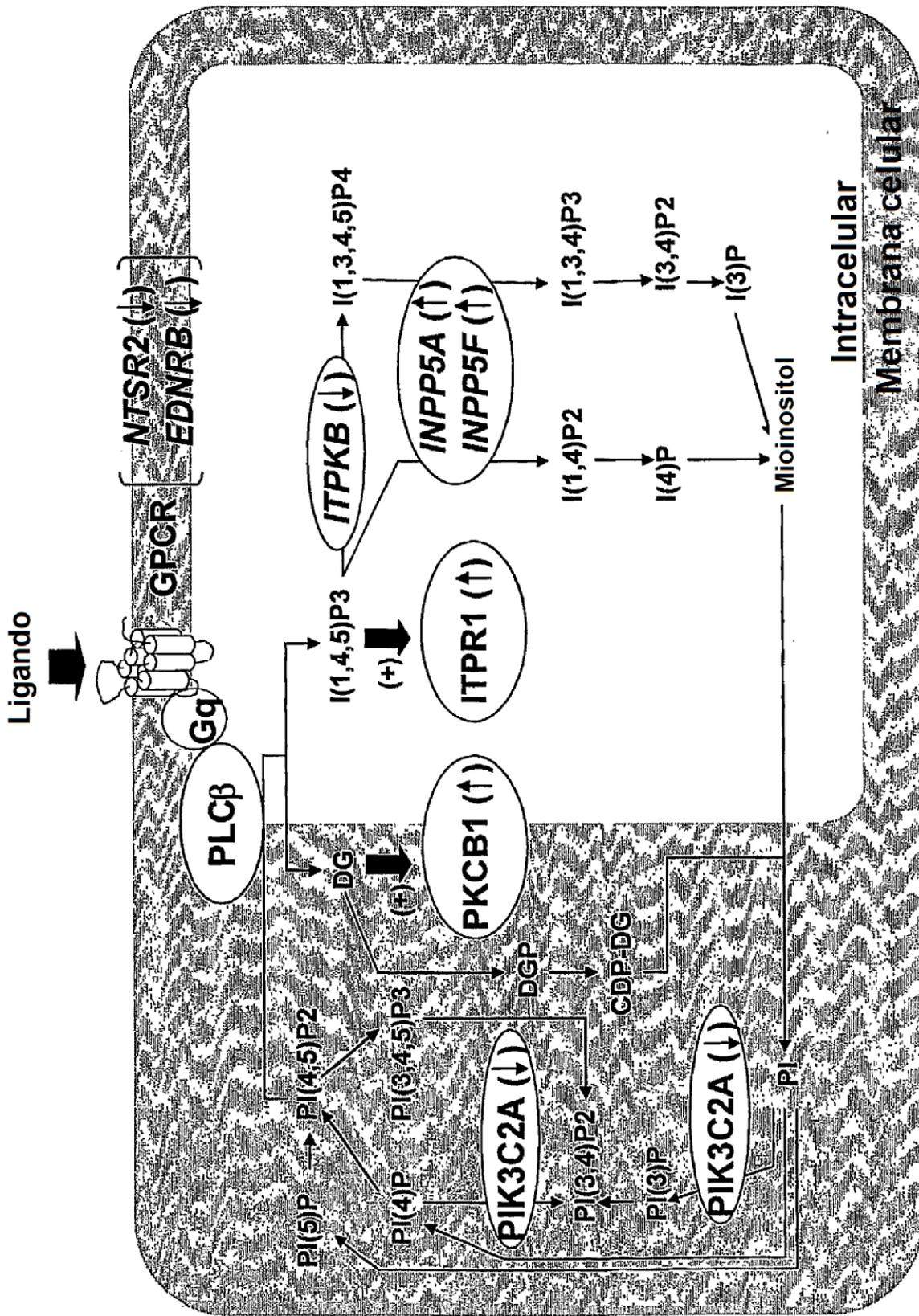


FIG. 26D

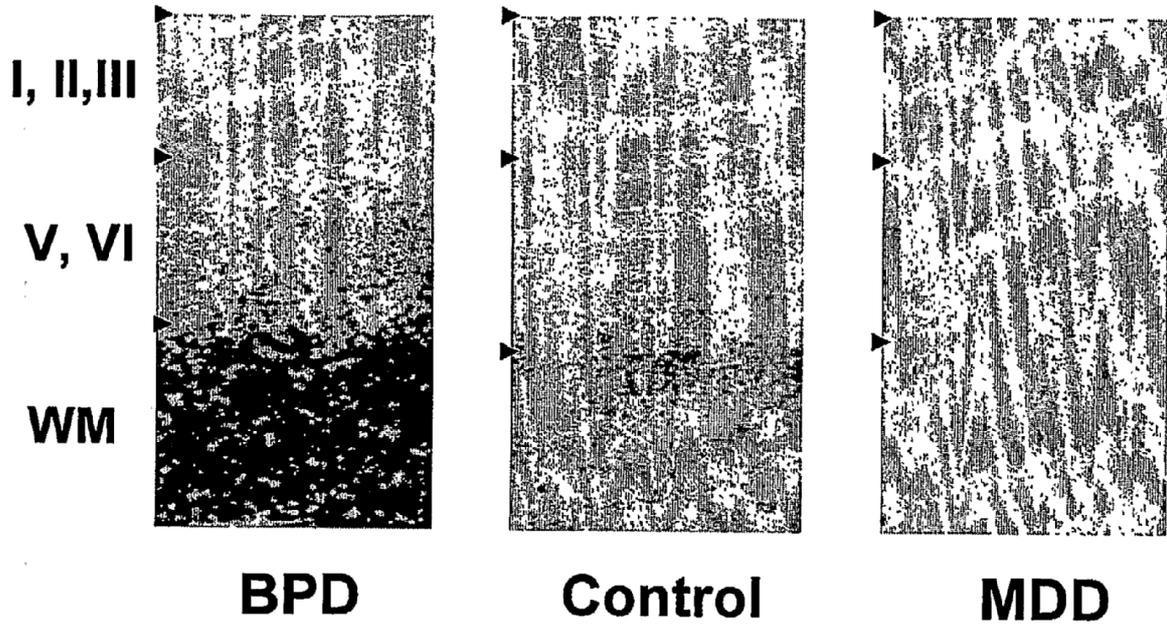


