

1. José Carlos Reyes

Director del trabajo:

José Carlos Reyes

Título del trabajo:

Análisis de redes génica cotranscripcionales en cáncer y su correlación con prognosis

Resumen de los objetivos del mismo

La disponibilidad de grandes cantidades de datos de expresión génica (RNA-seq) de muestras tumores, así como de datos fisiopatológicos de los pacientes, permite el uso de técnicas computacional para correlacionar patrones transcripcionales con características de los tumores, de los pacientes y de su evolución clínica. En nuestro grupo hemos identificado, en varios tipos de tumores, grupos de genes con patrones de expresión similares (coexpresados) o antagónicos (antiexpresados) cuyo significado, regulación y consecuencias en prognosis estamos analizando. En este trabajo se propone utilizar técnicas computacionales y bioestadísticas básicas para entender el transcriptoma de las células tumorales y sus consecuencias.

jose.reyes@cabimer.es

2. Félix Prado

Director del trabajo:

Félix Prado Velasco

Título del trabajo:

“Caracterización de mutantes de la helicasa replicativa MCM defectivos en la tolerancia a daños replicativos”

Resumen de los objetivos:

Las rutas de tolerancia a daños replicativos son esenciales para evitar la inestabilidad genética asociada a numerosas enfermedades genéticas y procesos tumorales. Las proteínas de recombinación homóloga juegan importantes papeles en la regulación y procesamiento de estas rutas, fundamentalmente a través de sus actividades de intercambio de cadenas, las cuales facilitan el avance de las horquillas de replicación a través de lesiones bloqueantes, así como el relleno de los fragmentos de DNA de cadena sencilla que se generan durante el baipás de las lesiones. Adicionalmente, las proteínas de recombinación participan en el reclutamiento de las polimerasas mutagénicas que complementan las rutas anteriores sintetizando directamente sobre el DNA dañado. La recombinasa Rad51 interacciona físicamente tanto en levaduras como en humanos con la helicasa replicativa MCM, y esta interacción está regulada a lo largo del ciclo por la presencia de daños en el DNA. Con objeto de entender la función del complejo MCM en las rutas de tolerancia, y en particular su conexión con las proteínas de recombinación, se han obtenido mutantes de Mcm2 del complejo MCM que son sensibles al agente alquilante metil metano sulfonato, un inductor clásico de las rutas de tolerancia a daños replicativos. El objetivo de este proyecto será caracterizar a nivel genético y molecular estos mutantes, y de esta forma entender los mecanismos mediante los cuales la helicasa MCM participa en la respuesta de tolerancia a daños replicativos.

felix.prado@cabimer.es

3. Ralf Wellinger

Director del trabajo:

Ralf Wellinger

Título del trabajo:

“Caracterización de aneuploidia en mutantes sensibles a un sistema que interfiere con la separación de cromosomas”

Resumen de los objetivos:

La duplicación del ADN cromosómico tiene que estar coordinado con la separación de cromosomas para evitar la inestabilidad genética asociada a una bajada o un aumento del número de cromosomas (aneuploidia). La aneuploidia está implicada en numerosas enfermedades genéticas y el desarrollo de tumores. El grupo ha identificado mutantes de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* que son sensibles a la activación de un sistema que interfiere con la separación de cromosomas. El objetivo de este proyecto será caracterizar a nivel genético y molecular la aneuploidia en estos mutantes para descubrir nuevos mecanismos implicados en el proceso de la aneuploidia.

ralf.wellinger@cabimer.es/wellinge@us.es

4. Rosa M Ríos

Director del trabajo:

Rosa M Ríos

Título del trabajo:

Una aproximación transcriptómica a la microcefalia producida por mutaciones en CDK5Rap2

Resumen de los objetivos:

El desarrollo animal es un complejo proceso que requiere una precisa regulación de la proliferación y la diferenciación celulares así como de la distribución espacial de las células hijas. Esto permite la formación de tejidos y órganos con el tamaño y la organización estructural adecuados. El centrosoma, que es el principal centro organizador de microtúbulos de las células animales, contribuye a todos estos procesos. Como uno de los órganos estructuralmente más complejos del organismo, el cerebro es particularmente susceptible a la disfunción del centrosoma. De hecho, mutaciones en algunas proteínas centrosómicas están en el origen de la microcefalia primaria autosómica recesiva (MCPH). Mutaciones en el gen CDK5Rap2 fueron de las primeras descritas como causantes de MCPH. Sin embargo, los mecanismos que provocan la alteración específica del cerebro, y no de los demás órganos, permanecen sin ser comprendidos. En mi grupo de investigación hemos generado células humanas que carecen de CDK5Rap2 mediante la tecnología de CRISPR/Cas9 y hemos obtenido el transcriptoma de tales células. El análisis preliminar de los genes candidatos apunta a la alteración de procesos celulares no contemplados hasta la fecha. El trabajo de fin de máster consistiría en la validación y caracterización de algunos de los candidatos obtenidos.

