



centro de investigaciones biológicas

memoria científica
scientific report
2017-2018



centro de investigaciones biológicas

memoria científica
scientific report
2017-2018



centro de **i**nvestigaciones **b**iológicas



Memoria científica CIB 2017-2018 | Scientific Report 2017-2018

Coordinación de la edición | Report Coordinators

Consuelo González-Manchón, Pedro García,
Matilde Sánchez Ayuso, Guy Vancanneyt,
Tomás Cantó, Teresa Suárez y Jesús Díaz

Fotografía científica | Scientific Photography

Investigadores/as de los grupos y servicios del CIB | Members of the CIB
Pablo Jalón (Servicio de fotografía del CIB | CIB Photography Unit)

Fotografía de personal | Personnel Photography

Servicio de fotografía del CIB | CIB Photography Unit
(Pablo Jalón)

Diseño gráfico y maquetación | Graphic design and layout

www.base12.es

table of contents

[04]	Memoria de la Dirección <i>Director's Report</i>
[08]	Biología Celular y Molecular <i>Cellular & Molecular Biology</i>
[36]	Biomedicina Molecular <i>Molecular Biomedicine</i>
[64]	Biología Estructural y Química <i>Structural and Chemical Biology</i>
[92]	Biotecnología Microbiana y de Plantas <i>Microbial and Plant Biotechnology</i>
[118]	Jóvenes Investigadores <i>Young Scientists</i>
[120]	Servicios Científicos <i>Scientific Facilities</i>
[137]	Servicios Generales <i>General Services</i>
[141]	Spin-offs
[143]	Actividades y Datos <i>Activities and Data</i>

Carta de la Directora

Letter from the Director

El “Centro de Investigaciones Biológicas” (CIB) es un Centro multidisciplinar, en el que conviven científicos especializados en áreas como la biología celular y estructural, biomedicina, agricultura, microbiología, medioambiente, química y biotecnología. El objetivo de nuestros investigadores es realizar ciencia de alta calidad, profundizando en las bases de los procesos biológicos a distintos niveles de complejidad, para conocerlos y comprenderlos. Sobre el pilar de la ciencia básica, tratamos de encontrar soluciones tecnológicas innovadoras que permitan afrontar retos sociales en los ámbitos de la salud, el bienestar y la economía sostenible. El carácter dinámico y transversal de las líneas de investigación desarrolladas en nuestro Centro, cubriendo una amplia gama de disciplinas complementarias, lo hacen único tanto entre otros institutos del CSIC como entre otras instituciones relacionadas con la investigación.

En este último bienio, hemos llevado a cabo una política proactiva para tratar de potenciar y alcanzar la excelencia. Atendiendo a las necesidades científicas actuales se han reestructurado los departamentos, reduciendo su número a cuatro: Biología Celular, Biomedicina Molecular, Biología Química y Estructural y Biotecnología Microbiana y de Plantas. Además, se ha renovado el Comité Científico Externo, se ha promovido de manera especial la transferencia de tecnología, la formación de jóvenes investigadores, la cooperación en proyectos multidisciplinares y la atracción de talento. A pesar de que hemos perdido 9 científicos (5 de ellos por jubilación), se han incorporado 9, cuatro de ellos estableciendo nuevas líneas de investigación que fortalecen y complementan nuestras capacidades, contribuyendo así a mejorar la competitividad y excelencia del CIB.

Cabe destacar que un número importante de investigadores del CIB mantienen colaboraciones con empresas de distintos sectores. Estos grupos, especializados en ingeniería de proteínas, nanotecnología, química biológica, producción de bioplásticos, reciclado de residuos, desarrollo de medicamentos, nutracéuticos, cultivos de plantas o producción de biocombustibles, encauzan sus colaboraciones mediante su participación en programas autonómicos, nacionales y europeos en los que también participan las empresas. Concretamente, el CIB es un referente en proyectos de demostración y escalado, especialmente de la convocatoria “Bio-based industry” del Programa H2020.

Otra de las señas de identidad del CIB son sus Servicios Científicos y Técnicos, que constituyen una de sus mayores fortalezas. Cuentan con personal altamente motivado y especializado, lo que es esencial para el éxito de nuestras investigaciones, y además, prestan apoyo a otros centros de investigación, públicos o privados, universidades y empresas. Algunos de estos Servicios (Interacciones Moleculares, Microscopía Láser Confocal y Multidimensional *in vivo*, Proteómica y Genómica y Química de Proteínas) están certificados por AENOR (norma ISO9001) y forman parte de la Red de laboratorios de la Comunidad de Madrid. En este bienio se ha hecho un importante esfuerzo para renovar e implementar tecnologías e infraestructura que nos permitan seguir siendo competitivos en nuestras disciplinas. Hemos abierto dos nuevos servicios, el de Resonancia Magnética Nuclear y el de Diagnóstico Genético Molecular de Complemento. Este último, integrado también en la Red de laboratorios de la Comunidad de Madrid, es un referente nacional e internacional en el estudio genético y molecular del complemento y colabora con hospitales y asociaciones de pacientes para implementar una cartera de servicios que permita desarrollar tratamientos eficaces para enfermedades relacionadas con el complemento.



María Jesús Martínez
Directora | Director (until March 2019)



Enrique J. de la Rosa
Director | Director (since April 2019)

The Center for Biological Research (CIB) is a multidisciplinary centre with scientists working in a variety of research fields, including cell and structural biology, biomedicine, agriculture, microbiology, environmental science, chemistry, and biotechnology. Our goal is to carry out high quality scientific research in order to broaden our understanding of the bases of biological processes at different levels of complexity. We strive to develop innovative technological solutions to tackle social challenges in the areas of health, wellbeing, and the sustainable economy. The dynamic and transversal nature of our centre's research lines, which cover a wide range of complementary disciplines, makes the CIB unique among the institutes of the CSIC and beyond.

We have continued our strategy towards excellence. In response to current scientific needs, our departments have been restructured and reduced in number to four: Cellular Biology; Molecular Biomedicine; Chemical and Structural Biology; and Microbial and Plant Biotechnology. Furthermore, the External Scientific Committee has been renewed, and a special emphasis has been placed on promoting technology transfer, training young researchers, participating in multidisciplinary projects, and attracting new talent. Although 9 scientists have left the CIB (5 of whom have retired), 9 new researchers have joined the centre, 4 of whom have established new lines of research that strengthen and complement our capabilities and further enhance the competitiveness and excellence of the CIB.

It should be noted that a significant number of CIB researchers maintain collaborations with companies from a variety of sectors. Research groups specializing in protein engineering, nanotechnology, biological chemistry, bioplastics production, waste recycling, drug development, nutraceuticals, crops, or biofuel production engage in these collaborations by participating in regional, national, and European programs in which these companies are also involved. Specifically, the CIB is a centre of reference in scaling-up and demonstration projects, particularly those that fall within the remit of the Bio-based industry call of the H2020 Programme.

Another key hallmark of the CIB is its Scientific and Technical Services, which constitute one of its greatest strengths. The highly motivated and specialized personnel working in these services are fundamental to the success of our research activities, and also provide support to other public and private research centres, as well as universities and companies. Some of these services (Molecular Interactions, In Vivo Confocal and Multidimensional Laser Microscopy, Proteomics and Genomics, and Protein Chemistry) are certified by AENOR (in accordance with ISO/IEC 9001) and are part of the Laboratory Network of the Community of Madrid. In the last 2-year period we have made an important effort to renew and implement new technologies and infrastructure that allow us to remain competitive in each of our research disciplines. We have opened two new services: Nuclear Magnetic Resonance and Diagnostic Molecular Genetics of the Complement System. The latter service, which

En cuanto a la formación, además de nuestra participación en Másteres organizados por distintas Universidades, destacar la organización y gestión del Máster Mcib, (Molecular & Cellular Integrative Biology), organizado por la Universidad Internacional Menéndez Pelayo y el CSIC, que ya cursa su tercera edición. Además de recibir clases teóricas y prácticas, los alumnos realizan rotaciones por los laboratorios implicados en la docencia y participan en talleres sobre el desarrollo de la carrera investigadora, el emprendimiento o la divulgación científica. También es importante destacar nuestra participación en la organización y gestión de cursos para la formación de profesores de enseñanza secundaria, en colaboración con la Comunidad de Madrid, y en distintos cursos del Gabinete de Formación que el CSIC imparte para la formación de su personal.

Por otra parte, siendo conscientes de la importancia de acercar la ciencia a la Sociedad, realizamos distintas actividades, dentro y fuera del Centro, para transmitir a la ciudadanía los principales avances científico-tecnológicos y los retos pendientes, haciéndoles ver de qué manera nuestro trabajo puede revertir a la Sociedad. Entre las actividades de divulgación podemos citar la participación en iniciativas institucionales, como la Semana de la Ciencia, Ciencia en el Barrio o las Olimpiadas de Biología, y las visitas de colegios e institutos. Sin embargo, merecen una mención especial en este apartado las charlas organizadas en locales públicos, "Jam Science", "Ciencia con Tres encantos" y "Pangea" (más información en <https://www.cib.csic.es/es/divulgacion>), en las que los mejores profesionales tratan temas de actualidad, de un modo informal y asequible, favoreciendo la generación de debates en un ambiente distendido.

En otro orden de cosas, es importante destacar que el CIB mantiene su compromiso con las políticas de igualdad de género, realizando diferentes actividades para resaltar el trabajo de las mujeres científicas y su papel en la sociedad. Nuestro Centro apoya todos los protocolos de prevención e intervención frente al acoso sexual y por razón de sexo establecidos por el CSIC.

