

## PROGRAMA RAMON Y CAJAL CONVOCATORIA 2007

**Nombre:** Martín Belmonte, Fernando

**Referencia:** RYC-2007-00350

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

**Número de orden:** 1 **Correo electrónico:** fernando.martin-belmonte@ucsf.edu

**Título:**

El papel de la familia MAL de proteínas en la morfogénesis de órganos epiteliales

**Resumen de la Memoria:**

Los órganos epiteliales, como el riñón, consisten en estructuras epiteliales huecas de tipo tubular. A pesar de la gran diversidad existente en su estructura y mecanismo de desarrollo, los órganos epiteliales comparten un patrón común de organización con la superficie apical de las células epiteliales rodeando a un lumen central y la membrana basolateral conectando las células adyacentes, y a estas con la matriz extracelular (MEC) subyacente. Cómo se forman la membrana apical y el lumen sigue siendo una laguna importante en nuestro conocimiento de este proceso. El sistema epitelial de células MDCK en tres dimensiones (3D-MDCK) representa un modelo excelente para investigar la morfogénesis epitelial in vitro. Este sistema consiste en células MDCK que al ser embebidas en un gel de MEC forman quistes; es decir, monocapas esféricas de células epiteliales que encierran un lumen central relleno de fluido. La información que se ha obtenido de este modelo, y otros relacionados, ha permitido construir un modelo general para el proceso de morfogénesis epitelial. Según este modelo, el proceso inicial que establece el eje de polaridad durante la morfogénesis epitelial depende de la capacidad de las células para interpretar una señal extracelular proveniente de su contacto con la MEC y traducirla posteriormente en una señal intracelular para generar asimetría. A partir de esto, el paso más crucial en la morfogénesis epitelial es la formación del lumen central. Resultados recientes de la morfogénesis en sistemas epiteliales han sugerido que la formación del lumen central podría producirse por el transporte y secreción por exocitosis de vesículas internas que contienen proteínas apicales y fluido luminal. Será necesario, por tanto, analizar los mecanismos moleculares que existen detrás de los movimientos y formación de membrana si queremos comprender en profundidad la morfogénesis de órganos epiteliales. Estos procesos de tráfico de membranas dependen de una clase especial de lípidos, los fosfoinosítidos, y de proteínas integrales de membrana componentes esenciales de la maquinaria de tráfico intracelular. De hecho, los fosfoinosítidos PtdIns(4,5)P2 y PtdIns(3,4,5)P3 regulan la formación de la membrana apical y basolateral, respectivamente, durante la morfogénesis epitelial. Las proteínas de la familia MAL son componentes esenciales de la maquinaria del transporte intracelular en tejidos epiteliales. La hipótesis de trabajo para nuestra principal línea de investigación propone que MAL, y otros miembros de su familia de proteínas, podrían controlar la morfogénesis de órganos epiteliales. En particular, podrían regular las rutas de tráfico intracelular requeridas para la formación de la membrana apical y el lumen en el epitelio. Otro objetivo importante será la caracterización del mecanismo de acción de las proteínas de la familia MAL en el proceso de la morfogénesis epitelial. Resultados anteriores sugirieron que proteínas de la familia MAL podrían tener como mecanismo de acción promover la formación y estabilización de dominios lipídicos en regiones específicas de la membrana plasmática y en compartimentos intracelulares. El mecanismo de acción podría consistir en que la presencia de MAL induciría la formación, y estabilización, de dominios lipídicos enriquecidos en PtdIns(4,5)P2 en regiones específicas de la membrana plasmática apical y/o compartimentos intracelulares.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Datos Personales Apellidos: Martín Belmonte Nombre: Fernando DNI/Pasaporte: 38104659 Fecha de nacimiento: 9-5-1970 Nacionalidad: España Posición actual: Postdoctoral. Dept of Anatomy, University of California San Francisco. Genentech Hall N214, 600 16th street, San Francisco, CA 94143-2140 fernando.martin-belmonte@ucsf.edu Datos académicos y meritos científicos Licenciado en ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 21-10-1997. Expediente académico-2.92 (sobresaliente)-Estudios de doctorado. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa" (1997-2001), Madrid, España. Lectura de tesis 16-2-2001 con Sobresaliente cum laude y Premio extraordinario de tesis año 2001. Director de tesis: Dr. Miguel A. Alonso. Financiación: Beca de estudios de doctorado de la Comunidad Autónoma de Madrid. Proyecto: Biochemical and Functional analysis of MAL protein in epithelial cells. Estancias en el extranjero: -Department of Developmental and Molecular Biology and the Division of Endocrinology, Albert Einstein College of Medicine. Investigador principal: Dr. Peter Arvan, New York, NY USA (1999). Thyroglobulin secretion in polarized epithelial cells-Cell and Developmental Biology Department, Division of Biology, University of California at San Diego (UCSD). Investigador principal: Dr. Vivek Malhotra. San Diego, CA, US (2000). Mechanism of action of MAL as a component of apical transport machinery. Artículos relevantes: - Martín-Belmonte, F., et al. (1998). Endocrinology 139, 2077-2084. - Puertollano, R., Martín-Belmonte, F., et al. (1999). J Cell Biol 145, 141-151. - Martín-Belmonte, F., et al. (2000). Mol Biol Cell 11, 2033-45. - Martín-Belmonte, F., Alonso, M.A., Zhang, X., and Arvan, P. (2000). J Biol Chem. 275, 41074-81. - Martín-Belmonte, F., et al. (2000). Biochemistry 39, 1083-1090. - López-Guerrero, J.A., Alonso, M., Martín-Belmonte, F., Carrasco, L. (2000). Virology 272: 250-6. - Martín-Belmonte, F., Arvan, P., Alonso, M.A. (2001). J Biol Chem 276:49337-42. - Sánchez-Pulido, L., Martín-Belmonte, F., Valencia, A. and Alonso, M.A. (2002). TiBS 27:599-601. Becario Posdoctoral. Centro de Biología Molecular "Severo Ochoa", Madrid, España (2001-2003). Investigador Principal: Dr. Miguel A. Alonso. Financiación: -Beca posdoctoral de la Comunidad Autónoma de Madrid. -Beca posdoctoral de incorporación de doctores al sistema español de investigación I3P. Proyecto: Characterization of the mechanism of action of MAL protein in epithelial cells Artículos relevantes: -de Marco, M.C., Martín-Belmonte, F., et al. (2002). J Cell Biol 159:37-44. - Martín-Belmonte, F., et al. (2003). J Cell Biol 163(1):155-164. - Marazuela, M., Martín-Belmonte, F., et al (2004) Endocrinology 145(2):1011-6. Becario posdoctoral. Universidad de California San Francisco, San Francisco, CA (2003-2007) Investigador principal: Dr. Keith Mostov. Financiación: -Programa de becas posdoctoral para estudios en el extranjero. -Long term fellowship from the Human Frontier Science Program Organization (HFSP)-France. Proyecto: The role of Cdc42 and the Par3/Par6/aPKC complex in the orientation of epithelial polarity in 3D culture models. Artículos relevantes: -Mostov, K and Martín-Belmonte, F. (2006) Nature; 442: 363-364. - Gassama-Diagne, A., Yu, W., ter Beest, M., Martín-Belmonte, F., et al (2006). Nature Cell Biology; 8(9):963-70. - Martín-Belmonte, F., et al. (2007). Cell; 128:383-97.

## PROGRAMA RAMON Y CAJAL CONVOCATORIA 2007

Nombre: **García Perez, Jose Luis**

Referencia: RYC-2007-00629

Area: Biología Molecular, Celular y Genética

Número de orden: 2 Correo electrónico: jegp@umich.edu

### Título:

Impacto del retroelemento LINE-1 en células madre embrionarias humanas (hESC) y células stem del sistema nervioso: variación genética e impacto en el genoma humano.

### Resumen de la Memoria:

LINE-1 es el único DNA móvil autónomo del genoma humano y su movilidad continua impactando el genoma a diversos niveles. Mi trabajo con células madre ha sido realizado en el Stem Cell Center de la Universidad de Michigan, bajo la co-dirección de la doctora K. Sue O'Leary (Directora del Centro). Dicho centro es uno de los tres pioneros financiados por el NIH en USA, para el estudio de células embrionarias humanas. He sido el primer usuario de dicho centro; por tanto, he aprendido muy de cerca la derivación de células MEFs, cultivo de hESC en diversos substratos, establecimiento de protocolos de transfección y diferenciación, etc. He participado en el entrenamiento de nuevos usuarios del centro, y en la redacción de la beca de renovación de dicho centro. Además, estoy ampliamente familiarizado con las diversas técnicas genéticas y bioquímicas requeridas para el estudio de la expresión y funcionalidad de retrotransposones LINE-1. Recientemente he finalizado un estudio que demuestra la actividad de los elementos LINEs en hESC (García-Pérez et al., Hum. Mol. Genet., 2007). En cuanto a la continuidad de esta línea de Investigación, pretendo estudiar el impacto de los elementos L1 en hESC derivadas en distintas localizaciones geográficas. He establecido una colaboración con el Dr. Pablo Menéndez (Director del Banco Andaluz de células Madre) para realizar dicho estudio en nuevas líneas hESC hispanicas que se pretenden derivar. Pretendo aislar ~100 nuevas líneas celulares que contengan una inserción de novo de L1 en hESC de origen español, norteamericano y asiático. Utilizare el sistema de caracterización de inserciones de L1 basado en el aislamiento de inserciones como plásmidos replicativos (con el cual estoy bastante familiarizado, Morrish\*, García-Pérez\*, et al., Nature, 2007, \*, co-primer autor). Dicho estudio determinará el nivel de retrotransposición y mosaicismo derivado por L1 en el desarrollo embrionario humano en diversos grupos étnicos, y permitirá valorar el nivel de inestabilidad genómica causado por L1 en hESC. Mediante estudios de CGH se podrá también determinar la estabilidad del genoma de hESC tras selección clonal (técnica utilizada ampliamente para producir líneas hESC modificadas genéticamente). La valoración de la estabilidad del genoma de hESC es un requisito primordial antes de su potencial utilización en medicina regenerativa. Por otro lado, LINE-1 es un tipo de DNA parásito y a priori su actividad sería más notable en células embrionarias (donde las inserciones serían transmitidas a nuevos seres humanos). Sin embargo, ciertos resultados indican que la actividad e impacto de LINE-1 no está restringida a células embrionarias y/o germinales. Por tanto, otra línea de investigación es conocer que tipo de células somáticas pueden albergar la retrotransposición de LINE-1, y determinar el impacto de LINE-1. He adquirido experiencia en la derivación, cultivo, y manipulación genética de células stem neuronales (NPCs) derivadas de hESC. Sorprendentemente, el nivel de retrotransposición detectado en NPCs es el más alto descrito hasta la fecha utilizando células primarias o tumorales humanas. La alta eficiencia de retrotransposición indica que el impacto de LINE-1 en poblaciones stem del cerebro es mucho más notable de lo que cabría esperar a priori. Además de conocer la función de LINE-1 en el cerebro, si es que la tiene, esta línea de investigación tiene un potencial interés bio-médico.

### Resumen del Curriculum Vitae:

ACTIVIDAD CIENTÍFICA 1997-2003, Tesis Doctoral. Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra, CSIC, España (Dr. López López). 2003-actualidad, Investigador Posdoctoral. University of Michigan Medical School, USA. Dep. of Human Genetics (Dr. Moran). PROYECTOS DE INVESTIGACION- Caracterización de secuencias reguladoras y funcionales contenidas en el elemento L1Tc, retrotransposón no-LTR de Trypanosoma cruzi, PGC-Ministerio de Ciencia y Tecnología, 2001- 2003, IP: Dr. Manuel Carlos López López.- Análisis molecular de inserciones de novo del elemento móvil LINE-L1Tc y determinación de la capacidad de unión a ácidos nucleicos de la proteína codificada por el ORF3 y de la funcionalidad de la secuencia reguladora 2A, PGC-Ministerio de Ciencia y Tecnología, 2003- 2005, IP: Dr. Manuel Carlos López López.- Mechanism of LINE-1 retrotransposition, National Institutes of Health (USA), 2003- 2009, IP: Dr. John V. Moran.- Endonuclease independent LINE-1 retrotransposition, Keck Foundation (USA), 2000- 2005, IP: Dr. John V. Moran.- LINE-1 retrotransposition in human embryonic stem cells National Institutes of Health (USA), 2002- 2007, IP: Dr. John V. Moran and Dr. K. Sue O'Leary. PUBLICACIONES- Thomas M.C., García-Pérez J.L., Alonso C., and López M.C., DNA and Cell Biology, 2000, 19, 47-57.- Olivares M., Thomas M.C., López-Barajas A., Requena J.M., García-Pérez J.L., Angel S., Alonso C., and López M.C., Electrophoresis, 2000, 21(14):2973-82.- Olivares M.\*, García-Pérez J.L.\*, Thomas M.C., and López M.C., J. Biol. Chem., 2002, 277(31): 28025-28030. \* co-primer autor.- Bringaud, F., Garcia-Perez, J.L., Heras, S.R., Ghedin, E., El-Sayed, N.M., Andersson, B., Baltz, T., y Lopez, M.C., Mol Biochem Parasitol, 2002, 124: 73-78.- Olivares, M., Lopez, M.C., Garcia-Perez, J.L., Briones, P., Pulgar, M., and Thomas, M.C., Biochem Biophys Acta, 2003, 1626(1-3):25-32.- García-Pérez, J.L., González, C.I., Thomas, M.C., Olivares, M., and López, M.C., Mol. Cell Life Sci, 2003, 12: 2692-701.- Heras, S.R., López, M.C., García-Pérez, J.L., Martin, S.L., and Thomas, M.C., Mol Cell Biol, 2005, (21): 9209-20.- Alisch, R.A.\*, García-Pérez J.L.\*1, Muotri, A.R., Gage, F.H., and Moran, J.V.1, Genes and Dev, 2006, 20(2) 210-24. \* co-primer autor. 1, corresponding authors.- Kubo, S., Seleme, M.C., Soifer, H., García-Pérez J.L., Moran, J.V., Kazanian, H., and Kasahara, N., PNAS, 2006, 103(21): 8036-41. - Bogerd, H.P., Wiegand, H.L., Hulme, A.E., García-Pérez J.L., O'Leary, K.S., Moran, J.V., and Cullen, B.R., PNAS, 2006, 103(23): 8780-5.- Heras, S.R., Thomas, M.C., deFelipe, P., Garcia-Canadas, M., García-Pérez J.L., Ryan, M.D., and Lopez, M.C., Mol. Cell Life Sci, 2006, 63(12): 1449-60.- Morrish, T.\*, García-Pérez, J.L.\*, Stamato, T., Taccioli, G.E., Sekiguchi, J. and Moran J.V., Nature, 2007, 446 (7132): 208-212. \* co-primer autor.- García-Pérez, J.L.\*, Doucet, A.\*, Bucheton, A., Moran, J.V., and Gilbert, N. Genome Res, 2007, en prensa. \* co-primer autor.- García-Pérez, J.L. 1, Marcheto, C.M.V., Muotri, A.R.M., Coufal, N., Gage, F.H., O'Leary, S., and Moran, J.V. 1 Hum. Mol. Genet., sometido tras revision. 1, corresponding authors. CONGRESOS- 14 congresos internacionales, 4 comunicaciones orales, 11 pósteres.- 8 congresos Nacionales, 4 comunicaciones orales, 4 pósteres. PATENTES- 2001, LINE mobile retroelements with RNase H enzymatic activity and their use.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Galindo Orozco, Maximo Ibo

