

CENTRO ANDALUZ DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y MEDICINA REGENERATIVA (CABIMER)

Áreas de Investigación

Dirigido por el profesor Bernat Soria, los trabajos de investigación se desarrollan en cuatro grandes Departamentos:

- Biología Molecular
- Señalización Celular
- Células Troncales
- Terapia Celular y Medicina Regenerativa

Departamento de Biología Molecular

El Departamento de Biología Molecular tiene como objetivo identificar y entender los genes y mecanismos que controlan la estabilidad y expresión de los genomas eucarióticos. Está abierto al estudio de células humanas, y organismos modelos que permitan un abordaje complementario y más sofisticado como son las levaduras *S. cerevisiae* y *S. pombe* o el gusano *C. elegans*, y de modelos animales murinos. El objetivo último es entender el impacto que la estabilidad del genoma y su expresión tienen en los procesos de proliferación y división celular y en diferenciación celular. Estos objetivos están enmarcados dentro del interés general del Centro de investigación sobre problemas actuales de la Biomedicina, que incluyen preferentemente el origen del cáncer, síndromes genéticos relacionados con la estabilidad de los genomas y la estabilidad genética de células en diferenciación y desarrollo.

El Departamento tiene una proyección metodológica concreta dentro del Centro al hacer aproximaciones genéticas y bioquímicas a los problemas estudiados, además de la Biología Celular, y tiene el propósito de usar y poner a punto abordajes de alto rendimiento de genómica funcional y proteómica. Para ello consta de una serie de grupos iniciales, que deberán completarse en los próximos años con otros que completen las líneas y metodologías necesarias para cumplir los objetivos.

- **Proyectos Vigentes**

Inestabilidad Genética Asociada a Transcripción en Eucariotas

Referencia: SAF2003-00204

Investigador principal: Andrés Aguilera López

Duración: 2003-2006

Plasticidad y Función de los Genomas

Referencia: Grupo CVI 0102

Investigador principal: Andrés Aguilera López

Duración: 2006-2007

Bases Genéticas y Moleculares del Origen de la Inestabilidad Genética en Eucariotas

Referencia: Proyecto de excelencia CVI 624

Investigador principal: Andrés Aguilera López

Duración: 2006-2008

Bases Genéticas y Moleculares de la Inestabilidad Genómica y su relación con la Biogénesis de los mRNPs en Eucariotas

Referencia: BFU2006-05260
Investigador principal: Andrés Aguilera López
Duración: 2006-2011

Complejos Remodeladores de Cromatina dependientes de ATP: Caracterización de Proteínas de la Familia snf2 y su Función en Transcripción y Desarrollo
Referencia: BFU2005-01047/BMC
Investigador principal: José Carlos Reyes Rosa
Duración: desde el 15 de octubre de 2005 hasta el 14 de octubre de 2008

Epigenética, Mecanismos y Enfermedad
Referencia: CSD2006-00049
Investigador principal: José Carlos Reyes Rosa
Duración: 2006-2010

Proteínas BET: Nuevas Dianas para Sumo
Referencia: BFU2006-14977/BMC
Investigador principal: Mario García Domínguez
Duración: desde diciembre de 2006 hasta diciembre de 2009

Papel de la Cromatina en la Acumulación y Reparación de Daños en el DNA
Referencia: BFU2006-08336
Investigador principal: Félix Prado Velasco
Duración: 2006-2009

Collision or Progresion: DNA Replication fork Traversal and RNAPII Transcription Termination
Referencia: BIO2003-07172
Investigador Principal: Ralf Welinger
Duración: desde el 15 de noviembre de 2003 hasta el 15 de noviembre de 2006

Caracterización de Proteínas y Sustancias Supresoras de los Daños en el ADN debidas a la Acción de la Topoisomerasa
Referencia: BIO2006-08051
Investigador principal: Ralf Welinger
Duración: 2006-2009

- **Líneas de Investigación**

La división y proliferación celular son procesos básicos en diferenciación y desarrollo están ligados y sujetos a un estricto control genético y a mecanismos que garantizan la integridad y correcta segregación de los genomas. Las líneas de investigación prioritarias de este Departamento tratan de conocer los factores y mecanismos que gobiernan estos procesos.

En las dos últimas décadas, se ha puesto de manifiesto que la activación, la represión y el silenciamiento de la transcripción conllevan cambios en la estructura de la cromatina de promotores y regiones reguladoras. Además, la herencia de estados de transcripción diferentes, esencial durante la diferenciación celular, también implica modificaciones de la cromatina (marcas epigenéticas). Igualmente, existen evidencias crecientes que implican una correcta estructura y ensamblaje de la cromatina en el

mantenimiento de la integridad de los genomas. Las razones de esta asociación no están claras aún, pero se conocen al menos dos vías por las que la integridad de los genomas puede verse comprometida. Por un lado, defectos en el ensamblaje de nueva cromatina durante la replicación del DNA puede llevar consigo la acumulación de daños replicativos recombinogénicos. Por otro, un cambio en el patrón de expresión de genes con un papel directo en el mantenimiento de la integridad, como pueden ser genes de replicación o reparación entre otros.

Estos antecedentes indican que la estructura del cromosoma es un factor determinante en la función y dinámica de los genomas. No obstante, no es el único factor ni el más importante. Así, procesos biológicos como la replicación, la transcripción, el transporte del RNA del núcleo al citoplasma, la reparación del DNA o la replicación pueden afectar la integridad de los genomas y su segregación. La, en principio, sorprendente interconexión entre procesos aparentemente independientes del núcleo de la célula, revelan la importancia de entender los mecanismos y factores que controlan la función de los genes, así como la estabilidad de los genomas para entender y controlar la proliferación y diferenciación celular, dos aspectos básicos de la Investigación Biomédica.

Los objetivos generales enmarcados en la investigación a desarrollar en este Departamento se centran en descifrar los factores y mecanismos implicados en la dinámica y función de los genes y cromosomas eucarióticos, su papel en proliferación y diferenciación celular y su impacto en la estabilidad de los genomas, así como en envejecimiento y muerte celular. En último término, se pretende aportar conocimiento útil para potenciar la prevención y mejorar la terapia contra el cáncer, y garantizar el control de la diferenciación bajo un programa genético definido y estable.