Me gustaría finalizar señalando que, a pesar de los recortes sufridos estos años en investigación, el CIB ha continuado avanzando y mejorando gracias al esfuerzo de todo el personal, a la calidad de los grupos de investigación y al apoyo profesional y entusiasta del personal técnico y administrativo. En breve concluirá mi etapa como Directora de este Centro y me sucederá el Dr. Enrique de la Rosa. No querría terminar sin daros las gracias a todos, y muy especialmente a las personas que durante estos años han formado parte de los equipos de Dirección y Gestión, y de las Comisiones del Centro. Ha sido un privilegio para mí ser Directora de este magnífico Centro y compartir con vosotros esta etapa.

is also part of the Laboratory Network of the Community of Madrid, is a national and international reference for the genetic and molecular study of the complement system and collaborates with hospitals and patient associations to establish a portfolio of services to facilitate the development of effective treatments for complement-related diseases.

In terms of training, in addition to our participation in Master's degree programmes organized by different universities, our MCIB (Molecular & Cellular Integrative Biology) Masters, organized by the Menéndez Pelayo International University and the CSIC, is now in its third year. In addition to receiving theoretical and practical classes, students rotate through participating laboratories and take part in workshops on careers in research, entrepreneurship, and scientific dissemination. The CIB also participates in the organization and management of training courses for secondary school teachers, in collaboration with the Community of Madrid, as well as several different courses offered to CSIC staff by the CSIC Training Department.

Furthermore, as part of our mission to bridge the gap between science and society, we carry out a range of activities, both inside and outside of the CIB, aimed at informing the public about the most important scientific and technological advances and challenges and increasing awareness about the societal benefits of scientific research. Among the outreach activities in which we participate are institutional initiatives such as Science Week, Science in the Neighbourhood, and the Biology Olympics, in addition to visits from primary and secondary schools. Scientific talks organized in public places, including Science Jam, Ciencia con Tres Encantos and Pangaea (see <https://www.cib.csic.es/es/divulgacion> for more information), warrant a special mention. At these events experts in the field are invited to inform the public about current issues using lay language, thereby facilitating discussion in a relaxed and informal atmosphere.

The CIB places a particular emphasis on maintaining its commitment to gender equality policies, promoting a range of activities to highlight the work of women scientists and their role in society. The CIB also adheres to all sexual harassment prevention and intervention protocols established by the CSIC.

I would like to conclude by noting that, despite the cuts in research funding of the last few years, the CIB has continued to advance and improve thanks to the efforts of its staff, the quality of its research groups, and the enthusiastic and professional support of the technical and administrative personnel. I will shortly reach the end of my tenure as Director of the CIB, and my position will be filled by Dr. Enrique de la Rosa. I would like to finish by thanking you all, especially the members of the Direction and Management teams and the committees of CIB. It has been a privilege for me to serve as the Director of this magnificent centre and to share this time with you.

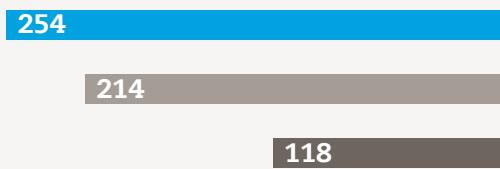


Equipo de dirección | Directive Team

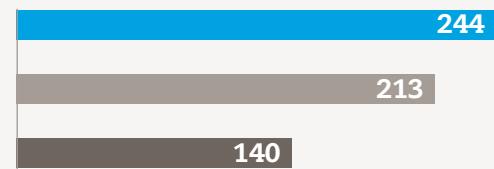
Equipo de Dirección (de izda. a dcha.) | Directive Team (left to right): Teresa Suárez (Vicedirectora), Ana Chao (Secretaria de Dirección), M.ª Jesús Martínez (Directora), Guy Van Canneyt (Adjunto a la Dirección), Irene Pérez (Gerente) y Javier Cañada (Vicedirector).

Producción Científica 2017-2018 | Scientific Production 2017-2018

2017

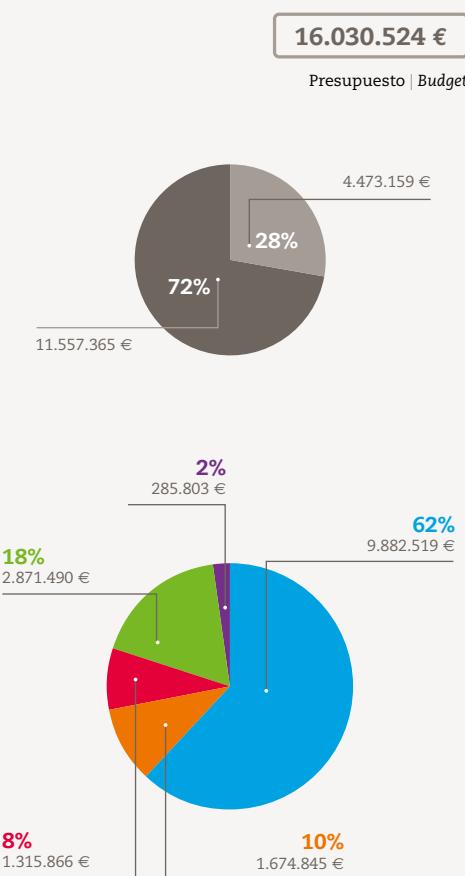


2018



Presupuesto 2017-2018 | Budget 2017-2018

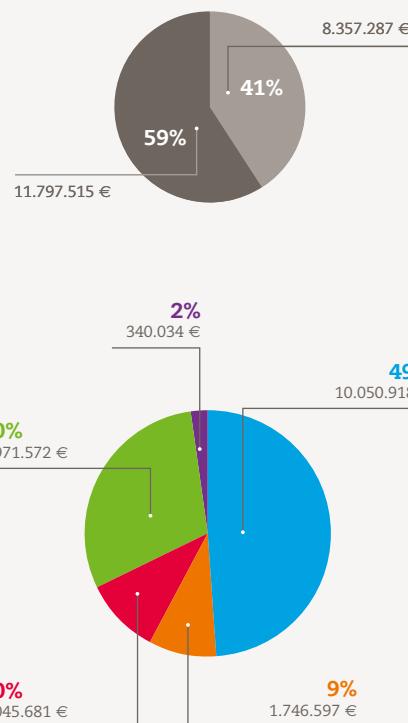
2017



2018

20.154.802 €

Presupuesto | Budget



Comités Científicos | Scientific Committees

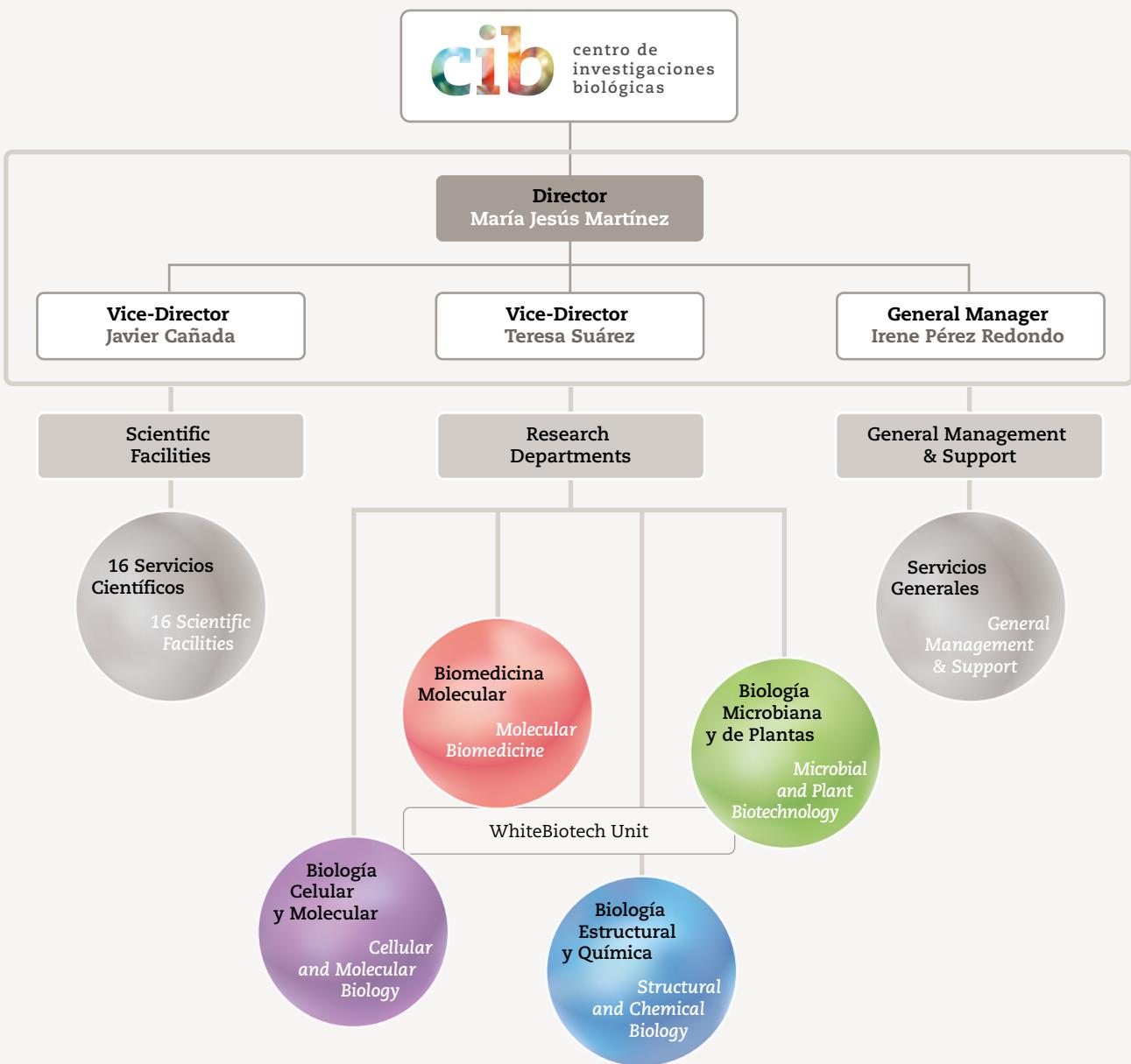
Internal Scientific Committee:

Maria Jesús Martínez, Director
Antonio Romero
Flora de Pablo
Julio Salinas
Patricia Boya
José Luis García
Miguel Ángel Peñalva
Dolores Pérez-Sala

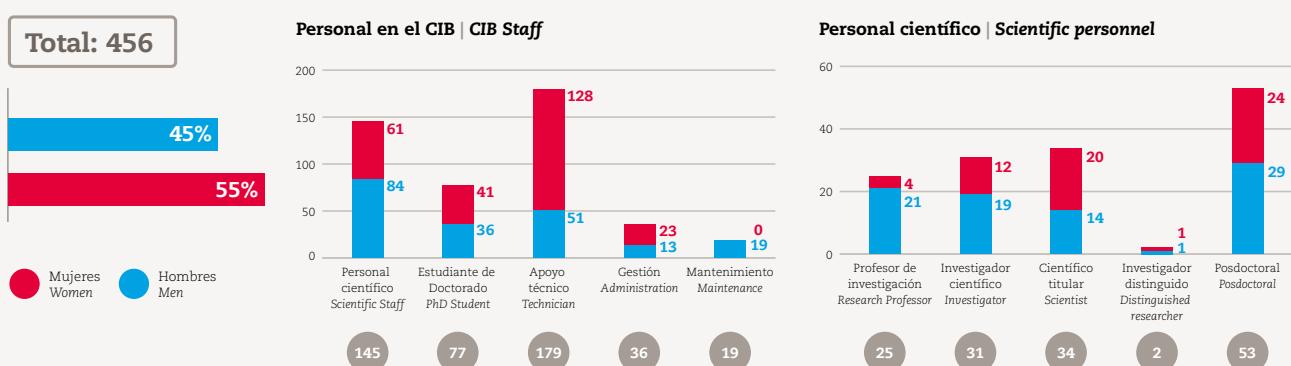
External Scientific Committee:

Prof. Ángel Pellicer (Chairman)
School of Medicine - NYU Medical Centre - New York, USA
Prof. Paul Christou
Department of Crop and Forest Science - Faculty of Agronomy - University of Lleida, Spain
Prof. Ana María Cuervo
Institute for Aging Research - Albert Einstein College of Medicine - New York, USA

Prof. Anna Bigas
Instituto Hospital del Mar - Barcelona, Spain
Prof. Daniel Ramón
Scientific Director of BIOPOLIS - Valencia, Spain
Prof. Oscar Llorca
Director Structural Biology Program - CNIO - Madrid, Spain

Estructura CIB | CIB Structure

The diagram represents the organization of CIB in 2018. As of April 2019, a new management team is in place: Enrique de la Rosa (Director) and Javier Cañada, Pilar Testillano and María Colmenares (Vice-Directors).

Personal | Staff

Biología Celular y Molecular

Cellular and Molecular Biology

- [10] **Miguel Ángel Peñalva Soto .**
Eduardo Antonio Espeso Fernández
Biología Celular de Aspergillus
Aspergillus Cell Biology
- [12] **Alicia Bravo García .**
Manuel Espinosa Padrón
Expresión Génica y Transferencia Genética
en Bacterias
Bacterial Gene Expression and Gene Transfer
- [14] **Rosa María Lozano Puerto .**
Blanca Teresa Pérez-Maceda
Reconocimiento Célula-Biomaterial
Cell-Biomaterial Recognition
- [16] **José Luis Barbero Esteban .**
Lucas Sánchez Rodríguez
Dinámica Cromosómica en Meiosis
Chromosomal Dynamics in Meiosis
- [18] **Rodrigo Bermejo Moreno .**
Jose Arturo García Calzada
Replicación del ADN e Integridad
del Genoma
DNA Replication & Genome Integrity
- [20] **Miguel Ángel Vidal Caballero**
El Sistema Polycomb de Regulación
Epigenética
Epigenetic Control by the Polycomb Group
of Genes
- [22] **José Luis Rodríguez Fernández**
Funciones de los Receptores
Quimiotácticos y de la Sinapsis
Inmunológica de las Células Dendríticas
Functions of Chemotactic Receptors and the
Immunological Synapse of Dendritic Cells
- [24] **Vicente E. Larraga Rodríguez de Vera**
Parasitología Molecular
Molecular Parasitology
- [26] **Jesús del Mazo Martínez**
Biología Molecular de la Gametogénesis
Molecular Biology of Gametogenesis
- [28] **Jorge Bernardo Schwartzman Blinder**
Biología Molecular de los Cromosomas
Molecular Biology of the Chromosomes
- [30] **Ángel Luis Corbí López .**
Miguel Ángel Vega Palacios
Biología de las Células Mieloides
Myeloid Cell Biology
- [32] **Patricia Boya**
Funciones de la Autofagia en la
Fisiopatología de los Organismos
Roles of Autophagy in Health and Disease
- [34] **Rafael Giraldo Suárez**
Ensamblajes Macromoleculares
Microbianos Sintéticos
Synthetic Microbial Macromolecular
Assemblies



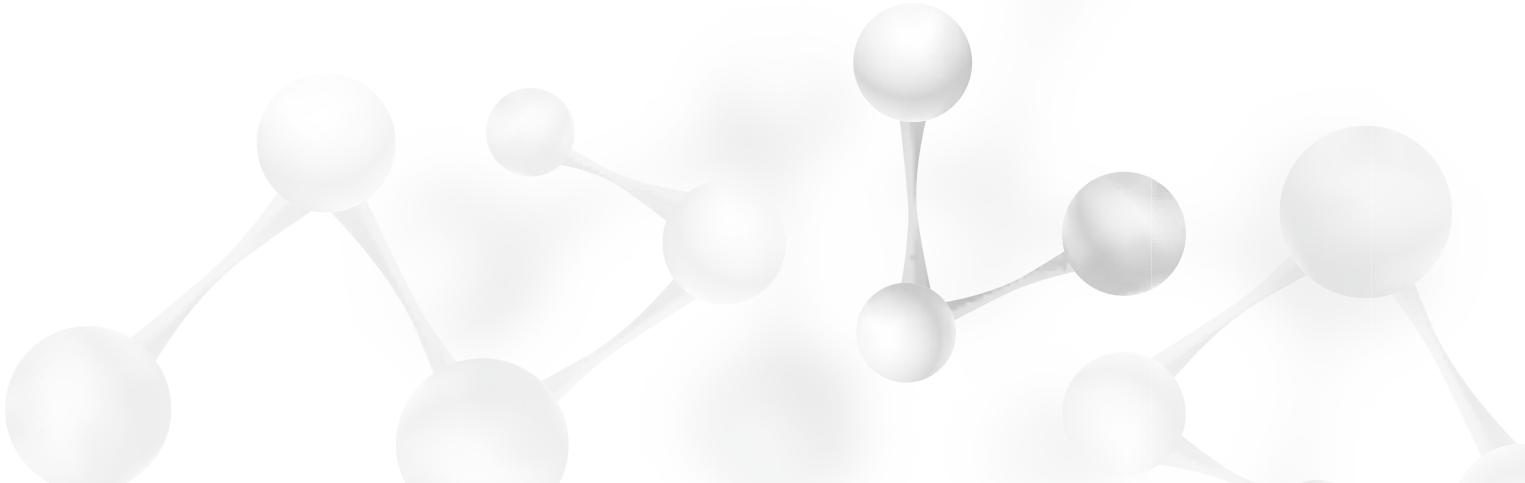
Biología Celular y Molecular
Cellular and Molecular Biology

o v e r v i e w

The DEPARTMENT OF CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY focuses on understanding the cell, the basic unit of Life.

This Department gathers laboratories whose research interests span fundamental processes at the core of cell organization and function: the arrangement, replication and stability of genomes, epigenetics in gene expression, intracellular traffic, cell division, differentiation and evolution, and cellular recycling through autophagy. These studies converge with bottom-up endeavours, such as exploring the interactions between cells and biomaterials, the immunological synapse, the effector functions by human macrophages and the infective ability of pathogens. The model systems used to study these processes range from unicellular microorganisms, both bacteria and fungi, to mammalian cells and animal models. Our approaches are interdisciplinary, a watermark of CIB, and bridge methodologies ranging from advanced optical and electron microscopies to functional genomics, with strong inputs from molecular biology, biophysics and synthetic biology.

Patricia Boya
Department Head



Miguel Ángel Peñalva Soto

Profesor de Investigación
penalva@cib.csic.es



PhD, 1982 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1982-1987 • Antibióticos SA (Madrid) e Institut de Genètique et Microbiologie, Universidad de París, Orsay
Científico Titular y Jefe de grupo, 1987 • CIB
Profesor de Investigación, 2001 • CIB
Visiting Scientist, Julio 2005-Marzo 2006 • MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge (UK)
Elegido miembro de EMBO, 2000



[https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/
aspergillus-cell-biology](https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/aspergillus-cell-biology)

Eduardo Antonio Espeso Fernández

Científico Titular
eespeso@cib.csic.es



PhD, 1989 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1997-1999 • Imperial College London
EMBO-Postdoctoral Fellow
Contratado, 2001-2004 • Ramón y Cajal
Científico Titular y Jefe de grupo, 2004 • CIB
Secretario, 2004-2008 • Grupo Especializado de Hongos Filamentosos y Levaduras (SEM)

Otros miembros | Other members

Elena Reoyo Hernández
Ana Alonso Ayala
Areti Pantazopoulou
Mario Pinar Sala

Miguel Hernández González
Ignacio Bravo Plaza
Elena Requena Galindo
Irene Tomico Cuenca

Biología Celular de Aspergillus

Aspergillus nidulans es un modelo genético apropiado para estudiar exocitosis polarizada y transporte a larga distancia por microtúbulos y actina. Su tráfico intracelular se asemeja al de metazoos, pero el hongo es haploide, genéticamente manipulable y crece adherido a las cámaras de cultivo, lo que facilita los estudios de microscopía multidimensional.