**Referencia:** RYC-2007-00245

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

**Número de orden:** 3      **Correo electrónico:** ibo@sussex.ac.uk

**Título:**

Polaridad Celular Plana y Señalización Celular en *Drosophila*

**Resumen de la Memoria:**

Las células epiteliales son asimétricas en su eje apicobasal. En muchos casos, también son asimétricas en el plano del epitelio. Esta asimetría es adquirida por un proceso denominado Polaridad Celular Plana (PCP). Un ejemplo de PCP es la orientación direccional de los pelos, que apuntan de forma coordinada posteriormente en el tronco y distalmente en las extremidades. También controla movimientos celulares organizados como la extensión convergente del embrión en vertebrados y la extensión de la banda germinal en *Drosophila*. La PCP fue descubierta en *Drosophila*, donde hay numerosos estudios sobre su papel en el desarrollo del ojo y el ala. La PCP se origina por la localización asimétrica de dos complejos proteicos en extremos opuestos de la célula. Esta asimetría se traduce en la organización direccional de estructuras celulares (pelos, microvilli), división celular o movimientos celulares, a través del control de componentes del citoesqueleto. A pesar de todos estos estudios, aun no hay un mecanismo para el establecimiento de la dirección de esta asimetría. En este proyecto propongo el estudio de la relación entre PCP y rutas de señalización celular en el desarrollo de la pata de *Drosophila*, basándome en observaciones preliminares en mi investigación. Hasta el momento la PCP se ha relacionado con movimientos celulares y diferenciación de estructuras asimétricas. Tengo evidencia de relaciones funcionales con rutas de señalización celular. Alteraciones en las rutas de Notch y EGFR-Ras producen defectos en PCP. Este hecho podría indicar un papel de estas rutas en el establecimiento o regulación de la PCP. Mi hipótesis es que el control de la PCP es local, no a larga distancia. Además, he observado que tanto PCP como EGFR-Ras pueden reprimir a Notch sin alterar la expresión de sus ligandos. Investigare los mecanismos de interacción de estas tres rutas. Esta sería la primera descripción de un papel de la PCP en este tipo de control de señalización celular.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

DATOS PERSONALES. Apellidos: Galindo Orozco. Nombre: Máximo Ibo. Fecha nacimiento: 13-VII-1967. Dirección profesional: University of Sussex, School of Life Sciences. JMS Building. Falmer, Brighton BN1 9QG. United Kingdom. Tel: 01273 877 451 Fax: 01273 678 433 e-mail: ibo@sussex.ac.uk TITULOS. Licenciado en Biología (junio 1990). Facultat de Ciències Biològiques, Universitat de València. Grado de licenciatura (marzo 1992). Departament de Genètica, Universitat de València. Doctorado (octubre 1996). Departament de Genètica, Universitat de València. BECAS. Beca predoctoral FPI de la Generalitat Valenciana (octubre 1991 a septiembre 1995) Beca para estancias cortas de la Generalitat Valenciana (3 mayo 1995 al 2 agosto 1995) Beca posdoctoral Marie Curie de la Comisión Europea (diciembre 1997 a noviembre 1999) EXPERIENCIA PROFESIONAL. Wellcome Trust research fellow en la School of Life Sciences, University of Sussex (desde diciembre 1999). Postdoctoral research fellow en la School of Biological Sciences, Royal Holloway College, University of London (diciembre 1997 a noviembre 1999). Leverhulme Trust postdoctoral research assistant en la School of Biological Sciences, Royal Holloway, University of London (junio 1997 a noviembre 1997). PUBLICACIONES. 1994. Ladeveze, V.; Galindo, M.I.; Pascual, L.; Periquet, G. y Lemeunier, F. Invasion of the hobo transposable element studied by in situ hybridization on polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster*. *Genetica* 93:91-100. 1994. Periquet, G.; Lemeunier, F.; Bigot, Y.; Hamelin, M.H.; Bazin, C.; Ladeveze, V.; Eeken, J.; Galindo, M.I.; Pascual, L. y Boussy, I. The evolutionary genetics of the hobo transposable element in the *Drosophila melanogaster* complex. *Genetica* 93:79-90. 1995. Galindo, M.I.; Ladeveze, V.; Lemeunier, F.; Kalmes, R.; Periquet, G. y Pascual, L. Spread of an autonomous hobo element in the genome of *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology and Evolution*, 12:723-734. 1998. Cuenca, J.B.; Galindo, M.I.; Saura, A.O.; Sorsa, V. y de Frutos, R. Ultrastructure of regions containing homologous loci in polytene chromosomes of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila subobscura*. *Chromosoma* 107:113-126. 1998. Ladeveze, V.; Galindo, M.I.; Chaminade, N.; Pascual, L.; Periquet, G. y Lemeunier, F. Transmission pattern of hobo transposable element in transgenic lines of *Drosophila melanogaster*. *Genet. Res. Camb.*, 71:97-107. 2000. Galindo, M.I. y Couso, J.P. Intercalation of cell fates during tarsal development in *Drosophila*. *BioEssays*, 22:777-780. 2000. Pueyo, J.I.; Galindo, M.I.; Bishop, S.A. y Couso, J.P. Proximal-distal leg development in *Drosophila* requires the apterous gene and the *Lim1* homologue *dlim1*. *Development* 127:5391-5402. 2001. Galindo, M.I.; Bigot, Y.; Sanchez, M.D.; Periquet, G. y Pascual, L. Sequences homologous to the hobo transposable element in E strains of *Drosophila melanogaster*. *Molecular Biology and Evolution*, 18:1532-1539. 2002. St. Pierre, S.E.; Galindo, M.I., Couso, J.P. y Thor, S. Control of *Drosophila* imaginal disc development by *rotund* and *roughened eye*: differentially expressed transcripts of the same gene encoding functionally distinct zinc finger proteins. *Development*, 129:1273-1281. 2002. Del Alamo Rodríguez, D; Terriente, J.; Galindo, M.I.; Couso, J.P. y Diaz-Benjumea, F.J. Different mechanisms initiate and maintain wingless expression in the *Drosophila* wing hinge. *Development*, 129:3995-4004. 2002. Galindo, M.I.; Bishop, S.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Veiga Chacon, Esteban

**Referencia:** RYC-2007-01822

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

**Número de orden:** 4 **Correo electrónico:** eveiga@pasteur.fr

**Título:**

Endocytosis de bacterias

**Resumen de la Memoria:**

Recientemente hemos demostrado que *Listeria monocytogenes* y otras bacterias patógenas intracelulares entran en las células hospedadoras usando la maquinaria celular de endocitosis. Además de clatrina, dinamina y otras proteínas implicadas en los eventos tempranos de endocitosis, cabe destacar que proteínas implicadas en eventos tardíos de la endocitosis, y más concretamente en la entrada de endosomas tempranos en lo que se llama cuerpos multivesiculares (MVB), también están implicadas en la entrada de bacterias en las células hospedadoras. Células que expresan Hrs y GGA3 están disminuidas, son infectadas muy ineficazmente por *L. monocytogenes* y por otras bacterias (*Escherichia coli* que expresa la invasina de *Yersinia pseudotuberculosis*, y *Staphylococcus aureus*). Hrs es la proteína principal que dispara la entrada de endosomas tempranos en los MVBs. La maquinaria de MVB está formada por complejos multiproteicos que funcionan secuencialmente: Hrs/STAM, ESCRT1, ESCRT2 y ESCRT3. Mi propuesta de proyecto es estudiar si la maquinaria de los MVB se recluta a la membrana plasmática durante las infecciones bacterianas, y si las proteínas que forman parte de estos complejos intervienen en la entrada bacteriana. Además, seguiremos la dinámica espacio-temporal de acumulación de estas proteínas usando técnicas de microscopía en células vivas (por ejemplo usando un microscopio con cabeza de spinning disk). Se conoce que la maquinaria de MVB puede reclutarse en la membrana plasmática en ciertas circunstancias, por ejemplo, hay algunos virus que para salir de las células infectadas reclutan esta maquinaria a la membrana plasmática, entre ellos el HIV. También estudiaremos las analogías entre el posible reclutamiento de la maquinaria de MVB en la entrada bacteriana, y la salida del HIV. También estudiaremos si las maquinarias de MVB juegan algún papel en la entrada vírica. Relacionado con la endocitosis, estudiaremos, usando crío-tomografía, cómo se estructura la clatrina alrededor de las bacterias durante su internalización.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Nombre y apellidos: Esteban Veiga Chacón Fecha y lugar de nacimiento 21/01/1974, Huelva. España Nacionalidad. Española Sexo. Hombre Dirección profesional Unité des Interactions Bactéries-Cellules 28 rue du Dr. Roux 75724, Paris, France Tel. +33 140613779 Fax. +33 1 45 68 8706 Licenciado en Biología 1992-1997. Universidad de Sevilla. Experiencia investigadora: Sep 2005-hasta la fecha, Joven Investigador INSERM, Unité des Interactions Bactéries-Cellules, Institut Pasteur, Paris, France. Oct 2005-Nov 2005 Visitante, CBR-Harvard Medical School, Boston MA, USA. 2003-2005 Post-doc (financiación beca EMBO), Unité des Interactions Bactéries-Cellules, Institut Pasteur, Paris, France. 1997-2003. Estudiante de tesis Ph.D. Student, Centro Nacional de Biotecnología (CSIC); Madrid, Spain. Jun-Ago 2000. Visitante, Department of Molecular and Cell Biology, University of California, Berkeley, USA. Jun-Ago 1999. Visitante, Department of Molecular and Cell Biology, University of California at Berkeley, USA. Publicaciones: 1. Veiga, E., 16(10):499-5042. Martínez, J. J. Seveau, S. Veiga, E. Matsuyama, S. Cossart, P. Ku70, a Component of DNA-Dependent Protein Kinase, Is a Mammalian Receptor for *Rickettsia conorii*. Cell. 123 (6) 1013-23 (2005) 3. Veiga, E., 03495-6107 (US provisional patent application; February 2005) 2. Veiga, E., de Lorenzo, V., Fernández-Herrero, L.A. Título: Generation of specific adhesion in Gram-negative bacteria by anchoring immunoglobulin-monodomains at their surface using Autotransporters Número: 200400073 (Spain; January 2004) Patente pendiente en EU: PCT Explorada por: Microbionta SL 3. Fernández-Herrero, L.A., de Lorenzo, V., Veiga, E. Título: Bacterial specific aggregation by surface expression of fusion proteins Número: 200301348 (Spain; June 2003) Patente pendiente en EU: PCT Explorada por: Microbionta SL

## PROGRAMA RAMON Y CAJAL CONVOCATORIA 2007

**Nombre:** Masgrau Fontanet, Laura

**Referencia:** RYC-2007-00397

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

**Número de orden:** 5      **Correo electrónico:** laura\_masgrau@yahoo.co.uk

**Título:**

Estudio teórico de las Glicosiltransferasas: en búsqueda de las bases moleculares de su reconocimiento de sustratos y actividad catalítica específica.

**Resumen de la Memoria:**

La línea principal de investigación que aquí se propone es el estudio de las glicosiltransferasas (GTs), tanto por su interés en biomedicina como en biotecnología. Las GTs se encargan de la biosíntesis de los glucanos, moléculas que participan en gran variedad de funciones y procesos biológicos y cuya síntesis presenta todavía varias incógnitas. El estudio de las glicosiltransferasas tiene aplicaciones en parasitología (dianas terapéuticas), inmunología (rechazo de órganos transplantados), estudio de disfunciones (diabetes), biosíntesis de antibióticos, estudio del stress celular (células y cultivos resistentes), etc. En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de las GTs, pero las bases moleculares de su especificidad y su mecanismo de reacción todavía no se comprenden completamente [1-4], especialmente para las GTs con retención de la configuración, Ret-GTs, que serán el objeto principal de estudio de este proyecto. Las GTs catalizan la transferencia de un monosacárido desde un dador glicosídico activado específico a una molécula aceptora específica, formando un enlace glicosídico también específico ( $\alpha$ -1,2,  $\alpha$ -1,4, etc.). Esta alta especificidad es fundamental para hacer posible la variedad de estructuras de glucanos existentes. Se ha propuesto que diferencias en la eficiencia catalítica y no solo en KM podrían determinarla. El mecanismo de la transferencia catalizada por las Ret-GTs tampoco está claro. Existen dos propuestas: (a) un doble desplazamiento con transferencia tipo SN2 y formación de un intermedio covalente enzima-monosacárido, y (b) un mecanismo secuencial con ataque nucleofílico tipo SNi por parte del aceptor. Sin embargo, obtener pruebas definitivas para probarlos o refutarlos está resultando difícil. Los métodos de simulación computacional constituyen una herramienta muy poderosa para el estudio de procesos biológicos, y pueden darnos informaciones difíciles de obtener por medios experimentales. En este proyecto se propone hacer un estudio por modelización molecular de la actividad catalítica de las Ret-GT y de sus interacciones con moléculas ligandos, con el objetivo de elucidar su mecanismo(s) de reacción y entender a nivel atómico las bases de su especificidad. El estudio utilizará principalmente métodos híbridos de Mecánica Cuántica y Mecánica Molecular, cálculos por dinámica molecular y cálculos de cambios de energía libre asociados a la fijación de los sustratos y a la reacción química. La caracterización del estado de transición y la identificación de residuos de la proteína y de motivos en los ligandos que confieren alta afinidad servirá para el diseño de inhibidores y para la ingeniería de glicosidasas para su transformación en glicosiltransferasas de uso sintético. (1) U. M. Ünlügil and J. M. Rini, *Curr. Opin. Struct. Biol.* (2000), 10, p.510. (2) C. Breton, L. Źnajdrová, C. Jaenneau, J. Koča and A. Imberty, *Glycobiology* (2006), 16, p.29R (3) G. J. Davies, T. M. Gloster and B. Henrissat, *Curr. Opin. Struct. Biol.* (2005), 15, p.637. (4) P. K. Qasba, B. Ramakrishnan and E. Boeggeman, *Trends in Bioc. Sc.* (2005), 30, p.53. (5) Y. Zhang, A. Deshpande, Z. Xie, R. Natesh, K. R. Acharya and K. Brew, *Glycobiology* (2004), 14, p1295.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Dra. Laura Masgrau (nacida 29/12/1975) -- Posición actual: Postdoc Intra-Europeo Marie Curie (Ciencias de la vida), Instituto Pasteur, París // Trayectoria científica que me ha proporcionado conocimientos en un abanico de métodos y disciplinas para el estudio de la actividad, especificidad y afinidad enzimática; Simulaciones computacionales -- Fines biomédicos y biotecnológicos -- Habitada a la investigación multidisciplinar en ambientes interdisciplinarios // Licenciada en Química por la Universitat Autònoma de Barcelona (1997, Premio Extraordinario de Licenciatura) -- Doctora en Química por la UAB (Química Computacional, Cum Laude, Noviembre 2002, Premio Extraordinario de Doctorado); beca pre-doctoral FPI de la Generalitat de Catalunya; estancia doctoral de tres meses con el Prof. D.G. Truhlar en la University of Minnesota // Postdoc realizado en los Depart. de Bioquímica y Química de la University of Leicester (Nov 2002-Agosto 2005) y en el Manchester Interdisciplinary Biocenter de la University of Manchester (Sep-Oct 2005), UK -- Nov 2005-presente, beca Marie Curie Intra-Europea (Ciencias de la Vida) en Departamento de Biologie Structurale et Chimie del Instituto Pasteur // 18 publicaciones internacionales, primera autora en 13; destaco artículo en *Science* 312, 237-241, 2006, primera autora; incluyen 1 review, dos capítulos de libro y dos artículos enviados (*J. Biol. Chem.* y *ChemPhysChem*). Además, un artículo a punto de enviar (*Human Molecular Genetics*) y uno en preparación. // Presentación de póster y orales en congresos internacionales y nacionales // Docencia impartida (260h) en las licenciaturas de Química y Biología -- Participación en elaboración de material docente y docencia en curso EMBO de  $\zeta$ Biomolecular Simulations, Institut Pasteur, 2006;  $\zeta$  Participación en supervisión del proyecto de un estudiante de máster // Referee para revistas internacionales  $\zeta$ peer-reviewed $\zeta$  // Tesis: me especialicé en el estudio teórico de las reacciones químicas con métodos de Mecánica Cuántica y la Teoría Variacional del Estado de Transición con correcciones para el Efecto Túnel (VTST/MT). Estos conocimientos me han sido (y son) necesarios en mi investigación posterior sobre las enzimas // Postdoc: proyecto inter y multidisciplinar, en estrecha colaboración con enzimólogos y cristalógrafos. Estudio del efecto túnel en reacciones enzimáticas de transferencia protónica. Comparación de enzimas con alta similitud de secuencia y función biológica. Experta en efecto túnel del proyecto. Actué de coordinadora/punto de enlace entre los distintos grupos y universidades. Métodos híbridos de Mecánica Cuántica y Mecánica Molecular junto con simulaciones de dinámica molecular y cálculos VTST/MT // Presente: proyecto inter y multidisciplinar en Institut Pasteur en colaboración con cristalógrafos. Estudio por modelización molecular de la Trans-sialidasa de *Trypanosoma cruzi*, enzima identificada como diana terapéutica contra la enfermedad de Chagas. Métodos QMMM y desarrollo de métodos de cálculo de energía libre para evaluar la contribución de diferentes residuos y diferentes grupos del ligando a la energía de fijación enzima-ligando. Diseño de fármacos. Otros proyectos de colaboración con inmunólogos y químicos sintéticos están en marcha.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** de Alba Bastarrechea, Eva

