

OFERTA TFM DE CABIMER

Director: Félix Prado Velasco

email: felix.prado@cabimer.es

Título: Caracterización de una nueva proteína esencial para la respuesta recombinacional

Resumen: La maquinaria de recombinación homóloga (HR) es esencial para la reparación de los cortes de doble cadena (DSB; del inglés double-strand break) que se generan en el ADN y ponen en riesgo su integridad. De igual forma, juega un papel crítico en la respuesta a daños replicativos facilitando el avance de las horquillas de replicación a través de daños en el ADN que obstaculizan la síntesis de ADN y rellenan los fragmentos de ADN de cadena sencilla (ssDNA, del inglés single-strand DNA) que se generan durante este proceso. Esto explica que mutaciones en componentes de la HR como BRCA1 or BRCA2 estén asociados al cáncer, y que muchas terapias se basen en generar DSBs o fragmentos de ssDNA que las células tumorales no pueden reparar causándoles la muerte. La HR está altamente conservada, por lo que los estudios en el organismo modelo *Saccharomyces cerevisiae* han sido claves para entender su mecánica. En nuestro grupo hemos utilizado esta levadura para realizar una búsqueda por sobreexpresión de supresores de la sensibilidad al agente metil metano sulfonato (MMS) de mutantes de *RAD51* defectivos en la unión al ADN. Los agentes alquilantes se usan en terapias contra el cáncer ya que generan daños en el ADN que bloquean transitoriamente la replicación, produciendo fragmentos de ssDNA que requieren la HR, y por tanto, la recombinasa Rad51, para su reparación. Hemos observado que la sobreexpresión de una proteína no caracterizada hasta la fecha suprime completamente la sensibilidad a MMS de mutantes que carecen de Rad51. En línea con este dato, hemos visto que el mutante que carece de esta proteína es muy sensible a MMS. Estos resultados son inesperados porque no se conoce ninguna situación genética que sea capaz de complementar la ausencia de la recombinasa Rad51 en respuesta a daños recombinogénicos. El objetivo de este estudio es iniciar la caracterización de este mutante, lo que permitirá al estudiante familiarizarse con la genética de levaduras, con ensayos de inestabilidad genética y con análisis de biología celular y molecular. Además, este estudio le permitirá profundizar en los mecanismos de reparación de DNA que protegen al genoma de reordenamientos deletéreos.

Director: Daniel Rico
email: daniel.rico@cabimer.es

Título: Identifying the chromatin signatures characteristic of proto-oncogenes and tumour suppressor genes that regulate the cell cycle
Computational (dry) project – no wet lab experiments.

Resumen: All cells in an organism have the same genome, but we have as many different epigenomes as different cell types. There are hundreds of different histone post-translational modifications (also called histone marks) and their combinatorial patterns constitute a “histone code” that reflects the function and activity of genomic elements, such as repressed or active promoters, enhancers, transcribed genes or silent heterochromatin. Specific combinations of active and silent genes determine a cell type and regulate when a cell can progress through the cell cycle and divide. This highly controlled system is disrupted in tumour cells resulting in uncontrolled cell proliferation - the main feature of any cancer. In this study, we want to understand how the histone code is modified in tumour-associated genes which are involved in deregulation of the cell cycle and which are known to be affected in many cancer types (e.g, MYC, CCND1, TP53, RB1). We will apply diverse bioinformatics approaches, including alignments, hidden markov models and machine learning, to extract the chromatin signatures characteristic for cell cycle “accelerators” (proto-oncogenes) and “breaks” (tumour-suppressor genes).

Objectives of this project will be:

- Determine a set of tumour-associated genes important for cell cycle regulation.
- Mine ChIP-seq datasets of histone modifications from The International Human Epigenome Consortium (IHEC)
- Extract epigenomic signatures of selected tumour-associated genes by comparing healthy and tumour samples.