Mediante la combinación de abordajes genéticos y bioquímicos con microscopía 5D (x, y, z, t, doble canal) estudiamos la organización y la dinámica del Golgi y del sistema endovacuolar, centrandonos en GTPasas RAB y ARF, sus reguladores y sus efectores. El Golgi de Aspergillus está formado por cisternas dispersas que pueden resolverse por microscopía óptica. Intentamos comprender los mecanismos de maduración de cisternas del Golgi y específicamente la biogénesis de carriers post-Golgi en el TGN, así como las diferentes rutas por las que membrana y cargo salen del ER. Nuestro trabajo tiene importantes implicaciones tanto en medicina como en agricultura (la patogenicidad de los hongos hacia humanos y plantas depende del transporte intracelular) y también en el campo de la biotecnología, dado que una parte substancial del portafolio de enzimas industriales se fabrica con especies de Aspergillus como factorías celulares.

Las rutas biosintéticas y catabólicas están reguladas a nivel transcripcional. Estudiamos las señales, los receptores, la transducción de la señal y los mecanismos que modifican tanto la actividad como la localización celular de factores de transcripción. El tráfico de estos factores entre el núcleo y el citoplasma es un importante punto de control transcripcional. Usando como modelo diferentes reguladores queremos entender los mecanismos de señalización y transporte nucleocitoplásmico en un organismo con organización celular cenocítica (multinucleado). Nuestro trabajo se centra en factores transcripcionales que median en la respuesta al estrés por cationes y la alcalinidad (CrzA y SltA), y los que participan en desarrollo de estructuras reproductivas asexuales (FlbB). El estudio de estos reguladores nos permite abordar la señalización mediada por Ca²⁺/calcineurina, el estrés por pH ambiental, la proteólisis como mecanismo de activación postraduccional y el papel de la tolerancia al estrés en procesos de virulencia y propagación de los hongos.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Peñalva MA, Zhang J, Xiang X, Pantazopoulou A [2017] Transport of fungal RAB11 secretory vesicles involves myosin-5, dynein/dynactin/p25 and kinesin-1 and is independent of kinesin-3. *Mol Bio Cell* 28:947-961.
- Pinar M, Peñalva MA [2017] *Aspergillus nidulans* BapH is a RAB11 effector that connects membranes in the Spitzenkörper with basal autophagy. *Mol Microbiol* 106:452-468.
- Hernández-González M, Bravo-Plaza I, Pinar M, de los Ríos V, Arst HN, Jr, Peñalva MA [2018] Endocytic recycling via the TGN underlies the polarized hyphal mode of life. *PLoS Genet* 14:e1007291.
- Hernández-González M, Pantazopoulou A, Spanoudakis D, Seegers CLC Peñalva MA [2018] Genetic dissection of the secretory route followed by a fungal extracellular glycosyl hydrolase. *Mol Microbiol* 109:781-800.
- Pantazopoulou A, Galmarini CM, Peñalva MA [2018] Molecular basis of resistance to the microtubule-depolymerizing antitumor compound plocabulin. *Sci Rep* 8:8616.
- Villarino M, Espeso EA, Melgarejo P Larena I [2018] Transformation of *Penicillium rubens* 212 and Expression of GFP and DsRED Coding Genes for Visualization of Plant-Biocontrol Agent Interaction. *Front Microbiol* 9:1653.
- Pandit SS, Lohmar JM, Ahmed S, Etxeberria O, Espeso EA, Calvo AM [2018] UrdA Controls Secondary Metabolite Production and the Balance between Asexual and Sexual Development in *Aspergillus nidulans*. *Genes (Basel)* 9, pii: E570.
- Villarino M, Etxeberria O, Mendizábal G, Garzia A, Ugalde U, Espeso EA [2017] Boron Tolerance in *Aspergillus nidulans* Is Sustained by the SltA Pathway Through the SLC-Family Transporters SbtA and SbtB. *Genes (Basel)* 8, pii: E188.
- Loss O, Bertuzzi M, Yan Y, Fedorova N, McCann BL, Armstrong-James D, Espeso EA, Read ND, Nierman WC Bignell EM [2017] Mutual independence of alkaline- and calcium-mediated signalling in *Aspergillus fumigatus* refutes the existence of a conserved druggable signalling nexus. *Mol Microbiol* 106:861-875.
- Hernández-Ortiz P, Espeso EA [2017] Spatiotemporal dynamics of the calcineurin target CrzA. *Cell Signal* 29:168-180.

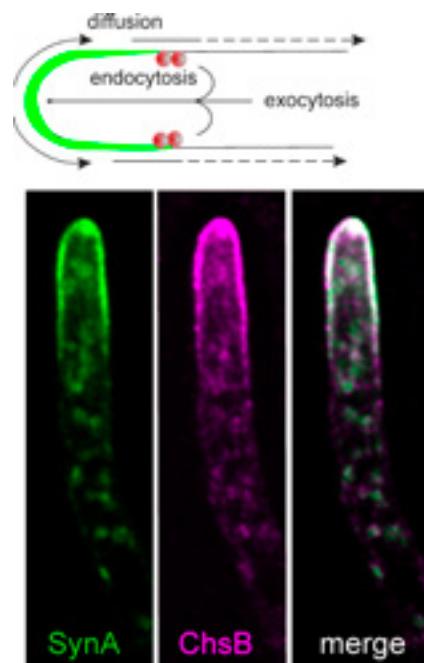
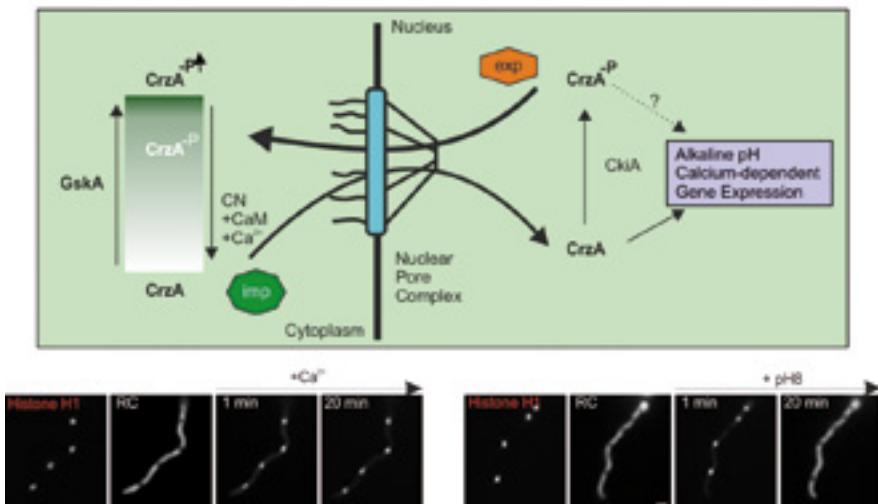


Figure 1

Synaptobrevin and a chitin synthase polarize by endocytic recycling. The synaptobrevin homologue SynA and ChsB colocalize at the apical crescent and at the accumulation of secretory vesicles gathering at the apex, awaiting fusion with the plasma membrane.

**Figure 2**

Regulating the subcellular location of CrzA.
The subcellular distribution of calcineurin (CN), GskA (glycogen synthase kinase 3a/b) and CkiA (casein kinase I) results in phospho-variants of CrzA that are differentially recognized by importins and exportins to regulate its subcellular location. $[Ca^{2+}] \uparrow$ causes a more persistent nuclear localization of CrzA whereas the effect of alkaline environmental pH is more ephemeral.

Aspergillus Cell Biology

Aspergillus nidulans is a genetic model well suited for studying polarised exocytosis and long-distance transport mediated by actin and microtubules. Intracellular traffic resembles that of metazoan cells, yet the organism is haploid, genetically amenable and grows attached to the surface of culture chambers, which facilitates multidimensional microscopy studies.

By combining genetic and biochemical approaches with *in vivo* multidimensional microscopy, we are investigating the organization and dynamics of the Golgi and the endovacuolar system, focusing on RAB and ARF GTPases, their regulators and their effectors. The Aspergillus Golgi is formed by non-stacked early and late Golgi cisternae that can be resolved by optical microscopy. We are studying the mechanisms of cisternal maturation in the Golgi, and specifically the mechanisms that determine the biogenesis of post-Golgi carriers in the TGN, as well as the different pathways for the exit of membrane and cargo from the endoplasmic reticulum. Our work has important implications for both medicine and agriculture (fungal pathogenicity

to plants and humans is dependent on exocytosis and intracellular traffic), and major ones for biotechnology, as a substantial share of the industrial enzyme catalogue is produced with Aspergillus species as cell factories.

Biosynthetic and catalytic pathways are transcriptionally regulated. We study the signals, receptors, signal transduction pathways and mechanisms responsible of the activation and cellular localisation of transcription factors. Nuclear transport is a key regulatory step in the regulation of transcription. By using diverse regulatory factors as models we aim to understand the mechanisms involved in signaling and nucleocytoplasmic traffic in a coenocytic (multi nucleated cell) organism. Specifically

we study the SltA and CrzA transcription factors, which mediate the responses to cation and alkaline pH stresses, and FlbB, which participates in the asexual reproductive cycle. The analysis of these regulators allows us to investigate Ca^{2+} /calcineurin mediated signaling, ambient pH stress, proteolysis as a mechanism of post-translational activation and the role of stress tolerance in fungal virulence and propagation.

