



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** STRACKER , TRAVIS

**Referencia:** RYC-2009-05069

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** travis.stracker@irbbarcelona.org

**Título:**

Función de la respuesta celular al daño del ADN (DDR) en la supresión

**Resumen de la Memoria:**

La respuesta celular al daño del ADN (DDR, del inglés DNA damage response) desempeña un papel clave en la represión de la tumorigénesis orquestando programas celulares que son esenciales para mantener la estabilidad de los cromosomas. La rotura de doble cadena en el ADN (DSBs, double strand breaks) es una de las lesiones más relevantes ya que puede llevar a la muerte celular o a lesiones cromosómicas oncogénicas si no es reparada apropiadamente. El DSBs desencadena una variedad de respuestas celulares que son críticas para la estabilidad genómica y para la prevención de translocaciones oncogénicas cromosómicas, incluyendo el control de la detención del ciclo celular, la reparación del ADN, y la apoptosis. La investigación sobre señalización controlada por el DDR y las consecuencias en vivo de su perturbación puede ser decisiva para entender la etiología del cáncer y mejorar su tratamiento. El objetivo de mi investigación es dilucidar las vías de señalización que operan en la DDR relacionadas con la apoptosis así como arrojar luz sobre el diálogo entre el DDR y las proteínas modificadoras de la cromatina que regulan diversos aspectos clave del DDR. Mi propuesta de investigación se centrará en las rutas de señalización que controlan la actividad del gen supresor de tumores p53 durante la apoptosis, así como de la quinasa de respuesta al daño en DNA TLK1, que a su vez contribuye a las modificaciones de la cromatina asociadas al DDR. También caracterizaré las rutas de señalización que regulan la actividad de la quinasa CHK2 y determinaré su papel en la estabilización de p53 y en la supresión tumoral mediante aproximación proteómica y también el uso de modelos animales. Dado que muchos aspectos de la señalización por DDR, incluyendo la apoptosis, dependen de cambios en la cromatina, pretendo investigar la acción de la quinasa TLK1 sobre los complejos de remodelación de histonas. En conjunto estas líneas de investigación complementarias aportarán nueva información para entender procesos fundamentales para la supresión de ciertas enfermedades como en el cáncer

**Resumen del Curriculum Vitae:**

As an undergraduate in Genetics and Entomology at the University of Georgia, I gained research experience in two laboratories. In the laboratories of John McDonald and Mark Brown, I studied the evolution of promoter sequences catalyzed by retrotransposons and the control of mosquito host-seeking behavior and reproduction by neuropeptides. These early experiences provided me with excellent training in molecular biology techniques, most prominently PCR, and computer assisted sequence analysis. I graduated with a PhD from the University of California, San Diego in Biology after performing doctoral thesis work in the laboratory of Matthew Weitzman at the Salk Institute for Biological Studies. My thesis work focused on the mechanism by which Adenovirus (Ad) and other DNA viruses created a permissive environment for the replication of the replication defective virus Adeno-associated virus (AAV). I discovered that an important aspect of Ad's helper activity was to inactivate the cellular Mre11-Rad50-Nbs1 (MRN) complex that was involved in DNA repair and damage signaling. I showed that Ad encoded 2 activities to inactivate MRN and used these viral proteins to assess the role of the MRN complex in signaling after radiation. We found that MRN was required for ATM activation, one of the earliest steps in the transduction of the damage signal, and the activation of the G2/M checkpoint. These experiences introduced me to the field of DNA damage signaling and allowed me to gain expertise in the production and use of both wild type and vector viruses. To pursue my interest in the MRN complex, I joined John Petrini's laboratory as a postdoctoral researcher. There I have used mouse models of human genetic instability syndromes that result from hypomorphic mutations in either Mre11 or Nbs1. Using a genetic approach, I have found unexpectedly that MRN signals in parallel to the Chk2 kinase during apoptosis and I have identified 2 steps during the apoptotic signaling process where the activities of MRN are crucial. This represents some of the first evidence that MRN is required for apoptosis and influences p53 signaling in multiple ways. I have also characterized the synthetic lethal interactions between the DNA-PKcs repair protein and MRN and found evidence for a novel, Artemis independent influence of DNA-PKcs on chromosome stability when MRN functions are compromised. These interactions have potential applications for chemotherapy as small molecule inhibitors are being developed for both MRN and DNA-PKcs. My diverse research experiences in prominent research centers has allowed me to learn a wide variety of techniques including biochemistry, molecular biology, the production and use of vector viruses, primary cell culture, the design and production of mouse models, and the phenotypic and genetic analysis of laboratory mice. My work as both a graduate student and a postdoc has been published in many high impact journals including Nature, Molecular Cell, Genes and Development, and the EMBO Journal and I have been invited to present my work to large audiences at international meetings. My rich skill set and experience in communicating my results makes me highly qualified to carry out future research lines that will further analyze the mechanisms by which the DNA damage response functions to suppress chromosome stability and tumorigenesis.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** SADQI, MOURAD

**Referencia:** RYC-2009-04110

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** msadqi@cib.csic.es

**Título:**

Biofísica de proteínas: Estudio de plegamiento, estructura y función

**Resumen de la Memoria:**

El plegamiento de las proteínas es el proceso por el cual las proteínas se pliegan en estados altamente estructurados y funcionales que vienen determinados por su secuencia de aminoácidos. Este proceso es quizás el caso más simple de auto-organización biológica y uno de los problemas fundamentales todavía sin resolver de la bioquímica moderna. El objetivo fundamental de mis intereses científicos actuales es extender el análisis 'átomo por átomo' por RMN utilizado originalmente para el análisis del plegamiento 'downhill' de la proteína BBL (M. Sadqi, D. Fushman & V. Muñoz, Nature, 2006, 442, 317-321), a otros escenarios de plegamiento. En particular, el primer objetivo es aplicarlo al estudio del plegamiento rápido de proteínas que todavía se pliegan a través de una barrera (aunque pequeña). El homodominio engrailed es un candidato potencial cuyo mecanismo de plegamiento será estudiado. El segundo objetivo será explorar la viabilidad de extender esta aproximación al estudio de proteínas que se pliegan de manera cooperativa a través de barreras grandes (es decir, que siguen el modelo de 'dos estados'). El dominio SH3 de alfa-espectrina es una de esas proteínas. De estos estudios se espera obtener información esencial para la comprensión del origen de la cooperatividad de plegamiento y su conexión con la estructura de proteínas y su secuencia. Además, aplicando este método a otras proteínas será posible obtener mapas detallados de los patrones de interacción que estabilizan las diversas estructuras nativas de las proteínas. Esta información es crucial para racionalizar los principios físicos que controlan la energética y plegamiento de proteínas, así como para proporcionar puntos de referencia para simulaciones sofisticadas por ordenador de los procesos de plegamiento de proteínas en un futuro.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

El solicitante, Mourad Sadqi, realizó su tesis doctoral (1994-2000) en la Universidad de Granada, basada en el estudio termodinámico de los estados parcialmente plegados del dominio SH3 de alfa-espectrina por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y otras técnicas biofísicas. El proyecto de la tesis fue desarrollado en colaboración con 'The Johns Hopkins University'. Realizo una estancia postdoctoral (2001-2003) en la Universidad de Maryland, (EE.UU). Ha continuado como investigador contratado (2003-2007) con el grupo de investigación del Prof. Víctor Muñoz en el departamento de Química y Bioquímica de la Universidad de Maryland, College Park, (EE.UU). Durante su carrera científica el investigador se ha hecho experto en la espectroscopía de RMN multidimensional homo- y heteronuclear, así como en el uso de espectrómetros de alto campo (400, 500 y 600 MHz). Entre los conocimientos adquiridos se incluyen la adquisición, procesado, y análisis de datos, el cálculo de estructuras de proteínas, el análisis de la relajación magnética y su aplicación a la dinámica de las proteínas. Simultáneamente, ha adquirido experiencia en técnicas de biología molecular tales como la clonación y construcción de plasmidos y la expresión y purificación de proteínas utilizando diversas técnicas cromatográficas. El investigador ha adquirido también experiencia en otras técnicas biofísicas como el diámetro circular, la espectroscopía de fluorescencia combinada con la técnica de salto de temperatura por láser, la espectrofotometría de Infrarrojo y la espectroscopía de fuerza atómica. Las contribuciones científicas son 15 publicaciones en revistas internacionales en las cuales 11 figura como primer autor y entre las que destacan Sadqi et al., PNAS, 2009, aceptado para publicar, Sadqi et al., Nature, 2006 y Sadqi et al., PNAS, 2003. En otras 3 publicaciones el investigador figura como segundo autor, la más destacada García-Mira et al., Science, 2002. Por otro lado, el solicitante ha participado en 7 congresos internacionales de elevado interés científico, siendo el más reciente la presentación de sus avances científicos a la 'Gordon Research Conference in Protein Folding and Dynamics' (2008). Además, ha sido invitado por la 'University Maryland', la 'American University' y la 'International School of Structural Biology and Magnetic Resonance', para realizar presentaciones orales. Las contribuciones logradas en los últimos cuatro años demuestran claramente sus aptitudes para la dirección, organización y desarrollo de proyectos, incluyendo la concepción, diseño y desarrollo de proyectos novedosos en el campo de la biología estructural (estudio de los mecanismos de plegamiento y dinámica y estructura de la primera proteína que pliega 'downhill') que han sido publicadas en diversas publicaciones de gran prestigio científico. Así mismo, se ha encargado de la supervisión directa de dos estudiantes de doctorado en la Universidad de Maryland. Actualmente, el solicitante mantiene una relación laboral con el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), a través del programa 'Marie Curie Actions', asociado al proyecto 'Estudio computacional y experimental del plegamiento de proteínas, estructura, función y agregación'.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** VALLE VELASCO, LAURA

**Referencia:** RYC-2009-04284

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** lvalle@iconcologia.net

**Título:**

MicroRNAs en la susceptibilidad al cáncer colorrectal esporádico y familiar

**Resumen de la Memoria:**

Antecedentes: Gran parte de la predisposición genética al cáncer colorrectal (CCR) aún no se ha explicado molecularmente. Recientemente hemos observado que la expresión alelo-específica de TGFBR1 en línea germinal es un marcador de alto riesgo para CCR. Varios estudios han demostrado que la reducción parcial de la expresión puede tener efectos similares a la ausencia total de expresión. La reducción parcial de la expresión de un alelo sugiere la implicación de mecanismos reguladores. Los microRNAs (miRs) son genes reguladores de otros genes y numerosos estudios han mostrado su papel como genes supresores de tumores y oncogenes. Además, algunas variantes en sus secuencias o en las secuencias de reconocimiento en sus genes diana se han asociado a un riesgo incrementado a algunos tipos de tumores. Hipótesis de trabajo: Variaciones en línea germinal de genes reguladores no codificantes de proteínas, como los miRs, podrían ser responsables de las diferencias de expresión alélicas en línea germinal que se asocian a riesgos aumentados a desarrollar cáncer colorrectal. En particular exploraremos nuestra hipótesis estudiando la implicación de dichas variantes en la expresión alelo-específica de TGFBR1. Objetivos y metodología: Los objetivos principales de la investigación que se propone realizar en el marco de esta convocatoria son dos: 1) Estudiar el papel de la variabilidad germinal de los miRs en la predisposición al CCR esporádico y familiar, y 2) Estudiar la implicación de las variantes identificadas en miRs en la expresión específica de alelos del gen TGFBR1. Para el primer objetivo estudiaremos las diferencias en la expresión de miRs entre tejido tumoral y normal en CCR esporádico y familiar mediante microarrays de expresión de miRs, de donde seleccionaremos los genes miR candidatos para un posterior estudio en línea germinal. Se realizará un análisis mutacional y de expresión en línea germinal así como estudios funcionales para determinar sus efectos sobre los genes diana (secuenciación, RT-PCR cuantitativa, transfecciones y ensayos de luciferasa). Se evaluará la segregación con la enfermedad y la penetrancia de las variantes candidatas. Por último, estudiaremos la contribución de las variantes identificadas al riesgo individual y poblacional de CCR (estudios de asociación caso-control). Para el segundo objetivo, analizaremos la relación entre las variantes en miRs y la presencia de expresión alelo-específica en TGFBR1 (análisis de expresión de alelos mediante SNaPshot y estudios de asociación).