rosa.rios@cabimer.es

5. Pablo Huertas

Director del trabajo

Pablo Huertas Sánchez

Título del trabajo

Mecanismos de control de la recombinación homóloga en células humanas

Resumen de los objetivos del mismo

El trabajo se basa en un estudio previo del laboratorio en el que se han encontrado 300 genes que regulan la recombinación homóloga. El estudiante elegirá 2-3 de esos genes y analizará en detalle su papel biológico. Para ello, utilizará técnicas de biología molecular, bioquímica y genética, utilizando líneas celulares humanas en cultivo como modelo biológico.

pablo.huertas@cabimer.es

6. Abelardo López Rivas

Director(es) del trabajo:

Abelardo López Rivas y M^a Carmen Palacios

Título del trabajo:

Papel dual de proteínas de la ruta extrínseca de apoptosis en desarrollo tumoral

Resumen de los objetivos del mismo:

En el microambiente tumoral, la elevada tasa de crecimiento junto con las condiciones de pobre vascularización hacen que las células tumorales estén sometidas a condiciones de hipoxia, de privación de nutrientes y cambios de pH, dando lugar a la activación de una serie de rutas adaptativas de señalización intracelular de respuesta al estrés. Sin embargo, si el estrés es prolongado o excesivo, la estimulación de estas rutas de señalización puede dar lugar a la activación irreversible de la maquinaria apoptótica y con ello a la muerte celular. Resultados recientes de nuestro laboratorio indican que en diversos tipos de células tumorales la ruta extrínseca de apoptosis mediada por el sistema TRAIL desempeña un papel central en la muerte celular en respuesta al estrés. Por otra parte, resultados de otros laboratorios han demostrado que el sistema TRAIL puede también desempeñar un papel protumoral induciendo la producción de citoquinas proinflamatorias. Sin embargo, los mecanismos moleculares y las proteínas del sistema TRAIL que determinan en células tumorales la elección entre una respuesta adaptativa protumoral y una respuesta de muerte celular están aún por identificar. Durante el trabajo de fin de Máster, el alumno realizará un estudio del papel de algunas de estas proteínas en el destino celular tras estrés metabólico utilizando cultivos de células tumorales y técnicas de biología celular, molecular y bioquímicas.

abelardo.lopez@cabimer.es

carmen.palacios@cabimer.es

7. Fernando Monje

Director del trabajo:

Fernando Monje Casas

Título del trabajo:

"Estudio de los mecanismos que regulan el posicionamiento del huso durante las divisiones celulares asimétricas"

Resumen de los objetivos del mismo

A pesar de considerarse normalmente como un proceso que acaba con el reparto equitativo de componentes celulares y del material genético duplicado entre las células resultantes, existen múltiples ejemplos de divisiones celulares asimétricas. Tras una división asimétrica, la célula madre y la hija adquieren un tamaño distinto, heredan preferentemente uno o más componentes celulares, o poseen un potencial distinto para diferenciarse en un tipo celular determinado. La división celular asimétrica es un proceso esencial para múltiples microorganismos y desempeña un papel crítico durante el desarrollo, la morfogénesis y en la arquitectura tisular en eucariotas superiores. Un modelo clásico de organismo unicelular que lleva a cabo una división asimétrica es la levadura de gemación *Saccharomyces cerevisiae*, mientras que el ejemplo más representativo en el caso de eucariotas superiores son las células madres de animales. Para poder generar asimetría durante la división celular se requiere la polarización de la célula a lo largo de un eje predeterminado, así como la posterior orientación del huso mitótico (un haz bipolar de microtúbulos que permite la segregación de los cromosomas) de forma paralela a este eje y perpendicular al eje de división. Debido a la importancia de la correcta orientación del huso para garantizar el reparto equitativo del material genético durante las divisiones asimétricas, las células han desarrollado elaborados mecanismos de vigilancia que controlan este proceso. Durante la elaboración del Trabajo de Fin de Master, el alumno profundizará en el estudio de los mecanismos moleculares que garantizan el correcto posicionamiento del huso mitótico durante las divisiones celulares asimétricas, gracias al análisis de posibles nuevos reguladores de este proceso identificados en nuestro laboratorio de investigación.

fernando.monje@cabimer.es

8. David Pozo

Director del trabajo

David Pozo

Título del trabajo

"Señalización celular y validación de dianas terapéuticas de la proteína kinasa solapante MAPK/MAK/MRK en esclerosis lateral amiotrófica"