Las líneas de investigación de este Departamento se resumen en:

- Checkpoints de replicación y reparación de roturas cromosómicas. Señalización de daños cromosómicos.
- Inestabilidad genética asociada a transcripción. Función de los complejos proteicos THO-TREX, Thp1-Sac3, Mex67-Mtr2 y otros relacionados en el acoplamiento transcripción-transporte y su impacto en integridad genómica.
- Reparación por escisión de nucleótidos acoplada a transcripción. Papel de los complejos NOT y PAF.
- Métodos para aumentar o disminuir los daños en el DNA generados mediante tratamientos quimioterapéuticos. Conexión entre inestabilidad genética y carcinogenicidad.
- Función de las proteínas SMC (cohesinas, condensitas y SMC5,6) en la integridad y segregación de los genomas.
- Control de la replicación del DNA y su impacto en el origen de la inestabilidad genética.
- Proteómica del envejecimiento celular.
- Epigenética de la reparación de roturas de doble cadena del DNA. Inestabilidad genética asociada a defectos de ensamblaje de cromatina.
- Complejos remodeladores de cromatina dependientes de ATP que intervienen en transcripción.
- Silenciamiento transcripcional mediado por RNA de interferencia. Caracterización de la helicasa de RNA TDRD9 en el silenciamiento transcripcional mediado por RNA de interferencia.
- Mecanismos y funciones del proceso de modificación por SUMO de proteínas de la familia BET y las histonas.

- Identificación de genes eucarióticos implicados en estabilidad genómica mediante análisis de alto rendimiento con genotecas de depleción generados por RNAi en humanos o de *knock-outs* en *S. cerevisiae*.
- Papel de las ATPasas CHD6 a CHD9 en remodelación de la cromatina asociada a la elongación de la transcripción.
- Regulación del tránsito núcleo citoplásmico de la proteína supresora de tumores SNF5, una subunidad del complejo remodelador de cromatina SWI/SNF.
- Acoplamiento entre transcripción y transporte del RNA: factores y mecanismos.

Las diferentes líneas de investigación abordan problemas básicos celulares mediados por factores y mecanismos conservados en todos los eucariotas y se llevan a cabo de forma complementaria en células humanas, murinas y de *Saccharomyces Cerevisiae*.

- **Interacciones y Sinergias con otros grupos del CABIMER.**

La creación del CABIMER ofrece una oportunidad inmejorable para el abordaje de una serie de proyectos mediante colaboración entre grupos de diferentes Departamentos. Algunos de los proyectos de colaboración que se pretenden abordar en un futuro son los siguientes:

- Señales epigenéticas y mantenimiento de pluripotencia en células troncales
- Señales epigenéticas en los procesos de transdiferenciación y reprogramación celular
- Inestabilidad genómica y cáncer
- Envejecimiento celular, apoptosis y cáncer
- Como afectan la morfología celular y la arquitectura nuclear a la expresión génica.

Departamento de Señalización Celular

La constatación de que alteraciones en la transducción de señales en la célula son la base de numerosas patologías neoplásicas, autoinmunes y degenerativas ha conducido a un gran esfuerzo para conocer los mecanismos e identificar las proteínas que controlan el comportamiento celular, tanto al nivel individual como en el contexto del tejido y órgano del que forman parte.

En la actualidad, los centros de investigación más importantes a nivel internacional incluyen en su organización unidades o departamentos dedicados al estudio de los mecanismos de señalización celular y de la transmisión de señales bioquímicas desde el exterior celular al núcleo. Por lo anteriormente expuesto, la existencia en un centro de Biomedicina como CABIMER de un departamento donde tengan cabida grupos dedicados al estudio de diversos aspectos relacionados con los mecanismos moleculares y celulares de la señalización celular no sólo es deseable sino también necesario.

- **Proyectos Vigentes**

SAF2003-00402. Ministerio de Educación y Ciencia
Inducción de Apoptosis por el Ligando de Muerte Celular TRAIL en Células Tumorales de Mama:
Papel de la Mitocondria y Regulación por ErbB2
Investigador principal: Abelardo López Rivas

2003-2006. Association for International Cancer Research (AICR). (03-031)

Molecular Mechanisms Regulating the Sensitivity of Breast Tumor Cells to TRAIL-induced Apoptosis

Investigador principal: Abelardo López Rivas

CTS-211. Proyecto de Excelencia de la Junta de Andalucía

Mecanismos de Sensibilización de Células Tumorales a la Acción Terapéutica del Ligando de Muerte Celular TRAIL

Investigador principal: Abelardo López Rivas

SAF2006-00633. Ministerio de Educación y Ciencia

Regulación de la Muerte Celular en Células Epiteliales de Mama: Papel de TRAIL y Alteraciones en Células Tumorales

Investigador principal: Abelardo López Rivas

BFU2005-05629. Ministerio de Educación y Ciencia

Las Neurotrofinas y el Receptor Notch en el Control de la Morfología Neuronal y de la Sinaptogénesis

Investigador principal: Alfredo Rodríguez Tébar

Fundación "La Caixa" 2005X1045

Papel Fisiológico del Amiloide β

Investigador principal: Alfredo Rodríguez Tébar

2005-2008. SAF2005-07713-C03-02. Ministerio de Educación y Ciencia

Estudio de la Implicación de PTTG en el Proceso Metastático. Caracterización Funcional de los Genes PTTG2 y PTTG3

Investigador principal: J. A. Pintor Toro

2003-2006. BMC2003-00800. Ministerio de Educación y Ciencia

Análisis de las Proteínas GMAP210 y AKAP450 como Reguladores de la Asociación del Aparato de Golgi con el Centrosoma. CICYT

Investigador principal: Rosa M. Ríos

2005-2007. 2004/00001285. Proyecto M. C. T para la Contratación de Personal Técnico de Apoyo. M. C. T.

Investigador principal: Rosa M. Ríos

2006201164. CSIC

Caracterización de Nuevas Funciones de GMAP210 y AKAP40. Proteínas Reguladoras de la Asociación entre el Aparato de Golgi y el Centrosoma.