**Referencia:** RYC-2007-01529

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

**Número de orden:** 6      **Correo electrónico:** dealbae@gmail.com

**Título:**

Estudios biofísicos y estructurales de la muerte celular programada

**Resumen de la Memoria:**

La muerte celular programada o apoptosis consiste en un mecanismo molecular que dispara la destrucción de la célula, y cuya información está almacenada en el código genético. El fenómeno de la apoptosis es clave en el desarrollo y la regulación celular, por lo que ciertas enfermedades humanas, tales como los desórdenes neurodegenerativos y autoinmunes, son causa del incorrecto funcionamiento de los mecanismos apoptóticos. La disfunción de la apoptosis es probablemente un factor de iniciación del cáncer, y por consiguiente una diana para el tratamiento de esta enfermedad. El proyecto de investigación que se propone enriquecerá nuestro escaso conocimiento molecular y estructural del fenómeno de apoptosis, ayudando de esta manera a crear un andamiaje de apoyo para el desarrollo de nuevas estrategias clínicas que traten las enfermedades mencionadas y el cáncer. Esta meta se implementará a través del estudio de las bases moleculares de tres mecanismos fundamentales involucrados en la muerte celular: 1) Las interacciones proteína-proteína, que dan lugar a la formación de complejos entre dominios de muerte ("death domains") y a procesos de oligomerización de proteínas, todos ellos participantes en una cascada de transducción de señales que inicia y ejecuta la muerte celular. 2) El papel desempeñado por los llamados mínimos dominios de muerte, fragmentos proteicos mínimos necesarios para el control de la apoptosis. 3) El desplazamiento de proteínas hacia la membrana de la mitocondria y los cambios conformacionales asociados que producen la destrucción de la misma con la consiguiente liberación de factores apoptóticos. Se hará frente a estos objetivos mediante la combinación de distintas disciplinas como la biología molecular y estructural, química de proteínas e incluirá diversas técnicas biofísicas. La Resonancia Magnética Nuclear se utilizará como técnica principal en la obtención de información estructural y dinámica. La Microscopía de Fuerza Atómica y la Dispersión de Luz Multiángulo se aplicarán al estudio de los procesos de oligomerización, y la Espectroscopía de Fluorescencia para el análisis de los factores responsables de la unión proteína-membrana y los cambios conformacionales asociados a la unión.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

La solicitante, Eva de Alba, realizó su tesis doctoral (1994-1997) en el Consejo Superior de Investigaciones Científicas en el estudio conformacional de péptidos por Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y otras técnicas biofísicas. Realizó una estancia postdoctoral (1998-2002) en National Institutes of Health (EEUU) financiada por Human Frontiers Science Program Organization y una "visiting fellowship" de National Institutes of Health. Desde 2002 ha trabajado como científico de plantilla en National Institutes of Health. Durante su carrera científica la investigadora se ha hecho experta en la espectroscopía de RMN multidimensional homo- y heteronuclear, y en el uso de espectrómetros de alto campo (360, 500, 600 y 800 MHz) con y sin criosonda. Los conocimientos de la investigadora en RMN de alta resolución incluyen la programación de secuencias de pulsos de radiofrecuencia y su implementación, la adquisición, procesado, análisis de datos, y su aplicación al cálculo de estructuras de péptidos y proteínas, abarcando la adquisición y análisis de relajación magnética y su aplicación a la dinámica de proteínas. En paralelo, la investigadora ha adquirido experiencia en la clonación y construcción de plásmidos en vectores óptimos para expresión de proteínas, incluyendo la purificación de las mismas utilizando diversas técnicas cromatográficas. La investigadora tiene experiencia en estudios de oligomerización utilizando dispersión de luz multiángulo y ultracentrifugación analítica, y ha complementado el análisis conformacional utilizando otras técnicas biofísicas como el diroísmo circular y la espectroscopía de fluorescencia. Las contribuciones científicas de la investigadora han resultado en 19 publicaciones en revistas internacionales, incluyendo dos "reviews" y un capítulo de libro. De las 19 publicaciones, en 17 figura como primer autor, en dos como segundo y en tres es "corresponding author". La solicitante ha realizado 8 presentaciones orales incluyendo congresos internacionales e invitaciones. Las contribuciones realizadas en los últimos cuatro años, son las que más claramente demuestran sus aptitudes para la dirección, organización y desarrollo de proyectos, incluyendo; la concepción, diseño y desarrollo de varios proyectos independientes en el campo de la biología estructural, que han resultado en diversas publicaciones importantes; la supervisión directa de un investigador postdoctoral en National Institutes of Health; establecer contactos y colaboraciones con dos grupos de investigación en University of Michigan Medical School y Harvard Medical School. A la investigadora se le ha concedido un "International Reintegration Grant" del programa "Marie Curie Actions" financiado por la Comisión Europea, obteniendo la calificación de 90.5 de 100 en la evaluación del citado proyecto, siendo 70 el mínimo requerido para obtener financiación

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Hayashi, Ikuko

**Referencia:** RYC-2007-01728

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

**Número de orden:** 7 **Correo electrónico:** h.ikuko@gmail.com

**Título:**

Biología estructural de proteínas reguladoras de los microtúbulos

**Resumen de la Memoria:**

Los microtúbulos (MTs) son componentes del citoesqueleto que controlan múltiples aspectos de la arquitectura celular. Las propiedades dinámicas de los MTs y su interacción con otras estructuras celulares están reguladas por proteínas asociadas a microtúbulos. La línea de investigación se centra en proteínas del citoesqueleto microtubular implicadas en segregación cromosomal y en migración celular, con el objetivo de comprender su relación estructura-función a nivel atómico. Con el fin de elucidar los detalles las interacciones proteína-proteína emplearé una variedad de métodos bioquímicos y biofísicos, en particular cristalografía de rayos-x, en combinación con espectroscopia RMN, así como manipulación genética y técnicas de biología molecular. Línea de trabajo 1: PAPEL DE COMPLEJO Mis12 EN EL ENSAMBLAJE DE LOS CINETOCOROS. Los cinetocoros son complejos que se ensamblan sobre los cromosomas en condensación para formar puntos de anclaje para los microtúbulos del huso; y son esenciales para la segregación cromosomal en eucariotas. Defectos en los cinetocoros contribuyen a inestabilidad cromosomal implicada en tumorigénesis y a aneuploidías. Debido a sus funciones específicas en la división celular, los componentes del cinetocoro son dianas atractivas para terapia anti-mitótica. Mis12 es un componente esencial de los cinetocoros. Mis12 forma un complejo cuyos componentes se han identificado (Mis12, DC8, PMF1, KIAA1570 y C20orf172), pero cuyas funciones específicas se desconocen. Me propongo estudiar la estructura a alta resolución del complejo Mis12 con el fin de elucidar las bases estructurales del papel del complejo Mis12 en la organización del cinetocoro. El objetivo a largo plazo es elucidar un mapa estructural a alta resolución que explique como los cinetocoros coordinan y controlan la dinámica de los microtúbulos. Línea de trabajo 2: PROTEÍNAS MARCADORAS DE EXTREMOS (+) DE LOS MTs, EB1 y CLIP-170. Esta línea de trabajo es extensión de mis proyectos actualmente en curso sobre las proteínas EB1 y CLIP-170. EB1 fue identificada como un ligando del supresor tumoral APC (Adenomatous Polyposis Coli) y se encontró que interacciona con los extremos (+) de los MTs. Con el fin de elucidar los mecanismos regulatorios del marcaje de extremos (+), he determinado las estructuras cristalográficas del dominio de unión a MTs de EB1 y del dominio de interacción proteína-proteína de EB1 en complejo con una subunidad dyactina de p150Glued (Hayashi Hayashi et al., 2005). En la actualidad estoy analizando la estructura del complejo de EB1 con MTs mediante criomicroscopía electrónica. Un aspecto de gran interés es la formación del complejo ternario entre EB1, APC y mDia en el extremo de MTs. mDia es un efector de la GTPasa Rho que induce formación de fibras de estrés. Estoy interesada en elucidar la estructura del complejo EB1:mDia, que permitirá comprobar si hay un reclutamiento secuencial de proteínas del citoesqueleto para interconectar MTs y F-actina en una manera dependiente de Rho. CLIP-170 tiene un dominio de unión a IQGAP1, la cual se une a Rac1 y Cdc42 y se asocia con F-actina a través de su dominio CH. El dominio de unión a CLIP-170 de IQGAP1 también se puede unir a APC y a b-catenina, sugiriendo que +TIPs están implicadas en adhesión célula-célula mediada por cadherina. Planteo caracterizar estructuralmente la regulación de la intercomunicación entre MTs y F-actina mediada por GTPasas.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

DOCTORADO: Realicé mi doctorado (Abril 1992 a Septiembre 1997) bajo la dirección del Prof Kimitsuma Watanabe en la Universidad de Tokio (Japón), obteniendo el Grado de Doctor en Septiembre de 1997. Durante mi tesis apliqué técnicas novedosas de RMN al análisis de tRNAs mitocondriales humanos de estructura desconocida. El análisis de moléculas de RNA de gran tamaño requirió el desarrollo de métodos específicos de marcaje utilizando técnicas de cirugía molecular. Establecí la técnica de reconstrucción de RNA en una única molécula de tRNA y demostré que la estabilidad térmica del tRNA es regulada parcialmente por la unión de cationes divalentes. ETAPA POSTDOCTORAL I: Con el fin de profundizar en mi conocimiento de biología molecular me incorporé al Biomolecular Engineering Research Institute (BERI, Osaka, Japón). Allí aprendí cristalografía de rayos-x en el grupo del Dr. Kosuke Morikawa (Octubre 1997 a Noviembre 2000). Determiné las estructuras cristalográficas del inhibidor de división celular bacteriana MinD unido a AMP-PCP-Mg (análogo no hidrolizable del ATP) y a ADP-Mg (Hayashi et al., 2001 EMBO J. 20, 1819-1828). MinD es uno de los principales reguladores de FtsZ, un homólogo bacteriano de las tubulinas. Fui responsable de cada uno de las etapas de este proyecto, incluyendo: clonaje del gen, expresión y purificación de proteínas, resolución de las estructuras y análisis funcional. Este proyecto despertó mi interés por el estudio del citoesqueleto, lo cual se ha convertido en el tema general de mi trabajo desde entonces. ETAPA POSTDOCTORAL II: En noviembre de 2000 me incorporé al grupo del Dr Robert C Liddington en el Burnham Institute (La Jolla, CA, USA) con el fin de trabajar en proteínas de adhesiones focales. Fruto de ese trabajo fue la determinación de la primera estructura cristalográfica del dominio FAT (Focal Adhesion Targeting) de la kinasas de adhesión focal (FAK). También modelé con éxito el complejo formado por el dominio FAT de FAK y paxilina, que fue confirmado por otros autores dos años más tarde. Fruto del trabajo durante esta etapa fue la publicación: Hayashi et al., (2001) Nat Struct Biol 9, 101-106. ETAPA POSTDOCTORAL III: En marzo de 2002 me incorporé al grupo del Prof Mitsuhiko Ikura en el Ontario Cancer Center de la Universidad de Toronto (Toronto, Canadá), donde desarrollé mi trabajo en la actualidad. Originalmente el grupo del Prof Ikura empleaba principalmente técnicas de RMN, pero me he ocupado de establecer una línea de cristalografía en el grupo. Por mi parte, he adquirido conocimientos en técnicas modernas de RMN y  $\zeta$ FRET imaging que complementan mis estudios cristalográficos. He iniciado el estudio de varias proteínas marcadoras de los extremos plus de los microtúbulos (+TIPs), que son factores esenciales de la dinámica de microtúbulos. Considero que los trabajos de biología estructural que he publicado en esta área han contribuido significativamente al conocimiento de los mecanismos moleculares de los +TIPs. Los trabajos ya publicados en esta etapa son: Hayashi & Ikura, (2003) J Biol Chem 278, 36430-36434. Hayashi et al., (2005) Mol Cell 19, 449-460. Otros dos artículos de los cuales soy primera autora han sido sometidos recientemente y están en proceso de revisión.