The student will learn how to work and process genomic and epigenomic databases, build pipelines, use genome browsers, handle big data and interpret and present bioscientific results. Also, as the members of the supervisory team are active part of IHEC Integrative Analysis, the student will be given the unique opportunity to attend regular IHEC meetings online and experience international collaboration.

Referencias:

The International Human Epigenome Consortium: A Blueprint for Scientific Collaboration and Discovery

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27863232/>

Automatic identification of informative regions with epigenomic changes associated to hematopoiesis

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28934481/>

Epigenomic translocation of H3K4me3 broad domains over oncogenes following hijacking of super-enhancers

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34933939/>

Director: Hélène Gaillard

Email: helene.gaillard@cabimer.es

Title: Factors and mechanisms underlying manganese-induced cell damage

Summary:

Manganese (Mn) is a trace element that is essential for life by acting, among other mechanisms, as a divalent metal cofactor for enzymes such as the mitochondrial enzyme superoxide dismutase 2, the apical activator of the DNA damage response serine/threonine kinase ATM or the Mn-activated glutamine synthetase. However, Mn becomes toxic when enriched in the human body. Overexposure to Mn leads to oxidative stress and alteration of enzymatic activities including DNA polymerases, telomerase and TORC1 signalling, among others. Despite the relevance of these functions in disease state such as cancer and neurodegenerative disorders, the molecular mechanisms underlying Mn-induced cell death or 'manganatosis' (from *manganese* and *thanatos*) are yet poorly studied. In this project, budding yeast will be used as eukaryotic model organism to explore manganatosis pathways and improve our knowledge on the factors and mechanistic causes underlying Mn-induced cell damage.

Recommended readings:

- Nicastro R, Gaillard H, Zarzuela L, P eli-Gulli MP, Fernández-García E, Tom e M, García-Rodríguez N, Durán RV, De Virgilio C, Wellinger RE. *Manganese is a physiologically relevant TORC1 activator in yeast and mammals*. *Elife*. 2022 Jul 29;11:e80497. doi: 10.7554/eLife.80497. PMID: 35904415.

- de Oya IG, Jiménez-Gutiérrez E, Gaillard H, Molina M, Martín H, Wellinger RE. *Manganese Stress Tolerance Depends on Yap1 and Stress-Activated MAP Kinases*. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 11;23(24):15706. doi: 10.3390/ijms232415706. PMID: 36555348.

Director: Román González Prieto

email: roman.gonzalez@cabimer.es

Título: Ubiquitinación en estrés replicativo y cáncer

Resumen: Las células necesitan replicar sus genomas en el preciso momento y de manera fidedigna. Sin embargo, son múltiples los agentes dañinos para el DNA que pueden afectar a la integridad del genoma. Nuestras células están equipadas con una gran variedad de rutas de señalización y mecanismos de reparación del DNA que, en su conjunto, se conocen como Respuesta al Daño en el DNA (DDR). La DDR tiene como finalidad preservar la integridad del genoma o, en el caso de que los daños en el genoma sean tan extensos que no sean reparables, inducir la muerte celular por apoptosis. Defectos en la DDR pueden derivar en inestabilidad genómica y favorecer el desarrollo de enfermedades tales como el cáncer.

Esta DDR se haya regulada entre otras enzimas por las ubiquitina (o similares) ligasas o enzimas E3. Mediante una técnica desarrollada en el laboratorio conocida como TULIP2, el/la estudiante identificará los sustratos de ubiquitinación de una de estas enzima en el contexto de la DDR en respuesta a estrés replicativo, formándose en menor o mayor medida en técnicas de cultivos celulares, ingeniería genética, microscopía de fluorescencia y purificación, análisis e inmunoprecipitación de proteínas, así como análisis de proteómica por espectrometría de masas.

