

Director: Félix Prado

Email: felix.prado@cabimer.es

Título: Papel de la topoisomerasa Top3 en la prevención de la inestabilidad genética asociada a roturas en las horquillas de replicación

Resumen: Parte de la inestabilidad genética asociada a los procesos tumorales se genera durante la fase S como consecuencia de roturas de las horquillas de replicación ante diferentes tipos de estrés. Apenas conocemos los mecanismos que reparan las horquillas rotas y las consecuencias genéticas de una reparación defectuosa. Esto se debe fundamentalmente a la ausencia de sistemas in vivo que permitan inducir roturas en la horquilla de replicación. En nuestro grupo hemos generado en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* una estirpe que expresa una quimera de la subunidad mayor del complejo RPA con la nucleasa micrococcal (Rfa1-MN). RPA se une al DNA de cadena sencilla que se acumula en la horquilla de replicación. Hemos demostrado que estas células son funcionales en replicación y reparación, pero requieren la maquinaria de recombinación homóloga (HR) para ser viables. Estos datos indican que la quimera introduce roturas de doble cadena (DSB) en la horquilla que son reparadas por HR. Hemos utilizado este sistema para buscar genes implicados en la reparación de horquillas de replicación rotas, identificando 50 genes, cuya caracterización genética ha sido recientemente publicada (1) y donde se resalta la importancia del proceso de replicación inducida por corte (BIR). Entre los factores identificados destaca Top3, una topoisomerasa que participa con la helicasa Sgs1 en la disolución de estructuras de Holiday durante la HR. Sin embargo, el papel de Top3 en el rescate de horquillas rotas es independiente de Sgs1. In vitro, Top3 es capaz de desestabilizar las estructuras D-loop que inician la HR. Dado que la HR es esencial para el rescate de las horquillas rotas, nuestra hipótesis es que Top3 sería necesario para evitar que se produzcan cambios de molde durante el proceso de BIR. Se ha propuesto que estos cambios de molde serían responsables de parte de la inestabilidad genética asociada al cáncer. Para caracterizar Top3 se utilizará tanto el ensayo con Rfa1-MN como ensayos con mutantes de Cas9 que permiten inducir un corte de cadena sencilla en el ADN que se convierte en un DSB cuando se lo encuentra la horquilla de replicación. La alta frecuencia de este tipo de eventos permitirá no sólo realizar ensayos funcionales sino también moleculares para analizar la acumulación de intermediarios de replicación y recombinación. Este proyecto permitirá al estudiante familiarizarse con los procesos que controlan la integridad genómica y el ciclo celular, así como con diferentes ensayos genéticos, bioquímicos y moleculares conceptualmente válidos para cualquier organismo modelo desde levaduras a humanos, esenciales para entender los mecanismos que protegen al genoma de los reordenamientos deletéreos asociados a enfermedades genéticas y cáncer.

1. Ana Amiama-Roig, Marta Barrientos-Moreno et al. A Rfa1-MN-based system reveals new factors involved in the rescue of broken replication forks. *PLoS Genet* 21(4): e1011405. (2025)

Director: Mario García Domínguez

Email: mario.garcia@cabimer.es

Título: Función del modificador postraduccional de proteínas SUMO en viabilidad celular y diferenciación: implicaciones en cáncer.

Resumen: Miles de proteínas se modifican postraduccionalmente por unión covalente del polipéptido SUMO, similar a la ubiquitina, en un proceso conocido como sumoilación. La sumoilación modula la función o propiedades de las proteínas diana. Esta

modificación regula la mayoría de procesos celulares relevantes y es esencial en vertebrados, ya que su bloqueo conduce a letalidad en estado embrionario. En nuestro grupo estudiamos la función de esta modificación sobre la viabilidad celular y la diferenciación, procesos estrechamente ligados al cáncer cuando se encuentran desregulados. En este contexto, hemos realizado varios estudios proteicos, tanto en condiciones de diferenciación como en condiciones que comprometen la viabilidad celular, como es la falta de oxígeno y glucosa, muy típico del interior de tumores sólidos. Hemos identificado cientos de proteínas sujetas a variaciones en el estado de modificación por SUMO durante estos procesos que estamos investigando para entender, y poder manipular terapéuticamente, cómo SUMO participa en el establecimiento de distintos programas de diferenciación y en la toma de decisión entre sobrevivir o inducir procesos de muerte celular programada en condiciones deletéreas. Para ello contamos con modelos celulares de diferenciación y de distintos tipos de cáncer, así como con modelos embrionarios, sobre los que aplicamos diversas técnicas de biología celular y molecular, así como estudios proteómicos, transcriptómicos y genómicos.