## PROGRAMA RAMON Y CAJAL CONVOCATORIA 2007

**Nombre:** Amblar Esteban, Mónica

**Referencia:** RYC-2007-00179

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

**Número de orden:** 8 **Correo electrónico:** amblar@cib.csic.es

**Título:**

Identificación de pequeños RNAs en *Streptococcus pneumoniae* y estudio de su función en procesos de patogénesis y virulencia

**Resumen de la Memoria:**

*Streptococcus pneumoniae* es una bacteria Gram positiva responsable de numerosos procesos infecciosos, tales como neumonía, meningitis u otitis media, entre otros. Los grupos de mayor riesgo son la población infantil y los adultos mayores de 60 años, siendo la neumonía originada por este microorganismo la causa de una elevada tasa de mortalidad incluso en los países desarrollados (del 10-20% en adultos y más del 50% en grupos de riesgo). Esta bacteria forma parte de la flora habitual de las vías respiratorias altas en humanos y su progresión a vías bajas u oído medio ocurre generalmente en individuos inmunodeprimidos. Dicha progresión, somete al neumococo a determinadas situaciones de estrés, como un aumento de la temperatura o estrés oxidativo, por lo que el éxito de su colonización depende en gran medida de su capacidad de adaptación a tales condiciones. Actualmente se sabe que los genomas de todos los organismos codifican un gran número de pequeños RNAs no codificantes (ncRNAs) y que juegan un papel determinante en la regulación de la expresión génica, tanto en eucariotas como en procariotas. Los estudios más recientes realizados en bacterias han demostrado que estos pequeños RNA son reguladores cruciales en los procesos de virulencia y respuesta a estrés. Este proyecto tiene como objetivo demostrar la existencia de ncRNAs y caracterizar su implicación en patogénesis y virulencia en *S. pneumoniae*, usando como sistema modelo la estirpe patógena de TIGR4 (cuyo genoma está secuenciado). Para ello se clonarán todos los RNAs menores de 500 nt expresados bajo condiciones de estrés y se construirá la correspondiente librería de cDNAs. Nuestro interés se centra principalmente en aquellos ncRNAs que se expresen como consecuencia de las condiciones adversas que el patógeno encuentre durante su progresión. Por tanto, el RNA será extraído a partir de cultivos bacterianos crecidos bajo distintas condiciones de estrés, y se obtendrá una librería de cDNAs para cada condición de crecimiento. Un elevado porcentaje de los RNAs menores de 500 nt son RNA ribosomales y de transferencia. Por tanto, los cDNAs correspondientes serán eliminados de la librería mediante hibridación con las respectivas sondas. Los cDNAs restantes serán secuenciados y localizados posteriormente en el genoma de *S. pneumoniae*, y se analizará su secuencia en busca de promotores y terminadores, obteniendo así una lista de posibles ncRNAs candidatos. En una segunda fase del proyecto, se analizará la función de aquellos ncRNAs seleccionados como candidatos en la primera fase, para lo cual será necesario usar varias estrategias. En primer lugar, y puesto que en muchas ocasiones los ncRNA actúan como RNAs antisentido de otros RNAs regulando su expresión, se analizará el genoma en busca de secuencias complementarias para identificar posibles RNAs diana. En segundo lugar, dado que muchos ncRNAs forman parte de partículas ribonucleoproteicas para llevar a cabo su función, se sintetizarán dichos ncRNAs con una cola de afinidad y se les usará como cebo para recuperar de un extracto celular aquellas proteínas con las que interaccionen. Una vez conocida la función realizada por algunos de los ncRNAs, se estudiará el efecto fenotípico de aquellos que resulten de interés mediante la construcción de mutantes y análisis proteómico. Con estos estudios, se podrán dilucidar nuevos aspectos fundamentales que controlan la patogénesis y virulencia de este microorganismo.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

DATOS PERSONALES Nombre: Mónica Amblar Esteban DNI: 28596382 Fecha: 24-05-1970 Centro: Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), CSIC. Teléfono: 918373112 E-mail: amblar@cib.csic.es TITULOS ACADÉMICOS- Licenciatura en CC Biológicas. Universidad Complutense de Madrid (UCM). 1993 - Doctora en CC Biológicas. UCM. 2000 ACTIVIDAD INVESTIGADORA- Desde 1-02-2007, investigador contratado I3P (I3P-PC2006) convocatoria general en el CIB, CSIC. - Del 1/04/06 al 31/01/07. Investigador contratado en el CIB, CSIC- Del 1/10/00 al 28/02/06. Becaria postdoctoral de la Fundação para a Ciência e a Tecnologia en el Instituto de Tecnologia Química e Biológica/Universidade Nova de Lisboa (ITQB/UNL). Oeiras. Portugal- Del 17/06/00 al 30/09/00. Becaria postdoctoral en el CIB, CSIC- Del 1/04/98 al 31/05/00. Predoctoral contratada en el CIB, CSIC- Del 1/01/94 al 30/03/98. Becaria predoctoral en el CIB, CSIC- Del 1/09/92 al 31/12/93. Alumna en prácticas en el CIB, CSIC ESTANCIAS EN EL EXTRANJERO Instituto de Tecnologia Química e Biológica/Universidade Nova de Lisboa, Oeiras. Portugal. Desde 1-10-2000 hasta 28-02-2006 PUBLICACIONES 1. M. Amblar, G. Sagner and P. López. *J. Biotech.* 63, 17-27 (1998) 2. M. Amblar and P. López. *Eur. J. Biochem.* 252 (1), 124-32 (1998) 3. M. Amblar., M. García de Lacoba, M. A. Corrales and P. López. *J. Biol. Chem.* 276, 19172-81 (2001) 4. S.C. Viegas, P. Fernández de Palencia, M. Amblar, C. M. Arraiano and P. López. *Plasmid* 51, 256-64 (2004) 5. M. Amblar, S.C. Viegas, P. López, and C.M. Arraiano. *Biochem. Biophys. Res. Com.* 323, 884-90 (2004) 6. M. Amblar and C. M. Arraiano. *FEBS J* 272, 363-74 (2005) 7. Andrade, J.M., Viegas, S.C., Barbas, A., Furtado, A-R, Mesquita, F.S., Abrantes, M.C, Amblar, M. and Arraiano, C.M. *Boletim de Biotecnologia* 80, 17-29 (2005) 8. C. E. McVey, M. Amblar, A. Barbas, F. Cairrão, R. Coelho, C. Romão, C. M. Arraiano, M. A. Carrondo and C. Frazão. *Acta Cryst. F, Struct. Biol. Cryst. Com.* 62, 684-7 (2006) 9. M. Amblar, A. Barbas, A. M. Fialho and C.M. Arraiano. *J. Mol. Biol.* 360, 921-33 (2006) 10. C. Frazão\*, C.E. McVey\*, M. Amblar\*, A. Barbas, C. Vonrhein, C.M. Arraiano, M.A. Carrondo. *Nature* 443, 110-114 (2006) 11. M. Amblar, A. Barbas, P. Gomez-Puertas, and C. M. Arraiano. *RNA* 13, 317-27 (2007). 12. A. Barbas, M. Amblar, P. Gomez-Puertas, and C. M. Arraiano. En preparación 13. A. M. Fialho, M. Amblar, A. Barbas, Andrade J. M., and C. M. Arraiano. En preparación PATENTES M. Amblar, A. Díaz y P. López. Mejoras introducidas en la patente principal nº 9000542 por Procedimiento de obtención del fragmento carboxilo-terminal de la DNA polimerasa I de *S.pneumoniae*. Solicitud nº 9.000.542. País de prioridad: España (1997) OTROS MÉRITOS- Participación en 2 proyectos nacionales y 8 internacionales- Obtención de dos becas de la Fundação para a Ciência e a Tecnologia (FCT). Portugal- Asistencia 1 congreso nacional y 34 internacionales - Conferencias impartidas por invitación: 3 nacionales y 1 internacional- Recensor de 2 revistas internacionales- Profesora de los Master de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de CC Biológicas. UCM. 1999 y del Master de Microbiología Médica. ITQB/IHMT/FCM/FCT. Portugal 2004/2005, 2005/2006- Profesora del Programa de Doctorado ¿PhD ITQB program¿. ITQB/UNL. Portugal. 2002/2003, 2003/2004, 2004/2005- Supervisora del trabajo de investigación teórico-práctico de 2 alumnos de doctorado y 1 alumno de tesina

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Martínez Morales, Juan Ramón

**Referencia:** RYC-2007-00291

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

**Número de orden:** 9      **Correo electrónico:** jmartine@embl.de

**Título:**

Control genético de la morfogénesis de órganos en vertebrados.

**Resumen de la Memoria:**

En la encrucijada entre la biología del desarrollo y la biología celular surge la pregunta de cómo los movimientos de células individuales se coordinan para definir la forma final de un órgano. Varios movimientos morfogénéticos, tales como convergencia/extensión o la constricción apical, contribuyen a determinar la arquitectura de tejidos y órganos. Muchas enfermedades hereditarias humanas se pueden explicar como un problema morfogénético durante la embriogénesis. Sin embargo, las causas moleculares subyacentes a estas frecuentes malformaciones hereditarias son en general desconocidas. De hecho, nuestro conocimiento sobre los mecanismos celulares y moleculares que gobiernan la morfogénesis de los órganos es también muy escaso. En el marco de este campo emergente, mi línea de investigación se centra en la identificación y la caracterización funcional de los genes implicados en la morfogénesis de órganos, así como la descripción física de dichos movimientos morfogénéticos. Para abordar este problema, planeo explotar las ventajas experimentales de los modelos teleósteos: medaka y zebrafish. Mi línea de investigación está diseñada para un grupo pequeño (4 personas), cubre un período de cinco años y se puede subdividir en los siguientes aspectos: 1) Una parte importante del plan de trabajo descansa en la experiencia adquirida y las posibilidades abiertas por el análisis del mutante del ojo del medaka *¿ojoplano¿*. La mutación *¿ojoplano¿* exhibe un fenotipo único que afecta la morfogénesis de varios órganos. He aislado esta mutación e identificado ya el gen causante que codifica para una nueva proteína transmembrana no caracterizada. Este nuevo gen, servirá ahora como punto de partida para identificar otros que puedan participar también en la maquinaria molecular implicada en la morfogénesis de tejidos. Para ello, planeo identificar proteínas capaces de unirse directamente a *¿ojoplano¿* usando tecnología de doble-híbrido en levaduras. 2) En paralelo, los análisis de biología molecular se complementarán con estudios avanzados de microscopía confocal y microscopía SPIM destinados a seguir mediante time-lapse la organogénesis de distintos tejidos y el comportamiento de células individuales durante estos procesos. 3) También pretendo identificar nuevos genes implicados en morfogénesis. Para ello participare en un proyecto de mutagénesis a gran escala basado en una estrategia de inserción basada en el uso de transposones. El fenotipo de los mutantes identificados durante este proceso se caracterizará empleando técnicas avanzadas de microscopía. En paralelo se clonarán las mutaciones más interesantes, beneficiándonos del mapeo rápido y relativamente barato de genes que permite la aproximación insercional.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Mi carrera científica se ha enfocado en la investigación de los mecanismos celulares y moleculares subyacentes al desarrollo del sistema nervioso de los vertebrados, en general, y al del ojo en particular. Durante estos años, he trabajado en diversos aspectos de este problema central, tales como la diferenciación de los precursores neuronales, la especificación de los diversos territorios del ojo o la morfogénesis de la copa óptica. Para abordar estos objetivos, he trabajado con diversos modelos de vertebrados incluyendo pollo, ratón, y peces teleósteos (zebrafish y medaka); y he utilizado diversas aproximaciones experimentales dentro de los campos de la embriología, la biología celular y molecular, la bioquímica, la genética y genómica, la microscopía avanzada y finalmente, la bioinformática. He llevado a cabo mis proyectos de investigación en distintos laboratorios de España (principalmente en el CSIC) y en centros internacionales de prestigio, tales como el Instituto Curie en París y el Laboratorio Europeo de Biología Molecular (EMBL) en Heidelberg. En cada uno de estos centros en los que he trabajado he conseguido publicar con éxito mi trabajo. En una proporción importante de estos artículos he firmado como primer autor (10 de las 18 publicaciones), lo que refleja cual ha sido mi contribución a los proyectos en los cuales he participado. Además, soy primer autor en las publicaciones más relevantes incluidas en mi CV (cuya repercusión científica fue ya discutida en la sección correspondiente de mi CV). Atraído por las ventajas de zebrafish y medaka como modelos genéticos en vertebrados, decidí unirme al laboratorio de Jochen Wittbrodt en el EMBL, Heidelberg. Con este fin, escribí un proyecto de investigación basado en el análisis fenotípico de mutantes oculares en medaka que fue evaluado positivamente y consecuentemente financiado por los programas posdoctorales EMBO y Marie Curie. Durante este período, me familiaricé con la genética y la embriología de los teleósteos (medaka y zebrafish), y puse a punto en el laboratorio el mapeo y la caracterización de mutantes en medaka. Debido a la experiencia obtenida a través del análisis de mutantes oculares, mis intereses científicos se reorientaron hacia el control genético de la morfogénesis en vertebrados. Actualmente estoy estudiando cómo los cambios individuales en la morfología celular influyen en la forma final de tejidos y órganos, mediante una combinación de genética, embriología experimental y tecnologías de análisis de imagen. Me propongo ahora desarrollar mi línea de investigación dentro de este campo en rápida expansión y para ello he escrito ya un proyecto de trabajo detallado. Mi plan es identificar y estudiar nuevos componentes de la maquinaria molecular responsable del control de la forma de los órganos de los vertebrados, e integrar esta información en modelos que describan físicamente cómo ocurren dichos procesos morfogénéticos. Después de la experiencia durante los últimos cuatro años como investigador posdoctoral en la unidad de Biología del Desarrollo en el EMBL, pienso que he completado mi formación como biólogo del desarrollo con sólidas bases en biología celular y molecular. Aspiro, por lo tanto, a establecer mi primer grupo de investigación independiente, y creo que tanto mi formación como mis intereses se adecuan a los requisitos del programa Ramon y Cajal.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Hierro Ayuela, Aitor