Nombre del director: Alejandro Martín-Montalvo

Correo electrónico: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Título del proyecto: Estudio de la modulación del metabolismo del azufre en la neurocognición

Resumen: El objetivo de este proyecto es determinar las consecuencias fisiológicas de la modulación del metabolismo del azufre en la neurocognición durante la etapa adulta y la vejez de roedores. Realizaremos experimentación in vivo con roedores y experimentación mecanística usando tejidos de animales. Para ello, realizaremos experimentos de genómica (RNA-seq), proteómica (iTRAQ) y lipidómica. Entre otras técnicas de biología molecular, realizaremos inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA. Mediante estos estudios podremos determinar el potencial de la modulación del metabolismo del azufre en la prevención de la aparición de marcadores neurocognitivos asociados con el envejecimiento.

Nombre del director: Alejandro Martín-Montalvo

Correo electrónico: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Título del proyecto: Fundamentos básicos y traslacionales de nuevas modificaciones posttraduccionales en el cáncer.

Resumen: El objetivo de este proyecto es evaluar el efecto que tiene la modulación de modificaciones postranscripcionales que han sido descubiertas recientemente (por ejemplo, la lactilación y la persulfuración) en el cáncer. La experimentación se realizará estudiando tejidos de ratones en un modelo experimental de cáncer. Entre otras técnicas de biología molecular realizaremos RNAseq, ChiIP-seq, inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA.

Director: Fernando Monje Casas

Correo electrónico: fernando.monje@cabimer.es

Título: Herencia asimétrica de centrosomas: relevancia en cáncer y envejecimiento

Resumen: Las células madre de animales, que juegan un papel fundamental durante el desarrollo y para el mantenimiento de la homeostasis tisular, constituyen un modelo clásico de células con división asimétrica. Durante las divisiones asimétricas, es imprescindible que el huso mitótico se alinee a lo largo de un eje de polaridad pre-establecido, de forma que pueda coordinarse el reparto equitativo del material genético, una vez duplicado, con la distribución diferencial de ciertos componentes celulares. El huso está formado por un haz bipolar de microtúbulos que emanan desde centros organizadores de microtúbulos (MTOCs) y que permiten la segregación de los cromosomas. Sin embargo, esta maquinaria molecular también es empleada por las células para establecer asimetría durante su división. De hecho, un fenómeno particularmente interesante que se ha observado durante algunas divisiones asimétricas es la distribución no aleatoria de los propios MTOCs que orquestan la formación del huso, denominados centrosomas en eucariotas superiores. La herencia asimétrica de los MTOCs es un proceso conservado evolutivamente, que puede observarse tanto durante la duplicación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como durante la división de distintas células madre de animales. Nuestro grupo ha contribuido al descubrimiento de nuevos reguladores clave para la distribución no aleatoria de los MTOCs del huso y, lo que es más importante, también a desvelar la relevancia biológica de este proceso. Nuestros resultados previos demuestran que la herencia asimétrica de los MTOCs es esencial para mantener el potencial replicativo de *S. cerevisiae*, ya que permite la distribución diferencial de ciertas moléculas y orgánulos celulares dañados entre la célula madre y la célula hija durante mitosis. Ahora, usando líneas celulares de neuroblastoma, queremos estudiar el fenómeno de asimetría en la distribución de los centrosomas en células humanas. El trabajo a desarrollar por el estudiante se enmarcará dentro de esta nueva línea de investigación, que abre la puerta al conocimiento de procesos que podrían reducir el potencial replicativo de las células madre y, de este modo, estar asociados con el origen de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como el cáncer o ciertos síndromes neurodegenerativos.

Directores: Raul V. Durán (raul.duran@cabimer.es)
Mercedes Tomé (mercedes.tome@cabimer.es)

<https://www.cabimer.es/en/research-groups/metabolism-and-cell-signaling/>

Línea de investigación: Crosstalk between metabolism and cell signaling to target glioblastoma resistance to current therapy.