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Licenciada en Biología (1996-2000) y Bioquímica (1999-2001) por la Universidad de Navarra, recibí el premio extraordinario fin de carrera de Biología y una mención especial en los Premios Nacionales Fin de Carrera de Educación Universitaria en Bioquímica. Posteriormente me incorporé al Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) con una beca de Formación de Personal de Investigación de la Comunidad Autónoma de Madrid donde realicé el doctorado bajo la supervisión de los doctores Miguel Urioste y Javier Benítez en el programa de Genética del Cáncer Humano. Durante esta etapa adquirí una amplia experiencia en genética, epigenética y citogenética convencional y molecular de neoplasias hematológicas y tumores sólidos, en consejo genético en cáncer familiar, y en particular en genética del cáncer colorrectal. Obtuve el doctorado en Biología Molecular por la Universidad Autónoma de Madrid por la presentación de la tesis doctoral titulada: "Caracterización clínica, molecular e inmunofenotípica de pacientes con sospecha de síndrome de Lynch. Revisión de los criterios de selección de familias para la realización de las pruebas genéticas", por la que recibí el Premio Extraordinario de Doctorado en Biología del año 2006 por dicha universidad. Durante mi etapa predoctoral participé en trabajos que dieron lugar a doce artículos científicos, en seis de los cuales soy primera autora (Valle et al. J Clin Oncol 2004; Valle et al. Eur J Hum Genet 2005; Valle et al. Hematol Oncol 2006; Valle et al. J Clin Oncol 2007; Valle et al. J Clin Genet 2007; Valle Zeng et al. Cancer Res 2009; Valle et al. Enviado a J Clin Oncol), a una patente y a varias presentaciones como ponente invitada en congresos y universidades de relevancia internacional. Recientemente he sido elegida para formar parte del comité de evaluación de los trabajos presentados para la próxima reunión de la AACR (American Association of Cancer Research). En 2009 me incorporé como investigadora al Laboratorio de Investigación Translacional del Instituto Catalán de Oncología para continuar el trabajo de búsqueda de genes de susceptibilidad al cáncer colorrectal.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** SCHOBER, MARKUS

**Referencia:** RYC-2009-05520

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** schobem@rockefeller.edu

**Título:**

Function of TGF-beta Receptor, RAS and Integrin Signaling in the Development of Squamous Cell Carcinoma in the Skin Epithelium

**Resumen de la Memoria:**

My interest lies in understanding how pro- and anti proliferative signals balance one another during normal development and how their imbalance results in disease such as metastatic cancer. Focal adhesion kinase (FAK), a non receptor tyrosine kinase which associates with integrin mediated cell matrix adhesions, functions as an important transducer and integrator of integrin and receptor tyrosine kinase (RTK) signaling. Consistent with the function of integrins and RTKs in tumorigenesis, Fak expression is elevated in many tumors, including squamous cell carcinomas (SCCs) of the skin, and phospho-proteomic profiling of tumor cell lines identified FAK as the most commonly hyper-activated non receptor tyrosine kinase. My research revealed that FAK is hyper-activated in TGFβ receptor II (TβRII) mutant epidermal keratinocytes, which frequently develop into invasive SCCs. TβRII deficient keratinocytes are invasive and highly motile when compared to their WT counterparts and inhibition of FAK by a small molecule inhibitor reduces KO cell motility. I also generated conditional FAK KO mice and found that epidermal FAK, in contrast to integrins, is largely dispensable for skin development, but critical for cell migration, as well as the initiation and progression of tumors in a chemical tumorigenesis model. I have generated mice which are mutant for FAK, TβRII or both genes simultaneously in order to address 3 fundamental questions: (1) Is FAK function required for the development of Squamous Cell Carcinoma (SCC) in TβRII deficient skin and if so, (2) how does FAK become hyper-activated, and (3) how does hyper-active FAK promote tumorigenesis? A combinatorial approach which compares transcriptional and phospho-proteomic signatures of specific keratinocyte populations isolated from these mice will reveal a limited and therefore experimentally testable set of molecular pathways and target genes which control tumorigenesis in our model.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

My diploma thesis has been done in the laboratory of Dr. Juergen Knoblich at the IMP Vienna on asymmetric cell division of Drosophila neuroblasts. Supported by a fellowship from the Boehringer Ingelheim Fonds I conducted my graduate studies in the Laboratory of Dr. Norbert Perrimon at Harvard Medical School in Boston, where I studied processes regulating epithelial morphogenesis, cell polarity and invasive cell migration in Drosophila. I obtained my PhD from the University of Vienna in 2003. Afterwards, I joined the laboratory of Dr. Elaine Fuchs at Rockefeller University for my post doctoral training, where I study how cell signaling regulates tissue homeostasis and cytoskeletal dynamics in invasive cell migration. My post-doctoral training was supported by the Jane Coffin Childs Memorial Funds for Medical Research. My work has been published in prestigious journals: Schober, M., Schaefer, M., Knoblich, J.A. (1999). Nature 402, 548-551. Schober, M., Perrimon, N. (2002). Unconventional ways to travel. Nature Cell Biology 4, E211-E212. Hrdlicka, L., Gibson, M., Kiger, A., Micchelli, C., Schober, M., Schoeck, F., Perrimon, N. (2002). Genesis 34, 51-57. Bilder, D.\*, Schober, M.\*, Perrimon, N. (2003). Nature Cell Biology 5, 53-58. \* equal contribution Schober, M., Rebay, I. and Perrimon, N. (2005). Development 132, 3493-504. Schober, M., et al. (2006). J Cell Biol. 176:667-80. Guasch, G., Schober, M., et al. (2007). Cancer Cell 12 (4). Greco V, Chen T, Rendl M, Schober M, Pasolli HA, Stokes N, dela Cruz-Racelis, Fuchs E. (2009). Cell Stem Cell 4(2), 155-169.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** CARVALHO, PEDRO

**Referencia:** RYC-2009-04931

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** pedro\_carvalho@hms.harvard.edu

**Título:**

molecular mechanisms governing endoplasmic reticulum homeostasis

**Resumen de la Memoria:**

REPORT SUMMARY The endoplasmic reticulum (ER) is the primary site for the biogenesis of membrane and secretory proteins. Depending on the type, developmental stage or environmental condition, cells have different protein production needs. ER homeostasis is maintained by adjusting ER processing capacity to cellular protein production demand. When such adaptation mechanisms are defective, misfolded proteins accumulate in the ER, a condition known as ER stress that is frequent in many cancers. One important mechanism to protect cells from ER stress is the ER-associated protein degradation (or ERAD). In ERAD, misfolded proteins in the lumen or membrane of the ER are moved across the ER membrane by an unknown mechanism, polyubiquitylated and finally released in the cytosol for proteasomal degradation. I recently identified two conserved ubiquitin-ligase complexes required for the degradation of different classes of misfolded ER proteins in *S. cerevisiae*: the Doa10 complex, required for the degradation of ER proteins with cytosolic misfolded domains and the Hrd1 complex required for the degradation of proteins with misfolded domain in the lumen or membrane of the ER. I am currently developing biochemical and genetic assays that in the future will allow addressing the following unresolved key issues: 1) Biochemical characterization of the Doa10 and Hrd1 complexes; 2) mapping the interactions of substrates along the ERAD pathway, including the identification of the putative protein-conducting channel used in ERAD; 3) reconstitution of the multiple steps of the ERAD pathway in vitro. In the long term these studies will allow a mechanistic understanding of the ERAD pathway and might offer ways to effective and specifically modulate ER stress in cells.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Name: Pedro Carvalho, PhD; Nationality: Portuguese; Current Address: Harvard Medical School; Department of Cell Biology; 240 Longwood Ave, Boston, MA 02115; USA; pedro\_carvalho@hms.harvard.edu; Academic Background: 1993-1998, Biochemistry degree at Faculty of Sciences and Technology, University of Coimbra, Portugal; 1999-2005, PhD in Biological sciences at University of Porto, Portugal / Dana Farber Cancer Institute, Boston, USA; 2005-present, Post-Doctoral Fellow at Harvard Medical School, Boston, USA Past Scientific Experience: 1997-1998, Undergraduate Research Student at Center for Neuroscience and Cell Biology, University of Coimbra, Portugal; 1998- 1999, Research Assistant at Institute for Molecular and Cell Biology, Porto, Portugal; 2000-2005, Graduate Student at Dana Farber Cancer Institute, Boston, USA; 2005-present, Post-Doctoral Fellow at Harvard Medical School, Boston, USA Awards December 2003, Travel scholarship from Luso-American Foundation (Portugal) to participate in the 43rd ASCB Annual meeting; 2005-2008, Fellow of The Jane Coffin Childs Memorial Fund for Medical Research; February 2006, Keystone Symposia scholarship winner; February 2007 Keystone Symposia scholarship winner; 2008- present, Special Fellow Award from The Leukemia and Lymphoma Society Publications: (1) Queiroz-Machado J, Perdigo J, Simoes-Carvalho P, Herrmann S, Sunkel CE., Chromosoma. 2001 Apr;110(1):10-23; (2) Lin H\*, Carvalho P\*, Kho D, Tai C, Pierre P, Fink GR, Pellman D., J Cell Biol. 2001 Dec 24;155(7):1173-84; \*equal contribution; (3) Sheeman B, Carvalho P, Sagot I, Geiser J, Kho D, Hoyt MA, Pellman D., Curr Biol. 2003 Mar 4;13(5):364-72.; (4) Carvalho P, Tirnauer JS, Pellman D., Trends Cell Biol. 2003 May;13(5):229-37.; (5) Podar K, Catley LP, Tai YT, Shringarpure R, Carvalho P, Hayashi T, Burger R, Schlossman RL, Richardson PG, Pandite LN, Kumar R, Hideshima T, Chauhan D, Anderson KC., Blood. 2004 May 1;103(9):3474-9.; (6) Carvalho P, Gupta Jr ML, Hoyt MA, Pellman D., Dev Cell. 2004 Jun;6(6):815-29.; (7) Carvalho P, Pellman D., Curr Biol. 2004 Sep 21;14(18):R748-50.; (8) Carvalho P, Goder V, Rapoport TA. Cell. 2006 Jul 28;126(2):361-73.; (9) Gupta ML Jr, Carvalho P, Roof DM, Pellman D., Nat Cell Biol. 2006 Sep;8(9):913-23.; (10) Goder V, Carvalho P, Rapoport TA. FEBS Lett. 2008 May 14;582(11):1575-80.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** SABIO BUZO, GUADALUPE

**Referencia:** RYC-2009-04972

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** guadalupe.sabio@umassmed.edu

**Título:**

Papel de la obesidad en el desarrollo del cáncer hepático.