**Referencia:** RYC-2007-00365

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

**Número de orden:** 10 **Correo electrónico:** aitorh@intra.niddk.nih.gov

**Título:**

AMARRE ESTRUCTURAL POR EL COMPLEJO GARP, UNA CONEXIÓN CON DISFUNCIONES MOTONEURONALES

**Resumen de la Memoria:**

La direccionalización y fusión de vesículas con membranas aceptoras se encuentra regulada por una serie de proteínas integrales y periféricas de membrana muy conservadas. Durante la fusión entre vesículas, resulta fundamental la interacción entre las proteínas integrales de membrana SNAREs. Pero antes de que esta fusión acontezca, existen los llamados complejos multiproteicos periféricos de amarre. Estos complejos están encargados de seleccionar y amarrar en un rango mayor de distancia las membranas que posteriormente van a fusionarse. El complejo de amarre GARP pertenece a la familia que incluye también a los complejos "exocyst" y COG. Estos complejos están muy conservados en la evolución, desde levaduras hasta humanos. El complejo GARP está implicado en el amarre de vesículas durante el transporte retrógrado desde los endosomas a la red trans-Golgi. El núcleo del complejo GARP está compuesto por las proteínas Vps52, Vps53 y Vps54 en una relación estequiométrica de 1:1:1. Por otro lado, el dominio C-terminal de la subunidad Vps54 se encuentra muy conservado y está directamente implicado en el reciclado de vesículas desde endosomas tempranos pero no desde endosomas tardíos. Además, recientemente se ha encontrado que una única mutación en este dominio C-terminal de la proteína Vps54 provoca una degeneración progresiva de las neuronas motoras, originando atrofia músculo esquelética y deficiencia en la espermiogénesis en ratones wobbler, un modelo animal para enfermedades neurodegenerativas. A pesar de que Vps54 tiene una expresión general, esta mutación únicamente afecta a las neuronas motoras y a la espermiogénesis. Estos resultados establecen una nueva conexión entre neurodegeneración y transporte endosomal. El mecanismo por el que esta mutación causa una degeneración progresiva de las neuronas motoras es completamente desconocido. Una posibilidad es que esta mutación resulte crítica en el proceso de transporte retrógrado de vesículas en axoma de neuronas motoras. El principal objetivo de esta propuesta es establecer un modelo a nivel atómico de cómo los complejos de amarre contribuyen en la especificidad durante la fusión de membranas reconociendo características particulares tanto de membranas donadoras como aceptoras, y cómo esta especificidad es perturbada en ciertos desórdenes motoneuronales. Esta información está orientada a sentar las bases para futuros desarrollos terapéuticos. Para la consecución de este trabajo se establecerán dos líneas de trabajo: 1) Determinación de la estructura completa de complejo de amarre GARP y 2) Determinación a nivel atómico de cómo una única mutación en el dominio C-terminal de la proteína Vps54 es capaz de originar una degeneración progresiva de las neuronas motoras. La relación entre estructura y función será estudiada en colaboración con el grupo de Elizabeth Conibear llevando a cabo estudios de mutagenesis dirigida, basados en los modelos cristalográficos obtenidos y evaluando los resultados funcionales mediante ensayos de unión "in vitro" y ensayos de transporte "in vivo" en distintas líneas celulares.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Después de mi graduación en Bioquímica en 1997, continué con los estudios de Doctorado en el departamento de bioquímica y biología molecular de la U.P.V. bajo la supervisión del Prof. Arturo Muga y la Dra. Adelina Prado. El objetivo de estos estudios consistió en la caracterización de la relación estructura-función de la chaperona Nucleoplasmina. Durante este periodo utilicé técnicas biofísicas como, espectroscopía de infrarrojo y calorimetría diferencial de barrido. También utilicé técnicas bioquímicas y de biología celular para la purificación y caracterización de la interacción de esta chaperona con histonas. Durante el desarrollo de estos estudios se establecieron varias colaboraciones, dándome la oportunidad de trabajar estrechamente con otros grupos. Los resultados de estos trabajos dieron lugar a la publicación de varios artículos (Eur. J. Biochem. 2001; Biochemistry. 2002; J. Mol. Biol. 2003). Finalmente me doctoré en Enero del 2002 con la máxima calificación de Sobresaliente "Cum Laude". Desde Agosto del 2002 hasta la actualidad me encuentro realizando el postdoctorado en el N.I.H. (National Institute of Health), EE.UU. Los proyectos en los que estoy trabajando bajo la supervisión del Dr. James H. Hurley, están orientados al estudio estructural de complejos multiproteicos involucrados en tráfico celular, más concretamente, en la vía de tráfico multivesicular, donde proteínas de membrana y lípidos son transportados al interior de endosomas. Esta ruta juega un papel fundamental en la regulación de factores de crecimiento, señalización celular, regulación de la respuesta inmune y salida celular de ciertos virus con envuelta como el HIV. En humanos, la ruta depende de las proteínas AIP/Alix y Vps4A/B, y cuatro complejos multiproteicos: Hrs/STAM y los ESCRT-I, II y III. Estos complejos se encuentran muy conservados, la inactivación de cualquiera de las proteínas de esta red de transporte provoca el bloqueo de la entrada de proteínas en los endosomas multivesiculares y también la salida del virus HIV y por tanto su infectividad. Durante estos años de postdoctorado he participado en la determinación de tres estructuras en esta vía de transporte, una de las cuales ha sido el primer complejo multiproteico resuelto en la vía de transporte endosomal ESCRT.- Estructura del complejo ESCRT-II (Nature, 2004). En esta estructura se muestra como las proteínas monoubiquitinadas pueden pasar de forma secuencial entre los distintos complejos ESCRT.- Estructura del dominio Bro1 de la proteína Bro1 (Dev. Cell, 2005, Portada de revista). Esta estructura define un mecanismo conservado en el que las proteínas con un dominio Bro1 son dirigidas a los endosomas por medio de Snf7 y sus ortólogos.- Estructura del núcleo de ESCRT-I (Cell, 2006). En esta estructura se muestra cómo ESCRT-I se ensambla por medio de un núcleo compacto del que salen proyectados diferentes dominios que interaccionan con otras proteínas de la ruta de transporte ESCRT.- Nuevo sistema de expresión policistrónico de complejos multiproteicos (Methods Enzymol., 2005). Este sistema de clonado simplifica la exploración de constructos y variantes para posteriores caracterizaciones de los complejos. El sistema ha sido adoptado por numerosos científicos dando excelentes resultados. Manuscrito en preparación. Recientemente he resuelto otro importante complejo de proteínas implicado en el transporte de receptores desde los endosomas al Golgi. El manuscrito será enviado en breve.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Sotillo Roman, Rocio

**Referencia:** RYC-2007-00268

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

**Número de orden:** 11 **Correo electrónico:** sotillor@mskcc.org

**Título:**

La inestabilidad cromosómica en la iniciación y progresión tumoral

**Resumen de la Memoria:**

El checkpoint mitótico es una vía de señalización altamente regulada que pospone la separación de las cromátidas hermanas hasta que todos los cromosomas están unidos al huso de manera bipolar. Los defectos en su regulación pueden producir una segregación errónea de los cromosomas y aneuploidía y esto finalmente inducir la formación de tumores. De hecho, hemos demostrado recientemente (Sotillo et al. 2007) que el incremento en los niveles de la proteína del checkpoint del huso Mad2 provoca un aumento en la inestabilidad cromosómica una vez que las células escapan de la mitosis retardada e impuesta por los altos niveles de Mad2 y esto a su vez induce la formación de tumores en modelos animales. Además, la continua sobre expresión de Mad2 no es necesaria para mantener la progresión tumoral, al contrario que la mayoría de oncogenes conocidos. Estos resultados demuestran que la sobre expresión transitoria de Mad2 y la inestabilidad cromosómica constituyen un estímulo importante en la iniciación y la progresión de diferentes tipos de cáncer. Proponemos estudiar si la inestabilidad cromosómica inducida por la sobre expresión de Mad2 puede cooperar con otros oncogenes y si la continua expresión de un determinado oncogén es necesaria para la progresión tumoral o si una vez causada la inestabilidad cromosómica ésta es suficiente para mantener el tumor. Para ello hemos generado animales que sobre expresan el oncogén Kras y Mad2 específicamente en un tejido en un sistema regulable por doxiciplina. Estos modelos animales inducibles por doxiciplina también se podrían utilizar para identificar los mecanismos que llevan a la resistencia y reaparición tumoral in vivo.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Nombre: ROCIO SOTILLO ROMAN. Licenciada en FARMACIA (1998) Universidad San Pablo-CEU. Doctora en Biología Molecular (Sobresaliente Cum Laude por unanimidad) por la Universidad Autónoma de Madrid (2002). Tesis doctoral realizada en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) bajo la dirección de los Drs. M. Barbacid y M. Malumbres. Durante este tiempo mi investigación estuvo enfocada en el estudio de los mecanismos que controlan la proliferación celular durante las fases G1 y S del ciclo celular. EDUCACION POSTDOCTORAL: Junio-2003-Junio 2005 becaria postdoctoral (beca de colaboración de la Fundación Caja Madrid y el CNIO) y de Junio-2005-presente becaria postdoctoral (Fundación Charles D. Revson) en el Memorial Sloan-kettering Cancer Center (New York, USA) bajo la supervisión del Dr. Robert Benezra. Durante mi etapa posdoctoral he estudiado si la aneuploidía producida durante la fase de mitosis es la causa o la consecuencia de la transformación celular. PUBLICACIONES: 1) Latres E, Malumbres M, Sotillo R, Martin J, Ortega S, Martín-Caballero J, Flores JM, Cordon-Cardo C, Barbacid M. EMBO J. (2000) 19: 3496-3506. 2) Sotillo R, Dubus P, Martín J, de la Cueva E, Ortega S, Malumbres M, Barbacid M. EMBO J. (2001) 20: 6637-6647. 3) Sotillo R, García J. F, Ortega S, Martín J, Dubus P, Barbacid M, Malumbres M. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (2001) 98:13312-13317. 4) Martín J, Hunt SL, Dubus P, Sotillo R, Nehme-Pelluard F, Magnuson MA, Parlow AF, Malumbres M, Ortega S, Barbacid M. Oncogene (2003) 34:5261-5269. 5) Malumbres M, Hunt SL, Sotillo R, Martín J, Odajima J, Martín A, Dubus P, Ortega S, Barbacid M. Adv Exp Med Biol. (2003) 532:1-11. 6) Ortega S, Prieto I, Odajima J, Martín A, Dubus P, Sotillo R, Barbero JL, Malumbres M, Barbacid M. Nat Genetics (2003) 1:25-31. 7) Malumbres M, Sotillo R, Santamaría D, Galan J, Cerezo A, Ortega S, Dubus P, Barbacid M. Cell (2004) 118: 1-20. 8) Sotillo R, Renner O, Dubus P, Ruiz-Cabello J, Martín-Caballero J, Barbacid M, Carnero A, Malumbres M. Cancer Res. (2005) 9:3846-3852. 9) Sotillo R, Hernando E, Diaz-Rodriguez E, Teruya-Feldstein J, Cordon-Cardo C, Lowe SW, Benezra R. Cancer Cell (2007) 1:9-23.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Sanjuán Verdeguer, Rafael

**Referencia:** RYC-2007-01461

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

**Número de orden:** 12      **Correo electrónico:** rafsaiver@ibmcp.upv.es

**Título:**

Mutación, robustez genética y evolución virales

**Resumen de la Memoria:**

Los virus de ARN se caracterizan por sus elevadas tasas de mutación y su rápida replicación, lo cual les confiere un notable potencial de variación genética y evolución. Recientemente, hemos contribuido a demostrar que sin embargo, su tolerancia a las mutaciones (robustez genética) es extremadamente escasa. Mi principal línea de investigación consiste en estudiar, desde un punto de vista evolutivo, las tasas de mutación y la robustez genética en virus de ARN, mediante la manipulación genética y los experimentos de evolución en ambientes controlados. En esta línea, hemos demostrado ya la existencia de un coste de la fidelidad replicativa en virus de ARN, según el cual la reducción de la tasa de errores replicativos conllevaría una reducción la tasa de replicación del virus. Aunque este coste podría contribuir a explicar las elevadas tasas de mutación en virus de ARN, también planeo explorar una teoría explicativa, basada en la hipótesis según la cual la tasa de mutación que permite maximizar la adaptación es inversamente proporcional a la robustez genética del sistema. Utilizando los bacteriófagos como modelo experimental, preveo comparar la robustez genética de virus ARN y de ADN. A pesar de sus tamaños genómicos similares, los primeros muestran unas tasas de mutación muy superiores a los segundos, por lo que según esta hipótesis, los virus de ADN deberían mostrar una mayor robustez genética que los de ARN. Por último, estoy interesado en la mutagénesis letal, estrategia antiviral consistente en sobrecargar los genomas con mutaciones deletéreas. Esta aproximación podría ser especialmente efectiva contra los virus de ARN, debido sus altas tasas de mutación y su escasa robustez genética. No obstante, su gran potencial evolutivo no permite descartar la aparición de mecanismos de resistencias, los cuales estoy ya estudiando mediante ensayos de eficacia viral en presencia de mutágenos y que deberían ser complementados en el futuro con experimentos de evolución.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Mi trabajo se centra en estudiar las bases genéticas de la evolución, siendo mi principal línea de investigación la evolución experimental de los virus de ARN. Por lo tanto, tengo experiencia en áreas como la genética de poblaciones, la virología y la biología molecular, habiendo trabajado también en áreas relacionadas como la evolución molecular, la inferencia filogenética y la bioinformática. Tras obtener la licenciatura en Ciencias Biológicas por la Universidad de Valencia con mención de Premio Extraordinario, realicé mi tesis doctoral sobre robustez genética, epistasia y evolución de los virus de RNA en Instituto Cavanilles de Biodiversidad y Biología Evolutiva (ICBiBE), dirigido por los Profs. Andrés Moya y Santiago F. Elena. Durante este periodo, cursé además un postgrado sobre métodos avanzados de estadística aplicada por la Universidad a Distancia y estudié métodos de reconstrucción filogenética. Tras la lectura en Febrero de 2005 de mi tesis doctoral, galardonada con el Premio Extraordinario de Doctorado por la Universidad de Valencia, obtuve un contrato I3P del CSIC para iniciar una estancia posdoctoral en el Instituto de Biología Molecular y Celular de Plantas (IBMCP), con el objetivo de trabajar en evolución y variabilidad de virus y viroides de plantas. Además de realizar experimentos in vivo, hice uso de herramientas bioinformáticas para predecir el efecto de las mutaciones en el plegamiento secundario del ARN de viroides. Seguidamente, obtuve una ayuda de la European Molecular Biology Organization que me permitió iniciar una estancia en la Universidad de Tejas, en el laboratorio del profesor James J. Bull. Además de aprender técnicas relacionadas con bacteriófagos, obtuve muestras biológicas que envié de vuelta a España con el propósito de iniciar una nueva línea de investigación, para lo cual se me ha concedido recientemente una ayuda para investigadores emergentes de la Generalitat Valenciana. Durante mi estancia en Tejas, trabajé además en cuestiones teóricas relacionadas con la mutagénesis letal en virus. Actualmente, estoy completando mis experimentos en el IBMCP y poniendo a punto técnicas de bacteriófagos. Además, mantengo una colaboración con los profesores A. Moya (Universidad de Valencia) y Edward C. Holmes (Pennsylvania State University) para estudiar las implicaciones evolutivas de la mutagénesis en virus de ARN. También codirijo la tesis doctoral de Victoria Furió, inscrita en el ICBiBE bajo el título ¿Selección artificial y caracterización genética de la transmisión y la virulencia en un virus de RNA<sub>λ</sub>?. A lo largo de mi trayectoria investigadora, he publicado un total de 27 artículos científicos en 6 años, todos ellos en revistas internacionales, 10 como primer autor y 7 como investigador responsable (corresponding autor). Destacan un artículo en Science, cuatro en Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA y uno en Systematic Biology, todas revistas con un índice de impacto superior a 10 puntos. Además, algunas de estas publicaciones han sido citadas 30 o más veces en los últimos 3 años. Por último, mi interacción con otros científicos del campo se ha visto incrementada con la asistencia a numerosos congresos nacionales e internaciones, así como con tareas de revisor para revistas de ámbito internacional.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** GARCIA RANEA, JUAN ANTONIO

**Referencia:** RYC-2007-01649

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

**Número de orden:** 13 **Correo electrónico:** ranea@biochem.ucl.ac.uk

**Título:**

CARACTERIZACIÓN Y ESTUDIO DE REDES DE INTERACCIÓN MOLECULARES EN BIOLOGÍA DE SISTEMAS.