Resumen: Signaling and metabolic reprogramming is a hallmark of cancer and particularly of aggressive tumors, which possess a robust ability to adapt to changes and to insults. The group *Metabolism and Cell Signaling* is interested in understanding the mechanisms of interaction between cell metabolism and cellular processes to identify key elements involved in the adaptation of cancer cells to their microenvironment and particularly to therapeutic treatments. Our group investigates the implication of key metabolic pathways such as glutamine metabolism in controlling cancer cell growth, cell death and proliferation through its crosstalk with core signaling pathways such as mTOR and Notch, to regulate cellular processes including autophagy and cell cycle. We have already shown that a glutamine-mediated activation of mTORC1 signaling and autophagy inhibition can lead to cancer cell death and tumor regression during nutritional imbalance both in vitro and in mouse model. (Villar *et al. Nat Commun.* 2017, doi:10.1038/ncomms14124; Bodineau *et al. Nat Commun.* 2021, doi: 10.1038/s41467-021-25079-4). We have also described a crosstalk between Notch signaling, glutamine metabolism and mTORC1 with potential therapeutic opportunities against some types of leukemia (Nguyen *et al. Mol Oncol.* 2021, doi: 10.1002/1878-0261.12877).

We are particularly interested in the most aggressive type of brain tumor, named glioblastoma, that have an imperative need for finding more efficient treatments. The median survival of glioblastoma patients is less than 15 months and the standard of care has not been modified since its last update in the 90s to include temozolomide as the standard chemotherapy. Glioblastoma encompasses a heterogeneous family of tumors, but all of them sharing a high resistance to chemotherapy. Our studies are orientated to determine the signaling and metabolic modifications adopted by glioblastoma cells to evade chemotherapy. In this sense, in this TFM proposal we will focus on certain metabolic and signaling modifications during temozolomide resistance and the role of nutritional imbalance to sensitise glioblastoma cells to temozolomide and the molecular mechanisms involved.

To this end, we will make use of cell culture techniques with several cellular models of different genetic, metabolic and signaling backgrounds. The studies will make use of both standard and cutting-edge techniques (flow cytometry, western blot, qPCR, Seahorse, RNAseq, metabolomics, bioinformatics, among others) routinely used in the group to assay cell viability, cell death, protein and gene expression, as well as metabolic status.

Director: Mario García Domínguez y Nieves Lara Ureña

Correo electrónico: mario.garcia@cabimer.es

Título del proyecto: Función del supresor de tumores ETV6 en el establecimiento de programas de diferenciación.

Resumen: ETV6 es un supresor de tumores asociado a leucemia. En nuestro grupo hemos identificado que en condiciones de diferenciación se modifica por unión del polipéptido SUMO, un proceso conocido como sumoilación. SUMO es un pequeño polipéptido similar a la ubiquitina capaz de unirse covalentemente a otras proteínas como modificador post-traducciona. La sumoilación modula la función o propiedades de las proteínas diana. Actualmente se conocen más de mil proteínas diana de SUMO. Esta modificación participa en la mayoría de procesos celulares relevantes y es esencial, ya que su bloqueo conduce a letalidad en estado embrionario. En nuestro grupo pretendemos estudiar la función de esta modificación sobre el factor de transcripción ETV6 en el establecimiento de distintos programas de diferenciación durante el desarrollo, incluyendo la diferenciación neuronal, a músculo cardíaco/esquelético o la diferenciación de tipo endodérmico. Para ello contamos con modelos celulares de diferenciación así como con modelos embrionarios.

Director: Christian Claude Lachaud y Benoit Raymond Gauthier

Correo electrónico: christian.lachaud@cabimer.es ; benoit.gauthier@cabimer.es

Título del proyecto: Screening of alpha-to-beta cell transdifferentiation markers in the RIP-B7.1 mouse model of experimental autoimmune diabetes.