**Resumen de la Memoria:**

La obesidad se asocia a un aumento en la aparición de tumores epiteliales como pueda ser el caso del cáncer hepático. Sin embargo, no se conoce si la obesidad incrementa el riesgo de cáncer hepático al promover la cirrosis, un factor de riesgo para este tipo de cáncer, o mediante otro mecanismo independiente de la cirrosis. De hecho, la obesidad está asociada a un estado de inflamación crónica en el que existe un aumento de la secreción de citoquinas, como la interleuquinina IL6 y el factor de necrosis tumoral TNF $\alpha$ , las cuales están implicadas en el desarrollo del cáncer hepático. Por otro lado, los altos niveles de ácidos grasos en la sangre van a activar en el hígado la transcripción de genes requeridos en la  $\beta$ -oxidación. El aumento en la  $\beta$ -oxidación puede causar estrés oxidativo, inflamación y la producción de bioproductos resultantes de la oxidación, algunos de los resultan ser mutagénicos. Además, la hiperinsulinemia observada en personas obesas se considera un factor que contribuiría al desarrollo del cáncer. El objetivo del proyecto es estudiar cómo los diferentes componentes asociados a la obesidad (inflamación, esteatosis, hiperinsulinemia y regulación génica mediante microARN) podrían afectar al desarrollo del cáncer hepático. Para su abordaje, utilizaremos los siguientes tipos de ratones en los cuales uno o más de estos procesos permanece inalterado al inducir la enfermedad: 1. MKK3 $^{-/-}$ /MKK6 $^{+/-}$ , los cuales tras dietas carentes en metionina y colina desarrollan esteatohepatitis pero no se induce el aumento de IL6. 2. p38 $\delta$ , que presentan protección contra la pancreatitis inducida por la ingestión de grasas. 3. JNK1 condicional en tejido adiposo que mantienen bajos los niveles de IL6 y no desarrollan esteatohepatitis tras la administración de grasas. Por último estudiaremos si los microARN regulados en el hígado por el consumo de dietas ricas en grasas podrían estar implicados en el desarrollo de cáncer hepático.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

1995-2000. Licenciada en Veterinaria. 2001. Grado de Licenciado: Mutante E256Q de la arginasa humana: Estudio de su papel en la estabilidad y estructura de la enzima. Dep. de Bioquímica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Extremadura. Francisco Centeno Marzo 2005. Doctorado Europeo en la Universidad de Extremadura y MRC Phosphorylation Unit, Dundee, Escocia. Título: Estudio de la interacción de la SAPK3 con proteínas que contienen dominios PDZ. Director: Dr Ana Cuenda. 2005. Investigador Postdoctoral HHMI. (Dr Roger Davis, lab) Alumno Distinguido y Premio Fin de Carrera de la Universidad de Extremadura (2000). Premio extraordinario de Licenciatura (2001) y Premio Extraordinario de Doctorado de la Universidad de Extremadura. G. Sabio, A. Mora, M. del A. Rangel, A. Quesada, C. F. Marcos, J. C. Alonso 380(Pt 1):19-30. G. Sabio, S. Arthur, Y. Kuma, M. Peggie, J. Carr, V. Murray-Tait, F. Centeno, M. Goedert, N.A. Morrice y A. Cuenda. p38g regulates the localisation of SAP97 in the cytoskeleton by modulating its interaction with GKAP. EMBO J. 2005 Mar 23;24(6):1134-45. Y. Kuma, G. Sabio, J. Bain, N. Shpiro, R. Márquez y A. Cuenda. BIRB0796 inhibits all p38MAPK isoforms in vitro and in vivo. J Biol Chem. 2005 May 20;280(20):19472-9. L. D. Costanzo, G. Sabio, A. Mora, N.E. King, N. Zimmermann, M. E. Rothenberg, F. Centeno, and D. W. Christianson. Crystal Structure of Human Arginase I and Exploration of Inhibition in Asthma Pathology. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2005 Sep 13;102(37):13058-63. Thornton TM, Pedraza-Alva G, Deng B, Wood CD, Aronshtam A, Clements JL, Sabio G, Davis RJ, Matthews DE, Doble B, Rincon M. Phosphorylation by p38 MAPK as an alternative pathway for GSK3beta inactivation. Science. 2008 May 2;320(5876):667-70. F. Iñesta Vaquera, G. Sabio, Y. Kuma and A. Cuenda. Alternative p38 pathways. Topics in Current Genomics Vol 20. Stress Activated protein Kinases I August 2007. G. Sabio, M. Das, A. Mora, Z. Zhang, J. Y. Jun, H. Jin, K. T. Barrett, J. K. Kim, and R. J. Davis. A Stress Signaling Pathway in Adipose Tissue Regulates Hepatic Insulin Resistance. Science 2008 Dec 5;322(5907):1539-43. M. Das, G. Sabio, F. Jiang, M. Rincón, R. A. Flavell and R. J. Davis. Induction of hepatitis by JNK-mediated expression of TNF $\alpha$ . Cell 2009 Jan 23;136(2):249-60. Iñesta-Vaquera, F.; Centeno, F.; del Reino, P.; Sabio, G.; Peggie, M.; Cuenda, A. Proteolysis of the tumor suppressor hDlg in response to osmotic stress is mediated by caspases and independent of phosphorylation. FEBS Journ



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** INIESTA MARTINEZ, ANTONIO ANGEL

**Referencia:** RYC-2009-04190

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** ainiesta@stanford.edu

**Título:**

Segregación y organización del cromosoma bacteriano

**Resumen de la Memoria:**

El principal objetivo de este proyecto científico es entender las claves de la segregación y organización del cromosoma bacteriano. El cromosoma de bacterias tiene una organización espacial determinada y no se encuentra distribuido al azar dentro de la célula. Por ejemplo, el origen y el término de la replicación se encuentran de manera consistente en posiciones definidas en el citoplasma, con el origen orientado hacia uno de los polos y el término posicionado en el polo opuesto, o con ambos loci orientados en la mitad de la célula. *Myxococcus xanthus* es un interesante modelo para el estudio de la organización y la segregación del cromosoma por varias razones. Primero, contiene uno de los mayores cromosomas del mundo procarionota, y su estudio enriquecerá el conocimiento de lo que ya se sabe en la actualidad por estudios realizados en bacterias con cromosomas de tamaño dos veces menor. Segundo, *Myxococcus* sufre un proceso de diferenciación, en condiciones de escasez de nutrientes, dando lugar a una myxospora de resistencia que tiene dos cromosomas en vez de uno. Por lo tanto, *Myxococcus* proporciona un nuevo sistema para el estudio de la estructura y organización del cromosoma durante la transición de células de crecimiento vegetativo a myxospora, y en la myxospora misma. Tercero, en el proceso de germinación de la myxospora diploide, ambos cromosomas deben segregarse sin que les preceda un proceso de replicación, un fenómeno que no ha sido descrito en ningún otro modelo bacteriano. La disociación de estos dos procesos, replicación y segregación del DNA, es muy importante porque proporciona un nuevo marco de estudio que ampliará nuestro conocimiento sobre la segregación del cromosoma en bacterias. Mis objetivos específicos son estudiar: ¿Cómo un cromosoma de gran tamaño está organizado tanto en células vegetativas como en myxosporas? ¿Cómo el cromosoma de *Myxococcus* se segrega durante, y en ausencia de la replicación del DNA (durante el proceso de germinación de la myxospora)? ¿Qué dirige la segregación del cromosoma durante la replicación del DNA, y durante la germinación de la myxospora?

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Obtuve el título de Licenciado en Ciencias Biológicas en la Universidad de Murcia en el año 1996. Realicé la Tesis de Licenciatura sobre el estudio endocrino de peces teleosteos en el Departamento de Biología Celular de la Universidad de Murcia, con una estancia de varios meses en la Universidad de Utrecht (Holanda). En toda esta etapa adquirí conocimientos sobre biología celular y fisiología animal, y aprendí técnicas de microscopía óptica y electrónica, bioquímicas, citológicas, histológicas, y de radio inmunoensayo. Posteriormente me incorporé al Departamento de Genética y Microbiología de la Universidad de Murcia donde realicé la Tesis Doctoral en el año 2003, sobre el estudio de genes carotenogénicos de *Myxococcus xanthus*. Durante el desarrollo de mi Tesis Doctoral, mejoré ampliamente mis habilidades en diferentes técnicas bioquímicas, de biología molecular, genéticas y microbiológicas. Durante toda mi estancia en la Universidad de Murcia, asistí a varios congresos de ámbito nacional e internacional, participé en varios proyectos de investigación, y publiqué dos artículos. Un artículo en la revista FEBS Journal, del cual soy primer autor y "coautor de correspondencia", y otro artículo en Applied Microbiology and Biotechnology, del que también soy primer autor y único "autor de correspondencia". Posteriormente fui a la Universidad de Stanford a trabajar con la Profesora Lucy Shapiro en el Departamento de Biología del Desarrollo. Estuve trabajando en su grupo durante 4 años como postdoc, y actualmente llevo 1 año trabajando como investigador asociado. En este tiempo he estado estudiando y descubriendo importantes aspectos sobre la regulación del ciclo celular en la bacteria *Caulobacter crescentus*, a nivel genético, molecular, y celular. Además de perfeccionar y adquirir nuevas técnicas de microscopía, biología celular, bioquímica, genética, y biología molecular, aprendí aspectos importantes sobre el ciclo celular bacteriano, organización y segregación del cromosoma, replicación del DNA, división celular, citoesqueleto bacteriano, sistemas de transducción basados en cascadas de fosforilación, proteólisis, localización de proteínas, diferenciación celular, etc. En este periodo, sin duda, enriquecedor y productivo, publiqué varios artículos en revistas muy prestigiosas. Como primer autor he publicado un artículo en la revista Cell (índice de impacto 29.9), y dos en la revista Proceeding of the National Academy of Science of USA (índice de impacto 9.6). Además de participar en otros artículos publicados en Nature and Biotechnology (índice de impacto 22.9), Nucleic Acids Research (índice de impacto 7.0), y Journal of Cell Science (índice de impacto 6.4). He ejercido como "referee" en revistas como Journal of Bacteriology and FEBS Journal. Además, en la Universidad de Stanford, estoy codirigiendo los estudios de Tesis Doctoral a un estudiante de Doctorado. En resumen, yo creo que mi curriculum profesional se adapta notablemente al esperado de un científico con una buena progresión y con capacidad para el desarrollo de la línea de investigación propuesta.