Resumen de los objetivos del mismo

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad rara, de manifestación en adultos, y actualmente incurable, con una esperanza de vida tras el diagnóstico inferior a los 5 años. La ELA forma parte de las denominadas proteinopatías neurodegenerativas caracterizadas por plegamientos de proteínas incorrectos, agregación y formación de inclusiones de proteínas específicas que se acompañan de neuroinflamación crónica y pérdida neuronal. La proteína TDP-43 se encuentra como inclusiones intracelulares y en líquidos extracelulares (CSF), con un papel emergente en ELA. Sin embargo, las implicaciones de las rutas de señalización dependientes de TDP-43 están pobremente caracterizadas. Nuestro laboratorio ha identificado (Leal-Lasarte et al., FASEB J 2017) una kinasa no caracterizada hasta la fecha de la familia de las MAPKs denominada MOK (MAPK/MAK/MRK overlapping kinase) que se une a agregados de TDP-43 en el interior de las células de la microglia, donde hemos estudiado diferentes mecanismos de regulación de la neuroinflamación. En la actualidad estamos identificando proteínas diana de MOK en cultivos organotípicos de médula espinal y microglia primaria, utilizando modelos animales transgénicos para el estudio de la ELA y muestras humanas. Contamos con colaboradores externos en UCSF (San Francisco, EEUU) y el Instituto de Neurociencias de Alicante. Las técnicas a utilizar de forma intensiva incluyen microscopía confocal, cultivos primarios de diferentes células gliales y motoneuronas, análisis de la expresión de proteínas, análisis transcripcional, monitoración de la actividad motora in vivo y ensayos de actividad kinasa.

david.pozo@cabimer.es

9-10. Benoit Gauthier

9. Director(es) del trabajo

Esther de la Fuente Martín y Benoit Raymond Gauthier

Título del trabajo

Caracterización del papel de HMG20A en el control de la homeostasis glucídica

Resumen de los objetivos del mismo

El objetivo general de este proyecto es determinar el papel de HMG20A en la regulación del metabolismo de la glucosa, así como su implicación en el desarrollo de la diabetes y/o obesidad. Centraremos nuestro estudio en caracterizar la función de este gen en tejido adiposo. En primer lugar, determinaremos si la expresión de HMG20A se ve afectada por condiciones diabéticas. Posteriormente, evaluaremos las posibles dianas y funciones de este gen en los adipocitos. Para llevar a cabo la investigación realizaremos cultivos celulares, estudios de represión génica, real time PCR, western blot y determinaciones por ELISA.

10. Director(es) del trabajo

Alejandro Martín-Montalvo Sánchez y Benoit Raymond Gauthier

Título del trabajo

Evaluación de la inhibición de la ATP-citrato liasa en el control de la homeostasis metabólica

Resumen de los objetivos del mismo

El objetivo de este proyecto es determinar las consecuencias fisiológicas de la inhibición de la citrato liasa en la homeostasis metabólica en roedores. La experimentación se realizará estudiando tejidos que participan directamente en el control de la homeostasis de la glucosa, como son el hígado, el músculo esquelético, el páncreas y el tejido adiposo. Focalizaremos principalmente nuestras investigaciones en el estudio del hígado, donde realizaremos experimentos de genómica (microarray), proteómica (iTRAQ) y lipidómica. Entre otras técnicas de biología molecular realizaremos inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA.

benoit.gauthier@cabimer.es

11. Anabel Rojas

Director del trabajo

Anabel Rojas

Título del trabajo

Papel del factor de transcripción GATA6 en el desarrollo de la diabetes tipo 2

Resumen de los objetivos del mismo

Recientes estudios de secuenciación completa de exomas en humanos han revelado que el desarrollo de diabetes en adultos están asociadas a mutaciones en el gen GATA6. Estos resultados indican que el factor de transcripción GATA6 juega un papel importante en la función de la célula beta pancreática, encargada de producir insulina para regular los niveles de glucosa en sangre. En nuestro laboratorio recientemente hemos analizado la contribución de este factor de transcripción en la homeostasis de la glucosa usando modelos animales de ratón condicional. Los ratones deficientes en GATA6 desarrollan intolerancia a la glucosa como consecuencia de defectos en la producción y en la secreción de la insulina. Las células beta de ratones GATA6 presentan cambios de expresión génica relacionados con el estrés del retículo endoplasmático y mitocondrial. Actualmente queremos analizar a nivel molecular el estrés celular presente en las células beta pancreáticas deficientes en GATA6.

