

CENTRO ANDALUZ DE BIOLOGÍA MOLECULAR Y MEDICINA REGENERATIVA (CABIMER)

Composición 2008

	Hombres	Mujeres	Total
Investigadores Principales	13	1	14
Personal Investigador	10	21	31
Técnicos de Laboratorio	7	28	35
Personal Investigador en Formación	10	22	32
Personal Técnico en Formación	6	7	13
Personal de Administración	3	8	11
Total	47	83	136

	CSIC	FPS	UPO	US
Investigadores Principales	8	1	3	4
Personal Investigador	23	9	7	4
Técnicos de Laboratorio	5	19	4	3
Personal Investigador en Formación	4	8	3	8
Personal Técnico en Formación	5	1	3	-
Personal de Administración	-	13	-	1
Total	45	51	20	20

Áreas de Investigación

La actividad investigadora del Centro se desarrolla 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 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.

La estructura es la siguiente:

- Chairman: Andrés Aguilera (Profesor de Genética, Univ. Sevilla)
MB1: PI: Andrés Aguilera (Profesor).
Nombre: Inestabilidad genómica y mRNP biogenesis
Personal: 22 investigadores, 1 profesor visitante y 1 secretaria de dirección
- MB2: PI: José Carlos Reyes (Investigador Principal, CSIC).
Name: Epigenética
Personal: 7 investigadores
- MB3: PI: Félix Prado (Investigador Principal, CSIC).
Name: Cromatina y reparación de DNA
Personal: 4 investigadores
- MB4: PI: Ralf Wellinger (Profesor-contratado, Univ. Sevilla).
Name: Mitochondrial plasticity and replication
Personal: 4 investigadores
- MB5: PI: Fernando Monje-Casas ('Ramón y Cajal' Investigador, Univ. Sevilla).
Nombre: Chromosomal segregation
Personal: 1 investigador

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 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.

Líneas de Investigación

La división y proliferación celular son procesos básicos en diferenciación y desarrollo están ligados y están 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 de cáncer, 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 protéicos 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*.

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.

Está constituido por los siguientes grupos:

- Grupo 1: Señalización en la Muerte Celular: Abelardo López Rivas (IP, Profesor de Investigación CSIC).
- Grupo 2: Ciclo Celular y Oncogénesis: José Antonio Pintor Toro (IP, Investigador Científico CSIC).
- Grupo 3: Mecanismos de Organización Intracelular: Rosa M.^a Ríos (IP, Científico Titular del CSIC).
- Grupo 4: Factores Neurotróficos y Enfermedades Neurodegenerativas: Alfredo Rodríguez Tebar (IP, Investigador Científico CSIC).

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 objetivos el estudio de varias de estas 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 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 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.

Actualmente está constituido por un grupo, estando prevista la incorporación de nuevos equipos próximamente:

- Grupo 1: Reprogramación y Diferenciación de Células Troncales Adultas: Francisco Martín Bermudo (IP, Profesor Titular de Universidad, Universidad Pablo de Olavide).

Líneas de Investigación

Los estudios que desarrolla el Departamento giran en torno al doble origen de estas células. Las líneas de trabajos 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 en CABIMER se ha construido y puesto en funcionamiento una Unidad de Producción Celular que cumple con los criterios GMP.

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 estas 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.

Este departamento, liderado por el Dr. Shomi Bhattacharya, asume la aplicación de los resultados en terapia celular y medicina regenerativa, así como la transferencia de estos conocimientos hacia el sistema sanitario, con el objetivo de mejorar la salud de los ciudadanos. La terapia celular tiene como objetivo la sustitución de las células dañadas por otras nuevas. En este sentido, cobran una gran importancia las células madre (embrionarias, adultas y fetales) y su capacidad para desarrollarse en células de cualquier tipo de tejido. Además, las células madre poseen otras aplicaciones terapéuticas, como el ensayo toxicológico y farmacológico y el estudio de las primeras fases en la aparición de determinadas enfermedades genéticas.

Este departamento plantea inicialmente líneas de investigación en ámbitos como la regeneración pancreática y terapia celular contra la Diabetes Mellitus, la inmunología e inducción a la tolerancia, en oncología y patología molecular, en ingeniería tisular y biomateriales y en trasplantes y regeneración en vertebrados.

Está constituido por los siguientes grupos:

- Grupo 1: Terapia Celular de la Diabetes Mellitus y sus Complicaciones: Bernat Soria Escoms (IP, Catedrático Extraordinario de Medicina Regenerativa, Universidad Pablo de Olavide).
- Grupo 2: Supervivencia de Islotes Pancreáticos: Francisco J. Bedoya Bergua (IP, Catedrático de Universidad, Universidad Pablo de Olavide).
- Grupo 3: Regeneración Celular: Manuel Álvarez Dolado (IP, Científico Titular del CSIC).
- Grupo 4: Terapias Avanzadas en Neuroprotección y Regulación Inmune (IP, científico titular David Pozo).
- Grupo 5: Laboratorio de Enfermedades Oftalmológicas Hereditarias (IP, científico titular Shomi Bhattacharya).