Investigador principal: Rosa M. Ríos

BMC2006-03271. Ministerio de Educación y Ciencia

Caracterización de Nuevas Funciones de GMAP210 y AKAP450. Proteínas Reguladoras de la Asociación entre el Aparato de Golgi y el Centrosoma. CICYT

Investigador principal: Rosa M. Ríos

BFU2006-26075-E/BMC. Ministerio de Educación y Ciencia
Integración Funcional del Tráfico de Membranas. La Señalización Intracelular y la Dinámica del Citoesqueleto. MEC (acción complementaria)
Investigador principal: Gustavo Egea

- **Líneas de Investigación**

En los últimos años se ha desarrollado en torno a la señalización celular un área de investigación única en biología y medicina que va desde el análisis detallado de las moléculas y los mecanismos señalizadores hasta el estudio de sus efectos fenotípicos y patológicos. La importancia del estudio de los mecanismos de señalización reside en que casi todas las funciones celulares, división, muerte o degeneración de las células, establecimiento de la polaridad o de las adhesiones celulares, migración o diferenciación celulares, son el resultado de señalizaciones específicas y su desregulación causa patologías severas.

Los distintos grupos del Departamento de Señalización Celular tienen como objetivo el estudio de varias funciones celulares desde sus aspectos más básicos y la elaboración de estrategias que permitan una mayor eficacia en el tratamiento de ciertas enfermedades.

Mecanismos de organización intracelular

Desde el punto de vista básico, comprender cómo sucesos tan simples como las modificaciones post-traduccionales o las interacciones proteína-proteína pueden producir respuestas biológicas adecuadas en el denso ambiente de la célula es un reto importante. Los últimos datos apuntan a que la respuesta se halla en la compartimentalización subcelular y a este respecto, la región central de la célula donde se localizan el aparato de Golgi y el centrosoma se ha revelado como la estación principal de señalización. Ambos orgánulos comparten una estrecha relación funcional que se mantiene en multitud de procesos celulares como el establecimiento de la polaridad y la migración mientras que desaparece en otros como la mitosis o la apoptosis. Se han descrito más de 100 patologías cuyo origen es un fallo en la organización y funcionamiento de estos orgánulos. Nuestro interés se centra en desvelar los mecanismos moleculares que regulan la asociación entre estos orgánulos y para ello estamos analizando la dinámica de las proteínas GMAP-210 y AKAP-450, que juegan un importante papel en este proceso.

Ciclo celular y oncogénesis

El control de la división y la migración de las células es asimismo esencial para asegurar la homeostasis de los tejidos y prevenir comportamientos inadecuados de las células que conducen al desarrollo de tumores y a la aparición de metástasis. El gen pttg1/sec parece estar involucrado en ambos procesos mediante diversos mecanismos de acción que incluyen su participación en la separación de cromátidas hermanas durante la mitosis, la parada del ciclo celular y la inducción de muerte celular en determinadas circunstancias e incluso ciertos mecanismos de reparación del ADN. La implicación de PTTG1 en estos procesos surge del establecimiento de interacciones específicas con las proteínas separasa, p53 o el autoantígeno Ku70/80. Además, PTTG1 exhibe una potente actividad transactivadora cuyo estudio ha puesto de manifiesto el aumento de la expresión de ciertas quimioquinas y la represión de algunas moléculas de adhesión lo que sugiere una clara implicación en el proceso metastático.

Señalización en la muerte celular

La búsqueda de agentes capaces de inducir apoptosis en células tumorales ha sido una línea de enorme interés en los últimos años. El descubrimiento del ligando TRAIL como posible antitumoral ha llevado a numerosos grupos internacionales a investigar diversos aspectos relacionados con su biología y su aplicabilidad en clínica. Conocer los mecanismos de señalización de apoptosis y autofagia inducidos por el ligando TRAIL en células normales, así como aquellas vías de señalización que pueden conferir resistencia a la acción de TRAIL en células tumorales es de primordial importancia. Por esto, examinaremos en profundidad la expresión de ciertos inhibidores de caspasas comparando sus niveles en células normales y tumorales. Igualmente, estamos interesados en desvelar los mecanismos intracelulares que controlan la expresión de TRAIL en células epiteliales normales de mama durante la formación del lumen mamario y si estos mecanismos son operativos tras la transformación tumoral. Los resultados que se obtengan de estos trabajos de investigación básica pueden contribuir a elaborar estrategias de tratamientos combinados basados en TRAIL e inhibidores de las vías de señalización implicadas en la resistencia a este ligando.

Factores neurotróficos y enfermedades neurodegenerativas

Por último, la degeneración celular que ocurre en determinadas situaciones patológicas puede también surgir como consecuencia de señalizaciones anómalas. El Amiloide beta (Ab), el componente principal de las placas seniles, ha sido considerado como un agente patogénico importante en el inicio y el progreso de la enfermedad de Alzheimer. El Amiloide beta es un producto natural generado por una doble rotura proteolítica de su proteína precursora. Datos recientes apuntan que el Amiloide beta podría desempeñar un papel fisiológico como factor neurotrófico. Nuestra intención es demostrar que una modificación en el comportamiento del Amiloide beta es responsable de transformar sus efectos fisiológicos en patológicos, alterando la vía de señalización que se activa tras su unión al receptor común de neurotrofinas p75NTR. Podría ocurrir que, durante esta conversión, el Amiloide beta cambiara de comportarse como un agonista a hacerlo como un antagonista del factor de crecimiento nervioso, esto es, podría transformarse de agente neurotrófico en agente neurotóxico.

Departamento de Células Troncales, Reprogramación y Diferenciación Celular

Las células troncales son un grupo de células clonogénicas, pluripotenciales y con capacidad de autorenovación. Las Células Troncales Embrionarias (CTE) son células pluri-potentes derivadas a partir de la masa interna de los blastocistos cuya capacidad de diferenciación y proliferación incluye cualquiera de los tipos celulares que se encuentran en el feto y en el adulto. Estas características son las que les confieren el tremendo potencial de aplicación clínica que tienen estas células, ya que supondrían una fuente ilimitada de células que se podrían trasplantar en los ensayos de terapia celular. Además, han demostrado su utilidad en ensayos de toxicidad de fármacos, como una alternativa al uso de animales de experimentación, en estudios sobre la biología del desarrollo y en investigaciones sobre la biología del cáncer. Por su origen, las células troncales se clasifican en células troncales de origen embrionario (CTE) y células troncales procedentes de tejidos adultos (CTA). En este segundo grupo nos encontramos con un listado largo de tipos celulares cuyas propiedades sugieren aplicaciones clínicas distintas. Se han descrito células troncales procedentes de la médula ósea (mesenquimales, MAPC), del cordón umbilical, del tejido adiposo (mesenquimales), de la placenta y líquido amniótico, de sangre periférica (monocitos), etc.