Resumen: Our group reported in 2018 how a treatment with the small molecule BL001, which is an agonist of the liver receptor homolog-1 (LRH-1), reduces notably the programmed pancreatic autoimmune attack in the RIP-B7.1 mouse model of experimental autoimmune diabetes (EAD) (Cobo-Vuilleumier et al. Nature Communications. 2018). A genetic screening performed in purified pancreatic alpha cells from the double transgenic mouse model [YFP-GLUT2 RIP-B7.1] induced to develop diabetes and treated with BL001, identified several genes (LAMA5, FGF21, WISP2, FREM2, NGFR, SPON2, FRA3) whose expression was notably modulated in response to BL001 treatment and which differential expression was suggested to be associated with alpha-to-beta cell transdifferentiation. The expression of these markers are actually investigated in pancreas sections from healthy human adult donors versus type I diabetes (T1DM) donors. This preliminary analysis indicated differences in expression for FGF21 and WISP2 in pancreatic cells between healthy versus T1DM patients. In this TFM and with the help of your directors, you will investigate whether these markers display differential expression in pancreatic alpha and beta cells from normal mice versus diabetic RIP-B7.1 mice. You will learn how to perform pancreatic sections and immunohistochemistry (IHC), and also how to use fluorescence microscopes and quantify differences in marker expression with the use of advanced image analysis softwares. You will generate research data with strong potential for publications. You will be integrated in a dynamic research group and will benefit from the co-direction of Benoit Gauthier and Dr. Lachaud who already have successful experience in directing TFG and TFM from students of the US and UPO universities.

.

Director: Francisco Javier Díaz Corrales

Correo electrónico: francisco.diaz@cabimer.es

Título: Estudio preclínico para evaluar la terapia génica en modelos de Retinosis pigmentaria.

Resumen: La retinosis pigmentaria (RP) es una enfermedad hereditaria debida a mutaciones en diferentes genes que produce ceguera por la degeneración progresiva en los fotorreceptores de la retina. La terapia génica está surgiendo como una alternativa terapéutica para estos pacientes. En nuestro grupo de investigación de CABIMER tenemos amplia experiencia en el desarrollo de terapias génicas para la RP. En este nuevo proyecto vamos a evaluar la seguridad y eficacia de nanopartículas para la liberación de los genes CRB1, PANK2 y PRPF31, tanto in vivo en modelos animales, como in vitro utilizando cultivos de organoides retinianos derivados de células madre humanas pluripotentes inducidas (hiPSCs). Al finalizar el TFM esperamos que la persona interesada haya adquirido conocimientos y destrezas en el desarrollo de terapia génica y modelos celulares y murinos de degeneración de la retina. Durante su estancia reforzará conocimientos en técnicas básicas de laboratorio como: cultivo celular, inmunohistología, WB, RT-PCR, citometría, etc. Además, podrá participar en cursos formativos de la institución receptora.

Director: Manuel Álvarez Dolado

Correo electrónico: manuel.alvarez@cabimer.es

Título: Evolución temporal de las alteraciones en el sistema GABAérgico y la matriz extracelular perineural de modelos murinos de encefalopatías epilépticas.

Resumen: Las encefalopatías epilépticas infantiles tempranas agrupan una serie de síndromes y enfermedades raras que se caracterizan por crisis médicamente refractarias, encefalopatía difusa y fuerte retraso en el desarrollo psicomotor. En esta clasificación se incluyen el Síndrome de Dravet (SD), debido a mutaciones en el gen *Scn1a* y el causado por mutaciones en el gen que codifica para la proteína de unión a syntaxina (STXBP1), también conocida como Munc18-1. Desgraciadamente, todas estas patologías están en una fase inicial de estudio y carecen de un tratamiento farmacológico eficaz, bien definido y sin efectos secundarios graves. Nuestro grupo estudia las alteraciones que presentan estos modelos a nivel conductual, electrofisiológico (EEG), histológico y transcripcional, especialmente durante el desarrollo del sistema GABAérgico en la cortez prefrontal y su posible relación con comorbilidades como la depresión.