Nombre: HUERTAS SANCHEZ, PABLO

Referencia: RYC-2009-04141

Area: Biología Molecular, Celular y Genética

Correo electrónico: ph321@cam.ac.uk

**Título:**

Relación de la respuesta al daño en el DNA y el ciclo celular

**Resumen de la Memoria:**

El modo en el que las células reaccionan ante una lesión en el DNA es clave no sólo para asegurar la viabilidad celular, ya que en eucariotas superiores la correcta respuesta es esencial para el desarrollo embrionario o para evitar la aparición de diversas enfermedades hereditarias, como la predisposición al cáncer, enfermedades neurodegenerativas o ciertos tipos de enanismo. La respuesta al daño en el DNA es doble: por un lado, debe asegurar la reparación y por otro debe coordinar el metabolismo celular, desde la progresión en el ciclo celular hasta la necesidad de activar o no las rutas de muerte celular programada, mediante la activación de rutas de señalización denominadas  $\zeta$ checkpoints $\zeta$ . Mi objetivo es entender cómo las células eucarióticas, en concreto las células humanas, reaccionan cuando su DNA está dañado en relación a su posición en el ciclo celular, ya sea la fase G1, S o G2, como en fase estacionaria. La situación en el ciclo es clave en la decisión de qué  $\zeta$ checkpoint $\zeta$  es activado, el de G1/S, el de intra-S o el de G2/M, y cada uno de ellos tiene consecuencias diferentes para el futuro celular. Además, la posición en el ciclo celular va a determinar la fidelidad del proceso de reparación. El estudio de esta relación puede ser importante para entender por qué se produce predisposición al cáncer o defectos en el desarrollo embrionario en pacientes portadores de diversas mutaciones en las rutas de  $\zeta$ checkpoint $\zeta$  o en las rutas de reparación del DNA, y además puede ayudar a desarrollar nuevos tratamientos para alguna de estas enfermedades. Por ejemplo, múltiples tratamientos anticancerígenos se basan en dañar selectivamente el DNA, por lo que podrían potenciarse si se entendiera mejor como las células reaccionan ante este daño. Mi propuesta es seguir las siguientes líneas de investigación: 1. Continuar el estudio de la función de la proteína CtIP, en la que he estado trabajando los últimos dos años. CtIP es una proteína multifuncional que tiene un papel relevante en el checkpoint de G1/S, contrarrestando a RB, y en los checkpoints de intra-S y G2/M, facilitando la activación de ATR. Además, está directamente implicada en la reparación por recombinación homóloga. Sin embargo, la función molecular de CtIP, especialmente en relación a RB, no está aún definida. 2. Muchos cánceres se caracterizan por una sobreexpresión de determinadas ciclinas, las proteínas que controlan el ciclo celular, lo que permite la proliferación celular. Por ello, en los últimos años se ha realizado un gran esfuerzo en inhibir dichas ciclinas para tratar el cáncer. Un aspecto hasta ahora ignorado es que las ciclinas son las responsables de modificar muchas proteínas implicadas en la respuesta al daño en el DNA. Por tanto, esta sobreexpresión no sólo facilita la proliferación, sino que determina cómo las células van a reaccionar ante un daño, como el causado por muchos tratamientos anticancerígenos. Entender el papel de cada ciclina en la respuesta al daño puede ayudar a mejorar la eficiencia de dichos tratamientos. 3. Poco se conoce sobre cómo las células en fase estacionaria responden ante un daño en el DNA, aunque si parece que lo hacen de modo muy distinto a las células que crecen activamente. Mi propuesta es profundizar en el conocimiento de estas diferencias, tanto en la señalización como en la reparación del daño.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Experiencia profesional Desde 2004 Postdoctoral en el laboratorio del Prof. S. P. Jackson, Gurdon Institute, Universidad de Cambridge, Reino Unido 1998-2004 Estudiante de doctorado en el laboratorio del Prof. A. Aguilera, Departamento de Genética, Universidad de Sevilla. 1996-1998 Estudiante interno en el laboratorio del Prof. A. Aguilera, Departamento de Genética, Universidad de Sevilla. Formación académica 1998-2004 Universidad de Sevilla; Doctor en Biología Molecular y Celular (Sobresaliente Cum Laude) 1993-1998 Universidad de Sevilla; Licenciado en Biología (Sobresaliente) Formación adicional: EMBO LAB management course: The art of Leadership. Heidelberg, Germany. Septiembre 2007 EMBO Media workshop. Heidelberg, Germany. Junio 2007 "Yeast Molecular Genetics". International Centre for Genetic Engineering and Biotechnology, Trieste, Italia. Marzo 1999 "La forma y el desarrollo de los hongos. Un enfoque molecular". Sevilla, España. Abril 1998 "Visions of nonlinear sciences in the 21st century". Sevilla, España. Junio 1996 Becas y proyectos de investigación Desde 2007 Co-investigador principal junto a Stephen P. Jackson del proyecto de investigación BBF0016651 otorgado por el Biotechnology and Biological Sciences Research Council, Reino Unido 2005-2007 EMBO Post Doctoral Fellowship 2001-2004 Beca predoctoral FPI del Ministerio de ciencia y educación 1999-2001 Beca predoctoral FPDel de la Junta de Andalucía. 1996-1998 Beca de colaboración del Ministerio de Ciencia y Educación Publicaciones Human CtIP mediates cell-cycle control of DNA-end resection and double-strand-break repair. Huertas P., Jackson SP. JBC 2009 en prensa (manuscrito M808906200) CDK targets Sae2 to control DNA-end resection and homologous recombination. Huertas P, Cortés-Ledesma F, Sartori AA, Aguilera A, Jackson SP. Nature. 2008 455:689-92. The THP1-SAC3-SUS1-CDC31 complex works in transcription elongation-mRNA export preventing RNA-mediated genome instability. González-Aguilera C, Tous C, Gómez-González B, Huertas P, Luna R, Aguilera A. Mol Biol Cell. 2008 19:4310-8. Different physiological relevance of yeast THO/TREX subunits in gene expression and genome integrity. García-Rubio M, Chávez S, Huertas P, Tous C, Jimeno S, Luna R, Aguilera A. Mol Genet Genomics. 2008 279:123-32. An hpr1 point mutation that impairs transcription and mRNP biogenesis without increasing recombination. Huertas P, García-Rubio ML, Wellinger RE, Luna R, Aguilera A. Mol Cell Biol. 2006 26:7451-65. Interdependence between transcription and mRNP processing and export, and its impact on genetic stability. Luna R, Jimeno S, Marín M, Huertas P, García-Rubio M, Aguilera A. Mol Cell. 2005 18:711-22. Recombinogenic effects of DNA-damaging agents are synergistically increased by transcription in Saccharomyces cerevisiae. New insights into transcription-associated recombination. García-Rubio M, Huertas P, González-Barrera S, Aguilera A. Genetics. 2003 165:457-66. Cotranscriptionally formed DNA:RNA hybrids mediate transcription elongation impairment and transcription-associated recombination. Huertas P, Aguilera A. Mol Cell. 2003 12:711-21. Mitotic recombination in Saccharomyces cerevisiae. Prado F, Cortés-Ledesma F, Huertas P, Aguilera A. Curr Genet. 2003 42:185-98.





MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** VILAR CERVERO, MARCIAL

**Referencia:** RYC-2009-03867

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** mvilar@cniio.es

**Título:**

Role of p38MAPK in glioma invasion and migration.

**Resumen de la Memoria:**

Glioblastoma multiforme is the most common and lethal primary malignant brain tumor. Although our understanding of glioma oncogenesis has improved, the molecular mechanisms that mediate glioma invasion are still poorly understood and effective therapy against cell invasion has been less successful. In the present project we will explore the mechanisms underlying glioma cell migration and invasion. p38a is a stress-activated serine/threonine protein kinase that plays an important role converting different extracellular signals into specific cellular responses through the phosphorylation of multiple downstream targets. High levels of phosphorylated p38a have been identified in human glioma samples and inhibition of its activity reduces glioma invasiveness in vitro, suggesting an important role for this pathway in the process. Several activators of p38a signaling have been found upregulated in gliomas, yet p38a downstream targets in glioma cells are unknown. In this regard, an interesting putative p38a target is the p75 neurotrophin receptor (NTR), since it has been shown to be upregulated in highly invasive glioblastomas, contributes to glioma cell migration and invasion, and its expression can be regulated by p38a in other tumor cell types. Interestingly, it has been recently shown that glioblastoma tumor cells release microvesicles, named exosomes, which contain mRNAs, miRNAs and angiogenic proteins. Exosomes are induced by many stress stimuli and may be taken up by normal host cells, or by cancer cells or may release its contents, regulating cell fate. How exosomes are produced, the way they regulate cell behavior and their possible function in tumor cell invasion is still not clear. One of the pro-tumorigenic molecules that has been found inside exosomes is the transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ), which is abundantly expressed in malignant gliomas and enhances migration and invasion of glioma cells. TGF- $\beta$  may activate the canonical Smad pathway, which leads to growth inhibition, or can signal through alternative pathways, leading for example to the TAK1-mediated activation of p38a, which in turn enhances cell proliferation and transformation. The three main objectives of this project will be: 1) To identify new p38a effectors involved in glioma cell migration and invasion following a proteomic approach. We will use specific chemical inhibitors and siRNAs against p38a in human glioma cells (U87, U251, C6, primary glioma cultures) to identify new proteins differentially phosphorylated by p38, using phospho-peptide enrichment and mass spectrometry analysis. The function of the downstream effectors in glioma cell migration and invasiveness will be assayed using gain- and loss-of-function approaches in cultured cells. We will also investigate the role of p38a in the expression, regulation and function of p75 NTR in human glioma cells. 2) To study the role of p38a in exosome release from glioma cells and, conversely, the role of exosomes in the regulation of p38a signaling in the context of cell migration and invasiveness. Using the same biological and pharmacological tools as in objective 1, we will analyze the effect of modulating p38a activity in the generation and content of exosomes purified from gliomas. The function of exosomes generated from glioma cells with different levels of p38a activity will be also assayed in co-culture systems using as targets cells that either express or lack p38a.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Comencé mi labor investigadora con la realización de una tesis doctoral (1997-2002) en el laboratorio de Dr. Enrique Pérez-Payá (Universidad de Valencia) y co-dirigida por el Dr. J.F. Marcos del Instituto de Agroquímica y Tecnología de los Alimentos CSIC. Caracterizé las propiedades de unión a RNA y realicé estudios de estructura/función de p7, trabajos que fueron publicados en *Virology* y *J. Biol. Chem.* (Marcos et al., 1999; Vilar et al., 2001), y más recientemente en *ChemBiochem* (Vilar et al., 2005). Disfruté de una beca EMBO-Short en el laboratorio del Dr. von Heijne, allí utilicé el sistema de mapeo de la topología de proteínas de membrana mediante glicosilación, trabajo que fue pionero en ese aspecto en el campo de las MPs y que fue publicado en *J. Biol. Chem.* (Vilar et al., 2002). Además durante la realización de mi Tesis Doctoral colaboramos con el laboratorio de la Dr. Peñarrubia de que dio como fruto la publicación de dos trabajos en (*Biochem. J.*, y en *BMC structural Biology*) (Mira et al., 2004; Mira et al., 2001), y con el Dr. V. Pallás del IBMCP con una publicación en *Virology* (Aparicio et al., 2003). Además fui el primer autor de una revisión sobre el uso de la Química Combinatoria (Vilar et al., 1998). En 2002 me trasladé al laboratorio del Dr. Carlos Ibáñez, en el Instituto Karolinska, para la realización de una estancia PostDoctoral. El principal objetivo fue encontrar nuevos interactores intracelulares de p75 mediante la técnica de Phage Display. Identifiqué a Bex1 como un nuevo interactivo de p75. Este trabajo fue publicado en *EMBO Journal* (Vilar et al., 2006), y fue objeto de un comentario de dos páginas en *EMBO Reports* (Carter, 2006). Además generé mutantes constitutivamente activos de p75, trabajo enviado a *Neuron* (Vilar et al. 2008). En otoño de 2003 me trasladé al Instituto Salk en la Jolla, California, donde pude integrar la biología estructural y mis conocimientos de la señalización de p75. Entré a formar parte del grupo de biología estructural dirigido por el Dr. Roland Riek. Durante mi estancia en el Salk abordé estudios estructurales mediante RMN. Por una parte he determinado la estructura secundaria de las fibras amiloides de synucleína. Este trabajo fue publicado en *PNAS* (Vilar et al. 2008). Por otra parte resolví la estructura del dominio de muerte de la proteína p45. Este trabajo ha dado lugar a dos manuscritos en fase de ser enviados a publicación. En Abril de 2006 volví a España con un contrato Juan de la Cierva adscrito al grupo del Dr. Ismael Mingarro en la Universidad de Valencia. Fui Investigador colaborador en el proyecto concedido por el MEC, BFU2006-08542/BMC PI: Dr. Ismael Mingarro. Durante este tiempo he participado en los proyectos que llevan a cabo en el laboratorio del Dr. Mingarro, y en la publicación de dos trabajos de investigación hasta la fecha (Martinez-Gil et al, 2007 y Mingarro et al. 2008). También durante esta etapa de Juan de la Cierva mantuve colaboraciones independientes con otros grupos de Investigación, como es el caso del grupo del Dr. Paratcha. De esta colaboración ha surgido un trabajo que ha sido publicado en *Journal of Neuroscience* (Ledda et al. 2008). Y con el laboratorio del Dr. Carlos Ibáñez. Fruto de estas colaboraciones ha sido un manuscrito, que está en segunda fase de revisión en *Neuron* (Vilar et al. 2009). Actualmente soy Investigador Contratado en el laboratorio del Dr. Angel Nebreda en el CNIO.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** PEY RODRIGUEZ, ANGEL LUIS