FIG. 27

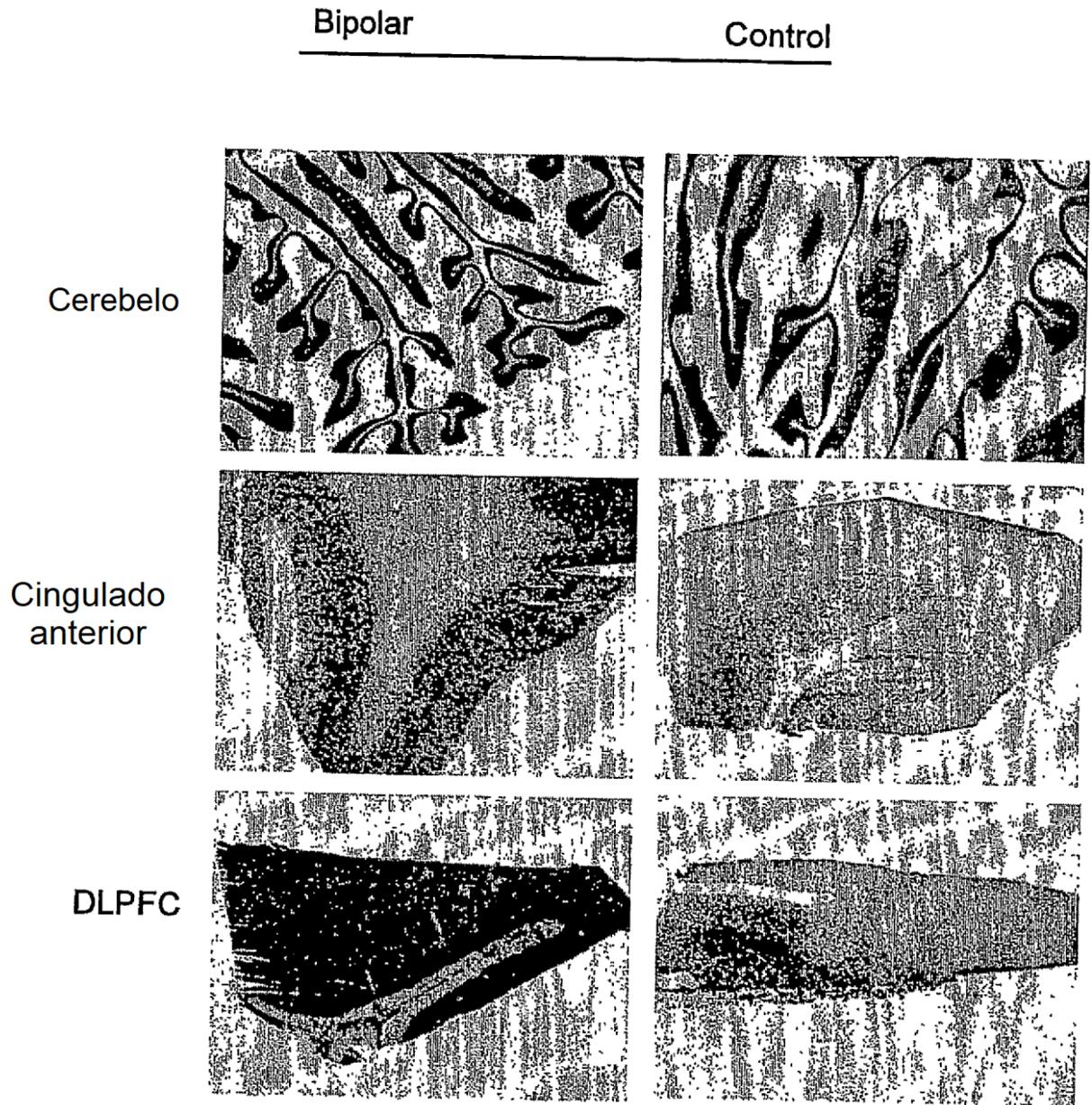


FIG. 28

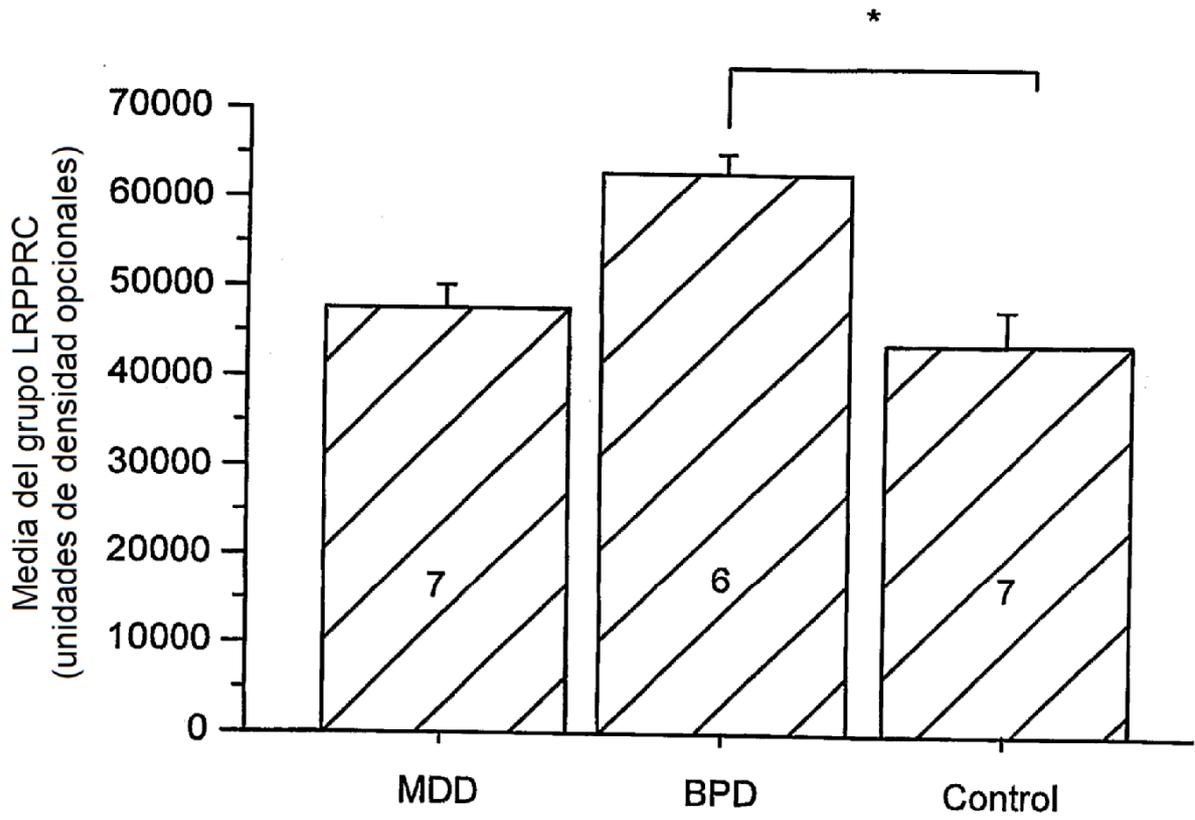