Financiación | Funding

- BIO2015-65090-R (MINECO)
- S2017/BMD-3691 INGEMICS (Comunidad de Madrid)
- E/RTA2013-00062-C05-01 (MINECO)
- BFU2015-66806-R (MINECO)



Alicia Bravo García

Científica Titular
abravo@cib.csic.es



PhD, 1988 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1988-1990 • Max-Planck Institut für molekulare Genetik, Berlín
Postdoctoral, 1991-1992 • CBMSO-CSIC
Investigadora contratada, 1993-2001 • CBMSO-CSIC
Investigadora Ramón y Cajal, 2002-2005 • CBMSO-CSIC
Investigadora Ramón y Cajal, 2006-2007 • CIB-CSIC
Científica Titular, 2007 • CIB-CSIC
Jefa de Grupo, 2012 • CIB-CSIC

Manuel Espinosa Padrón

Profesor de Investigación
Doctor vinculado Ad Honorem
mespinosa@cib.csic.es



Profesor de Investigación, 1990 • CIB-CSIC
Profesor Ad Honorem, 2012 • CIB-CSIC
Miembro de EMBO, 1996
Evaluador EMBO, 2007-2010 • Young Investigator Programme
Evaluador EMBO, 2008-2012 • Long-Term Fellowships
Coordinador, 2008-2015 • Proyecto CONSOLIDER INTERMODS
Coordinador, 2009-2011 • Red Española REDEX
Presidente, 2012-2014 • International Society of Plasmid Biology
Coeditor, 2017 • Frontiers in Molecular Biosciences
Coeditor, 2018 • Frontiers in Microbiology

Otros miembros | Other members

Sofía Isabel Ruiz Cruz
Ana Moreno Blanco

Alejandro Ortuno Camuñas
Jingwen Li

Expresión Génica y Transferencia Genética en Bacterias

Trabajamos con dos bacterias Gram-positivas patógenas/oportunistas, *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*. Estudiamos reguladores globales de la transcripción y su papel en la adaptación de estas bacterias a distintos nichos humanos. Trabajamos en transferencia genética horizontal mediada por plásmidos y en sistemas toxina-antitoxina bacterianos y su relación con la formación de biopelículas y con la respuesta a estrés oxidativo.

Las proteínas que actúan como reguladores globales de la transcripción son críticas en los procesos de adaptación bacteriana. Su capacidad de reconocer múltiples sitios del cromosoma bacteriano hace posible ajustar el patrón de expresión génica a situaciones ambientales nuevas. Hemos demostrado que la proteína MafR de *E. faecalis* activa, directa o indirectamente, la transcripción de numerosos genes. MafR podría tener un papel regulador en la utilización de fuentes de carbono y en la homeostasis del calcio. Hemos purificado MafR y estudiado su interacción con DNA in vitro. Sus propiedades de unión a DNA son similares a las del regulador MgaSpn de *S. pneumoniae*. Hemos propuesto que MafR reconoce características estructurales en sus DNAs diana (*shape readout mechanism*).

La transferencia genética horizontal es crucial en la evolución de los genomas bacterianos. Frecuentemente, está mediada por plásmidos, como el plásmido promiscuo pMV158. La iniciación de la transferencia del DNA requiere una proteína (relaxasa) codificada por el plásmido. Hemos resuelto la estructura tridimensional del dominio nucleasa-relaxasa de la proteína MobM de pMV158 y descubierto las interacciones

entre MobM y su DNA diana. Hemos descrito el primer ejemplo de comunicación entre los módulos plasmídicos implicados en replicación y en transferencia. MobM participa en el control de la replicación del DNA plasmídico mediante represión transcripcional de un RNA antisentido. Hemos estudiado las interacciones entre dos RNAs implicados en el control de la replicación de pMV158.

S. pneumoniae tiene cuatro sistemas Toxina-Antitoxina (TAs) de tipo II. Cada uno de ellos está compuesto por dos genes organizados en un operón. Hemos demostrado la participación de dos de estos TAs en la formación de biopelículas y en la respuesta a estrés oxidativo. Hemos revisado el papel y la relevancia de los sistemas TAs de tipo II en el mundo bacteriano y su influencia en el estilo de vida de las bacterias.

Financiación | Funding

- BIO2015-69085-REDC (MINECO) (2016-2018)
- BIO2016-76412-C2-2-R (MINECO) (2017-2019)



Bacterial Gene Expression and Gene Transfer

We work with two Gram-positive pathogenic/opportunistic bacteria, *Streptococcus pneumoniae* and *Enterococcus faecalis*. Our research is focused on global transcriptional regulators and their role in the adaptation of these bacteria to different human niches. We also work on horizontal gene transfer mediated by plasmids and on bacterial toxin-antitoxin systems and their relationship with biofilm formation and response to oxidative stress.

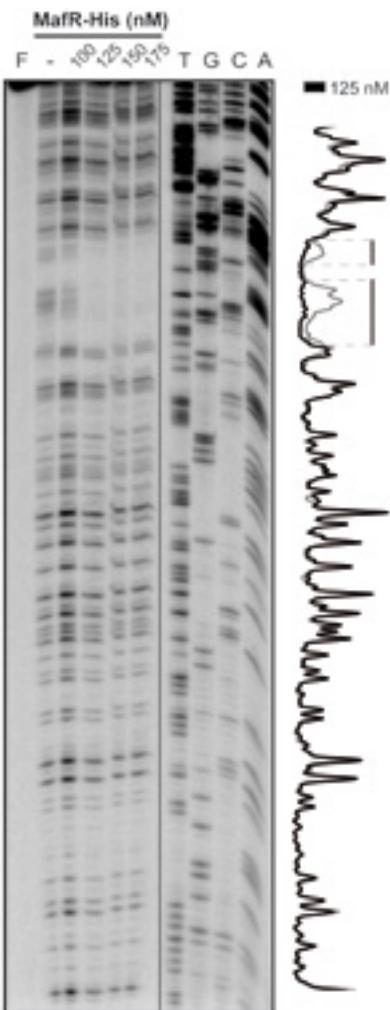


Figure 1

DNase I footprinting assay. Protein MafR-His was incubated with a DNA fragment that contains the promoter of the OG1RF_12294 gene. The DNA fragment was radioactively labelled at the 5'-end of the non-coding strand. F: non-digested DNA. The site recognized by MafR-His is indicated with brackets. Such a site overlaps the core promoter. Experiment performed by Sofia Ruiz-Cruz.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Ruiz-Cruz S, Moreno-Blanco A, Espinosa M, Bravo A [2018] DNA-binding properties of MafR, a global regulator of *Enterococcus faecalis*. *FEBS Lett* 592:1412-1425.
- Lorenzo-Díaz F, Fernández-López C, Guillén-Guío B, Bravo A, Espinosa M [2018] Relaxase MobM induces a molecular switch at its cognate origin of transfer. *Front Mol Biosci* 5:17.
- Venkova T, Yeo CC, Espinosa M [2018] Editorial: The Good, The Bad and The Ugly: Multiple Roles of Bacteria in Human Life. *Front Microbiol* 9:1702.
- Pluta R, Espinosa M [2018] Antisense and yet sensitive: Copy number control of rolling circle-replicating plasmids by small RNAs. *WIREs RNA* 9:e1500.

Proteins that act as global transcriptional regulators play key roles in bacterial adaptation. Their ability to recognize multiple DNA sites across the bacterial chromosome makes possible to adjust the gene expression pattern to new environmental situations. We have demonstrated that the MafR protein of *E. faecalis* activates, directly or indirectly, the transcription of numerous genes. MafR could have a regulatory role in the utilization of carbon sources and in calcium homeostasis. We have purified MafR and studied its interaction with DNA in vitro. Its DNA-binding behaviour is similar to the one described for the pneumococcal MgaSpn global regulator. We have proposed that MafR recognizes structural features in its target DNAs (shape readout mechanism).

Horizontal gene transfer is crucial in the evolution of bacterial genomes. It is frequently mediated by plasmids, such as the promiscuous plasmid pMV158. Initiation

of DNA transfer requires the participation of a plasmid-encoded protein termed relaxase. We have solved the three-dimensional structure of the nuclelease-relaxase domain of MobM from pMV158 and discovered the interplay between MobM and its target DNA. We have reported the first example of crosstalk between the pMV158-modules involved in DNA replication and DNA transfer. MobM participates in control of plasmid DNA replication by transcriptional repression of an antisense RNA. We have also studied the interactions between two plasmid-encoded RNAs involved in the control of pMV158 replication.

S. pneumoniae has four type II Toxin-Antitoxin systems (TAs), each of them consisting of two genes organized in an operon. We have demonstrated the participation of two of these TAs in biofilm formation and in response to oxidative stress. We have also reviewed the role and relevance of the type II TAs in the bacterial world and their influence in bacteria lifestyle.