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 esta 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 este grupo 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.

Producción Científica

Publicaciones

Revistas científicas internacionales

A novel class of mRNA-containing cytoplasmic granules are produced in response to UV-irradiation.

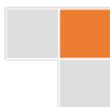
Gaillard H, Aguilera A.

Mol Biol Cell. 2008 Nov;19(11):4980-92. Epub 2008 Sep 3.

A reduction in RNA polymerase II initiation rate suppresses hyper-recombination and transcription-elongation impairment of THO mutants.

Jimeno S, García-Rubio M, Luna R, Aguilera A.

Mol Genet Genomics. 2008 Oct;280(4):327-36. Epub 2008 Aug 6.



The PHD domain of plant PIAS proteins mediates sumoylation of bromodomain GTE proteins.

García-Domínguez M, March-Díaz R, Reyes JC.

J Biol Chem. 2008 Aug 1;283(31):21469-77. Epub 2008 May 23.

Cell therapy for diabetes mellitus: an opportunity for stem cells?

Soria B, Bedoya FJ, Tejedó JR, Hmadcha A, Ruiz-Salmerón R, Lim S, Martín F.

Cells Tissues Organs. 2008;188(1-2):70-7. Epub 2008 Feb 29.

Genome instability: a mechanistic view of its causes and consequences.

Aguilera A, Gómez-González B.

Nat Rev Genet. 2008 Mar; 9(3):204-17. Review.

Nitric oxide mediates the survival action of IGF-1 and insulin in pancreatic beta cells.

Cahuana GM, Tejedó JR, Hmadcha A, Ramírez R, Cuesta AL, Soria B, Martín F, Bedoya FJ.

Cell Signal. 2008 Feb;20(2):301-10. Epub 2007 Oct 12.

Different physiological relevance of yeast THO/TREX subunits in gene expression and genome integrity.

García-Rubio M, Chávez S, Huertas P, Tous C, Jimeno S, Luna R, Aguilera A.

Mol Genet Genomics. 2008 Feb;279(2):123-32. Epub 2007 Oct 25.

Different genetic requirements for repair of replication-born double-strand breaks by sister-chromatid recombination and break-induced replication.

Cortés-Ledesma F, Tous C, Aguilera A.

Nucleic Acids Res. 2007;35(19):6560-70. Epub 2007 Sep 28.

Cell fusion contributes to pericyte formation after stroke

Piquer-Gil, M, García-Verdugo, JM, Zipancic, I, Sánchez, MJ, Alvarez-Dolado M

J Cereb. Blood Flow & Met. 29(3):480-5.

Proliferative potential after DNA damage and non-homologous end joining are affected by loss of securin"

Juan A. Bernal, Marta Roche, Cristina Méndez-Vidal, Agueda Espina, María Tortolero and José A. Pintor-Toro

Cell Death and Differentiation. 2008 Jan;15(1):202-12. Epub 2007 Oct 26

Disease beyond the genomic era: nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy based metabolomics

Barba, R. Fernández-Montesinos, D. García-Dorado, D. Pozo

Journal of Cellular and Molecular Medicine 12, 1477-1485. 2008.

HDAC and Hsp90 inhibitors down-regulate PTTG1/securin but do not induce aneuploidy.

Hernández A, López-Lluch G, Navas P, Pintor-Toro JA.

Genes Chromosomes Cancer. 2009 Feb;48(2):194-201.

The THP1-SAC3-SUS1-CDC31 complex works in transcription elongation-mRNA export preventing RNA-mediated genome instability.

González-Aguilera C, Tous C, Gómez-González B, Huertas P, Luna R, Aguilera A.

Mol Biol Cell. 2008 Oct;19(10):4310-8. Epub 2008 Jul 30.

Statins activate a mitochondria-operated pathway of apoptosis in breast tumor cells by a mechanism regulated by ErbB2 and dependent on the prenylation of proteins.

Herrero-Martin G, López-Rivas A.

FEBS Lett. 2008 Jul 23;582(17):2589-94. Epub 2008 Jun 26.

The PHD domain of plant PIAS proteins mediates sumoylation of bromodomain GTE proteins.

García-Domínguez M, March-Díaz R, Reyes JC.

J Biol Chem. 2008 Aug 1;283(31):21469-77. Epub 2008 May 23.

Roscovitine sensitizes breast cancer cells to TRAIL-induced apoptosis through a pleiotropic mechanism.

Ortiz-Ferrón G, Yerbes R, Eramo A, López-Pérez AI, De María R, López-Rivas A.