FIG. 29

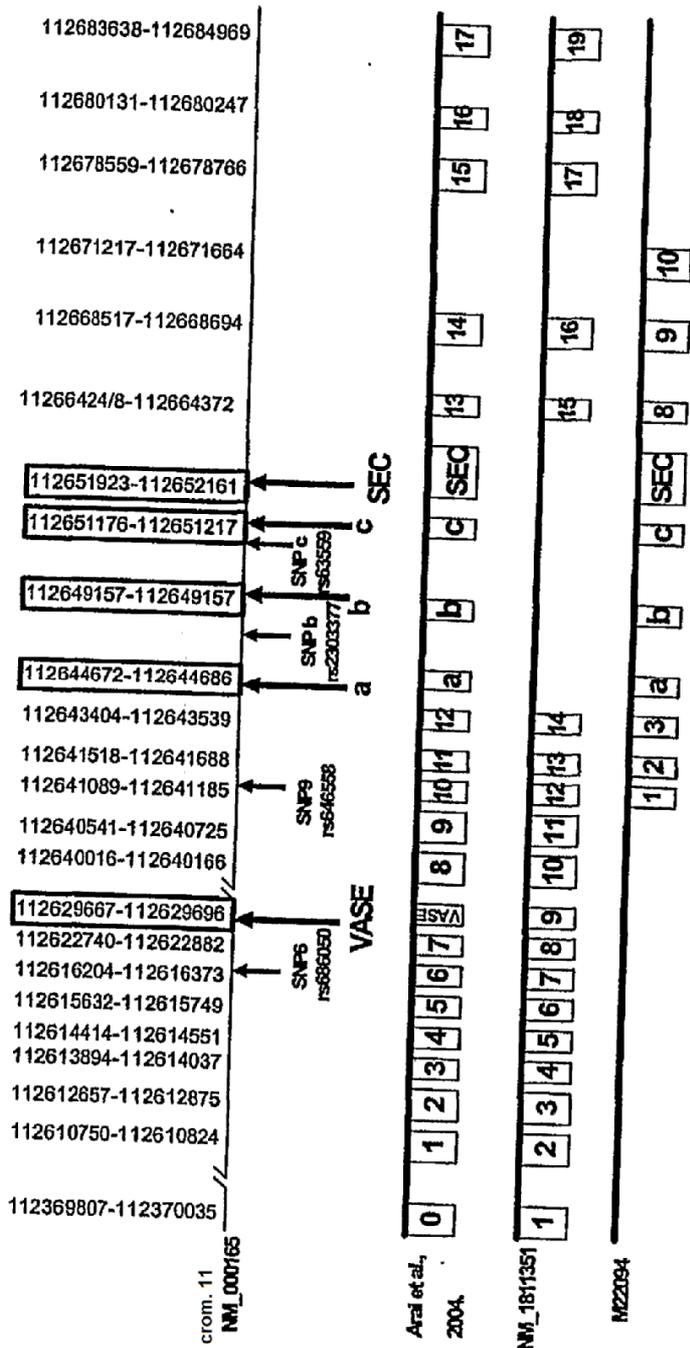


Figura 30



Genotipo	Diagnóstico x genotipo
SNP 9	BPD
SNP 9	_____
SNP 6	_____
SNP 6	_____
SNP 6	MDD
SNP b	_____
SNP b	BPD

Figura 31