**Referencia:** RYC-2009-04147

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** angel.pey@biomed.uib.no

**Título:**

Estrategias para la corrección farmacológica de enfermedades genéticas del plegamiento de proteínas.

**Resumen de la Memoria:**

La unión de ligandos a proteínas tiene un papel importante en la función, la regulación y en ocasiones, la estabilidad de las proteínas in vivo. En el caso de enfermedades genéticas que afectan al plegamiento de las proteínas, dichos ligandos pueden ejercer un efecto terapéutico compensando la desestabilización o los defectos en el plegamiento inducidos por mutaciones. De este modo, la caracterización del efecto de mutaciones sobre el plegamiento y la estabilidad proteica proporciona tanto un mecanismo molecular responsable de la enfermedad como también la clave para el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas. El presente proyecto se iniciará estudiando la proteína humana alanina:glioxilato aminotransferasa (AGXT), cuya deficiencia de origen genético causa hiperoxaluria primaria tipo I, que afecta alrededor de 1 de cada 100.000 neonatos y se hereda con carácter autosómico recesivo. En esta enfermedad, las mutaciones ocasionan la pérdida de función o el transporte de la proteína AGXT a un compartimento celular erróneo, posiblemente debido a efectos sobre la estabilidad y el plegamiento proteico. Esta enfermedad representa un modelo excelente para este proyecto debido a la existencia de estructuras de alta resolución de la proteína, de ratones transgénicos que reproducen el fenotipo de los pacientes y de casos documentados de respuesta en pacientes a la administración farmacológica del cofactor de la AGXT. Los análisis de la estabilidad termodinámica y/o cinética de las proteínas AGXT normales y mutantes mediante técnicas calorimétricas y espectroscópicas permitirán determinar los efectos mutacionales en el plegamiento, así como el posible rescate de su función por la unión de ligandos naturales (cofactores) o farmacológicos. Estos análisis se complementarán con estudios termodinámicos de unión y cristalográficos de alta resolución de los complejos proteína-ligando. El potencial terapéutico de dichos compuestos se comprobará utilizando modelos celulares y animales (en colaboración con el Profesor Eduardo Salido, Hospital Universitario de Canarias, Tenerife). El cribado masivo de una biblioteca química (16.000 compuestos) en busca de ligandos farmacológicos para la AGXT se realizarán en colaboración con la Profesora Aurora Martínez (Universidad de Bergen, Noruega). A medio plazo, pretendemos aplicar estrategias similares para otras enfermedades asociadas al plegamiento de proteínas.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Cursé la licenciatura en Química en la Universidad Complutense de Madrid (1994-1999), donde realicé mi tesis de licenciatura bajo la dirección de la Prof. Alicia Megías Fresno. Posteriormente realicé mi tesis doctoral en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (Universidad Autónoma de Madrid) en el equipo de la Profesora Magdalena Ugarte con una beca de formación del personal investigador. Durante este período (Enero 2000-Julio 2004) caractericé las propiedades funcionales y la estabilidad de proteínas mutantes de la fenilalanina hidroxilasa asociadas a la fenilcetonuria, utilizando diversos sistemas de expresión, al igual que la caracterización de los mecanismos moleculares implicados en la respuesta a tetrahidrobiopterina en pacientes fenilcetonúricos, en colaboración con los Profesores Aurora Martínez (Universidad de Bergen, Noruega) y Raymond C. Stevens (Scripps Institute, La Jolla, EEUU). Durante este período realicé dos estancias de tres meses en el laboratorio de la Prof. Aurora Martínez para realizar estudios de cinética enzimática en mutantes de fenilalanina hidroxilasa al igual que desarrollar métodos calorimétricos para el estudio termodinámico de la unión de la tetrahidrobiopterina. En Septiembre de 2004, inicié mi estancia postdoctoral en el laboratorio de la Prof. Aurora Martínez (Universidad de Bergen) con una beca del Consejo de investigación Noruego y en Julio de 2005 obtuve un proyecto postdoctoral de 4 años de duración de la Facultad de Medicina de la Universidad de Bergen para el estudio de la modulación de la estabilidad de la fenilalanina y tirosina hidroxilasa en condiciones fisiológicas y patológicas por ligandos naturales y farmacológicos, utilizando aproximaciones bioquímicas, biofísicas, celulares y computacionales. He realizado colaboraciones con el grupo del Dr. Luis Serrano (Centro de Regulación Genómica, Barcelona) para evaluar el poder predictivo de algoritmos computacionales sobre la desestabilización inducida por mutaciones causantes de fenilcetonuria con el fin de predecir el fenotipo en pacientes, y con el Prof. Javier Sancho (Universidad de Zaragoza) para el desarrollo de chaperones farmacológicos como posible tratamiento para la fenilcetonuria. He publicado 15 artículos en revistas internacionales (once de ellos en revistas de índice de impacto superior a 5) de los cuales soy primer autor/coautor en once de ellas, además de una revisión, un artículo en prensa como "corresponding author", dos capítulos de libros, y soy coinventor de una patente europea (ref. 07012682.6-1216). Publicaciones más relevantes: 1) Pey, A.L., Thorolfsson, M., Teigen, K., Ugarte, M. Índice de impacto: 9.6). 3) Pey, A.L. and Martínez, A. (2007) The Lancet. 370:462-463. (Índice de impacto: 28.6). 4) Pey, A.L., Stricher, F., Serrano, L. & Martínez, A. (2007) Am.J.Hum.Genet. 81:1006-1024. (Índice de impacto 11.1). 5) Pey, A.L., Ying, M., Cremades, N., Velazquez-Campoy, A., Scherer, T., Thöny, B., Sancho, J. & Martínez, A. (2008) J.Clin.Invest. 118:2858-2867. (Índice de impacto: 16.9).



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** CARRACEDO PEREZ, ARKAITZ

**Referencia:** RYC-2009-04718

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** acarrace@bidmc.harvard.edu

**Título:**

Identificación y caracterización de genes implicados en la regulación del metabolismo tumoral

**Resumen de la Memoria:**

El cáncer y los desordenes metabólicos representan dos grupos de enfermedades con carácter epidémico en las sociedades occidentales. La identificación de factores genéticos de predisposición o progresión de estas enfermedades es por tanto uno de los principales objetivos de la investigación biomédica moderna. Recientemente ha resurgido la idea de que la alteración del metabolismo celular es un factor esencial para la iniciación y progresión tumoral, dando lugar al estudio del metabolismo tumoral. A lo largo de mi trayectoria científica, he contribuido a caracterizar los mecanismos de regulación de la vía PI-3 Quinasa, con implicaciones terapéuticas para el tratamiento del cáncer. Esta cascada representa la vía de señalización prototípica al vértice de control metabólico y el cáncer. La presente línea de investigación propone profundizar en la hipótesis de que factores reguladores del metabolismo tumoral son potenciales candidatos para el desarrollo de nuevas avenidas terapéuticas. Para examinar esta hipótesis, se propone un modelo de investigación básica y preclínica, basado en la utilización de modelos murinos de cáncer (un modelo genético de cáncer de próstata inducido por pérdida del oncosupresor PTEN) y obesidad (inducida por dieta o ratones Ob/Ob), así como la aplicación de técnicas de bioquímica, biología molecular y celular para el estudio de procesos metabólicos (e.g. mediante estudios de incorporación y utilización de glucosa, síntesis y degradación de ácidos grasos, adicción a glucosa/glutamina) y vías oncogénicas (ensayos de transformación, proliferación, apoptosis, senescencia y autofagia). Utilizaremos como sistema principal un modelo genético de cáncer de próstata inducido por la pérdida del supresor de tumores PTEN. En este modelo cáncer se observan procesos diferenciados temporalmente de iniciación y progresión tumoral, lo que sugiere la contribución de eventos genéticos adicionales. Mediante estudios de expresión génica en 1) cáncer de próstata y 2) en hígado y músculo esquelético de ratones ayunados u obesos, seleccionaremos genes candidatos a regular metabolismo y cáncer. Mis resultados preliminares sugieren que el gen que codifica para la proteína de estrés p8 es un atractivo candidato a regular el metabolismo tumoral, dado que se encuentra fuertemente sobreexpresado en cáncer de próstata (en ratón y biopsias humanas), se induce en respuesta a ayuno in vivo y regula factores implicados en metabolismo como TRB3 y AKT. Por tanto, estudiaré su función como regulador del metabolismo utilizando las aproximaciones experimentales mencionadas previamente. Adicionalmente, estudiaré la función de p8 in vivo, a través de la utilización de ratones p8 Knock Out (colaboración con el Dr. Iovanna) y transgénicos (recientemente generados por mi), en procesos de obesidad (dietas de alto contenido graso, cruces con ratones Ob/Ob) y de cáncer (en cruces genéticos con el modelo de cáncer de próstata mencionado previamente).