Cell Res. 2008 Jun;18(6):664-76.

Biogenesis of mRNPs: integrating different processes in the eukaryotic nucleus.

Luna R, Gaillard H, González-Aguilera C, Aguilera A.

Chromosoma. 2008 Aug;117(4):319-31. Epub 2008 Apr 22. Review.

Protección de Resultados y Transferencia de Conocimiento

Las siguientes patentes de invención protegen resultados de I+D generados en el CABIMER, y se encuentran disponibles para licencia. Algunos ya han sido facilitados, bajo acuerdo de confidencialidad, a empresas nacionales del sector de la terapia celular para su evaluación tecnológica.

Patents

1. INVENTORS (p.o. signature): José A. Pintor Toro, Miguel Angel Moreno Mateos, Iván Valle Rosado
TITLE: METHODS AND KITS FOR THE PREPARATION OF siRNA gene specific to a transcriptome
CONVERGENT TRANSCRIPTION BY APPLICATION No.: P200703258



Priority country: ES

HOLDER ENTITY: NewBiotechnic SA. CSIC

COUNTRIES TO WHICH HAS BEEN EXTENDED AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, BR, HR, HU, IE, IS, IT, LI, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

COMPANY / S THAT IS / N operator: NewBiotechnic SA

2. INVENTORS (p.o. signature): D. Pozo, R. Fdez-Montesinos, J.A. Mejías Romero, P. Castillo, P.

Zardenko, p.p. García-Luna, C. Caro, M. Delgado, E. González-Rey

TITLE: Metal Nanoparticles funcionalizadas with VIP and neuropeptide preparation procedure

APPLICATION No.: P200800451. 31 January 2008

PRIORITY COUNTRY: Spain

3. INVENTORS (p.o. signature): D. Pozo, R. Fdez-Montesinos, J.L. Herrera, J.A. Mejías Romero, P.

Castillo, P. Zardenko, p.p. García-Luna

TITLE: Use of nanoparticles of noble metals as immunomodulatory composition and immunomodulatory

APPLICATION No.: P200802831. 2 October 2008

Patentes

1. INVENTORES (p.o. de firma): José A. Pintor Toro, Miguel Angel Moreno Mateos, Iván Valle Rosado

TÍTULO: MÉTODOS Y KITS PARA LA PREPARACIÓN DE GENOTECAS DE siRNAs ESPECÍFICAS DE UN TRANSCRIPTOMA MEDIANTE TRANSCRIPCIÓN CONVERGENTE

N.º DE SOLICITUD: P200703258

PAÍS DE PRIORIDAD: ES

ENTIDAD TITULAR: NewBiotechnic SA. CSIC

PAISES A LOS QUE SE HA EXTENDIDO: AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, BR, HR, HU, IE, IS, IT, LI, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR

EMPRESA/S QUE LA ESTAN EXPLOTANDO: NewBiotechnic SA

2. INVENTORES (p.o. de firma): D. Pozo, R. Fdez-Monstesinos, J.A. Mejías Romero, P. Castillo, P.

Zardenko, P.P. García-Luna, C. Caro, M. Delgado, E. Gonzalez-Rey

TÍTULO: Nanopartículas metálicas funcionalizadas con el neuropéptido VIP y procedimiento de preparación

N.º DE SOLICITUD: P200800451. 31 de enero de 2008

PAÍS DE PRIORIDAD: España

3. INVENTORES (p.o. de firma): D. Pozo, R. Fdez-Monstesinos, J.L. Herrera, JA Mejías Romero, P.

Castillo, P. Zardenko, P.P. García-Luna

TÍTULO: Utilización de nanopartículas de metales nobles como inmunomoduladores y composición inmunomoduladora

N.º DE SOLICITUD: P200802831. 2 de octubre de 2008

Seminarios Científicos

January 2008

- 11.01.08 Dr. Francisco J. Iborra
The Weatherall Institute of Molecular Medicine Medical Research Council.
“Extrinsic noise in mammalian gene expression”
- 18.01.08 Dr. Peter Askjaer
Centro Andaluz de Biología de Desarrollo CSIC-Universidad Pablo Olavide (Sevilla)
“Peripheral but yet essential: identification of novel nuclear envelope proteins”
- 25.01.08 Dr. Alberto Pascual
Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS) Hospital Universitario Virgen del Rocío.
“Pronounced Catecholaminergic Neuronal Death alter Conditional Deletion Of. GDNF in Adult Brain”.