Los mecanismos de autorenovación han sido explorados con mayor detalle en las células de origen embrionario. Algunos factores transcripcionales tales como Oct4, Sox2 y NANOG tienen papeles importantes en el mantenimiento del estado indiferenciado, y son llamados frecuentemente marcadores de poblaciones indiferenciadas de CTE. En las células troncales embrionarias de ratón el Factor Inhibidor de Leucemia (LIF) es importante en el mantenimiento de este estado. La acción del LIF comprende su interacción con un receptor heteromérico compuesto por la proteína gp130 y el receptor de baja afinidad de LIF (LIFR) para inducir la activación de la ruta de señalización JAK/STAT, ruta que tiene un papel esencial en el mantenimiento del estado indiferenciado. El blanco principal aguas abajo del LIF es el sistema c-myc que es activado por STAT3 y se ha propuesto que su acción está relacionada con la inducción de la expresión de la subunidad reguladora de la telomerasa. El LIF y los componentes del suero también inducen la activación de otras proteínas tales como las Src tirosinas quinasas (SFK) y de las proteínas quinasas activadas por mitógenos, las ERKs. La activación de las SFK es requerida para el mantenimiento de la indiferenciación y proliferación, su inhibición está relacionada con la disminución de las proteínas Oct4, NANOG y de la actividad de fosfatasa alcalina. La contribución de la activación de ERK por el LIF en el mantenimiento de la indiferenciación no es clara.

Por otro lado, el LIF induce la activación del sistema PI3K/Akt. Además, se ha mostrado que participa en la regulación de la indiferenciación y la proliferación en las CTE de ratón. Adicionalmente, ha sido descrito que la sobre-expresión de la forma activa de la Akt es suficiente para mantener el fenotipo de estas células. Recientemente se ha reportado que la inhibición de la GSK-3 β es suficiente para mantener la indiferenciación y proliferación en CTE de ratón y CTE humanas, aspecto que es controvertido ya que se han descrito resultados en que las señales de la ruta de Wnt por sí solas no son suficientes para mantener el estado de indiferenciación y proliferación en las CTE de ratón, aunque sí incrementa el efecto del LIF. Reportes recientes han mostrado que la proteína morfogenética del hueso (BMP) y proteínas relacionadas con ésta son capaces de mantener el estado de indiferenciación y proliferación en CTE de ratón, sin embargo, en CTE humanas promueven la diferenciación. Las CTE humanas son mantenidas y propagadas rutinariamente en estado indiferenciado en cultivos sobre capas nodrizas de fibroblastos inactivados o sobre matrices de proteínas extracelulares con medio condicionado en fibroblastos inactivados. La activación de STAT3 por el LIF y otras citoquinas no son suficientes para mantener la indiferenciación en CTE humanas. Algunos factores de crecimiento, como el bFGF, están comprometidos en este proceso. Altas concentraciones de bFGF exógeno son necesarias para mantener la indiferenciación de CTE humanas en ausencia de medio condicionado y la adición de Noggin, un antagonista de BMP, puede mejorar el efecto del bFGF. La adición de bFGF y Noggin a cultivos de larga duración en sistemas libres de células nodrizas, no tienen buen rendimiento.

La diferenciación in-vitro utiliza estrategias basadas en la biología del desarrollo, fundamentalmente señales intra- y extracelulares. Las señales intracelulares consisten en la activación e inhibición de la expresión de genes reguladores del proceso; entre las señales extracelulares se han propuesto factores de crecimiento, contacto intercelular y componentes de la matriz extracelular.

Por último, la transferencia nuclear ha mostrado que el genoma de las células adultas de mamíferos es susceptible de ser reprogramado. Esta posibilidad abre numerosas estrategias basadas en la búsqueda de los factores responsables de dicha programación.

- **Proyectos Vigentes**

Papel de los Nutrientes en los Procesos de Diferenciación de las Células Pluripotenciales Pancreáticas

Entidad financiadora: Ministerio de Ciencia y Tecnología (SAF2003-03307)



Duración: desde el 15 de diciembre de 2003 hasta el 14 de diciembre de 2006

Investigador responsable: F. Martín

Número de investigadores participantes: 2

Biocomunicación Celular y Redes Moleculares en Enfermedades Metabólicas

Entidad financiadora: Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS)

Duración: desde el 1 de enero de 2006 hasta el 31 de diciembre de 2006

Investigador responsable: F. Martín

Número de investigadores participantes: 3

Obtención de Células Productoras de Insulina a partir de Monocitos Humanos

Entidad financiadora: Ministerio de Educación y Ciencias (MEC)

Duración: desde el 1 de enero de 2007 hasta el 31 de diciembre de 2009

Investigador responsable: F. Martín

Número de investigadores participantes: 3

Red Diabetes y Metabolismo (RD06/0015/0013)

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III

Duración: 2007-2010

Investigador responsable: F. Martín

Número de investigadores participantes: 4

Papel de las Células Endoteliales y sus Factores Angiogénicos en la Obtención de Células productoras de Insulina a partir de Células Troncales Pancreáticas Adultas

Entidad financiadora: Fundación Progreso y Salud

Duración: 2007-2008

Investigador responsable: F. Martín (en colaboración con el Dr. Navarro Antolín. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla).

Número de investigadores participantes: 5

• Líneas de Investigación

Los estudios que desarrolla el Departamento giran en torno a las células troncales embrionarias y células troncales de origen adulto.

Las líneas de trabajo relacionadas con las células troncales embrionarias cubren los siguientes aspectos:

- Diseño de protocolos para la obtención de líneas celulares humanas (CTE) procedentes de embriones portadores de enfermedades monogénicas y de animales transgénicos modelos de patologías o como instrumento para estudios de regeneración en animales.
- Diseño de protocolos para la obtención de líneas celulares humanas (CTE) en condiciones GMP utilizando técnicas de cultivo exentas de monocapa nodriza de fibroblastos y medios exentos xenoproductos.
- Estudio de los procesos moleculares responsables del mantenimiento del grado de indiferenciación, pluripotencialidad y autorenovación de células troncales.
- Desarrollo de protocolos de diferenciación "in vivo" e "in vitro" de las mismas.