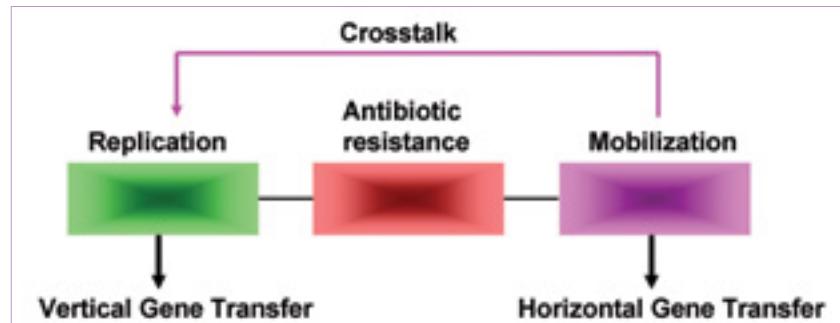


Figure 2

Crosstalk between vertical and horizontal gene transfer. Plasmid pMV158 has three genetic modules involved in DNA replication and its control, resistance to tetracycline and conjugative mobilization. We have reported a novel mechanism that controls the copy number of pMV158. It is mediated by the MobM conjugative relaxase. Lorenzo-Díaz et al. (2017) *Nucleic Acids Res.* 45:7774-7785.

- Prieto A, Bernabeu M, Aznar S, Ruiz-Cruz S, Bravo A, Queiroz MH, Juárez A [2018] Evolution of bacterial global modulators: Role of a novel H-NS parologue in the enteroaggregative *Escherichia coli* strain 042. *mSystems* 3:e00220-17.
- Chan WT, Domenech M, Moreno-Córdoba I, Navarro-Martínez V, Nieto C, Moscoso M, García E, Espinosa M [2018] The *Streptococcus pneumoniae* *yefM-yoeB* and *relBE* toxin-antitoxin operons participate in oxidative stress and biofilm formation. *Toxins* 10:378.
- Venkova T, Juárez A, Espinosa M [2017] Editorial: Modulating Prokaryotic Lifestyle by DNA-Binding Proteins: Learning from (Apparently) Simple Systems. *Front Mol Biosci* 3:86.

- Lorenzo-Díaz F, Fernández-López C, Lurz R, Bravo A, Espinosa M [2017] Crosstalk between vertical and horizontal gene transfer: Plasmid replication control by a conjugative relaxase. *Nucleic Acids Res* 45:7774-7785.
- Díaz-Orejas R, Espinosa M, Yeo CC [2017] The importance of the expendable: Toxin-Antitoxin genes in plasmids and chromosomes. *Front Microbiol* 8:1479.
- Pluta R, Boer RD, Lorenzo-Díaz F, Russi S, Gómez H, Fernández-López C, Pérez-Luque R, Orozco M, Espinosa M, Coll M [2017] Structural basis of a novel histidine-DNA nicking/joining mechanism for gene transfer and promiscuous spread of antibiotic resistance. *Proc Natl Acad Sci USA* 114:E6526-E6535.

Rosa María Lozano Puerto

Científica Titular
rlozano@cib.csic.es

PhD, 1990 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1991-1993 • University of California Berkeley (USA)
Investigadora Contratada, 1993-2001 • MEC, CIB
Científica Titular, 2001
Jefa de Grupo, 2008 • CIB, CSIC



Blanca Teresa Pérez-Maceda

Científica Titular

PhD, 1989 • Universidad Complutense de Madrid
Estancia en el extranjero, 1980-1981 • Aarhus University, DK
Investigadora Titular OPI, 2002
Científico Titular, 2011 • CIB, CSIC



<http://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/cell-biomaterial-recognition>

Otros miembros | Other members

Sara San José Pinilla

Luna Sánchez López

Reconocimiento Célula-Biomaterial

El laboratorio “Reconocimiento Célula-Biomaterial” investiga la interacción entre las células y los materiales metálicos para su aplicación en reparación ósea. Los biomateriales en estudio incluyen materiales como aleaciones de cobalto-cromo con alto contenido en carbono y materiales biodegradables de base magnesio o hierro. Se analiza la respuesta celular e inflamatoria de las células del entorno del implante a los materiales en estudio.

La sustitución de la articulación de cadera por biomateriales metálicos se ha convertido en práctica habitual en nuestros centros hospitalarios debido, entre otros, al envejecimiento de la población, al aumento de prácticas deportivas de alto riesgo y al incremento de accidentes de tráfico. Entre otros materiales, se consideran las combinaciones Metal-Metal que contienen aleaciones de cobalto-cromo con tasas de desgaste bajas y buen comportamiento frente a la corrosión. Sin embargo, estas aleaciones metálicas una vez implantadas siguen liberando partículas e iones metálicos debido al desgaste que experimenta el material implantado. Preocupados por el bienestar del paciente y su repercusión en el coste socio-sanitario asociado, el grupo desarrolla su trabajo en la mejora de la lubricación de CoCr mediante recubrimientos superficiales para disminuir el desgaste y aumentar la vida útil del implante. Se analiza la biocompatibilidad y la respuesta inflamatoria de los nuevos materiales en el contexto celular del implante. Se han realizado aportaciones singulares entre las que destacamos: el efecto de partículas de desgaste en modelos de cultivos celulares 2D y 3D, las consecuencias de campos eléctricos en la respuesta celular a partículas metálicas y el uso de la microscopía multidimensional in vivo en el estudio de la interfaz célula-biomaterial en el caso de materiales metálicos biodegradables.

En memoria de la Dra. BLANCA TERESA PÉREZ MACEDA

La doctora Blanca Teresa Pérez Maceda

murió el 15 de septiembre de 2018.

Su inesperada y repentina pérdida ha producido una enorme tristeza. Doctora en Bioquímica por la Universidad Complutense de Madrid. En 1986 implanta el Servicio de Cultivo de Células Animales en el CIB. En 2009 inicia una fructífera colaboración con su laboratorio actual hasta que en 2011 se incorpora como científica titular. Su pasión por la ciencia, su generosidad, su entusiasmo contagioso y su amor por lo que hacía eran constantes en su vida.

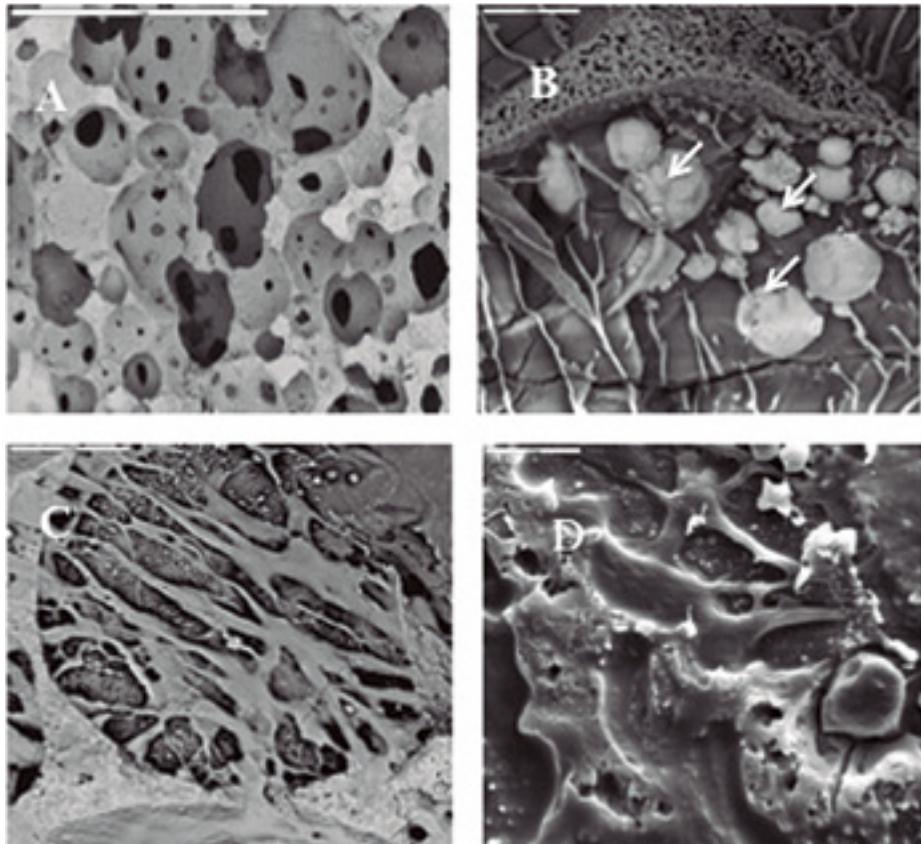
Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Pérez-Maceda BT, López-Fernández ME, Díaz I, Kavanagh A, Billi F, Escudero ML, García-Alonso MC, Lozano RM [2017] Osteoblasts MC3T3-E1 response in 2D and 3D cell cultures models to high carbon content CoCr alloy particles. Effect of metallic particles on vimentin expression. *J Mat Sci Res* 6:41-55.
- Pérez-Maceda BT, López-Fernández ME, Diaz I, Kavanagh A, Billi F, Escudero ML, García-Alonso MC, Lozano RM [2018] Macrophage biocompatibility of CoCr wear particles produced under polarization in hyaluronic acid aqueous solution. *Materials* 11:756.
- Pérez-Maceda BT, López-Fernández ME, Lozano RM [2018] El Cultivo celular 2D y 3D en el estudio de la interacción célula-partículas metálicas: Un estudio con partículas de desgaste derivadas de una aleación CoCr de aplicación como material ortoprotésico. *Acta Científica y Tecnológica* 28:17-21.

Financiación | Funding

- MAT2015-67750-C3-2-R. (MINECO) (2016-2019)



**Figure 1**

Cryosem images of 3D osteoblasts MC3T3-E1 cell cultures in CellCeram scaffolds. A: scaffold (scale bar: 1 mm); B: scaffold incubated with CoCrHC particles. Particles with round shape appear inside scaffold labeled with a white arrow (scale bar: 20 μm); C: osteoblasts MC3T3-E1 cells cultured on scaffolds in presence of 0.5 mg/ml of CoCrHC particles (scale bar: 50 μm). Filopodia are observed in cells spread on the scaffold surface; D: detail of osteoblasts cell cultured on scaffold in presence of 0.5 mg/ml of CoCrHC particles (scale bar: 20 μm).