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Mi trayectoria investigadora se basa en 1) una experiencia predoctoral de un total de 5 años (un año como estudiante colaborador honorífico y cuatro años de desarrollo de mi tesis doctoral) bajo la supervisión de los Dres. Manuel Guzmán Pastor y Guillermo Velasco Díez en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la facultad de Biología en Universidad Complutense de Madrid (incluyendo un total de 5 meses de estancias en Marsella, Francia, bajo la supervisión del Dr. Juan Lucio Iovanna) y 2) 26 meses de formación Postdoctoral bajo la Supervisión del Prof. Pier Paolo Pandolfi, los cuales comprenden 7 meses de formación en Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (NY, USA) y 19 meses en Beth Israel Deaconess Medical Center/Harvard Medical School (BIDMC/HMS). Soy licenciado en Biología Sanitaria y Doctor en Bioquímica y Biología Molecular, lo que me ha permitido abordar cuestiones científicas desde muy diferentes ángulos, desde la biología molecular y celular hasta modelos preclínicos de cáncer, todo ello con la consecuente extrapolación a estudios en pacientes con cáncer. En la actualidad me encuentro en mi tercer año de formación Postdoctoral en el programa de Cancer Genetics (departamento de Medicina) en BIDMC/HMS, bajo la supervisión del Prof. Pier Paolo Pandolfi en uno de los grupos más prestigiosos internacionalmente de investigación de las bases genéticas del cáncer. Mi interés por el estudio de las bases moleculares del cáncer me llevó en 2001 a incorporarme al grupo del Dr. Manuel Guzmán Pastor primero como colaborador honorífico y como estudiante predoctoral bajo la supervisión de los Dres. Manuel Guzmán Pastor y Guillermo Velasco Díez en el estudio del mecanismo de acción antitumoral de los cannabinoides con particular énfasis en la acción diferencial de estos compuestos en células transformadas y no transformadas (tesis calificada como sobresaliente cum laude, premio extraordinario de doctorado por la universidad Complutense y mención de Doctor Europeus). Mi investigación posdoctoral se desarrolla bajo la dirección del Prof. Pier Paolo Pandolfi dentro del programa de Cancer Genetics de BIDMC/HMS. En el laboratorio del Prof. Pandolfi me he familiarizado con la utilización de modelos animales de cáncer, disección y análisis de la próstata de ratones y técnicas de biología celular y molecular, como fraccionamiento subcelular y el diseño y utilización de vectores retrovirales. Mi principal aportación científica en el laboratorio del Prof. Pandolfi ha sido la identificación de una nueva cascada de señalización responsable de la resistencia a inhibidores del complejo proteico mTORC1, que están siendo actualmente evaluados en ensayos clínicos de pacientes con cáncer. Durante mi trayectoria investigadora he participado en 26 publicaciones en revistas internacionales (8 como primer autor) con 110 citas. El índice de impacto total de mis publicaciones es 292.7 con un promedio de 11.2 por publicación.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** GRANDE PARDO, M. CRISTINA

**Referencia:** RYC-2009-04965

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** cgrande@cbm.uam.es

**Título:**

ESTUDIO COMPARADO DE LAS RUTAS DE SEÑALIZACIÓN EN METAZOOS

**Resumen de la Memoria:**

Los estudios de genómica comparada han permitido detectar la conservación evolutiva de los genes implicados en señalización celular y control del desarrollo embrionario, y proporcionan información de gran valor sobre el origen y la evolución tanto de los genes como de los procesos biológicos que regulan. Así, estudios en organismos modelo tales como levadura, *Caenorhabditis*, *Drosophila* y ratón han establecido que tanto los componentes de las diferentes rutas de señalización como sus interacciones están conservados entre especies filogenéticamente distantes, y que estas rutas controlan el desarrollo de los metazoos. Entre estas rutas de señalización destacan TGF- $\beta$ , Hedgehog, Wingless y Notch. Alteraciones en los genes que codifican para los miembros de estas rutas de señalización ocasionan desórdenes funcionales con graves consecuencias para el desarrollo y la viabilidad del individuo. El gran avance experimentado en los últimos años en la obtención de información genómica de un gran número de especies permite superar las limitaciones que acotaban este tipo de estudios a los organismos modelo. Un grupo de metazoos para los que la información genómica empieza a estar disponible son los moluscos. Los moluscos forman parte de Lophotrochozoa, grupo que junto con Ecdysozoa (*Drosophila*, *Caenorhabditis* etc) y Deuterostomia (vertebrados, equinodermos etc) constituyen los tres grupos principales de metazoos. La práctica totalidad de los estudios referentes a las rutas de señalización se han realizado en ecdisozoos y deuteróstomos, por lo que actualmente hay escasa información en organismos del grupo de los Lophotrochozoa. La línea de investigación que se propone se centra en el estudio de las rutas de señalización en dos especies de moluscos, con lo que se pretende avanzar en el conocimiento de estas rutas en un grupo de metazoos inexplorado, y aportar nuevos datos sobre el origen y evolución de la señalización celular en metazoos.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Comencé mi carrera investigadora en el Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN) cuando me incorporé al laboratorio de la Prof. Ramos como voluntaria para trabajar en un proyecto sobre la biología reproductiva de dos especies de moluscos (1997-1999). Durante un periodo de cinco meses en 1999 trabajé en el departamento de colecciones del MNCN catalogando la colección de moluscos con un contrato de técnico del Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Posteriormente, comencé mi tesis doctoral en el MNCN centrada en el estudio evolutivo y las relaciones filogenéticas de los caracoles bajo la dirección de los Profs. Templado y Zardoya (2000-2004). Tras defender mi tesis doctoral fui contratada como becario postdoctoral en el MNCN en el laboratorio del Prof. Zardoya para la realización de un proyecto sobre la estructura genética y filogenia de varias especies de caracoles endémicos de las Islas Canarias (2004-2005). Desde 2005 y hasta 2008 he realizado una estancia postdoctoral en la University of California, Berkeley, en el laboratorio del Prof. Patel estudiando las rutas de señalización TGF- $\beta$  en dos especies de caracoles y sus implicaciones en el establecimiento de los planes corporales y las asimetrías. En el 2008 comencé un contrato JAE-doc en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa. Hasta el momento he publicado 8 artículos de investigación en 6 de los cuales soy primer autor (un artículo más está siendo considerado actualmente en segunda revisión en *BMC Evolutionary Biology*). De entre ellos caben destacar los artículos relacionados con mi tesis doctoral (publicados en *Molecular Biology and Evolution* -2-, *Molecular Phylogenetics and Evolution* y *BMC Evolutionary Biology*) y el artículo con los principales resultados de mi estancia postdoctoral, recientemente publicados en la revista *Nature*. Considerando estos artículos, el índice de impacto medio es 9.79 y han tenido un total de 68 citas hasta el momento. Además todas estas revistas se encuentran en el primer percentil de su área. Por otra parte he realizado estancias en centros de investigación de reconocido prestigio, como el Natural History Museum of Los Angeles County, la University of California, Berkeley, el Marine Biological Laboratory en Woods Hole, Massachusetts, y el Kewalo Marine Laboratory en Hawaii, donde he comenzado colaboraciones con varios investigadores de gran prestigio internacional en el área de la genética del desarrollo. He sido revisor de proyectos de investigación para la ANEP, de artículos de investigación en diferentes revistas científicas y de capítulos de libros internacionales.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** RIUS CAPALVO, JORDI

**Referencia:** RYC-2009-04050

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** jriusc@gmail.com

**Título:**

Papel de la inflamación en la angiogénesis inducida por tumores.

**Resumen de la Memoria:**

El papel del sistema inmune en el cáncer es complejo. Las células del sistema inmune pueden identificar y matar a las células tumorales, pero también pueden secretar factores de crecimiento y citoquinas que promueven el crecimiento de las células tumorales y la angiogénesis. Por otra parte, la respuesta a la hipoxia también juega un papel clave en el desarrollo tumoral. De hecho, una de las principales adaptaciones a la hipoxia en los tumores es la formación de nuevos vasos sanguíneos por angiogénesis. Recientemente, como resultado de mi línea de investigación en el laboratorio del Dr. Karin, he demostrado que la vía de NF- $\kappa$ B, conocida por su papel en la respuesta inflamatoria, también regula la respuesta a la hipoxia a través de la regulación transcripcional de HIF-1 $\alpha$ . Como consecuencia de este efecto, también he observado que macrófagos deficientes en IKK $\beta$ ; (una proteína esencial de la vía de NF- $\kappa$ B) presentan una notable reducción en la producción de diversos factores proangiogénicos. No obstante, el efecto de la vía de NF- $\kappa$ B en la angiogénesis tumoral todavía no se conoce. Por lo tanto, el principal objetivo del proyecto propuesto es analizar el papel de la vía de NF- $\kappa$ B en la regulación de la angiogénesis tumoral por parte de las células inflamatorias. Dado que hemos demostrado que NF- $\kappa$ B directamente regula la expresión de HIF-1 $\alpha$ , es difícil poder discernir cuáles son los efectos directos de NF- $\kappa$ B sobre la producción de factores angiogénicos independientes de HIF-1 $\alpha$ ; de aquellos que dependen de HIF-1 $\alpha$ . Para resolver este problema, en este proyecto usaré ratones doble knockout para los genes que codifican para IKK $\beta$ ; y para el factor de von Hippel-Lindau (VHL) y que, por tanto, tienen la vía de NF- $\kappa$ B inactivada (debido a la delección de IKK $\beta$ ;) pero presentan unos niveles altos de HIF-1 $\alpha$ ; independientemente del oxígeno ambiental (debido a la delección de VHL). Para comprobar el efecto específico de la vía de NF- $\kappa$ B en la producción de factores proangiogénicos, compararé la producción de factores de crecimiento y citoquinas en macrófagos IKK $\beta$ -/- vs IKK $\beta$ -/-/VHL-/- . También realizaré ensayos in vivo empleando ratones transgénicos que tienen específicamente deleccionado IKK $\beta$ ; o doblemente IKK $\beta$ ;/VHL en macrófagos para analizar específicamente el papel de la vía de NF- $\kappa$ B en la angiogénesis tumoral en ratones. De esta manera espero poder elucidar el papel de la vía de NF- $\kappa$ B en la angiogénesis tumoral y poder determinar su relevancia como diana farmacológica para el tratamiento del cáncer.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Me licencié en Bioquímica por la Universidad de Barcelona en 1998, donde tuve la oportunidad de trabajar en el grupo del Dr. Joan J. Guinovart en el estudio de un nuevo fármaco para tratar la diabetes como estudiante en prácticas. En el año 1999 comencé mi tesis doctoral en el Centro de Investigación Cardiovascular del Hospital de Sant Pau en Barcelona bajo la dirección de la Dra. Lina Badimon y el Dr. José Martínez-González. En mi tesis investigué el papel del receptor nuclear huérfano NOR-1 en la biología de las células vasculares. Obtuve mi título de Doctor el 2004. Los resultados obtenidos en mi tesis fueron publicados en *Circ Res* (2003), *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2004) y *Cardiovasc Res* (2005) y fueron presentados en varios congresos nacionales e internacionales. Al finalizar mi tesis seguí trabajando en el laboratorio de la Dra. Badimon analizando nuevos mecanismos implicados en el control de la angiogénesis. Estos resultados fueron publicados en *Atherosclerosis* (2006). En el 2005 me incorporé al laboratorio del Dr. Michael Karin en la Universidad de California en San Diego. El grupo del Dr. Karin está especializado en el estudio del papel de la inflamación en el desarrollo del cáncer. En su laboratorio desarrollé dos proyectos dirigidos a analizar el papel de la inflamación en la respuesta a la hipoxia y la angiogénesis. En el primer de ellos encontré que NF- $\kappa$ B, un factor clave en la respuesta inflamatoria, también regula la respuesta a la hipoxia a través de la regulación transcripcional de HIF-1 $\alpha$ . Estos resultados fueron publicados en *Nature* (2008). Este publicación tuvo una importante repercusión y fue comentada en dos artículos de opinión en *Nature Signaling Gateway* y en *Nature Reviews Immunology*. En el transcurso de mi segundo proyecto demostré que la proteína quinasa JNK1 es un importante activador de la expresión de VEGF (un potente factor proangiogénico) en condiciones de hipoxia in vitro e in vivo y además descubrimos que inhibidores específicos de JNK reducen de forma significativa la angiogénesis patológica en un modelo de retinopatía. Estos resultados han sido publicados en *Proc Natl Acad Sci USA* (2009). Además hemos patentado JNK1 como una nueva diana farmacológica para tratar la angiogénesis patológica en distintos tipos de retinopatía. Actualmente estamos teniendo conversaciones con distintas empresas farmacéuticas para licenciar esta patente. En resumen, a lo largo de mi carrera científica mi trabajo se ha centrado en estudiar los mecanismos moleculares involucrados en el papel de la inflamación y la respuesta a la hipoxia en la biología vascular y en especial su repercusión en la patofisiología de distintas enfermedades como en la aterosclerosis o en diversas retinopatías.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** AGUIRREZABALA COLMENERO, XABIER