En cuanto a las células troncales de origen adulto, las líneas a desarrollar son:

- Búsqueda de tejidos apropiados para la obtención de células troncales.
 - Identificación de marcadores y propiedades que nos permitan identificar estas células.
 - Desarrollo de protocolos de cultivo y de diferenciación de las mismas;
 - Análisis de su capacidad de expansión y plasticidad.
 - Estudio de los procesos de transdiferenciación y, más específicamente, de los procesos de reprogramación que permiten la adquisición de pluripotencialidad en células procedentes de tejidos adultos.
 - Por último, el potencial uso clínico de las células troncales exige que se investigue en los procedimientos y métodos para la producción de células de grado clínico. En este sentido, CABIMER está construyendo una Unidad de Producción Celular que cumpla con los criterios GMP.
- **Interacciones y Sinergias con otros grupos del CABIMER**

El Departamento de Células Troncales puede establecer interacción con:

- El Departamento de Biología Molecular a través de los grupos de Epigenética y Expresión Génica y Replicación y Envejecimiento.
- El Departamento de Señalización Celular mediante colaboraciones con los grupos de Ciclo Celular y Oncogénesis.
- El Departamento de Medicina Regenerativa con colaboraciones con los grupos de Terapia Celular en Diabetes Mellitus y Supervivencia de la Célula Beta.

Departamento de Terapia Celular y Medicina Regenerativa

Durante el desarrollo y la regeneración tisular la proliferación y diferenciación celular, junto con la morfogénesis, dan lugar a estructuras complejas. La regulación de estos procesos es función de la información genética y de las instrucciones epigenéticas. En condiciones fisiológicas las aves y los mamíferos aumentan su masa hasta alcanzar un determinado tamaño en el cual se estabilizan, pero esto no es así en todos los vertebrados; muchos crustáceos y peces continúan aumentando su peso a lo largo de toda su vida. En los mamíferos adultos existen numerosos tejidos que necesitan ser renovados continuamente, como la sangre, la piel y el epitelio intestinal. Otros órganos, como el hígado, pueden regenerarse en determinadas condiciones, por ejemplo, el hígado tras una hepatectomía parcial, o el hueso que está sometido a un proceso de remodelación continua, etc.

Allí donde hay renovación de células y regeneración celular es porque las células pueden dividirse o porque hay células troncales y/o progenitores que van renovando las células que desaparecen. Además de la presencia de células madre y/o progenitores comprometidos con un tejido sometido a un proceso de renovación constante o con cierta capacidad de regeneración o de aumento de masa, en los últimos años se han encontrado células troncales en tejidos que hasta entonces se consideraba que no poseían capacidad de dividirse (sistema nervioso) y, sobre todo, se ha descrito en éstas u otras células una plasticidad hasta entonces desconocida. En ensayos clínicos recientes se ha observado que determinadas composiciones celulares procedentes de médula ósea pueden activar procesos de regeneración de base aún desconocida tras el infarto de miocardio.

- **Proyectos Vigentes**

Regulación de la Apoptosis en Células Secretoras de Insulina

Entidad financiadora: Ministerio de Educación y Ciencia

Duración: 2003-2006

Investigador principal: Francisco Bedoya

Número de investigadores participantes: 5

Red Española de Terapia Celular (CO3/210)

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III

Duración: 2006

Investigador Principal: Bernat Soria

Número de investigadores participantes: 3

Diferenciación, Selección, Caracterización y Trasplante de Células Productoras de Insulina a partir de Células Embrionarias Humanas

Entidad Financiadora: Proyecto de Excelencia de la Consejería de Innovación Ciencia y Empresa (Junta de Andalucía)

Duración: 2006-2010

Investigador principal: Bernat Soria

Número de investigadores participantes: 4

Red de Terapia Celular (RD06/0010/0025)

Entidad financiadora: Instituto de Salud Carlos III

Duración: 2007-2010

Investigador responsable: Bernat Soria

Número de investigadores participantes: 9

Derivación de Líneas de Células Madre Embrionarias Humanas de Preembriones Afectos de Enfermedades Genéticas obtenidos tras Diagnóstico Genético Preimplantatorio

Entidad financiadora: Fundación Progreso y Salud

Duración: 2007-2008

Investigador responsable: A. Hmadcha (en colaboración con G. Antiñolo. Hospital Virgen del Rocío. Sevilla)

Número de investigadores participantes: 5

- **Líneas de Investigación**

Terapia celular de la Diabetes Mellitus y sus complicaciones

Los estudios de tipo prospectivo y epidemiológico (DCCT, UKPDS) han demostrado que el control intensivo de la glucemia en pacientes diabéticos adultos disminuye de forma significativa la aparición de complicaciones microvasculares (retinopatía, nefropatía, neuropatía). Sin embargo, la terapia intensiva con insulina aumenta el riesgo de sufrir hipoglucemias. El tratamiento intensivo intenta reproducir el control fisiológico (permanente, preciso y regulado) de la glucemia sanguínea; para ello, el paciente debe someterse a un control permanente de la glucemia y a la administración intensiva (4-6 veces día) de insulina. La tarea que el páncreas endocrino realiza de forma continua es sustituida por la conducta de un paciente entrenado y motivado. Los distintos modelos de "bombas de insulina" representan una aproximación similar. Sin embargo, una terapia que conduzca a que no se pierda o se recupere la

homeostasis de la glucosa en la diabetes mellitus tipo 1 sólo puede venir de: la protección de destrucción de la población celular beta mediante la predicción y prevención de su desaparición, la reposición de la población celular beta mediante la terapia celular sustitutiva o la regeneración pancreática. Hasta el momento, los estudios de predicción y prevención no han dado resultados positivos.

En trabajos previos de colaboración de los miembros del grupo, hemos mostrado que las células madre embrionarias (ES) adquieren in vitro un fenotipo pancreático endocrino y/o acinar. También hemos identificado varios factores solubles que permiten iniciar la diferenciación dirigida al incrementar ambos procesos. Tras selección genética utilizando constructos quiméricos en los que el promotor del gen de la insulina o del factor de transcripción NKx6.1 está fusionado al gen de resistencia a la neomicina y el de X-Gal. Por otra parte, hemos demostrado que la diferenciación hacia ectodermo permite obtener células que producen insulina, pero carecen de otros rasgos del fenotipo pancreático.