February

- 01.02.08 Dr. Juan Valcárcel
Centre de Regulació Genómica, Barcelona
“Cellular programs of alternative splicing regulation”
- 08.02.08 Dr. Alberto Ferrús
Instituto Cajal, CSIC Madrid
“Transcriptional cofactors and locus specificity: the case of Drosophila ADA3”
- 15.02.08 Dr. F. Javier Olivier
Instituto de Parasitología y Biomedicina. CSIC, Granada
“PARP-1: A novel target of inflammation and carcinogenesis”
- 22.02.08.1 Dr. Alberto Muñoz
Instituto de Investigaciones Biomédicas CSIC, Madrid
“Vitamin D, Snail 1, Wnt and colon Cancer”
- 27.02.08 Dra. María Luz Montesinos
Facultad de Medicina Universidad de Sevilla
“Transport and local Translation Of. dendritic mRNAs in neuronal pathologies”

March

- 05.03.08 Prof. Richard L. Karpel
University of Maryland Baltimore Country (UMBC), USA
“DNA-protein Interactions from the New World: A tale of elephants and snakes”.
- 07.03.08 Dr. Thomas Helleday
Institute of Cancer Studies medical School University of Sheffield, UK”
“Transcription-associated recombination in mammalian cells”
- 14.03.08 Dr. Arturo Calzada
Centro de Investigación del Cáncer Universidad de Salamanca-CSIC
“CDK regulation and genomic stability in eukaryotic cells”.



- 26.03.08 Dra. Anabel Rojas
Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER) Sevilla
"Transcriptional Control of Mesoderm and Endoderm Development by GATA4"
- 28.03.08 Dr. Stefan Taubert
Department of Cellular&Molecular Pharmacology University of California, San Francisco.

April

- 02.04.08 Dr. Juan José Sanz Ezquerro
Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Madrid
"Vertebrate limb development: from tip to toe and beyond"
- 04.04.08 Dr. Miguel Vidal
Centro de Investigaciones Biológicas CSIC-Madrid
"Polycomb complexes in regulation Of. cell fate and cell proliferation"
- 22.04.08 Dr. Francisco Javier Quintana
Centre for Neurologic Diseases Harvard Medical School. Boston USA
"Understanding multiple esclerosis pathological autoimmunity by antigenmicroarray informatics: New targetfor therapeutic immunomodulation"
- 25.04.08 Dr. Juan Miguel Redondo
Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Madrid
"pro-angiogenic signalling by prostanoids in vascular endothelium: Role Of. Cycloigeneases and TGF Beta"
- 30.04.08 Dra Hannah Klein
New York University Medical Centre New York, USA
"Rad5l-overexpression effects on geneticinstability".

May

- 09.05.08 Dr. Luis M. García-Segura
Instituto Cajal, CSIC Madrid
"Not only for sex: estradiol as a neuroprotective factor"
- 16.05.08 Dr. Juan Valcárcel
Centre de Regulació Genómica, Barcelona
"Cellular Programs of alternative splicing regulation".
- 28.05.08 Dra. Cintian Roodveldt
Department of Chemistry, University of Cambridge, UK
"Chaperoning an amyloid-like protein: hsp70/a-synuclein molecular interactions and antiaggregation mechanism".

June

06.06.08 Dr Vivek Malhotra
Centre de Regulació Genòmica, Barcelona
"The biogenesis of transport carriers and the Golgi apparatus".

09.06.08 Dr. Toumas knowies
Cavendish Laboratory and Centre for Nanoscience, University of Cambridge, UK
"Protein aggregation: a nanotech study approach of a disease-causing phenomenon"

September

18.09.08 Dr. Fernando Monje-Casas
Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, USA
Present address (CABIMER)
"Generation of asymmetry in Men signalling"

October

02.10.08 Dr. Rafael Najmanovich
European Bioinformatics Institute European Molecular Biology Laboratory Cambridge,
UK.
"Prediction of small-molecule protein interactions"

10.10.08 Prof. Benoit Chabot
Université de Sherbrooke Québec, Canada
"Converging splicing connections in apoptosis and cancer"

17.10.08 Prof Nick J. Proudfoot
University of Oxford UK
"Gene punctuation in eukaryotes"

20.10.08 Dr. Shomi Bhattacharya
Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER) Sevilla
"Molecular genetics of retinal degeneration"

29.10.08 Prof. Angelica Amon
Massachusetts Institute of Technology, Cambridge USA.
"Causes and consequences of aneuploidy"

November

04.11.08 Dra. Rosario Sanchez Pernaute
Laboratorio de Células Madres Neuronales y Neuroreparación Fundación INBIOMED,
San Sebastián
"Stem cell based replacement therapies for Parkinson diseases"

07.11.08 Prof John F. Diffley
CancerResearch UK London Research Institute South Mimms, UK
"DNA replication control and genome instability in budding yeast"



21.11.08 Dr. Angel Nebrada
Centro Nacional de Investigaciones oncológicas (CNIO) Madrid
"Signal transduction by p38 MAPK"

December

12.12.08 Dr. Yves Barde
Biozentrum University of Basel Switzerland
"Using embryonic stem cells to study neural development".