**Referencia:** RYC-2009-04885

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** xagirrezabala@cicbiogune.es

**Título:**

Structural characterization of ribosomal complexes during translation initiation

**Resumen de la Memoria:**

The ribosome is a large and complex enzyme, consisting, even in the simplest organisms, of more than fifty different protein and RNA components. This macromolecular machine carries out the same essential function, i.e protein synthesis, in all living cells. This preservation of function is coupled with an overall conservation of structure, however, the sequence of events, and specially, the requirements for non-ribosomal protein components (i.e factors) differ substantially between bacteria and eukaryotes. This is particularly true in the case of the initiation step, the process of bringing together the messenger RNA, initiator fMet-tRNA, and the small and large ribosomal subunits. Whereas eubacteria accomplish the task of initiation aided by three initiation factors (IF1, IF2 and IF3), initiation in eukaryotes is a very complex process in which at least 10 different factors, some of which are multiprotein complexes, are required. As ribosomes of pathogenic bacteria are major targets for clinically relevant antibiotics, this remarkable variability enables potential drug selectivity, and thus, facilitates clinical usage. In other words, the difference in factor binding and mechanism of action justifies expectations for the design and discovery of novel drug classes targeting the initiation step. However, to this end, a detailed three-dimensional knowledge of each of the elements involved in every functional state of the initiation process is required. The goal of the proposed research line is to gain knowledge about the initiation step by means of cryo electron microscopy and image processing, one of the most direct techniques for elucidating the structure of large, flexible biological macromolecules such as ribosomes. We will use highly purified in vitro translation systems to prepare and isolate each of complexes generated during the sequence of events. More specifically, we plan to work on a high-resolution structure of IF2 bound ribosomes, as well as on the exact localization of IF3 on the 30S subunit, still controversial. A further analysis of the positioning and functional role of the initiator fMet-tRNA during the whole process is also envisaged. Moreover, we also mean to extend these studies to the fourth dimension and analyze the subunit association during initiation by time-resolved cryo-electron microscopy. The structural data emerged from this work is expected to shed light on the molecular recognition of ribosomal components by the initiation factors. This detailed characterization will allow us to structurally map critical sites that can be used as potential antibiotic targets.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

I studied Biochemistry at the University of Basque Country from 1995 to 2000. In January 2001, I started my PhD at the National Centre for Biotechnology (Madrid, Spain) in the Department of Structures of Macromolecules under the direction of Professors Jose L. Carrascosa and Jose Maria Valpuesta. The aim of the thesis project was the structural characterization of viral complexes. The publications derived from this work are two journal papers (Agirrezabala et al., J.M.B., 2005; Agirrezabala et al., EMBO J., 2005). In November, 2005, I presented my thesis dissertation  $\zeta$ Structural characterization of the morphogenesis and DNA packaging in phage T7 by cryoEM and image processing $\zeta$  for which I obtained the magna cum laude distinction by the Universidad Autonoma de Madrid (Spain). During my postdoctoral period, still in the National Center for Biotechnology, I collaborated with Professor Jose Maria Carazo's group (National Centre for Biotechnology) and Dr Paulino Gomez-Puertas (Centro de Biología Molecular  $\zeta$ Severo Ochoa $\zeta$ , Madrid, Spain). A new procedure for electron density segmentation was employed to investigate viral structures in conjunction with homology modeling techniques (Agirrezabala et al., Structure, 2007). In May, 2006, I joined the Division of Molecular Medicine at Wadsworth Center, Albany (USA). During my stay at the Wadsworth Center as a postdoctoral research affiliate, I worked with Professor Joachim Frank (Howard Hughes Medical Institute investigator) in the structural characterization of ribosomal complexes. I collaborated with Professors Mans Ehrenberg (Uppsala University, Sweden) and Rachel Green (Johns Hopkins University, Baltimore, USA) in the study of this protein synthesizing machinery. The results obtained during this period were relevant for the ribosomal decoding and translocation steps (Agirrezabala et al., Mol. Cell, 2008; Li\*, Agirrezabala\* et al., EMBO J., 2008). During this time, I also worked on the application of automated cryo-electron micrographs acquisition programs for single particle reconstruction on electron microscopes. A journal paper describing the implementation and characteristics of such a procedure is in preparation. In April 2008, I joined the Department of Biochemistry and Molecular Biophysics at Columbia University Medical Center (CUMC, New York, USA) as a research affiliate. There, I continued working on the cryo-EM characterization of ribosomes with Professor Joachim Frank. In addition, I started collaborating with Professor Klaus Schulten's group (University of Illinois, USA) on molecular dynamics based fitting and simulations applied to translating ribosomes. During this time, I also wrote a review in conjunction with Professor Joachim Frank, which is scheduled for publication in the November, 2009 issue of Quarterly Reviews of Biophysics. Nowadays, I am working with Professor Joachim Frank on two more journal papers that describe new discoveries related to the structural dynamics of the ribosome during the decoding process, in which I am the first author. Since February 2009, I am part of the Structural Biology Unit at CIC-bioGune (Bilbao, Spain), where I continue analyzing the structure of macromolecules by means of cryo-electron microscopy.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** MCCORMICK , PETER

**Referencia:** RYC-2009-05522

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** peter.mccormick@gmail.com

**Título:**

Molecular Mechanism and Regulation of the G protein-coupled Receptor CXCR4 and its role in Hematopoiesis

**Resumen de la Memoria:**

My interest lies in the study of membrane proteins, their synthesis, their trafficking in the cell, and the molecular mechanisms behind a variety of diseases related to membrane proteins. I have developed both in vivo and novel in vitro approaches to study membrane proteins. My proposal is in two parts. The first, is the introduction of a new technique to study membrane protein function. The approach uses a reconstituted in vitro translation system that incorporates biophysical probes at an amino acid of choice, using labeled lysine-tRNAs, into a membrane protein that is inserted into a bilayer. This technique merges an approach I developed in graduate school with the recently developed nanodiscs, small patches of lipid bilayers that allow soluble studies of membrane proteins. To date, nanodiscs have been used to produce functional membrane proteins up to seven transmembrane domains. I will use this technique to understand how there are over 1500 GPCR proteins, yet there are only a handful of accessory proteins that allow the GPCRs to signal, internalize, and stop signaling. How do the accessory proteins tell one GPCR from another? What are the structural clues that define a GPCR-accessory protein interaction? I will start by using CXCR4 to understand some of these questions. The second part of my proposal uses more classical cell biology approaches, to study questions specific to the SDF-1/CXCR4 axis. CXCR4 and its ligand SDF-1 are key components in the development and function of the hematopoietic system. Signaling through CXCR4 influences cell movement into and out of the bone marrow and in several cancer models has been implicated in metastasis. Mutations in the receptor lead to the disease WHIM syndrome, and our earlier work focused on the molecular mechanisms behind this disease. However, more questions remain about how CXCR4 functions. Specifically, it has been widely reported that CXCR4 can both homo-dimerize and hetero-dimerize with other GPCRs (eg. CCR5 and CXCR7). However, virtually nothing is known about what portions of the proteins actually interact (the transmembrane regions? Extracellular? Intracellular?). In addition, in the case of hetero-dimerization, it is unclear what happens when or if two different ligands bind? Do the dimers remain? Do they signal separately? Do they activate a whole new pathway? Do they internalize together? Is this cell type specific? The answers to these last questions will not only provide insight into CXCR4 function, but provide clues for how other GPCR proteins may dimerize and what the consequences of dimerization may be. Finally, the GPCR CXCR7 has recently been shown to also bind the SDF-1/CXCL12 ligand, and appears to be expressed in a variety of tissues. However, it is unclear what the function of the receptor is and whether it actually signals. Understanding the role of this receptor is crucial to understanding whether perhaps functions previously given to CXCR4 in earlier studies may actually be due to CXCR7. I will identify whether the receptor actually signals, what accessory proteins it uses, study how it influences the known functions of CXCR4, and finally identify whether it shares the same trafficking pathway as that of CXCR4.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

My graduate work was done in the laboratory of Dr. Arthur E. Johnson on membrane protein synthesis and insertion into the Endoplasmic Reticulum. I obtained my PhD in December 2003. I did my postdoctoral training with Dr. Juan Bonifacino at the National Institutes of Health (USA) studying the protein trafficking of MHC II proteins and how they reach antigen containing compartments. My work was supported by an Intramural Research Training Award. Subsequently, I was offered a staff scientist position to work in the laboratory of Dr. Giovanna Tosato where I have focused on the membrane protein CXCR4 and its role in the genetic disorder, WHIM syndrome and hematopoiesis. I have published ten articles, half of them first author. My work has been published in prestigious journals including: Molecular Cell, PNAS, Cell, Blood, and Traffic. In addition to my productivity, my work has made an impact on the various areas I have worked as evidenced by an H-factor = 5 (At least 5 articles have been cited at least 5 times each) and a total of 177 citations in 5 years of publishing. I have been awarded two fellowships and received a National Cancer Institute (USA) Innovation Award.