Objetivos:

- Obtención de cultivos libres de contaminantes de origen no humano.
- Obtención de líneas celulares comprometidas con la diferenciación hacia endodermo.
- Obtención de Endodermo Definitivo, Progenitores Pancreáticos y Células Beta Pancreáticas.
- Selección, Caracterización y Trasplante de Linajes Celulares.
- Reprogramación de células madre utilizando transportadores del tipo Chariot y la aplicación de medio citosólico de células productoras de insulina tratados con RNAasa y DNAasa.
- Estudio molecular de las células generadas mediante microarrays: identificación de genes implicados en la diferenciación endocrina.
- Rescate funcional utilizando las células generadas en modelos animales de diabetes.
- Estudio de la regeneración pancreática utilizando modelos de regeneración exentos de procesos inflamatorios.
- Estudio de la inestabilidad del genoma, organización de la cromatina y modificaciones epigenéticas durante los procesos de reprogramación y diferenciación.
- Obtención de cardiomiocitos humanos a partir de células troncales embrionarias.
- Obtención de precursores endoteliales a partir de grasa humana.
- Obtención y ensayo clínico y experimental de composiciones celulares útiles en el tratamiento de las complicaciones cardiovasculares de la diabetes mellitus (insuficiencia cardíaca, pie diabético).
- Inducción de tolerancia en terapia celular.

Supervivencia de los Islotes de Langerhans

La evidencia acumulada por un número considerable de artículos experimentales y clínicos indica que un descenso relativo o absoluto de la masa de células β pancreáticas es el común denominador de la diabetes tipo 1 y tipo 2. Las células β poseen una capacidad adaptativa apreciable, que le permite hacer frente a situaciones de demanda funcional incrementada (embarazo, obesidad) o a situaciones de escasa demanda (como puede ser en el ayuno) modulando su respuesta secretora y modificando su masa celular. Esta plasticidad del sistema secretor de insulina y de la masa celular se ve comprometida en las diversas formas de diabetes en el ser humano. Una estrategia terapéutica eficiente debería combinar el control de los factores causales de la enfermedad junto con la protección de la masa de célula β residual y la atenuación de los factores agravantes (control glucémico, control del sobrepeso, etc.).

En la actualidad, se estudia el papel de ciertos factores de crecimiento y hormonas gastrointestinales sobre la regulación de la masa de células β , tanto en animales transgénicos con mutaciones en receptores para algunos de estos factores como en estudios in vitro en islotes aislados. Los resultados que hemos generado en nuestro laboratorio a lo largo de los últimos 10 años han mostrado una doble función del Óxido Nítrico (NO) como protector a bajas concentraciones y como inductor de la apoptosis a altas concentraciones en la homeostasis de la célula β pancreática. En ambas situaciones, la regulación de la expresión de genes proapoptóticos y antiapoptóticos es antagónica.

Con los antecedentes anteriormente expuestos, pensamos que es interesante estudiar el papel del sistema del NO en la señalización protectora de factores de crecimiento del tipo de la insulina, IGF-1, GLP-1, y su agonista la exendina, etc. Para ello nos fundamentamos en tres ideas: 1) Se ha descrito en la literatura científica que la insulina estimula la producción de NO por las células endoteliales y se ha propuesto que la resistencia a esta hormona puede estar implicada en las alteraciones vasculares que tienen lugar en la diabetes. 2) La célula β del páncreas tiene receptores para la insulina y responde al IGF-1, así como al GLP-1 y a su agonista la exendina. 3) El islote pancreático es un micro órgano muy vascularizado y su flujo sanguíneo está controlado por nutrientes (glucosa) y por factores hormonales del tipo de la angiotensina II.

Las líneas de investigación que se desarrollan en el Departamento son las siguientes:

- Caracterización del efecto protector de factores extracelulares como la insulina, el IGF-1, el glucagón, el GLP-1, etc. frente a la apoptosis de la célula beta pancreática.
- Papel del NO como mediador de la señalización protectora en la célula beta.
- Identificación de la señalización intracelular activada por el NO.
- Caracterización de la acción del NO en el control de los procesos de autorrenovación y diferenciación de las células troncales.
- **Interacciones y Sinergias con otros grupos del CABIMER**

Con el Departamento de Biología Molecular

- Andrés Aguilera: Inestabilidad Genética.
- José Carlos Reyes: Epigenética y Expresión Génica.
- Félix Prado Velasco: Cromatina y Reparación de ADN.

Con el Departamento de Señalización Celular

- Abelardo López Rivas: Señalización en la Muerte Celular.
- José Antonio Pintor Toro: Ciclo Celular.
- Alfredo Rodríguez Tébar: Factores Neurotróficos y Enfermedades Neurodegenerativas.

Con el Departamento de Células Troncales

- Franz Martín Bermudo: Células Troncales, Diferenciación y Reprogramación Celular.

Publicaciones, Seminarios y Otras Actividades

Publicaciones

Revistas científicas nacionales especializadas (no divulgativas) e internacionales de prestigio