Director: Vivian Capilla González

Email: vivian.capilla@cabimer.es

Título: Estudio de estrategias terapéuticas frente a la radioterapia en el cáncer cerebral infantil.

Resumen: Los tumores cerebrales son los tumores sólidos más comunes en los niños y representan la segunda causa de mortalidad por cáncer. Los últimos avances en diagnóstico y tratamientos han mejorado las tasas de supervivencia en estos pacientes. Sin embargo, la recurrencia y los efectos secundarios de los tratamientos oncológicos siguen afectando la salud y calidad de vida de muchos niños que sufren esta enfermedad. En este proyecto, el candidato investigará cómo las terapias avanzadas con células madre pueden ayudar a minimizar las secuelas neurológicas de la radiación. Para ello, el estudiante se formará en el desarrollo de modelos de relevancia clínica (organoides cerebrales, ratones PDX), así como en el uso de técnicas de cultivo (iPSC, células madre mesenquimales, microglia, etc) y técnicas de biología molecular y celular (citotoxicidad, inmunofluorescencia, citometría de flujo, transwell assay, RT-PCR, western blot, etc). Este plan formativo permitirá avanzar en el conocimiento de la biología de las células madre y evaluar su potencial terapéutico en el área del cáncer cerebral. El candidato se formará en un entorno dinámico y participará en las reuniones semanales del grupo de investigación para discutir los resultados obtenidos, en la redacción de informes y en actividades de difusión de resultados. Para más información del proyecto, no dude en ponerse en contacto con la directora del proyecto o visitar la web del grupo: <https://www.cabimer.es/en/research-groups/stem-cells-and-translational-neurology/>

Director: Néstor García Rodríguez

Email: nestor.garcia@cabimer.es

Título: Nuevos factores involucrados en el procesamiento de fragmentos de ADN monocatenario y su relevancia en cáncer.

Resumen: En nuestro laboratorio, ubicado en el Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER), investigamos cómo las células humanas responden al daño en el ADN durante el proceso de replicación, un mecanismo crucial cuya alteración está estrechamente relacionada con enfermedades como el cáncer.

Una de las respuestas celulares ante este daño consiste en continuar la síntesis de ADN más allá de la lesión, dejando atrás huecos de ADN monocatenario. Mediante un screening genético, hemos identificado nuevos factores que potencialmente participan en el procesamiento de estos huecos. El objetivo de este TFM será profundizar en la caracterización funcional de estos factores utilizando técnicas avanzadas de biología molecular, cultivo celular y microscopía, entre otras metodologías punteras.

Director: Iván Valle Rosado

Email: ivrosado@us.es; ivan.valle@cabimer.es

Título: Conexión entre el daño en el DNA, la replicación y el desarrollo de tumores.

Resumen: El ADN es el responsable del almacenamiento y transmisión de la información genética necesaria para la vida, por tanto, es de vital importancia llevar a cabo un correcto proceso de replicación del mismo. El enlentecimiento de la horquilla de replicación en respuesta a daños en el ADN se conoce como “estrés replicativo”. En situaciones de estrés replicativo, la ruta Anemia de Fanconi (AF) interviene previniendo la inestabilidad del genoma y la letalidad celular. Nuestro grupo investiga como la inserción de bases dañadas en el DNA dispara un proceso de reparación que puede ser potencialmente tóxico a consecuencia de la acumulación de huecos de DNA de cadena sencilla. Investigaremos este proceso a nivel molecular y estudiaremos su implicación en la generación de tumores en modelos murinos.

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, Péli-Gulli MP, Fernández-García E, Tomé 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.

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/>

Título: 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 treatment.

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

Director: Alejandro Martín-Montalvo

Email: 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 en roedores. Realizaremos experimentación in vivo con roedores y experimentación mecánica usando tejidos de animales. Para ello, realizaremos experimentos de genómica (RNA-seq), proteómica (label free) 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 asociados con enfermedades neurodegenerativas.

Director: Alejandro Martín-Montalvo

Email: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Título del proyecto: Fundamentos básicos y traslacionales de nuevas modificaciones postraduccionales 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 desarrollo y progresión de cáncer. La experimentación se realizará estudiando tejidos de ratones en un modelo experimental de cáncer de hígado que han sido tratados con una nueva terapia experimental. Entre otras técnicas de biología molecular realizaremos RNAseq, ChiIP-seq, inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA.

Director: Cristina González Aguilera

Email: cristina.gonzalez@cabimer.es

Título: Replicación del ADN y plasticidad tumoral. Búsqueda de nuevas estrategias terapéuticas.