MINISTERIO  
DE CIENCIA  
E INNOVACIÓN

**SUBPROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2009**

**Nombre:** BERTOCCHINI, FEDERICA

**Referencia:** RYC-2009-04392

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** f.bertocchini@ucl.ac.uk

**Título:**

Restriction of pluripotentiality: from the determination of early embryonic polarity to the patterning of the anterior endoderm

**Resumen de la Memoria:**

During the early stages of embryonic development, pluripotent embryonic stem cells go through restrictions of pluripotentiality, and, consequently, their fate is driven and fixed towards a specific cell lineage. In this process, cells are recipient of inductive and inhibitory cues. The fine-tuning between these two diverse kinds of signals ultimately shapes the growing embryo. As a postdoc, I have been studying this induction-inhibition fine-tuning taking place during the early stages of embryonic development, using chick as experimental system. The chick embryo is a highly regulative system: the flat round one-layered thick blastodisc before gastrulation can be cut in pie-shaped slice, and each one of them will give rise to an embryonic axis. How is this high potentiality controlled? I discovered three inhibitory mechanisms that work in a time sequence, and that prevent the young chick embryo from forming multiple axes, a condition that would result, in most cases, in embryonic death. The first inhibition is induced by the signalling molecule, and axis inducer, Vg1, member of the TGF $\beta$  family of secreted factors; after the still unknown inhibitor is induced, it spreads around the embryo preventing multiple axis formation at these early stages. When the axis is about to form, a second inhibition is released by the extra-embryonic lower layer, or hypoblast; Cerberus, expressed in the hypoblast, inhibits Nodal signalling (another member of the TGF $\beta$  family of secreted factors), a molecule involved in the induction of the embryonic axis. The inhibition is relieved, when a second component of the lower layer, the endoblast, grows and pushes the hypoblast forward. This second mechanism constitutes a safe-net, ensuring that a single embryonic axis will form. A third inhibition is exerted by the middle portion of the young extending axis, probably mediated by the Nodal inhibitor Lefty1. I propose to study the inhibitory molecules that underlie the establishment of the embryonic polarity (e.g. that control the fate of the embryonic cells in order to have a properly patterned early embryo). I also posit that mechanisms similar to those I have discovered in the early embryo play a role in patterning the flat sheet of cells that is the early anterior endoderm. By the end of gastrulation, the anterior endoderm is a flat layer of cells; it will give rise to structures as diverse as the metameric pharyngeal pouches (then thyroid, parathyroid and thymus), liver and pancreas. I will investigate the molecular devices that subdivide the anterior endoderm into metameric (pharyngeal pouches) and non-metameric region (lungs, stomach, liver and pancreas), and then parse and pattern each sub-region. I will focus particularly on the development of the liver. My long-term plan aims at the dissection of the mechanisms regulating liver regeneration. While I will mainly use chick as experimental system, I will also take advantage of the availability of chick embryonic stem cells, to complement, in vitro, the in vivo studies on the chick embryo. The embryonic stem cells can be used to analyze the capacity of a specific molecule/signalling pathway to direct their fate towards liver or any other endoderm-derived organ. Ultimately, I aim at setting up a system to study the regenerative properties of differentiated hepatocytes.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

I initiated my scientific career as an undergraduate student in the laboratory of Prof. G. Barsacchi at the Department of Physiology and Biochemistry, Pisa University. I worked on the role of the transcription factors LFB1 and 3 in the early stages of *Xenopus laevis* development. I learnt basic molecular biology techniques, as cloning, PCR, screening, Southern blot, Northern blot, RNase protection. In addition, I learnt the basic techniques deployed to study the development of *Xenopus laevis* embryo, as animal cap assays, RNA and DNA injections, Keller's sandwiches. After graduating and after one year of apprenticeship in the same laboratory, I started my PhD in the Signal Transduction and Growth Factors Unit, at the DIBIT, S. Raphael Hospital, Milan, Italy, in a joint appointment with the Open University, London, UK. I was the recipient of the three-years long PhD fellowship issued by S. Raphael Hospital. I started working on mouse, learning mouse genetics techniques. I studied the role of an intracellular calcium channel called Ryanodine Receptor type 3 (RyR3). I was the recipient of an EMBO short-term fellowship, which allowed me to join the EMBL at Heidelberg, where I collaborated with Prof H. Schoeler. Using mouse genetics combined with biochemistry, we discovered that RyR3, together with RyR1, is involved in a calcium-induced-calcium-release mechanism that causes amplification of intracellular calcium release, which is required for the proper functionality of skeletal muscle cells and neurons. The result of my research resulted in 5 papers published in international recognized journals, with one first-authorship. After completing the PhD in cell signalling, I decided to go back into the developmental biology field. I was particularly interested in the early events that contribute in setting the initial polarity of the embryo. Given its easy accessibility, chick lends itself particularly well to address the topic of embryonic polarity determination; consequently, I decided to join the laboratory of Prof. Claudio D. Stern, first at Columbia University, Department of Genetics, then at University College London, Department of Cell and Developmental Biology. I received a three-years long postdoc fellowship by Telethon Foundation. I started working on the molecular mechanisms that shape the early embryo. I focused on the formation of the embryonic axis. I discovered that three inhibitory mechanisms work sequentially to prevent the formation of multiple axes in the early chick embryo, which is a highly regulative system. While working on the early chick embryo, I started deriving chick embryonic stem cells and analyzing their biological characteristics. As a result of my postdoc experience, I published 5 papers on international recognized journals, with 3 first-authorship. In addition, I have two more first-author papers in preparation. During my postdoc experience, I have been training PhD and master students. I have been teaching early chick embryology in practical courses at University College London. In addition, I have been a Teaching Assistant at International Embryology Courses: Summer School 'Cells into Organs', 19-27 August 2006, Basel, Switzerland; Embryology: Concepts and Techniques in Modern Developmental Biology, June 14-July 27, 2008 Marine Biological Laboratory, Woods Hole, MA, USA.





**Nombre:** FERNÁNDEZ ESCAMILLA, ANA MARÍA

**Referencia:** RYC-2009-04570

**Area:** Biología Molecular, Celular y Genética

**Correo electrónico:** anamfe@ugr.es

**Título:**

Caracterización molecular y estructural de una proteína de unión a ácidos grasos (FABP) de Leishmania. Diseño de inhibidores de Lh-LBP como agentes terapéuticos

**Resumen de la Memoria:**

Leishmaniasis, causada por el parásito protozoario Leishmania es considerada por la Organización Mundial de la Salud como una grave enfermedad con una mortalidad del 90%. Leishmania es incapaz de sintetizar ácidos grasos. La mayoría de las células eucarióticas poseen proteínas que unen y transportan ácidos grasos (FABPs). FABPs, presentes en membranas y citosol, son necesarias para la absorción y metabolismo de los ácidos grasos en el protozoo. Su valor como antígeno constituye una característica muy importante que actualmente se está considerando en vacunación contra infecciones causadas por helmintos. Una nueva proteína de unión a ácidos grasos de Leishmania (Lh-LBP) ha sido aislada. En este proyecto se propone el estudio de la relación estructura-función y de esta relación respecto a la enfermedad metabólica de Lh-LBP. El principal objetivo es el conocimiento de su estructura que permitiría el diseño de fármacos contra la Leishmaniasis. Objetivos propuestos: determinación de las estructuras apo- y holo- de Lh-LBP, estudio de la relación estructura-función y ésta con la enfermedad metabólica, utilización de Lh-LBP nativa y recombinante como antígeno, diseño de inhibidores de Lh-LBP como agentes terapéuticos. Para llevar a cabo estos objetivos se propone: 1. Purificar la proteína nativa en suficiente cantidad 2. Secuenciar la proteína 3. Encontrar el c-DNA perteneciente a Lh-LBP a partir del genoma de Leishmania mediante BLAST 4. Introducir el gen que codifica la proteína dentro de un vector de expresión 5. Poner a punto el protocolo de purificación de la proteína recombinante para obtener la máxima cantidad con la mayor pureza 6. Determinar mediante cristalografía de rayos-X y RMN las estructuras apo- y holo- de la proteína 7. Estudiar la homología de Lh-LBP con las FABPs de animales vertebrados 8. Diseño de moléculas orgánicas como agentes terapéuticos para posterior uso en quimioterapia. Aspectos innovadores del proyecto: Determinación de la estructura de una nueva proteína de unión a ácidos grasos de Leishmania (Lh-LBP) y su comparación con las estructuras de FABPs en vertebrados especialmente en humanos para encontrar o no similitudes lo que abre la posibilidad de diseñar inhibidores de Lh-LBP que no interactuarían con la FABP humana y permitiría parar el desarrollo de la enfermedad.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Como estudiante y becario predoctoral del Dpto. de Química Física de la Universidad de Granada (UGR) comencé mi investigación en el campo de la calorimetría biológica aplicada al estudio de plegamiento-desplegamiento y estabilidad de varios sistemas: dominio de activación de la procarboxipeptidasa humana Ada-2h (Fernández et al. Eur. J. Biochem. 2000), proteína represora Cro del fago 434 (434Cro) (Padmanabhan, S. et al., Biochemistry 1999) y Quitinasas A y B de Serratia marcescens. Simultáneamente inicié estudios de calorimetría isotérmica de titulación aplicada a la determinación de las interacciones ligando-proteína en la unión del ácido fosfoglicólico (PGA) a la trifosfatasa isomerasa de Tripanosoma brucei (TIM) y a su mutante monomérico (MSS-TIM) (Norledge, B. V. et al. PROTEINS: Structure, Function & Genetics 2001) así como en la desnaturalización mediante ácido de 434Cro (Padmanabhan, S. et al., Biochemistry 1999). Realicé una estancia predoctoral en el Dpto. de Ciencias Biotecnológicas de la Universidad de Agricultura de Noruega (beca EMBO) durante la cual purifiqué las Quitinasas A y B y probé la separación de sus dominios plegados individualmente mediante proteólisis limitada. Como becario postdoctoral Marie Curie en el Laboratorio de Biología Molecular Europeo (EMBL), Unidad de Biología Estructural y Computacional, en Heidelberg, Alemania, amplié conocimientos en la clonación, mutagénesis y posterior purificación de proteínas. La elección de los mutantes más adecuados en estudios de estabilidad y plegamiento, me ha permitido familiarizarme con el diseño molecular mediante software especializado. Mi investigación se centró en estudios de replegamiento-plegamiento de proteínas utilizando la técnica cinética, Stopped Flow, aplicada a la búsqueda de evidencia experimental de moléculas de agua en el estado de transición de SH3 de espectrina, (Fernández-Escamilla et al., PNAS 2004). También estudié el comportamiento de diferentes proteínas en relación al fenómeno de agregación para el desarrollo y testado del programa computacional TANGO, (<http://tango.embl.de>) (Fernández-Escamilla et al., Nature Biotechnology 2004). Durante este tiempo realicé una estancia postdoctoral en el grupo de Espectroscopia y Estructura Molecular, Instituto de Química Física Rocasolano, Madrid, con el fin de aprender RMN aplicándola a la resolución estructural de los siguientes sistemas: dominio FHA de Xenopus laevis, mutante SB3-WW2 de betanova (Fernández-Escamilla et al., Protein Science 2006), mutante regularizado de ADA-2h. Desde abril de 2005 a diciembre de 2006 trabajé en el Laboratorio de Biología Estructural, CIPF, Valencia, en la clonación de los tres dominios del receptor de estrógeno AIB1 y clonación del dominio SH2-STAT3beta para posteriormente determinar su estructura mediante RMN. Desde enero de 2007 a diciembre de 2008 he trabajado como investigador contratado, en el Dpto. de Microbiología de la UGR, en relación a la clonación, expresión, purificación y caracterización de la bacteriocina cíclica AS-48 de Enterococcus faecalis y sus mutantes (Sánchez-Hidalgo et al., JAC 2008), (Sánchez-Hidalgo & Fernández-Escamilla et al., enviado a BMC Microbiology) con el objeto de determinar su mecanismo de acción sobre la membrana bacteriana y desarrollar su posible aplicación biotecnológica como conservante de alimentos.