- Baharvand, H.; Roche, E. y Soria, B. "Sources of β -Cells for Cell Therapy in Diabetes". Revista: Immun. Endoc. Metab. Agents in Med Chem. Clave: R. Volumen: 6. Páginas, inicial: 219-final: 231. 2006.
- Segura, J.; Gil, A.; Carrera, G. y Soria, B. "Software for Simulating Calcium-triggered Exocytotic Processes" (C-00082-2006.R1). Revista: Amer J Physiol. In press (Epub ahead of print). Clave: R. 2006.
- Enseñat-Wasser, R.; Santana, A.; Vicente-Salar, N.; Cigudosa, J. C.; Roche, E.; Soria, B.; Reig, J. A. "Isolation and Characterization of Residual undifferentiated Mouse Embryonic Stem Cells from Embryoid Body Cultures by Fluorescence Tracking". Revista: In vitro Cell. Dev. Biol. Clave: R. Volumen: 42. Páginas, inicial: 115-final: 123. 2006. Este trabajo fue seleccionado por el Comité Editorial como "Highlight Paper of the Year".
- Wellinger, R.; Prado, F. y Aguilera, A. "Replication Fork Progression is Impaired by Transcription in Yeast Cells Lacking a Functional THO Complex". Revista: Mol. Cell. Biol. Clave: A. Volumen: 26. Páginas, inicial: 3.327-final: 3.334. USA. 2006.
- Jimeno, S.; Luna, R. y Aguilera, A. "Tho1, a Novel HnRNP, and Sub2 provide Alternative Pathways for mRNP Biogenesis in Yeast THO Mutants". Revista: Mol. Cell. Biol. Clave: A. Volumen: 26. Páginas, inicial: 4.387-final: 4.398. USA. 2006.
- Huertas, P.; Gracia-Rubio, M.; Wellinger, R.; Luna, R. y Aguilera, A. "A hpr1 Point Mutation that Impairs Transcription and mRNP Biogenesis without Increasing Recombination". Revista: Mol. Cell. Biol. Clave: A. Volumen: 26. Páginas, inicial: 7.451-final: 7.465. USA. 2006.
- Cortés-Ledesma, F. y Aguilera, A. "Double-strand Breaks Arising by Replication through a Nick are Repaired by Cohesin-dependent Sister-chromatid Exchange". Revista: EMBO Rep. Clave: A. Volumen: 7. Páginas, inicial: 919-final: 926. Reino Unido. 2006.
- De Piccoli, G.; Cortés-Ledesma, F.; Ira, G.; Torres-Rosell, J.; Hule, S.; Farmer, S.; Hwang, J. Y.; Machin, F.; Ceschia, A.; Leitao, B.; Bressan, D.; Dotiwala, F.; Papusha, A.; Zhao, X.; Myung, K.; Herber, J. E.; Aguilera, A. y Aragón, L. "Smc5-Smc6 mediate DNA Double-Strand-Break Repair by Promoting Sister-Chromatid Recombination". Revista: Nat Cell Biol. Clave: A. Volumen: 8. Páginas, inicial: 1.032-final: 1.034. Reino Unido. 2006.
- Friedberg, E. C.; Aguilera, A.; Gellert, M.; Hanawalt, P. C.; Hays, J. B.; Lehmann, A. R.; Lindahl, T. y Lowndes, N. "DNA Repair: From Molecular Mechanism to Human". Revista: DNA Repair. Clave: A. Volumen: 5. Páginas, inicial: 986-final: 996. Ámsterdam. 2006.
- García Domínguez, M.; Gilardi-Hebenstreit, P. and Charnay, P. "PIAS β Acts as an Activator of Hoxb1 and is Antagonized by Krox20 during Hindbrain Segmentation". Revista: EMBO. Clave: A. Volumen: 25(11). Páginas, inicial: 2.432-final: 2.442. 2006.
- Reyes, J. C. "Chromatin Remodelers that Control Plant Development". Revista: Current Opinion in Plant Biology. Clave: A. Volumen: 9. Páginas, inicial: 21- final: 27. 2006.
- Hurtado, L.; Farrona, S. and Reyes, J. C. "The Putative SWI/SNF Complex Subunit BRAHMA Activates Flower Homeotic Genes in Arabidopsis Thaliana". Revista: Plant Molecular Biology. Clave: A. Volumen: 62. Páginas, inicial: 291-final: 304. 2006.
- Calcabrini, A.; García-Martínez, J. M.; González, L.; Julián Tendero, M.; Agulló Ortuño, M. T.; Crateri, P.; López-Rivas, A.; Arancia, G.; González-Porqué, P. and Martín-Pérez, J. "Inhibition of

- Proliferation and Induction of Apoptosis in Human Breast Cancer Cells by Lauryl Gallate". Revista: Carcinogenesis. Clave: A. Volumen: 27. Páginas, inicial: 1.699-final: 1.711. 2006.
- Palacios, C.; Yerbes, R. and López-Rivas, A. "Flavopiridol induces cFLIP Degradation by the Proteasome and Promotes TRAIL-induced Early Signaling and Apoptosis in Breast Tumor Cells". Revista: Cancer Research. Clave: A. Volumen: 66. Páginas, inicial: 8.858-final: 8.869. 2006.
 - Ortiz-Ferrón, G.; W. Tait, S.; Robledo, G.; de Vries, E.; Borst, J. y López-Rivas, A. "The Mitogen-activated Protein Kinase Pathway can Inhibit TRAIL-induced Apoptosis by Prohibiting Association of Truncated Bid with Mitochondria". Revista: Cell Death and Differentiation. Clave: A. Volumen: 13. Páginas, inicial: 1.857-final: 1.865. 2006.
 - Dana, M. M.; Cubero, B. and Pintor-Toro, J. A. "Transgenic Tobacco Plants Overexpressing Chitinases of Fungal Origin Show Enhanced Resistance to Biotic and Abiotic Stress Agents". Revista: Plant Physiol. Clave: A. Volumen: 142. Páginas, inicial: 722-final: 730. 2006.
 - Sáez, C.; Martínez-Brocca, M. A.; Castilla, C.; Soto, A.; Navarro, E.; Tortolero, M.; Pintor-Toro, J. A. y Japón, M. A. "Prognostic Significance of hPTTG Immunohistochemical Expression in Differentiated Thyroid Cancer". Revista: J Clin Endocrinol Metab. Clave: A. Volumen: 91. Páginas, inicial: 1.404-final: 1.409. 2006.
 - Singh, B.; Henneberger, C.; Betances, D.; Arevalo M. A.; Rodríguez-Tebar, A.; Meier, J. C. y Grantyn, R. "Altered Balance of Glutamatergic/GABAergic synaptic Input and Associated Changes in Dendrite Morphology after BDNF Expression in BDNF-deficient Hippocampal Neurons". Revista: J Neurosci. Clave: A. Volumen: 26 (27). Páginas, inicial: 7.189-final: 7.200. Editorial: PMID: 16822976 (PubMed-indexed for MEDLINE). 2006.
 - Arévalo, M. A. y Rodríguez-Tebar, A. "Activation of Casein Kinase II and Inhibition of Phosphatase and Tensin Homologue Deleted on Chromosome 10 Phosphatase by Nerve Growth Factor/p75NTR Inhibit Glycogen Synthase Kinase-3beta and Stimulate Axonal Growth". Revista: Mol Biol Cell. Clave: A. Volumen: 17(8). Páginas, inicial: 3.369-final: 3.377. Editorial: PMID: 16723502 (PubMed-indexed for MEDLINE). 2006.
 - Salama-Cohen, P.; Arévalo, M. A.; Grantyn, R. y Rodríguez-Tebar, A. "Notch and NGF/P75NTR Control Dendrite Morphology and the Balance of Excitatory/Inhibitory Synaptic input to Hippocampal Neurons through Neurogenin 3". Revista: J Neurochem. Clave: A. Volumen: 97(5). Páginas, inicial: 1.269-final: 1.278. Editorial: PMID: 16539652 (PubMed-indexed for MEDLINE). 2006.