**Resumen de la Memoria:**

La labor investigadora que quiero desarrollar en el futuro se centraría en uno de los problemas fundamentales a los que se enfrenta en la actualidad la Biología de Sistemas, como es la caracterización y estudio de las estructuras de redes de interacción funcional entre entidades macromoleculares (e.g. genes, proteínas, RNA, etc.) en distintos contextos filogenéticos y funcionales. La caracterización de redes requiere (1) la identificación de las entidades moleculares implicadas en el sistema que queremos estudiar, (2) la determinación de sus asociaciones funcionales, y (3) la integración de todos los componentes y asociaciones en un modelo de red funcional. El enfoque metodológico del trabajo de investigación que propongo en esta memoria esta basado en mi experiencia profesional en Bioinformática durante los últimos doce años (ver Antecedentes del Candidato). Por tanto, la caracterización de redes se abordaría con aproximaciones computacionales y con el uso de la información almacenada en distintas bases de datos moleculares. Entre otros, se aplicarían métodos de minería de datos en base de datos bibliográficos y de ontología funcional, métodos bioinformáticos de predicción funcional, así como herramientas estadísticas para la integración y análisis de los resultados. Los modelos de redes así obtenidos se utilizarían en diferente estudios evolutivos, comparativos, y experimentales. La caracterización y comparación de redes de gran tamaño como proteomas o sistemas celulares completos, permitirían la búsqueda de patrones de asociación funcional conservados en la evolución. Mediante el mapeo conjunto en dichas redes de la información bibliográfica (experimental) y de las predicciones computacionales, también quisiera diferenciar que asociaciones funcionales de los modelos han sido ya descritas experimentalmente de aquellas predicciones que permanecen aun sin validación experimental. Este mapeo comparativo nos permitiría delimitar que partes del modelo han sido ya exploradas, y que otras partes permanecen aun oscuras al conocimiento científico. La validación experimental de las predicciones, y por tanto, la colaboración con experimentalistas, es considerado un objetivo principal en la memoria. Dicha colaboración permitiría el uso de auditoria experta en la construcción y refinamiento de los modelos, así como la validación experimental de las predicciones computacionales originadas sobre los mismos.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Mi nombre es Juan Antonio García Ranea, me licencié en Biología por la Universidad de Málaga, e hice el Doctorado en Bioinformática con el Dr. Alfonso Valencia en el Centro Nacional de Biotecnología (CSIC-Madrid). En la actualidad estoy contratado a tiempo completo como ¿Senior Research Fellow¿ por la ¿University College London¿ (UCL) dentro del grupo de investigación de la profesora Christine Orengo. Posición en la que llevo trabajando 4 años y medio como bioinformático en diversos proyectos europeos. Mis principales posiciones laborales y académicas son:- Senior Research Fellow; UCL, Londres - 2002 (4.5 años; vigente en la actualidad).- Becario Postdoctoral: CNB, Madrid - 2001-2002 (~ 1 año).- Becario Doctoral: CNB, Madrid- 1997-2001 (~ 4 años). Mis principales títulos académicos son:- Doctor en Ciencias Biológicas (Octubre 2001), Universidad de Málaga.- Licenciatura en Biología (Junio 1995), Universidad de Málaga.- MBA-Executive; Univ. Pont. Comillas, ICAI-ICADE, Madrid- curso: 1999-2000 (~ 1,5 años) Bajo la dirección del Dr. Alfonso Valencia desarrollé mi tesis en el análisis bioinformático de la superfamilia de proteínas del oncogén Ras y sus efectores. Y también trabajé en la integración de métodos bioinformáticos para la identificación, el análisis y la validación de proteínas implicadas en cáncer. Siendo participe en dos proyectos europeos: 1. ¿An Integrated Methodological Approach to Structural Studies on Complexes of GTP-binding proteins with their effectors and regulators and design of new molecules.¿ Unión Europea, 1996-1999. 2. ¿Identification, lead generation, structural biology and validation of targets for cancer therapy: an integrated methodological approach.¿ Unión Europea, 2000-2003. Bajo la dirección de la Profesora Christine Orengo he trabajado en el análisis evolutivo de familias de proteínas y dominios estructurales, en la aplicación de modelos de microeconomía en biología de sistemas, así como en el desarrollo de algoritmos y métodos de uso extensivo en la predicción de función e interacción de proteínas. Participando en los proyectos: 1. ¿TEMBLOR - European Macromolecular Structure Database.¿ Unión Europea, 2002-2004. 2. ¿Predicting and analysing evolutionary relationships in the genomes.¿ Med. Research Council (UK). 2000-2005. 3. ¿ENFIN ¿ an Experimental Network of Excellence (NOE) for Functional Integration.¿ Unión Europea, 2005-2010. Sobre mi aportación y labor científica en dichos proyectos podrán encontrar mas información en el CV y memoria adjuntos, que incluye entre otros méritos, 18 artículos publicados hasta el momento en distintas revistas internacionales, un artículo en revisión enviado a la revista Plos Comp. Biol., y 3 capítulos en libros especializados. Así como, la participación como ponente invitado en numerosas conferencias, congresos y seminarios; la participación como profesor en 8 cursos y masteres en bioinformática; y mi trabajo como revisor en diversas publicaciones internacionales especializadas.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Pineda Molina, Estela

**Referencia:** RYC-2007-00913

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

**Número de orden:** 14      **Correo electrónico:** pineda@embl-grenoble.fr

**Título:**

Estudio de la estructura tridimensional de complejos proteicos involucrados en la reparación de roturas del ADN de roturas en el ADN

**Resumen de la Memoria:**

Los mecanismos que inducen daño en el ADN (estrés oxidativo, radiaciones, etc.) son los responsables de gran variedad de alteraciones genéticas que conllevan desde una predisposición a sufrir tumores y determinados síndromes recesivos hasta inmunodeficiencias severas. Las proteínas responsables de la reparación del ADN representan por lo tanto una importante diana terapéutica en la lucha contra estos desórdenes. El mecanismo de reparación más utilizado por las células humanas es la unión de extremos no homólogos (en inglés,  $\zeta$ Non-Homologous-End-Joining o NEHJ). La reparación es llevada a cabo por un conjunto de proteínas que interactúan de manera secuencial en el punto de rotura: Ku70, Ku80, DNA-PKcs, ligasa IV, Xrcc4, Cernunnos y Artemisa. La mayoría de estas proteínas no actúan de manera individual sino en forma de grandes complejos macromoleculares localizados en el sitio dañado. Por ello, la elucidación de la estructura tridimensional de los complejos implicados abre una vía para el diseño racional y orientado de nuevas terapias. Basándome en estos antecedentes propongo como línea de investigación el "Estudio de la estructura tridimensional de complejos proteicos involucrados en la reparación de roturas en el ADN". La estructura de algunos de los componentes de esta complicada maquinaria es conocida (Ku70, Ku80, DNA-PKcs o el complejo Ku70-Ku80-DNA-PKcs). Sin embargo la información estructural existente sobre el resto de los componentes es aún muy escasa. Por otra parte, debido a la difícil función que realizan, la mayoría de estos ensamblados moleculares son de gran tamaño y poseen una composición dinámica. Por ello, la combinación de varios métodos de biología estructural a diferentes resoluciones representa en mi opinión la estrategia más razonable para el estudio de estas máquinas moleculares. En este sentido propongo: 1. Obtener información estructural de los complejos completos. El aislamiento se realizará mediante estrategias de co-expresión a partir de vectores policistronicos y purificación mediante colas de afinidad en condiciones nativas (TAP-tag, His-tag, etc.). A continuación se empleará la microscopía electrónica y diversas técnicas biofísicas para caracterizar los complejos. Finalmente, si la preparación lo permite, se intentará producir un modelo tridimensional mediante microscopía electrónica y reconstrucción de single-particle. 2. Obtener información estructural de los componentes individuales o de sub-complejos. Para ello propongo realizar su expresión y purificación así como su análisis mediante microscopía electrónica y, en aquellos casos donde sea posible, la resolución de su estructura mediante cristalografía de rayos X. Cuando la estructura de microscopía del complejo completo sea conocida (punto 1), se utilizarán métodos computacionales de fitting para encajar las estructuras tridimensionales a alta resolución en el modelo obtenido mediante microscopía electrónica. 3. Finalmente, las estructuras obtenidas se analizarán exhaustivamente con el objetivo de diseñar proteínas mutantes que permitan dilucidar de manera fehaciente las implicaciones funcionales de las estructuras tridimensionales resultantes. Mediante dichas mutaciones se analizará la importancia de determinados residuos en la estabilidad del complejo, en el establecimiento de las interacciones proteína-proteína o proteína-ADN.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Estudié Biología y Bioquímica en la Universidad de Granada en el periodo 1992-1997 por lo que se me concedió una  $\zeta$ Mención Especial $\zeta$  en los  $\zeta$ Premios Nacionales de Terminación de Estudios Universitarios $\zeta$ . A principios de 1998 comencé mi carrera científica en el equipo del Prof. Santiago Lamas dentro del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC, con una beca predoctoral de Formación de Personal Investigador. Durante cuatro años trabajé en el proyecto  $\zeta$ Regulación de la actividad de las proteínas c-Jun y p50 por estrés oxidativo y nitrosativo a través de S-glutacionilación $\zeta$ . Demostramos que, en condiciones de estrés oxidativo, el óxido nítrico y el glutatión modifican los factores de transcripción AP-1 y NF- $\kappa$ B mediante S-glutacionilación de los residuos de cisteína libres. Parte de estos estudios los llevé a cabo en el laboratorio del profesor James A. Thomas (Iowa State University, EEUU), donde realicé una estancia breve en 1999. Estos resultados derivaron en nueve publicaciones científicas, en siete de las cuales soy primer autor/co-autor: 7 artículos (4 en revistas de alto índice de impacto, 3 de ellos con unas 100 citas cada uno), 1 capítulo de libro y 1 revisión. Por estos resultados, me fue concedido en 2001 el  $\zeta$ Premio Nacional de Investigación Básica $\zeta$  de la Fundación  $\zeta$ Íñigo Álvarez de Toledo $\zeta$ . Además, en 2002 recibí el  $\zeta$ Premio Extraordinario de Doctorado $\zeta$  de la Universidad Autónoma de Madrid por mi Tesis Doctoral. Mi primera estancia posdoctoral, de siete meses, la realicé bajo la dirección del Dr. Santiago Lamas tras su traslado al Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares, donde completé mi proyecto de doctorado. Inmediatamente después, me trasladé al European Molecular Biology Laboratory (EMBL) de Grenoble, bajo la dirección del Dr. Winfried Weissenhorn. Entre 2002 y 2005 disfruté de dos becas posdoctorales europeas (EMBO Long-Term Fellowship, Marie Curie Individual Fellowship) y hasta 2007 de un contrato posdoctoral, para trabajar en el proyecto  $\zeta$ Structural biology of enveloped virus assembly and budding $\zeta$ . Durante cuatro años he trabajado en la caracterización bioquímica y estructural de proteínas pertenecientes a complejos ESCRT-I, II y III (Endosomal Sorting Complex Required for Transport), que son utilizados por los virus encapsulados durante la eclosión viral. Conseguimos clonar, expresar, purificar, caracterizar bioquímicamente y cristalizar diferentes complejos y proteínas individuales de los ESCRT. Como resultado, he sido autora/ co-autora de dos trabajos de investigación con índices de impacto de 14.7 y 7.2. En ellos describimos por primera vez la estructura tridimensional de dos proteínas (la Vps28 de ESCRT-I la CHMP-3 de ESCRT-III) y demostramos su importancia en el proceso de salida de ciertos retrovirus de la célula huésped. En la actualidad, trabajo como  $\zeta$ Investigadora Contratada $\zeta$  en el Instituto de Virología Estructural y Molecular de Grenoble (Francia), donde continúo mi trabajo de caracterización bioquímica y estructural de los ESCRT. En particular, estoy realizando estudios de Tomografía Electrónica sobre el complejo ESCRT-I en colaboración con el grupo del Dr. Frangakis en el EMBL-Heidelberg (Alemania), cuyos resultados se encuentran en trámite de publicación.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Llamas Azua, Angel