Entre las técnicas a usar en este proyecto se encuentran: realización de cortes y tinciones histológicas de páncreas de ratones, análisis por inmunofluorescencia e inmunohistoquímica de distintos marcadores, PCR cuantitativas y ensayos en cultivos celulares.

anabel.rojas@cabimer.es

12-13. Bernat Soria

12. Director del trabajo:

Bernat Soria/Karim Hmadcha

Título del trabajo:

“Diseño de procedimientos de cultivo de células mesenquimales y otros progenitores”

Resumen de los objetivos:

El objetivo principal de este trabajo consiste en definir las condiciones de selección de un medicamento celular y validar una serie de test que pueden ser utilizados como criterios de exclusión para un Ensayo Clínico.

Mediante técnicas de biología molecular y celular, el estudiante se centrará en desarrollar una caracterización fenotípica y determinaciones de las propiedades tróficas, antiinflamatorias, inmunomoduladoras, una caracterización genotípica de células troncales adultas, y proponer nuevas aproximaciones para optimizar la elección de un medicamento celular seguro para su posible aplicación clínica.

bernat.soria@cabimer.es

13. Director del trabajo:

Karim Hmadcha/Bernat Soria

Título del trabajo:

“Obtención de células productoras de insulina diferenciadas procedentes de células pluripotentes humanas”

Resumen de los objetivos:

El objetivo de este trabajo es ofrecer formación específica en el campo de las Terapias Avanzadas (Terapia Celular). El estudiante se implicará en desarrollar estudios de biología celular y molecular para validar protocolos de diferenciación desarrollado por nuestro grupo en diferentes líneas de células troncales pluripotentes humanas (hESCs e iPSCs) para la obtención de células productoras de insulina maduras y funcionales.

karim.hmadcha@cabimer.es

14. Mario García-Domínguez

Director:

Mario García Domínguez

Título:

Función de la sumoilación de factores transcripcionales en neurogénesis

Objetivos:

Sumo es un pequeño polipéptido similar a la ubiquitina capaz de unirse covalentemente a otras proteínas (sumoilación) para modificar su función o propiedades. Cientos de proteínas se sumoilan en vertebrados, siendo un proceso esencial que regula múltiples aspectos de su fisiología. La modificación se produce en un residuo de lisina (K) de la proteína diana frecuentemente incluido en la secuencia consenso $\Psi Kx E$ (Ψ : residuo hidrofóbico de cadena larga, x: cualquier aminoácido, E: glutámico). La mutación conservativa de K a R (arginina) evita la modificación, generándose así mutantes de sumoilación. En nuestro grupo hemos realizado recientemente un estudio proteómico para identificar proteínas diferencialmente sumoiladas en condiciones de proliferación y de diferenciación neuronal. Del análisis de este estudio hemos identificado una serie de proteínas que se expresan fundamentalmente en condiciones de diferenciación y que están sumoiladas. Proponemos estudiar cómo afecta la sumoilación de una selección de estas proteínas al proceso de neurogénesis. Para ello se clonarán versiones silvestres y mutantes de sumoilación de los genes correspondientes en vectores de expresión para analizar su impacto en neurogénesis en un modelo celular de diferenciación neuronal, las células P19, capaces de diferenciarse in vitro mediante tratamiento con ácido retinoico o expresión de factores neurogénicos. Además se utilizará un modelo de sobreexpresión in vivo basado en la electroporación del tubo neural de embriones. En ambos casos se analizará la neurogénesis mediante técnicas de inmunofluorescencia registrando la expresión de marcadores neuronales, como β III-tubulina, en las células transfectadas. Se analizarán también los cambios en los niveles de expresión de marcadores relevantes mediante RT-qPCR, y se realizarán ensayos de sumoilación en células, en condiciones de proliferación y de diferenciación. Para el estudio se han seleccionado inicialmente las proteínas Nr2f1, Zfx3, Meis1 y Dcx, todas ellas asociadas al desarrollo del sistema nervioso.

mario.garcia@cabimer.es

15. Andrés Aguilera

Director del trabajo

Rosa Luna Varo

Título del trabajo

Papel de un nuevo gen humano implicado en la inestabilidad genómica causada por híbridos ADN-ARN

Resumen

Los híbridos de DNA-RNA son una fuente importante de estrés replicativo e inestabilidad genómica, una característica común en cáncer. A partir de un escrutinio global de una genoteca de siRNAs de células humanas hemos identificado una serie de genes candidatos. El objetivo del trabajo es caracterizar uno de estos candidatos con objeto de saber si acumulan híbridos, el tipo de inestabilidad producida (roturas cromosómicas, defectos en replicación o en ciclo celular, recombinación), su dependencia de transcripción y su capacidad de responder a daños en el DNA. El trabajo permitirá adquirir experiencia en cultivos celulares, así como en las técnicas standard de Biología Molecular y Celular, según la evolución del proyecto. El trabajo se podría hacer en levaduras dependiendo de la formación del candidato/a.

rosa.luna@cabimer.es