Seminarios impartidos

Fecha	Seminario	Ponente	Entidad
19/07/07	Análisis Funcional de Dominios de Expresión en Genomas de Mamíferos	Dr. Lluís Montoliú	Centro Nacional de Biotecnología. CSIC. Madrid.
05/07/07	Silencing of Genome by Transcriptional and Posttranscriptional Mechanisms	Dr. Ramón Shiekhattar	Centro de Regulació Genómica. Barcelona.
14/06/07	Cell Shape and Cell Division	Dr. Michel Bornens	CNRS. Institute Curie. Paris.
06/06/07	Synaptic Vesicle Trafficking and Neurodegeneration in Transgenic Mice	Dr. Rafael Fernández Chacón	Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla.
31/05/07	Mouse Neuromuscular Mutants: Roduction, Analysis and Molecularmechanism	Dr. Gonzalo Blanco	MRC Mammalian Genetics Unit. Harwell. Gran Bretaña.
24/05/07	Role of Smad, Forkhead and Paired-box Pathways	Dra. Pilar Santisteban	Instituto de Investigaciones Biomédicas (CSIC)
10/05/07	Caveolina-1 en Migración Celular	Dr. Miguel Ángel del Pozo	CNIC
04/05/07	The Therapeutic Potential of Neural Stem Cells in CNS Inflammatory Demyelination	Dr. Stefano Pluchino	Department Neuroscience. San Raffaele Hospital. Milan
03/05/07	Utilización de las Células Progenitoras Multipotentes Adultas (MAPCs)	Dr. Miguel Barajas	Clínica Universitaria de Navarra
13/04/07	AID Induced Chromosome Translocations, the Dark Side of Antibody Diversification	Dra. Almudena Ramiro	CNIO
12/04/07	Endocytic Trafficking during Morfogenetic Signaling	Dr. Marcos González Gaitán	Department Molecular Cell Biology and Genetics Max Planck Institute
12/04/07	Unveiling Genes Responsible for Reprogramming during Preimplantation Development	Dr. José Cibelli	Michigan University
15/03/07	Genome maintenance in the Context of Chromatin	Dr. Óscar Fernández Capelillo	CNIO
18/01/07	The Function of Hox Genes:What's New?	Dr. Moisés Mallo	Instituto Gubelkian de Ciencia. Portugal.
11/01/07	Jornadas días 11 y 12: Bioengineering of Pancreatic Islets	Varios Ponentes	
11/01/07	The Competitive Nature of Cell	Dr. Eduardo Moreno	CNIO
19/12/06	Blood-Derived Progenitor Cells for Tissue Vascularization	Dr. Juan Melero Martín	Vascular Biology Departmen of Surgery Children's Hospital Boston Harvard Medical School
24/11/06	Embryonic Stem Cells, Cancer and Epigenetics	Varios Ponentes	
26/10/06	Protección de los Resultados de la Investigación Biomédica	Varios Ponentes	

02/10/06	Reprogramación de Células Somáticas: Estrategias Actuales y Futuras	Dr. José Cibelli	Michigan University Dep. of Animal Science
28/09/06	La Biblioteca Virtual del CSIC: El Portal de Acceso a los Recursos	Dr. Gaspar Olmedo	Unidad de Coordinación de Bibliotecas. Delegación del CSIC en Andalucía
21/09/06	In Vivo Targeting of C-type Lectin Receptors on Dendritic Cells	Dr. Juan Jesús García Vallejo	Vrije Universiteit Medical Center. Department of Molecular cell Biology and immunology
14/09/06	El Papel de las Proteínas Polycomb	Dr. Jon Schoorlemmer	CSIC. Centro de Investigaciones Biológica. Departamento de Biología Celular y del Desarrollo
08/09/06	RUNX3 en Neoplasias Humanas: un Modelo de Investigación Traslacional	Dr. Manuel Salto-Téllez	Associate Professor in Pathology. Senior Research Scientist Oncology Research Institute National. University of Singapore
06/09/06	Transgenic Model of Insulin Cell Ablation and Regeneration	Dr. Pedro Luis Herrera	Department of Genetic Medicine and Development. University of Generva Medical School

Actividades de Formación de Postgrado

- Programas de Doctorado
Cursos: 4
Créditos: 10
- Máster/Experto/Otros
Cursos: 7
Créditos: 29,5
- Programas Internacionales
Cursos: 2
Créditos: 2
- N.º Doctorandos
Diploma de Estudios Avanzados: 17
Lectura de Tesis Doctorales: 6

Internacionalización de Actividades

VISITANTES EXTRANJEROS AL CABIMER	
• Investigadores / Profesores	2
• Postdoctorados	4
• Doctorandos	3
• Técnicos	1

ESTANCIAS CORTAS	2
PROFESORES VISITANTES	2
ESTANCIAS CORTAS DE INVESTIGADORES DEL CABIMER EN EL EXTRANJERO	3
ORGANIZACIÓN SEMINARIOS	
• En CABIMER	3
• En otras localizaciones	1
SEMINARIOS INVESTIGADORES DEL CABIMER EN EL EXTRANJERO	5
PERTENENCIA COUNCIL BOARDS	
• De Sociedad Científica Internacional	2
• De Organización Científica Internacional	2

Coordinación de Gestión de la Ciencia

COORDINACION DE PROGRAMAS	
• Nacionales	2
• Internacionales	1
COORDINADOR / ADJUNTO	
• Carlos III	1
• ANEP	1
• Otros	1
EVALUADOR DE PROYECTOS	
• N.º de Proyectos	43
EDITOR	
• Libros	1
• Revistas	2
EVALUADOR	
• Artículos	60