**Referencia:** RYC-2007-00078

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

**Número de orden:** 15      **Correo electrónico:** bb2llaza@uco.es

**Título:**

Metabolismo del cofactor de molibdeno en eucariotas

**Resumen de la Memoria:**

Metabolismo del cofactor de molibdeno en eucariotas: El Molibdeno (Mo) es un micronutriente esencial para microorganismos, plantas y animales. A excepción de la nitrogenasa bacteriana, el resto de las más de 40 molibdoenzimas descritas tienen al Cofactor de Molibdeno como la forma funcional del Mo. La deficiencia en Cofactor de Mo humana es una enfermedad genética autosómica recesiva, del grupo de enfermedades raras. Hasta el momento no hay terapia disponible para el tratamiento de estos pacientes. Mis aportaciones más relevantes en el campo del metabolismo del molibdeno han sido la caracterización y determinación de la estructura cristalina de la MCP, primera proteína identificada que interviene en la protección del Cofactor de Mo en condiciones aeróbicas, realizada en el alga verde *Chlamydomonas reinhardtii*, y en *Arabidopsis* la determinación del mecanismo de inserción del Mo en la Molibdopterina catalizada por CNX1. Si bien la biosíntesis de Cofactor de Mo es una ruta universal, otros pasos importantes para la funcionalidad y ensamblado en las molibdoenzimas se desconocen, en los que mi experiencia sería aplicable, se exponen a continuación: 1) Para estudiar el mecanismo de transferencia de Cofactor de Mo a las apoenzimas: En la expresión de las proteínas sustratos de la MCP como donadores o como aceptores de Cofactor de Mo (ApoNR y CNX1). En la identificación de la MCP en *Arabidopsis*. En la Purificación de proteínas recombinantes expresadas en *Chlamydomonas* y *E. coli*. Determinación y cuantificación de las propiedades bioquímicas de transferencia, donación y aceptación de Cofactor de Mo, según proceda. Previamente pondría a punto la síntesis *in vitro* de Cofactor de Mo con CNX1 MPT y Mo. En la realización de estudios de interacción entre proteínas, con estrategias de reactivos bifuncionales, geles 2-D, análisis de los péptidos. En la construcción de proteínas que tengan mutados los residuos potencialmente implicados en la interacción MCP-Apoenzima-CN1. En técnicas de fluorescencia y microscopía confocal para el estudio de la compartimentalización del proceso de la transferencia de Cofactor de Mo. 2) En la identificación molecular del transportador de molibdeno: En los estudios comparativos genómicos con objeto de seleccionar genes candidatos posibles a transportadores de Mo. En la selección de mutantes afectados en dichos genes mediante el análisis de la mutación insercional existente en *Chlamydomonas* y *Arabidopsis*. En los estudios proteómicos (huella peptídica y fragmentación peptídica mediante espectrometría de masas Maldi-TOF) con los mutantes seleccionados. En la determinación de los parámetros cinéticos del transportador. En la determinación de la estructura cristalina del transportador. Los datos que se obtengan en *Chlamydomonas* y *Arabidopsis* serían de una gran relevancia ya que abrirán paso a otros sistemas como los animales. Urge por tanto determinar las características moleculares del transportador(es) de molibdato, sus propiedades reguladoras específicas y su relación con el metabolismo; y las interacciones moleculares que deben ocurrir para la transferencia de Cofactor de Mo desde la MCP hasta las apomolibdoenzimas.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Mi actividad investigadora se ha centrado en el metabolismo del nitrato y del molibdeno. La tesis la realice sobre el transportador de molibdeno en eucariotas, caracterizando dos nuevos sistemas de alta y baja afinidad no identificados por primera vez en eucariotas, publicando un artículo en el *Plant Cell and Environment*. La Tesis doctoral la realice en la universidad de Córdoba en el metabolismo del nitrato, estudiando los mecanismos moleculares por los cuales el nitrato ejerce un papel de señal positiva en diversos procesos celulares como su asimilación y durante la gametogénesis, publicando dos artículos uno de primer autor en el *Plant Journal* y otro de segundo en el *Planta*, además de 4 capítulos de libros. Durante mi estancia postdoctoral de 30 meses en Alemania, en el laboratorio del profesor Ralf Mendel, considerado el laboratorio líder mundial en el estudio de las molibdoenzimas, he adquirido una gran experiencia en las distintas técnicas bioquímicas y moleculares necesarias para el análisis del Cofactor de Molibdeno y de proteínas que interactúan con él. Mi trabajo fue el estudio del mecanismo de inserción del Mo en la Molibdopterina (MPT) catalizada por CNX1, logrando identificar y caracterizar dos nuevas reacciones enzimáticas, una adenilación para formar un intermedio hasta entonces desconocido MPT-AMP y su posterior desadenilación, lo que provoca la inserción del Mo en el MPT. La repercusión de los resultados lo atestiguan la publicación de los mismos en 2 artículos de primer autor en el *JBC* y uno como segundo en el *Nature*, que mereció un comentario en la revista. Otro proyecto que realice fue la determinación de la estructura cristalina de la proteína MCP, publicando los resultados de co-primer autor en el *JBC*. Al regreso de Alemania he estado hasta el 30-11-2006 en el grupo del profesor Emilio Fernández, estudiando las proteínas que interactúan con la MCP, elaborando un artículo recientemente aceptado para el *Eukaryotic Cell*. En total he publicado 8 artículos en revistas de alto impacto, uno en revistas de divulgación científica y 4 capítulos de libros. Llamas, A.; Tejada-Jimenez, M.; González-Ballester D.; Higuera, J.J.; Schwarz, G.; Galván, A.; Fernández, E. *Eukaryotic Cell*. Su publicación fue aceptada el 10-Marzo-2007. Fischer K., Llamas A., Tejada-Jimenez M., Schrader N., Kuper J., Ataya FS, Galván A, Mendel RR, Fernández E, Schwarz G (1 Los autores contribuyen equitativamente al artículo, orden alfabético). *The Journal of Biological Chemistry*, 281: 30186-30192 (2006). Llamas, A.; Otte T.; Multhaup G.; Mendel RR.; Schwarz G. *The Journal of Biological Chemistry*, 281: 18343-18350 (2006). Llamas, A.; Mendel, RR.; Schwarz, G. *The Journal of Biological Chemistry*, 279: 55241-55246 (2004). Kuper, J.; Llamas, A.; Hecht, H.J.; Mendel, RR.; Schwarz, G. *Nature*, 430: 803-806 (2004). Llamas, A.; Igeño Gonzalez, M. I.; Galvan, A.; Fernández, E. *Plant Journal*, 30: 261-271 (2002). Rexach, J.; Llamas, A.; Fernandez, E.; Galvan, A. *Planta*, 606: 611-616 (2002). Llamas, A.; Kalakoutskii, K.L.; Fernández, E. *Plant, Cell and Environment*, 23: 1247-1255 (2000).

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Guil Domènech, Sonia

**Referencia:** RYC-2007-01236

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

**Número de orden:** 16 **Correo electrónico:** Sonia.Guil@hgu.mrc.ac.uk

**Título:**

El procesamiento de RNA y los microRNAs en las patologías humanas

**Resumen de la Memoria:**

Las líneas principales de investigación propuestas se enmarcan en términos generales en la regulación de la expresión génica a nivel post-transcripcional. Mi experiencia pasada en los campos de splicing, y en el metabolismo de RNA en general, tanto a nivel nuclear como citoplasmático, así como la contribución realizada en el área de los microRNAs, me permiten proponer una línea general de investigación que integre los diferentes aspectos y los aplique a problemas concretos a nivel del estudio de enfermedades o disfunciones particulares. En primer lugar, sugiero el uso de técnicas bioquímicas y celulares para la caracterización de secuencias y de factores reguladores del splicing alternativo en casos de patologías causadas por defectos en el procesamiento de pre-mRNAs. En segundo lugar, propongo aplicar un método de entrecruzamiento y inmunoprecipitación in vivo para la identificación de los lugares a unión al RNA de proteínas involucradas en la respuesta a los estímulos de estrés. Finalmente, mi experiencia en el campo de la biogénesis de microRNAs podría ser aplicada a estudios que abordasen su regulación diferencial en procesos de diferenciación, proliferación u apoptosis, en condiciones normales de desarrollo pero también, y especialmente, en aquellas situaciones que deriven en deficiencias o patologías.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Formación académica:-Licenciatura en Bioquímica (Universitat Autònoma de Barcelona, 1991-1996)- Doctorado en Bioquímica (Universitat de Barcelona) : "Regulación de la expresión del proto-oncogen c-H-ras mediante splicing alternativo" Realizada en el CID-CSIC, Barcelona, (1997-2002), bajo la dirección de la Dra. Montserrat Bach-Eliás. Trayectoria laboral en Investigación:- 1997-2003 : Becaria pre-doctoral, CID-CSIC, Barcelona. Departamento de Patología Molecular y Terapéutica, en el grupo de investigación de la Dra. Montserrat Bach-Eliás.- 2003-2007 : Post-doctoral fellow, MRC-Human Genetics Unit, Edimburg (UK), en el grupo de investigación del Dr. Javier F. Cáceres. Becas o premios recibidos:- Beca pre-doctoral "BEFI". Instituto de Salud Carlos III (España) (1999-2003)- Beca post-doctoral "EMBO long-term fellowship", EMBO Organisation (2004-2006)Publicaciones:- Guil S., Cáceres JF., "hnRNP A1 is required for the processing of an oncogenic miRNA cluster" Nature Structural & Molecular Biology (2007), in press. - Guil S., Long JC., Cáceres JF. "hnRNP A1 relocalization to the stress granules reflects a role in the stress response". (2006) Mol Cell Biol. 26(15):5744-58.- Allemand E., Guil S., Myers M., Moscat J., Cáceres JF., and Krainer AR. "Regulation of heterogenous nuclear ribonucleoprotein A1 transport by phosphorylation in cells stressed by osmotic shock". (2005) PNAS. 102(10):3605-3610.- Guil S., De La Iglesia N., Fernández-Larrea J., Ferrer JC., Guinovart JJ., Bach-Eliás M. "Alternative splicing of the human proto-oncogene c-H-ras renders a new Ras family protein which trafficks to cytoplasm and nucleus" (2003) Cancer Res. 63(17):5178-87.- Bach-Eliás M., Guil S. "Alternative splicing: a key for gene expression". (2003) Recent Res. Devel. Biophys. Biochem. 3:385-426. Ed. Research Signpost. (Review)- Guil S., Gattoni R., Carrascal M., Abián J., Stévenin J., Bach-Eliás M. "Roles of hnRNP A1, SR Proteins and p68 Helicase in c-H-ras Alternative Splicing Regulation". (2003) Mol. Cell. Biol. 23(8):2927-41.- Guil S., Darzynkiewicz E., Bach-Eliás M. "Study of the 2719 mutant of the c-H-ras oncogene in a bi-intronic alternative splicing system" (2002) Oncogene 21(36):5649-53.- Codony C., Guil S., Caudevilla C., Serra D., Asins G., Graessmann A., Hegardt FG., Bach-Eliás M. "Modulation in vitro of H-ras oncogene expression by trans-splicing". (2001) Oncogene 20(28):3683-94.- Guil S., Codony C., Chesa M.A., Eritja R., Darzynkiewicz E., Bach-Eliás M. "Alternative splicing of c-H-ras: a system to study different aspects of the splicing mechanism". (2000) Instituto Juan March de Estudios e Investigaciones, nº 113. Patentes:- Autores (por orden de firma): Guil Domènech S., Fernández-Larrea J., Bach-Eliás M. Título: El uso de la proteína p19 H-Ras Número de solicitud (Oficina española de patentes): 64100501-200200008397 (Abril 2002) Empresa: Fontlab 2000 S.L. (Sr. Pelai Fontsaré Via)

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** González Suárez, Eva

**Referencia:** RYC-2007-01351

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

**Número de orden:** 17 **Correo electrónico:** evags\_413@hotmail.com

**Título:**

Caracterización de la función de RANK en cáncer de mama

**Resumen de la Memoria:**

RANK y su ligando RANKL, proteínas clave en el proceso de remodelación del hueso, juegan también un papel esencial en el desarrollo de la glándula mamaria. Recientemente hemos descrito que la sobreexpresión de RANK en mama de ratones transgénicos MMTV-RANK promueve la proliferación de células epiteliales e impide su diferenciación terminal durante la gestación, y que cultivos 3D de acini MMTV-RANK muestran características relacionadas con el proceso de transformación celular de forma dependiente de RANKL (González-Suárez et al., Mol Cell Biol, 2007). Así mismo, los ratones MMTV-RANK son más susceptibles a la formación de tumores de mama tanto espontáneos como inducidos (manuscrito en preparación). El propósito de este proyecto es dilucidar el mecanismo por el cual RANK/RANKL hacen posible esta mayor incidencia de cáncer de mama y, al mismo tiempo, determinar cómo altos niveles de expresión de RANK, o su ausencia, pueden influir sobre la capacidad metastática de las células tumorales de mama. Para ello utilizaremos tanto cultivos 3D como diferentes modelos de animales transgénicos ya caracterizados. Extenderemos estos estudios a células epiteliales mamarias humanas y evaluaremos los niveles de expresión de RANK y RANKL y su regulación en los distintos estadios de la progresión tumoral tanto en modelos murinos propensos al desarrollo de tumores mamarios, como en muestras de pacientes con cáncer de mama. RANKL puede existir como proteína soluble o en una forma unida a membrana. La variedad soluble de RANKL puede ser detectada en el suero de pacientes, y se esperaría que niveles constitutivamente elevados de RANKL estimularan la actividad osteoclastica y pudieran indicar la existencia de metástasis a hueso. Analizaremos sueros de pacientes con cáncer de mama para intentar evaluar su valor pronóstico y relevancia clínica. RANK y RANKL se expresan también en células del sistema inmune. Se ha demostrado recientemente que RANKL promueve tolerancia a través de su acción sobre células T reguladoras. En este sentido, analizaremos el papel que el sistema inmune desempeña en el establecimiento de este tipo de tumores. Por otra parte, existen evidencias de que las células madre son dianas de transformación celular. Se ha descrito la existencia de una población de células con propiedades pluripotenciales en tumores de mama y otros tipos de cáncer. Basándonos en el bloqueo de la diferenciación terminal de células epiteliales de mama percibido en ratones MMTV-RANK, así como en observaciones preliminares que muestran un aumento de la supervivencia de células mamarias en cultivos en suspensión (mamosferas), afrontaremos el estudio del papel que desempeñan RANK/RANKL en células progenitoras. En definitiva, la extensa experiencia con modelos animales en oncología adquirida tanto durante mi tesis doctoral como en la etapa postdoctoral, y mi amplio conocimiento en el campo de la glándula mamaria y las técnicas a él asociadas, serán ser claves para el desarrollo de la línea de investigación. Así mismo, la capacidad que he adquirido para realizar todas las tareas inherentes a un proyecto científico, y los contactos establecidos con expertos en este campo y con investigadores de AMGEN incidirán positivamente en el éxito de este trabajo.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