Resumen: Los tumores se caracterizan por sufrir procesos de desdiferenciación celular que los hacen más propensos a formar metástasis y desarrollar resistencias a los tratamientos. Aunque aún desconocemos en detalle los mecanismos detrás esos cambios de identidad celular, las evidencias apuntan a alteraciones en los patrones epigenético y en las isoformas génicas expresadas por las células tumorales.

En nuestro laboratorio hemos desarrollado una técnica genómica innovadora que ha revelado cómo la replicación del ADN juega un papel clave en estos cambios epigenéticos y de isoformas. Como estudiante de este trabajo de fin de Máster, tendrás oportunidad de trabajar con cultivos celulares humanos, aplicar técnicas de biología molecular y genéticas de última generación y utilizar herramientas bioinformáticas avanzadas para caracterizar los patrones transcripcionales y de isoformas generadas tras la replicación en células tumorales.

Nuestro objetivo es identificar nuevos biomarcadores con valor clínico y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas más eficaces y con menos efectos secundarios. Todo ello, en el marco de un proyecto que estudia un aspecto inexplorado del cáncer desde un abordaje innovador y el uso de técnicas de vanguardia.

Director: Patricia Altea Manzano

Email: patricia.altea@cabimer.es

Título: Caracterización del papel de la palmitoilación en cáncer de mama metastásico

Resumen: La metástasis, principal causa de muerte en pacientes con cáncer, se ha convertido en un área crucial de investigación. Entender los mecanismos por los cuales las células tumorales se adaptan y colonizan diferentes órganos es fundamental para abordar con éxito esta enfermedad. Nuestro grupo se centra en entender la adaptación del metabolismo celular de las células metastásicas de mama cuando colonizan el pulmón y el hígado. En concreto hemos descubierto que el ácido graso palmitato, que se encuentra en altas cantidades en pulmón e hígado, tiene un efecto pro-metastásico único en comparación con otros ácidos grasos con roles metabólicos similares. Este papel único en la metástasis está vinculado a la capacidad del palmitato de unirse a proteínas oncogénicas en una modificación postraduccional llamada palmitoilación. Hemos descubierto que una las enzimas involucradas en la palmitoilación es crucial para el crecimiento de la metástasis en los órganos donde el palmitato es abundante. En este proyecto, se propone estudiar el papel de esta enzima en la metástasis mamaria, centrándose en qué proteínas son *targets* de esta enzima y son reguladas por palmitoilación, y su papel en la señalización celular. Para ello, seleccionaremos el mejor *target* candidato de un análisis de proteómica ya realizado en el laboratorio donde se han identificado los principales *targets* de la palmitoilación, y llevaremos a cabo los siguientes objetivos: 1) Silenciar la expresión del gen *target* candidato en líneas celulares de cáncer de mama utilizando CRISPR-Cas9 y estudiar el efecto en cultivos 3D; (2) sobreexpresar el candidato en líneas celulares de cáncer de mama utilizando CRISPR-Cas9 y estudiar el efecto en cultivos 3D; (3) estudiar los cambios en la localización y función de la proteína *target* candidata en presencia o ausencia de palmitato utilizando inmunofluorescencia y microscopia confocal. Con ello, pretendemos definir el papel del *target* candidato mediado por la palmitoilación en las células de mama metastásicas.

Director: Fernando Monje Casas

Email: 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 una división asimétrica es imprescindible que el huso mitótico, un haz bipolar de microtúbulos que permite la segregación de los cromosomas, se alinee a lo largo de un eje de polaridad pre-establecido. Dicha orientación paralela al eje de polaridad hace que el huso sea utilizado adicionalmente por las células para facilitar un reparto diferencial de componentes celulares durante la mitosis. De hecho, un fenómeno particularmente interesante que se ha descrito durante algunas divisiones asimétricas es la distribución no aleatoria de los propios centros organizadores de microtúbulos (MTOCs) que orquestan la formación del huso. La herencia asimétrica de los MTOCs del huso, denominados centrosomas en eucariotas superiores, es un proceso conservado evolutivamente. 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. En concreto, nuestros resultados demuestran que la herencia asimétrica de los MTOCs permite una distribución diferencial de ciertas moléculas y orgánulos celulares dañados entre la célula madre y la célula hija durante

mitosis. Estas observaciones abren la puerta al descubrimiento de nuevos procesos que podrían contribuir al mantenimiento del potencial replicativo de las células madre y cuya disfunción podría estar relacionada con la patogénesis de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como el cáncer o ciertos síndromes neurodegenerativos. El trabajo a desarrollar por el estudiante, con el que podrá aprender y aplicar diversas técnicas avanzadas de Biología Celular y Molecular, se enmarcará dentro de esta novedosa línea de investigación de nuestro laboratorio.