Cell-Biomaterial Recognition

The “Cell-Biomaterial Recognition Lab” explores the interactions between cells and biomaterials with applications for bone tissue repair. Biomaterials under study comprise metallic materials, as are cobalt-chromium alloys with high carbon content and biodegradable magnesium-base and iron-based materials. The effect on cell behavior and inflammatory response to metallic biomaterials are under study.

The replacement of the hip joint by metal biomaterials has become a common practice in our hospitals due, among others, to the aging of the

population, the increase in high-risk sports practices and the rise in traffic accidents. Among other materials, Metal-Metal combinations containing

cobalt-chromium alloys with low wear rates and good corrosion behavior are considered. However, these metal alloys once implanted continue to release metal particles and ions due to the wear experienced by the material. Concerned about the well-being of the patient and its impact on the associated socio-health cost, the group develops its research in the improvement of CoCr lubrication through surface coatings to reduce wear and increase the life of the implant. The biocompatibility and the inflammatory response of the new materials in the cellular context of the implant are analyzed. We have made singular contributions among which we highlight: the effect of wear particles in 2D and 3D cell culture models, the consequences of electric fields in the cellular response to metal particles and the use of multidimensional microscopy *in vivo* in the study of the cell-biomaterial interface in the case of biodegradable metallic materials.

In memory of Dr. BLANCA TERESA PÉREZ MACEDA.

Dr. Blanca Teresa Pérez Macea
died on September 15, 2018.

Her unexpected and sudden loss has produced an enormous sadness. PhD in Biochemistry from the Complutense University of Madrid. In 1986 Blanca implemented the Animal Cell Culture Facility at the CIB.

In 2009 she began a fruitful collaboration with her current laboratory and in 2011 she joined as staff scientist at Cell-Biomaterial Recognition group. Her passion for science, her personal generosity, her contagious enthusiasm and her absolutely love what she did were constants in her life.

José Luis Barbero Esteban

Investigador Científico
jlbarbero@cib.csic.es



PhD, 1981 • Universidad Complutense de Madrid
Associate Research, 1984 • NYU Medical Center,
Pathology Department Dr. Angel Pellicer laboratory, New
York, USA
Researcher, 1983-1996 • Pharmacia/Antibiotics Pharma
Group Leader, 1996-2006 • Pharmacia/Department of
Immunology and Oncology, CNB-CSIC
Investigador Científico, 2006 • CIB-CSIC

Lucas Sánchez Rodríguez

Profesor de Investigación
lsanchez@cib.csic.es



PhD, 1976 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1977-1979 • Zoological Institute University
of Zurich
Investigador Asociado, 1979-1981 • Zoological Institute
University of Zurich
Jefe de Grupo, 1981-1984 • European Molecular Biology
Laboratory, Heidelberg
Científico Titular, 1985 • CIB
Investigador Científico, 1989 • CIB
Profesor de Investigación, 2004 • CIB

<https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/chromosomal-dynamics-meiosis>

Dinámica Cromosómica en Meiosis

El complejo de cohesinas y el control de la dinámica de dicho complejo en la cromatina son esenciales para la correcta segregación cromosómica. Errores en estos mecanismos conducen a la muerte celular, patologías como el síndrome de Down, la formación de tumores, la infertilidad y otras cohesinopatías.

En colaboración con el grupo de AM Pendás (Centro de Investigación del Cáncer, Salamanca) se ha realizado el estudio de diferentes proteínas denominadas “cohesin-regulators” que controlan la dinámica del complejo de cohesinas, y otras proteínas esenciales para el correcto desarrollo del ciclo meiótico en mamíferos.

En colaboración con el laboratorio del Dr. Frank Grutzner de la Universidad de Adelaide (Australia) y del laboratorio del Dr. Jesús Page de la Universidad Autónoma de Madrid se ha estudiado la función de cohesinas y otras proteínas del complejo sinaptonémico, entre las que destacan las diferentes versiones de la

proteína SYCP3 en la evolución de los cromosomas sexuales utilizando como modelo *Platypus anatinus*.

L. Sánchez está trabajando sobre la evolución de los mecanismos de determinación sexual.

Financiación | Funding

- BFU2014-59307-R MINECO
- BFU2017-89408-R MINECO

A Nek1^{+/+}

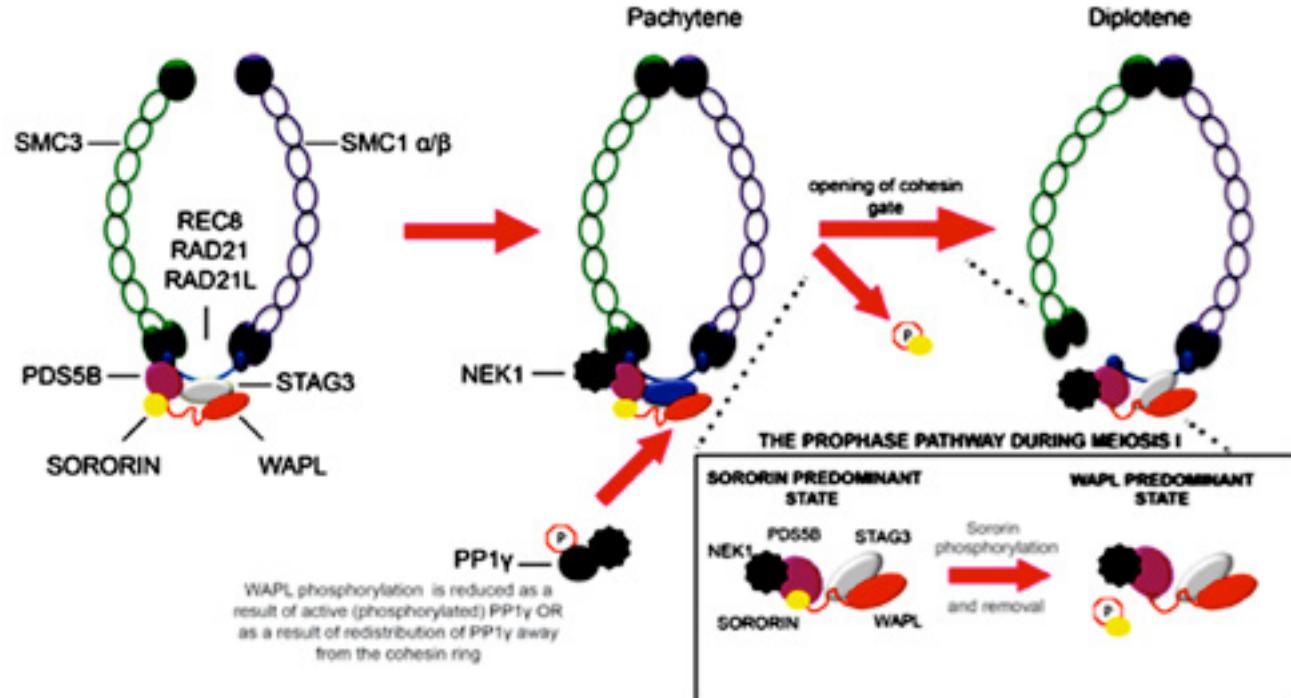


Figure 1

Model of the role of NEK1 during meiotic prophase I.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Casey AE, Daish TJ, Barbero JL, Grützner F [2017] Differential cohesin loading marks paired and unpaired regions of platypus sex chromosomes at prophase I. *Sci Rep* 7(1):4217.
- López-Cotarelo P, Gómez-Moreira C, Criado-García O, Sánchez L, Rodríguez-Fernández JL [2017] Beyond chemoattraction: Multifunctionality of chemoline receptors in leukocytes. *Trends Immunol* 38:927-941.
- Sánchez L, Chaouiya C [2018] Logical modelling uncovers developmental constraints for primary sex determination of chicken gonads. *J R Soc Interface* 15, pii: 20180165.
- Sánchez L, Perondini ALP, Selivon D [2018] Understanding the dynamics underpinning the geographical distribution of the *Anastrepha fraterculus* complex in eastern Brazil. *Trends Entomol* 14:17-31.

Chromosomal Dynamics in Meiosis

Are there link between human syndromes with physical and mental problems, a tumor growing out of control and the incapability to contribute to next generation? This question can be answered if we look at the biological functions of a protein complex, named cohesin, and the molecules that regulate the dynamic of this complex.

In collaboration with the group of AM Pendás (Cancer Research Center, Salamanca), different proteins called "cohesin-regulators" have been studied that control the dynamics of the cohesin complex, and other proteins essential for the correct development of the meiotic cycle in mammals.

In collaboration with the laboratory of Dr. Frank Grutzner of the University of Adelaide (Australia) and the laboratory of Dr. Jesus Page of the Autonomous University of Madrid, the role of cohesins and other proteins of the synaptonemal complex have been studied, among which the different

versions of the SYCP3 protein in the evolution of the sex chromosomes using the model *Platypus anatinus*.