INFORMACIÓN PERSONAL Y SITUACIÓN PROFESIONAL ACTUAL Nombre: Eva González Suárez DNI: 9430831A Fecha de nacimiento: 20-06-1975 Categoría profesional: Postdoctoral Fellow, Cancer Biology Department, Amgen Inc., WA Dirección: 1201 Amgen Court West. Seattle, WA. 98119. EEUU Teléfono: 1-206-2657148 (EEUU); 34-985-206098 (España) Fax: 1-206-2170493 (EEUU) Correo electrónico: evags\_413@hotmail.com; gonzalee@amgen.com FORMACIÓN ACADÉMICA Primer ciclo de la licenciatura de Ciencias Químicas, Universidad de Oviedo, 1993-1996. Especialidad en Bioquímica, Universidad de Oviedo, 1996-1998. Doctorado en Bioquímica y Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid, 1998-2003 (directora de tesis: Dra. María Blasco). PUBLICACIONES MÁS RELEVANTES González-Suárez, E., Branstetter, D., Armstrong, A., Jones, J., Stocking, K., Erwert, R. and Dougall, W.C. (2007) Overexpression of RANK in the mouse mammary gland results in a higher incidence of spontaneous and induced mammary tumors. En preparación. González-Suárez, E., Branstetter, D., Armstrong, A., Dinh, H., Blumberg, H. and Dougall, W.C. (2007). RANK promotes mammary epithelial proliferation in MMTV-RANK mice and disrupts luminal formation in cultured acini. Mol. Cell. Biol. 27, 1442-1454. Arnett, H.A., Escobar, S.S., González-Suárez, E., Budelsky, A.L., Steffen, L.A., Boiani, N., Zhang, M., Siu, G., Brewer, A.W. and Viney J.A. (2007). BTNL2, a butyrophilin/B7-like molecule, is a negative costimulatory molecule modulated in intestinal inflammation. J. Immunol. 178, 1523-1533. Geserick, C., Tejera A., González-Suárez, E., Klatt, P. and Blasco, M.A. (2006). Expression of mTert in primary murine cells links the growth-promoting effects of telomerase to transforming growth factor- $\beta$  signaling. Oncogene. 25 4310-4319. González-Suárez, E., Geserick, C., Flores, J.M. and Blasco, M.A. (2005). Antagonistic effects of telomerase on cancer and aging in K5-mTert transgenic mice. Oncogene. 24, 2256-2270. González-Suárez, E., Goytisolo, F., Flores, J.M. and Blasco, M.A. (2003). Telomere dysfunction results in enhanced organismal sensitivity to the alkylating agent MNU. Can. Res. 63, 7047-7050. González-Suárez, E., Flores, J.M. and Blasco M.A. (2002). Cooperation between p53 mutation and high telomerase transgenic expression in spontaneous cancer development in mice. Mol. Cell. Biol. 22, 7291-7301. González-Suárez, E., Samper, E., Ramírez, A., Flores, J.M., Martín-Caballero, J., Jorcano, J.L., and Blasco, M.A. (2001). Increased epidermal tumors and increased wound healing in transgenic mice overexpressing the catalytic subunit of telomerase, mTERT, in basal keratinocytes. EMBO J. 20, 2619-2630. Sachsinger, J., González-Suárez, E., Samper, E., Heicappell, R., Müller, M., and M.A. Blasco. (2001). Effects of telomerase inhibition in a murine tumor cell line showing short telomeres, RenCa, by overexpression of a dominant negative mutant of mTert. Can. Res. 61, 5580-5586. González-Suárez, E., Samper, E., Flores, J.M. and Blasco, M.A. (2000). Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis. Nat Genet 26, 114-117.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Monje Casas, Fernando

**Referencia:** RYC-2007-00603

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

**Número de orden:** 18      **Correo electrónico:** fmonje@mit.edu

**Título:**

Localización asimétrica de componentes de la ruta de salida de mitosis en *Saccharomyces cerevisiae*

**Resumen de la Memoria:**

El ciclo celular se compone de un conjunto de etapas que las células deben completar para dividirse. La levadura de panadería, *Saccharomyces cerevisiae*, es un organismo modelo para el estudio del ciclo celular, debido a la facilidad para realizar análisis genéticos, su capacidad para proliferar rápidamente en condiciones simples de cultivo, y su genoma perfectamente definido. En este organismo, la ruta MEN (mitotic exit network) es una cascada de señalización que permite la salida de mitosis. MEN regula una de las etapas clave en el ciclo celular, y la correcta ejecución de este proceso es esencial para que el material genético se distribuya de forma que las dos células resultantes reciban un juego completo del genoma. Esta ruta mantiene una liberación permanente de la proteína fosfatasa Cdc14 desde el nucléolo hacia el núcleo y el citoplasma, donde defosforila una serie de sustratos que promueven la degradación de ciclinas mitóticas y la salida de mitosis. La GTPasa Tem1 y la proteína activadora de GTPasa de dos componentes Bfa1-Bub2, todos miembros de MEN, se localizan de forma asimétrica durante anafase. Estas proteínas se localizan en el cuerpo polar del huso mitótico (SPB, el equivalente del centrosoma en levaduras) que entra en la célula hija, mientras que están excluidas del SPB que permanece en la célula madre. Se desconoce la causa de esta asimetría, pero es requerida para el correcto control de la progresión del ciclo celular. El objetivo de mi propuesta de investigación es determinar cómo se consigue la localización diferencial de los componentes de MEN, cómo es regulada, y cuáles son las consecuencias de perturbar esta asimetría sobre el ciclo celular. Para ello, me planteo seguir tres estrategias:- Identificar las regiones de Bfa1, Bub2 y Tem1 necesarias para su localización asimétrica, y estudiar las consecuencias de la mutación de estas regiones en el ciclo celular. Para ello usaré técnicas convencionales de mapeo, generando formas truncadas de las proteínas y comprobando su expresión, estabilidad y capacidad para localizarse (simétrica o asimétricamente) en el SPB.- Estudiar los efectos de proteínas requeridas para otros procesos de generación de asimetría sobre la localización de Tem1, Bfa1 y Bub2. Un ejemplo serían las ciclinas mitóticas, que han sido implicadas en procesos de generación de polaridad en el huso mitótico y de asimetría en la división celular.- Llevar a cabo una búsqueda genética para identificar genes requeridos en la asimetría de los componentes anteriores de la ruta de salida de mitosis. Esta estrategia se puede llevar a cabo de forma paralela a la anterior, y tiene la ventaja de carecer de la necesidad de candidatos previos. Una posibilidad sería una criba visual usando la colección de mutantes nulos de levadura (una colección de levaduras en las que cada gen no esencial ha sido delecionado). Cruzando cada mutante con una estirpe en la que Bfa1 está marcado con GFP (proteína fluorescente verde) y seleccionando los haploides que tengan tanto la mutación como la versión de Bfa1 marcada con GFP, podríamos buscar aquellas mutaciones en las que Bfa1 vea afectada su localización. Puesto que el cáncer se desarrolla cuando las células comienzan a crecer y a dividirse sin control, es importante el estudio de los mecanismos por los que se regula el ciclo celular. Un mejor conocimiento del control del ciclo celular proporcionará una herramienta importante en la búsqueda de una cura para esta enfermedad.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

Licenciado en Bioquímica por la Universidad de Córdoba, obtuve el Tercer Premio Nacional Fin de Carrera de Educación Universitaria del Ministerio de Educación y Cultura. Posteriormente, realicé mi Tesis Doctoral en el grupo de la Dra. Carmen Pueyo de la Cuesta, estudiando el papel de los sistemas tioredoxina (Trx) y glutaredoxina (Grx) en la defensa frente a estrés oxidativo, y alcanzando la calificación de "Sobresaliente Cum Laude". Estos sistemas son los donadores de electrones de la ribonucleótido reductasa (RRasa), la enzima esencial en la biosíntesis de ADN. Mis estudios se centraron inicialmente en la regulación de los sistemas Trx y Grx en *Escherichia coli*, y me llevaron a proponer que esta bacteria podría optimizar las respuestas a diferentes estímulos mediante la co-evolución de los niveles de expresión de sus múltiples reductasas y donadores de electrones. Los resultados de esta investigación se publicaron en tres artículos (*J. Biol. Chem.* (2000) 275(18):13398-405; *J. Biol. Chem.* (2001) 276(21):18031-7; *Methods in Enzymology* (2002). 347(42):441-451). Luego, trasladé mis estudios a la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, donde cuantifiqué los patrones de expresión absoluta de los sistemas Trx y Grx en respuesta a oxidantes, cambios bruscos de temperatura, y diferentes condiciones de cultivo, así como las tasas de degradación de ARNm y su contribución a las diferencias encontradas en los niveles de expresión basal de estos genes (*Biochem. J.* (2004). 383(1):139-147). También en *S. cerevisiae*, colaboré en la descripción de los niveles de expresión de genes de los sistemas de reparación del ADN bajo distintas condiciones de crecimiento (*DNA Repair* (2005). 4(4):469-478). Durante mi Tesis disfruté de una Beca FPI de la Junta de Andalucía, y participé en 2 proyectos de investigación y 3 contratos de I+D con la Empresa Pública para el Desarrollo Agrario y Pesquero de Andalucía S.A. Además, mi formación se completó con 13 comunicaciones a Congresos Nacionales e Internacionales, la asistencia a 2 cursos internacionales y 4 nacionales, 2 reuniones científicas internacionales, y 4 jornadas científicas. Un cuerpo substancial de evidencias relaciona el estrés oxidativo y los daños al ADN con la patogénesis de enfermedades crónicas y relacionadas con la edad, como el cáncer. Mi interés en el estudio de procesos más directamente relacionados con el cáncer me hizo unirme al grupo de la Dra. Angelika Amon en el Center for Cancer Research del MIT, para realizar una estancia postdoctoral estudiando distintos aspectos del control del ciclo celular. Así, inicialmente colaboré en el descubrimiento de Kin4, una proteína quinasa que demostramos ser parte del punto de control de posicionamiento del huso mitótico (*Mol. Cell* (2005). 19(2):223-234), un mecanismo de vigilancia que asegura que la salida de mitosis ocurre sólo cuando el núcleo está correctamente posicionado. Posteriormente, estudié la regulación de la segregación cromosómica en meiosis, descifrando el papel que juegan la proteína Aurora quinasa B y el complejo monopolina en este proceso. La importancia de este descubrimiento la demuestra su publicación en la prestigiosa revista *Cell* (*Cell* (2007). 128(3):477-490). Mi estancia postdoctoral ha sido posible gracias a un contrato de investigador asociado del Howard Hughes Medical Institute y a una Beca Postdoctoral del Ministerio de Educación y Ciencia. Además, mi trabajo se ha presentado en 3 comunicaciones orales a Congresos Internacionales.

**PROGRAMA RAMON Y CAJAL  
CONVOCATORIA 2007**

**Nombre:** Canovas Lopez, David

**Referencia:** RYC-2007-01779

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

**Número de orden:** 19      **Correo electrónico:** dcanovas@cnb.uam.es

**Título:**

MECANISMOS MOLECULARES DE MORFOGÉNESIS EN EUCARIOTAS INFERIORES

**Resumen de la Memoria:**

La morfogénesis permite a los organismos desarrollar programas de diferenciación que darán lugar a células especializadas. Esta capacidad es inherente en los organismos eucarióticos. Dentro de ellos, los hongos proporcionan modelos de gran utilidad por su facilidad de estudio en el laboratorio, además de tener un interés añadido en el caso de los que son patógenos. Existen varios programas de desarrollo en hongos, que ejercen un estricto control de la diferenciación celular y definen, a su vez, diferentes papeles biológicos. Por ejemplo, durante la esporulación (reproducción asexual) se producen esporas a partir de unas estructuras multicelulares especializadas que constituyen una forma de dispersión y el agente infeccioso en hongos patógenos. La capacidad de alternar entre una forma de crecimiento multicelular (en forma de hifa) y un crecimiento unicelular (levaduriforme) es necesario para el desarrollo de enfermedades producidas por hongos dimórficos. Por eso, el estudio de los mecanismos morfogenéticos en hongos patógenos tiene una doble perspectiva: obtener información sobre los mecanismos moleculares responsables de la morfogénesis que se encuentran conservados en eucariotas superiores y para comprender la biología de los hongos y su relación con los procesos patogénicos con vistas a diseñar estrategias apropiadas para su tratamiento farmacológico y/o preventivo. Esta propuesta plantea emplear una combinación de genética y biología molecular y celular para estudiar los mecanismos moleculares responsables de determinar los diferentes tipos celulares en hongos patógenos (esporas, hifas, levaduras, etc), prestando especial atención a la esporulación, crecimiento polar y al cambio dimórfico. Se propone realizar un estudio multidisciplinar que incluye genómica comparada, análisis del transcriptoma, aislamiento y selección de mutantes, visualización y localización de proteínas entre otras tecnologías. Se utilizarán diversas especies fúngicas, de las cuales unos son modelos clásicos para el estudio de la esporulación y el ciclo celular como es *Aspergillus nidulans* (y la especie patógena muy cercana filogenéticamente *A. fumigatus*), y otro constituye un nuevo modelo para el estudio de hongos patógenos termodimórficos (*Penicillium marneffei*). Se seleccionarán las correspondientes especies en función de su idoneidad para responder a las preguntas biológicas.

**Resumen del Curriculum Vitae:**

La carrera científica del candidato comenzó en el Depto de Microbiología de la Facultad de Farmacia (Univ. de Sevilla) como alumno interno en el Laboratorio de Microorganismos Halófilos. Sus contribuciones en el desarrollo de herramientas genéticas para la manipulación de bacterias halófilas moderadas formaron parte de un artículo publicado en *Molecular and General Genetics*. Luego, se incorporó como estudiante de doctorado bajo la dirección del Prof. A. Ventosa, el Dr. J.J. Nieto y la Dra. C. Vargas. Su Tesis Doctoral permitió comprender los mecanismos genéticos y fisiológicos que permiten a este grupo de microorganismos de gran importancia ecológica y biotecnológica sobrevivir en condiciones extremas de salinidad (hasta 4 M de ClNa). Estos estudios han quedado reflejados en 7 publicaciones (la mayoría corresponden a revistas líderes en el área de la microbiología general y/o ambiental) de las que es primer autor más otras 4 publicaciones, fruto de colaboraciones. El candidato realizó estancias en School of Biological Sciences, Purdue University (EE.UU.), Fabereich Biologie, Philipps-Universität Marburg (Alemania) y el Instituto de Tecnología Química e Biológica, Universidade Nova de Lisboa (Portugal). Posteriormente, realizó una estancia postdoctoral en el laboratorio del Prof. Víctor de Lorenzo en el Centro Nacional de Biotecnología (Madrid). Durante esta etapa estudió los mecanismos de resistencia a arsénico en bacterias y en un hongo hiper-tolerante del género *Aspergillus*. Estos estudios han dado lugar por el momento a 5 publicaciones de las cuales es primer autor en 4 de ellas. Durante esta etapa, el candidato comenzó a desarrollar su capacidad de liderazgo, quedando patente con la publicación de un reciente artículo en *Molecular Microbiology* del cual es último autor, y otro en *FEMS Microbiology Ecology* como autor para correspondencia; además de la dirección como Investigador Principal de un proyecto de investigación financiado por la Comunidad de Madrid. Durante esta etapa, el candidato realizó colaboraciones con grupos en Wayne State University - School of Medicine (EE.UU.) y Faculty of Earth and Life Sciences, Vrije Universiteit (Holanda). Posteriormente, realizó una estancia Postdoctoral en el laboratorio del Dr. Alex Andrianopoulos en la Universidad de Melbourne (Australia) estudiando los mecanismos moleculares que afectan a la morfogénesis y los programas de desarrollo en hongos patógenos termo-dimórficos. Su capacidad de liderazgo durante esta etapa ha quedado reflejado con la co-dirección de dos tesis de honores. El primero trabajo ha sido publicado recientemente en *Molecular Microbiology* y ha sido recomendado por *Faculty of 1000 Biology*, anticipando el impacto que tienen los proyectos realizados por el candidato durante esta etapa post-doctoral. La publicación del resto de los trabajos realizados se encuentra en curso, con la preparación de 3 manuscritos, que ya han sido presentados en numerosos Congresos Internacionales. Se espera poder mandar el siguiente durante las próximas 2-3 semanas (D. Cánovas y A. Andrianopoulos, Myosin type II is essential for morphogenesis in dimorphic fungi). En la actualidad, el candidato se encuentra de vuelta en España en el laboratorio del Dr. José Pérez-Martín en el Centro Nacional de Biotecnología (Madrid), estudiando la relación entre el ciclo celular y la polaridad durante los procesos de morfogenéticos en el hongo dimórfico *Ustilago maydis*.