



Nombre: GAMEZ ABASCAL, ALEJANDRA

Referencia: RYC-2009-04890

Area: Medicina Clínica y Epidemiología

Correo electrónico: gamezalex@yahoo.com

Título:

Terapia enzimática para enfermedades metabólicas y cáncer mediante peguiliación de proteínas

Resumen de la Memoria:

El objetivo principal de este proyecto consiste en investigar el potencial terapéutico de enzimas modificadas que permitan corregir alteraciones metabólicas originadas como consecuencia de enfermedades genéticas o cáncer para lo que se emplearán distintas aproximaciones experimentales. La terapia enzimática es el área de mayor crecimiento en el desarrollo de nuevos fármacos en los últimos años gracias al empleo de modificaciones químicas (peguiliación) que es una poderosa herramienta metodológica para mejorar el desarrollo de proteínas como agentes terapéuticos. La técnica de peguiliación, proceso por el cual moléculas de polietilenglicol (PEG) activado son conjugadas a proteínas, combinada con modificaciones estructurales mejora las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de proteínas con fines terapéuticos. Esta modificación covalente enmascara la superficie de la proteína e incrementa el tamaño molecular del polipéptido reduciendo su filtración renal, evitando el reconocimiento por parte de anticuerpos y células procesadoras de antígenos y reduciendo su degradación proteolítica. El propósito de este estudio se fundamenta en los principios de la terapia de reemplazo o sustitución enzimática, si la proteína seleccionada es nativa o externa respectivamente, en la cual el mantenimiento de los niveles circulantes de la enzima reducirá la acumulación de metabolitos tóxicos en enfermedades metabólicas o regulará nutricionalmente el crecimiento tumoral en cáncer. La aplicación de estos principios unidos a la técnica de peguiliación permiten mejorar las propiedades farmacológicas de las moléculas candidatas para ser empleadas con fines terapéuticos en humanos. Los metabolitos cuya elevación patológica es característica en las diferentes alteraciones que se proponen abordar terapéuticamente son: - Homocisteína para el tratamiento de la homocistinuria. - Trimetilamina para el tratamiento de la trimetilaminuria. - Arginina para el tratamiento de la argininemia. - Leucina para el tratamiento del carcinosarcoma y tumores de huesos. - Triptófano para el tratamiento de algunos cánceres de mama, pulmón y estómago. El novedoso enfoque terapéutico propuesto en este estudio para reducir la acumulación de metabolitos en plasma, característica de enfermedades metabólicas y cáncer, permitirá aliviar los síntomas causados por su toxicidad empleando una estrategia combinada de modificaciones químicas y terapia enzimática. Con este objetivo la aproximación experimental consistirá en la búsqueda y screening de enzimas con potencial terapéutico en función de sus propiedades biológicas. Las enzimas elegidas como dianas terapéuticas serán modificadas químicamente mediante peguiliación prolongando la vida media de los conjugados y reduciendo su inmunogenicidad que será evaluada en sistemas in vitro y en modelos animales in vivo en los que se determinarán las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de las distintas formulaciones con el fin último de ser empleadas en humanos. Este estudio proporcionará una nueva aproximación terapéutica para varias enfermedades genéticas y algunos tipos de cáncer en los que no existe tratamiento y cuyo pronóstico en la mayoría de los casos es fatal.

Resumen del Curriculum Vitae:

Alejandra Gámez Abascal Estancia en el extranjero: 6 años y 3 meses Participación en 9 proyectos de investigación Colaboración con la empresa BioMarin Pharmaceutical Inc. en el desarrollo de un fármaco para el tratamiento de la Fenilcetonuria que actualmente está en ensayos clínicos. Publicaciones 1. L.Desviat, B.Pérez, A.Gámez, A.Sánchez, M.García, M.Martínez-Pardo, C.Marchante, D.Bóveda, A.Baldellou, J.Arena, P.Sanjurjo, A.Fernández, M.Cabello, M.Ugarte.(1999) Eur.J.Hum.Genet. 7:386-392. A.Gámez, B.Pérez, M.Ugarte, L.Desviat.(2000) J.Biol.Chem. 275(38):29737-423. A.Pey*, L.Desviat*, A.Gámez, M.Ugarte, B.Pérez (2003) Hum.Mutat. 21(4):370-8 4. H. Erlandsen, M.Patch, A.Gámez, M. Straub, R.Stevens. (2003) Pediatrics 112(6):1557-655. Z.Shen, E.Go, A.Gámez, J.Apon, V.Fokin, M.Greig, M.Ventura, J.Crowell, O.Blixt, J.Paulson, R.Stevens, M.Finn, G.Siuzdak.(2004) ChemBioChem. 5(7):921-276. R.Matalon, R.Koch, K.Michals-Matalon, K.Moseley, S.Surendran, S.Tyring, H.Erlandsen, A.Gámez, R.Stevens, A.Romstad, L.Moller, F.Guttler.(2004) Genet.Med.;6(1):27-327. A.Gámez, L.Wang, M.Straub, M.Patch, R.Stevens.(2004) Mol.Ther. 9(1):124-98. A.Pey, B.Pérez, L.Desviat, M.Martínez, H.Erlandsen, A.Gámez, R.Stevens, M. Ugarte, A. Martínez.(2004) Hum.Mutat. 24(5):388-999. W.Kim, H.Erlandsen, S.Surendran, R.Stevens, A.Gámez, K.Michols-Matalon, S.Tyring, R.Matalon.(2004) MolTher. 10(2):220-410. H.Erlandsen*, A.Pey*, A.Gámez, B.Pérez, L.Desviat, C.Aguado, R.Koch, S.Surendran, S.Tyring, R.Matalon, C.Scriver, M.Ugarte, A.Martínez, R.Stevens.(2004) ProcNatlAcadSci.USA 101(48):16903-0811. A.Gámez, C.N.Sarkissian, L.Wang, W.Kim, M.Straub, M.Patch, L.Chen, S.Striepeke, P.Fitzpatrick, J.Lemontt, C.O'Neill, C.Scriver, R.Stevens.(2005). MolTher. 11(6):986-912. A.Gámez*, L.Wang*, C.N.Sarkissian, M.Straub, M.Patch, G.Han, S.Striepeke, P.Fitzpatrick, J. Lemontt, C. O'Neill, C.Scriver, R.Stevens.(2005). MolGenetMetab. 86:134-140.13. C.N Sarkissian and A. Gámez(2005) MolGenetMetab. 86(1):22-26 14. C.N. Sarkissian and A. Gámez(2005) National PKU News. 17(2):2-315. A.Gámez, L.Wang, C.N.Sarkissian, D.Wendt, P.Fitzpatrick, JF.Lemontt, C.Scriver, R.Stevens.(2007) Mol. Genet. Metab. (2007) 91 (4):325-3416. L.Wang, A.Gámez, H.Archer, E. Abola, C.N.Sarkissian P.Fitzpatrick, D.Wendt, S.Bell, C.R.Scriver, R.C.Stevens (2008) J.Mol.Biol. 18;380(4):623-3517. C.N.Sarkissian, A.Gámez, L.Wang, M.Charbonneau, P.Fitzpatrick, J.F.Lemontt, B,Zhao, M.Vellard, S.M.Bell C.Henschell, A.Lambert, R.C.Stevens, C.R.Scriver. (2008) Proc.Natl. Acad.Sci.(USA) 105(52):20894-9 18. C.N. Sarkissian, A. Gámez, C.R. Scriver (2009) J.Inherit.Metab.Dis. 32(1):3-9 Patentes 1. A.Gámez, L.Wang, W.Kim, M.Straub, M.Patch, E.Kakkis, D.Oppenheimer, P.Fitzpatrick, R.Heft, R.Stevens (2004) Variants and chemically-modified variants of phenylalanine ammonia-lyase. Patent Application Serial No. 11/230,374. 2. A.Gámez, L.Wang, W.Kim, M.Straub, M.Patch, E.Kakkis, D.Oppenheimer, P.Fitzpatrick, R.Heft, R.Stevens (2005) Pegylation of phenylalanine degradation enzymes for therapeutic use. Patent pending. 3. J.Arndt, L.Steward, J.Francis, A.Gámez, R.Stevens (2006) Chemically modified variants and variant formulations of Botulinum Neurotoxin Type A. Patent pending. Becas: Beca de Tercer Ciclo UAM. Becas predoctoral y postdoctoral Fundación Ramón Areces. Beca postdoctoral PKU Piziali foundation.



Nombre: IZQUIERDO LAZARO, LUIS

Referencia: RYC-2009-03969

Area: Medicina Clínica y Epidemiología

Correo electrónico: LuisIzquierdoLazaro@gmail.com

Título:

Anclas GPI y N-glicosilacion en Plasmodium

Resumen de la Memoria:

La malaria es una enfermedad global causada por parásitos protozoos del género Plasmodium. Es causante de unos 500 millones de casos clínicos y de más de un millón de muertes cada año. Se calcula que el genoma de diversas especies de Plasmodium (*P. falciparum*, *P. knowlesi*, *P. vivax* and *P. yoelii yoelii*) comprende unos 5500 genes, de los cuales solo un 35% codifican proteínas con una función identificable. Uno de los mayores retos de la investigación sobre malaria en la era post-genómica es la determinación de las funciones de los nuevos productos genéticos y su validación como posibles dianas terapéuticas. En los últimos años han sido desarrolladas diversas herramientas y estrategias asociadas a la transformación de DNA y a su integración en los cromosomas del parásito. Las anclas de glicosilfosfatidilinositol (GPI) son complejas modificaciones postraduccionales esenciales para la supervivencia de *P. falciparum*, que sirven como puntos de anclaje para algunos de los más importantes antígenos de superficie en los estadios invasivos del parásito. Una de las principales líneas de investigación a desarrollar se dirigirá a tratar de identificar, caracterizar funcionalmente y validar como posibles dianas terapéuticas los genes implicados en la biosíntesis de las anclas GPI en *P. falciparum*, mediante la utilización de técnicas recientemente establecidas que permiten modificaciones del DNA letales para el parásito en su fase sanguínea. La N-glicosilación de residuos de asparagina es un proceso ubicuo y generalmente esencial en organismos eucariotas. En el genoma de *P. falciparum* han sido hallados genes que codifican tanto para un complejo de oligosaciltransferasa completo (que comprendería cuatro subunidades), como para glicosiltransferasas Alg, que permitirían la biosíntesis de N-glicanos cortos. Recientes estudios realizados en el parásito protozoario flagelado *Giardia lamblia* demuestran que este organismo, que presenta una maquinaria Alg para la biosíntesis de N-glicanos muy similar a la de *P. falciparum*, agrega estos glicanos a muchas glicoproteínas durante su ciclo vital. La segunda línea de investigación que se llevaría a cabo se centraría en la investigación de la presencia de un sistema de N-glicosilación en Plasmodium y en la caracterización de su N-glicoma (el conjunto de proteínas con glicanos unidos a sus residuos de asparagina).

Resumen del Curriculum Vitae:

Durante la primera parte de mis estudios de doctorado estuve estudiando la virulencia de *Klebsiella pneumoniae* adquiriendo experiencia en técnicas microbiológicas y de biología molecular básica que me permitieron colaborar en varias publicaciones. Estuve involucrado en la construcción y caracterización de diversos mutantes de *K. pneumoniae*, así como en la determinación de su virulencia. Los estudios implicaron la caracterización genética de las agrupaciones genéticas involucradas en la biosíntesis del núcleo y del antígeno O del lipopolisacárido (LPS) de *K. pneumoniae*. Estas representaron mis primeras investigaciones en el estudio de glicosiltransferasas y llevaron a varias publicaciones sobre la caracterización funcional del gen *waaE*, involucrado en la sustitución de la α -L-glicero-D-mano-heptopiranososa I en su posición O-4 por un residuo de β -D-glucopiranososa en el núcleo de varias Enterobacteriaceae. También trabajé en la caracterización de la agrupación genética responsable de la biosíntesis del núcleo del LPS de *K. pneumoniae*, cepa 52145, lo cual me dio la oportunidad de observar como las diferencias genéticas entre diversas cepas de esta bacteria determinaban diferencias en las estructuras químicas de los núcleos de sus respectivos LPS (que, a su vez, influyen en la virulencia de las diversas cepas bacterianas). Mis estudios de doctorado me llevaron a desarrollar un gran interés en el estudio de la función que juegan los azúcares complejos en microorganismos patógenos. Los protozoos parásitos dependen en gran medida de los glicoconjugados para su supervivencia e infectividad. Por esta razón, tras finalizar mi doctorado, mi principal línea de investigación se ha centrado en la identificación y caracterización funcional de glicosiltransferasas (GTs) y otros genes involucrados en la biosíntesis de glicoconjugados en *Trypanosoma brucei*, el agente etiológico de la denominada enfermedad del sueño. Durante este periodo he tenido la oportunidad de adquirir formación en un amplio espectro de técnicas punteras en el análisis de glicoconjugados, así como, en general, en el campo de la glicobiología y la parasitología. Los trabajos realizados en este laboratorio permitieron identificar y caracterizar funcionalmente varias GTs de *T. brucei* y demostrar la esencialidad del metabolismo de la GDP-fucosa para el crecimiento del parásito. Asimismo, en los últimos tres años, he iniciado nuevos estudios sobre la N-glicosilación de proteínas y el procesamiento de N-glicanos en *T. brucei*. La N-glicosilación de proteínas, la modificación covalente de proteínas más corriente en células eucariotas, es generalmente esencial para la viabilidad celular. Los N-glicanos contribuyen al control de calidad en el retículo endoplasmático a través de una serie de reacciones de procesamiento de oligosacáridos y uniones a lectinas. Estas reacciones ayudan al correcto plegamiento de las proteínas y marcan aquellas proteínas mal plegadas para su posterior degradación. El mecanismo de N-glicosilación de *T. brucei* difiere del previamente descrito en eucariotas superiores y presenta características únicas que podrían hacerlo aprovechable desde un punto de vista terapéutico. Nuestros trabajos están permitiendo establecer las bases moleculares de la N-glicosilación y el procesamiento de glicanos específica asociada a un lugar de N-glicosilación, un novedoso fenómeno descubierto en *T. brucei*.