L. Sánchez is working on the evolution of sex-determining mechanisms.

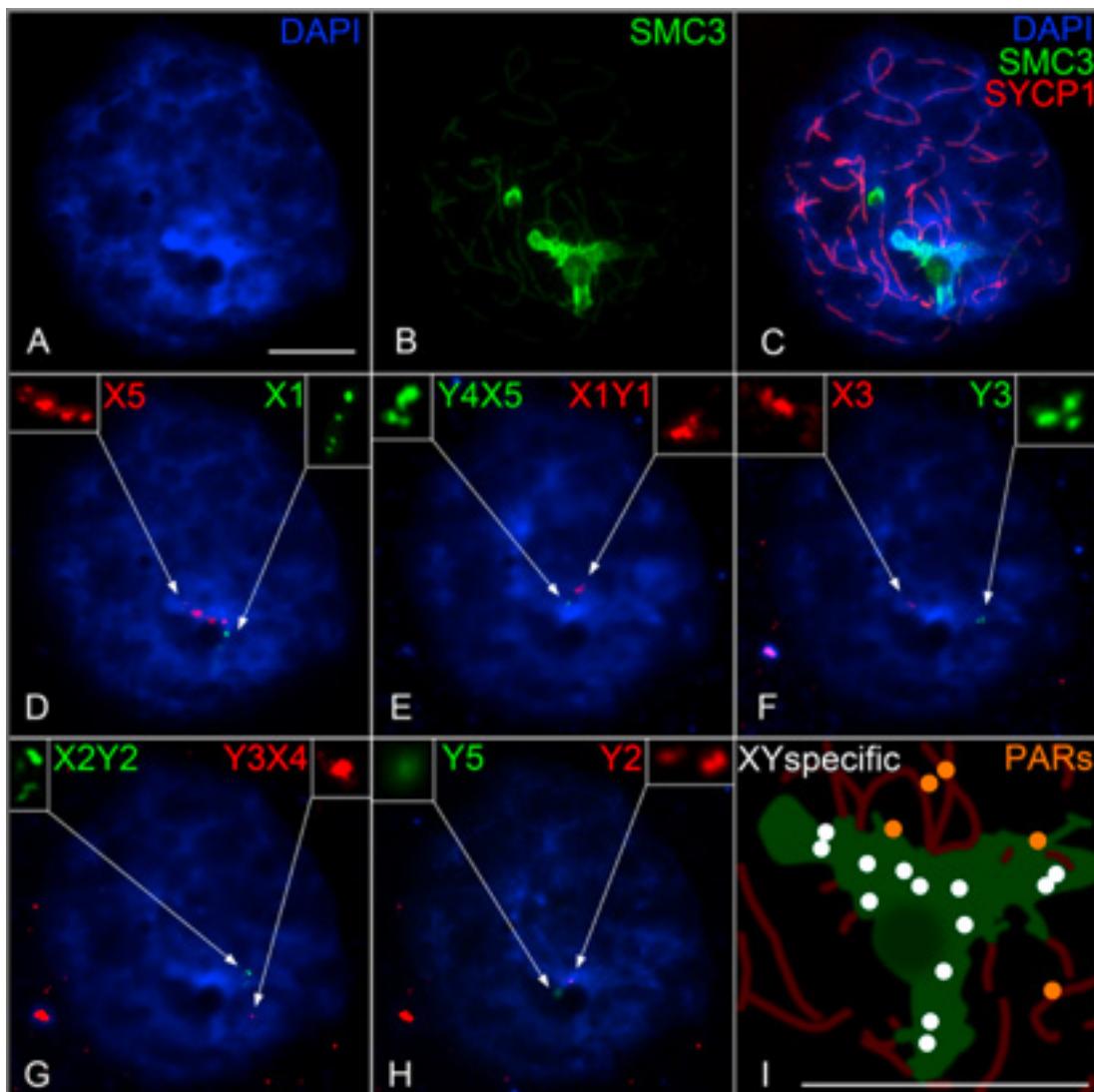


Figure 2

Sequential sex chromosome specific immuno-FISH on a Platypus "stage g" pachytene cell.

Rodrigo Bermejo Moreno

Científico Titular
rodrigo.bermejo@csic.es

MD, 2000 • Universidad Autónoma de Madrid (UAM)
PhD, 2003 • Universidad Autónoma de Madrid (UAM)
Postdoctoral researcher, 2003-2008
Research Unit leader, 2008-2011 • FIRC Institute of Molecular Oncology, Milan
Ramón y Cajal researcher, 2011
Científico Titular, 2014
Lab head, 2011-2015 • Instituto de Biología Funcional y Genómica (IBFG, CISC-USAL)
Lab head, 2015 • Centro de Investigaciones Biológicas (CIB, CISC)



Jose Arturo Calzada García

Científico Titular
arturo.calzada@csic.es



Otros miembros | Other members

Grazia Pellicanò

Sandra Tamargo



<https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/dna-replication-and-genome-integrity>

Replicación del ADN e Integridad del Genoma

La replicación es un proceso fascinante que permite a las células generar copias virtualmente idénticas de su material genético. Problemas durante la replicación pueden dar lugar a inestabilidad genómica ligada a enfermedades como el cáncer. Nuestro objetivo es comprender los mecanismos que protegen los cromosomas durante la replicación, para lo que utilizamos una aproximación multidisciplinar que combina genética, genómica y biología molecular.

La replicación puede ser peligrosa al tener lugar en estructuras especializadas, las horquillas de replicación, intrínsecamente frágiles y propensas a sufrir procesos de recombinación anómala. La progresión de las horquillas puede quedar atascada debido a inhibición de la síntesis de ADN o interferencia con procesos metabólicos del cromosoma. En estas situaciones las horquillas de replicación tienden a *desplomarse* y sufrir roturas en el ADN. Una reparación anómala de horquillas desplomadas, en particular en contextos de respuesta al daño inadecuada, da lugar a mutaciones y reordenamientos cromosómicos, características del proceso de transformación maligna.

El equipo persigue dos líneas de investigación principales. La primera se centra en los mecanismos moleculares que protegen la integridad de horquillas atascadas y preservan su capacidad para sintetizar ADN. Estudiamos el papel de ciertas actividad-

des nucleasa en la resección de intermediarios de replicación durante el atasco de las horquillas. Estas actividades median transiciones que previenen la formación de roturas en el ADN y reordenamientos de cromosomas. También nos centramos en el estudio del papel de factores organizadores de cromosomas, como el complejo cohesina, en el mantenimiento de la arquitectura del ADN en la horquilla y su asociación a la maquinaria replicativa para la protección de su integridad.

Una segunda línea se centra en la comprensión de cómo las células evitan el desplome de horquillas en interferencia con la maquinaria de transcripción génica. Este desplome se está revelando como una causa principal de daño en el ADN en células precancerosas. Estudiamos el papel de factores implicados en el procesamiento de ARNm en el control de la organización de cromatina transcrita. Analizamos cómo estos factores alivian estrés torsional en regiones de interferencia entre los dos procesos para prevenir la formación de estructuras anómalas que ponen en riesgo la progresión y estabilidad de horquillas.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Villa-Hernández S, Bermejo R [2018] Replisome-Cohesin Interfacing: A Molecular Perspective. *Bioessays* 40(10):e1800109.
- Villa-Hernández S, Bermejo R [2018] Cohesin dynamic association to chromatin and interfacing with replication forks in genome integrity maintenance. *Curr Genet* 64(5):1005-1013.
- Villa-Hernández S, Bueno A, Bermejo R [2017] The Multiple Roles of Ubiquitylation in Regulating Challenged DNA Replication. *Adv Exp Med Biol* 1042:395-419.
- Frattini C, Villa-Hernández S, Pellicanò G, Jossen R, Katou Y, Shirahige K, Bermejo R [2017] Cohesin Ubiquitylation and Mobilization Facilitate Stalled Replication Fork Dynamics. *Mol Cell* 68(4):758-772.e4.
- Ferrari E, Bruhn C, Peretti M, Cassani C, Carotenuto WV, Elgendi M, Shubassi G, Lucca C, Bermejo R, Varasi M, Minucci S, Longhese MP, Foiani M [2017] PP2A Controls Genome Integrity by Integrating Nutrient-Sensing and Metabolic Pathways with the DNA Damage Response. *Mol Cell* 67(2):266-281.



DNA Replication & Genome Integrity

DNA replication is a fascinating process allowing organisms to grow and propagate by generating virtually identical copies of their genetic material. However, problems during replication can generate genomic instability linked to human disease. Our main interest is to understand the mechanisms that protect chromosome integrity during replication. For this we employ a multidisciplinary approach combining genetics, genomics and molecular biology.

DNA replication has a dark side for the cell as it is carried out in specialized structures (replication forks) that are intrinsically fragile and prone to engage in unscheduled recombination events. Replication fork progression can stall when DNA synthesis is inhibited or when forks interfere with other chromosome metabolic processes (e.g. gene transcription or DNA repair). In these situations stalled forks tend to collapse and generate DNA breaks. Aberrant repair of such collapsed forks, particularly in the context of a defective cellular response to DNA damage, gives rise to mutations and chromosomal rearrangements, hallmarks of malignant transformation.

There are two main research projects in the laboratory. The first one focuses on

elucidating the molecular mechanisms that protect the integrity of stalled replication forks to preserve their ability to carry out DNA synthesis. We are interested in the contribution of several nuclease activities to the resection of replication intermediates upon fork stalling. These activities influence fork stability and mediate transitions at replication forks that determine the formation of DNA breaks and chromosomal rearrangements. We are also studying how chromosome-organizing factors, such as the cohesin complex, contribute to maintain the architecture of fork DNA and replication machineries to protect replication integrity.

A second project focuses on understanding how cells avoid fork collapse upon interference with gene transcription.

Fork collapse upon clashing with transcription has emerged as a major potential cause of DNA damage in precancerous cells. We are studying the role of factors involved in mRNA processing in handling the topology of transcribed chromatin. We are characterizing their ability to relieve torsional stress generated upon convergence of replication and transcription machineries and thus prevent the formation of aberrant structures that challenge fork progression and stability.

Financiación | Funding

- BFU2014-52529-R (MINECO) (2015-2017)
- BFU2017-87013-R (MINECO) (2018-2020)
- Beca Leonardo a Investigadores y Creadores Culturales 2018 (Fundación BBVA) (2018-2019)

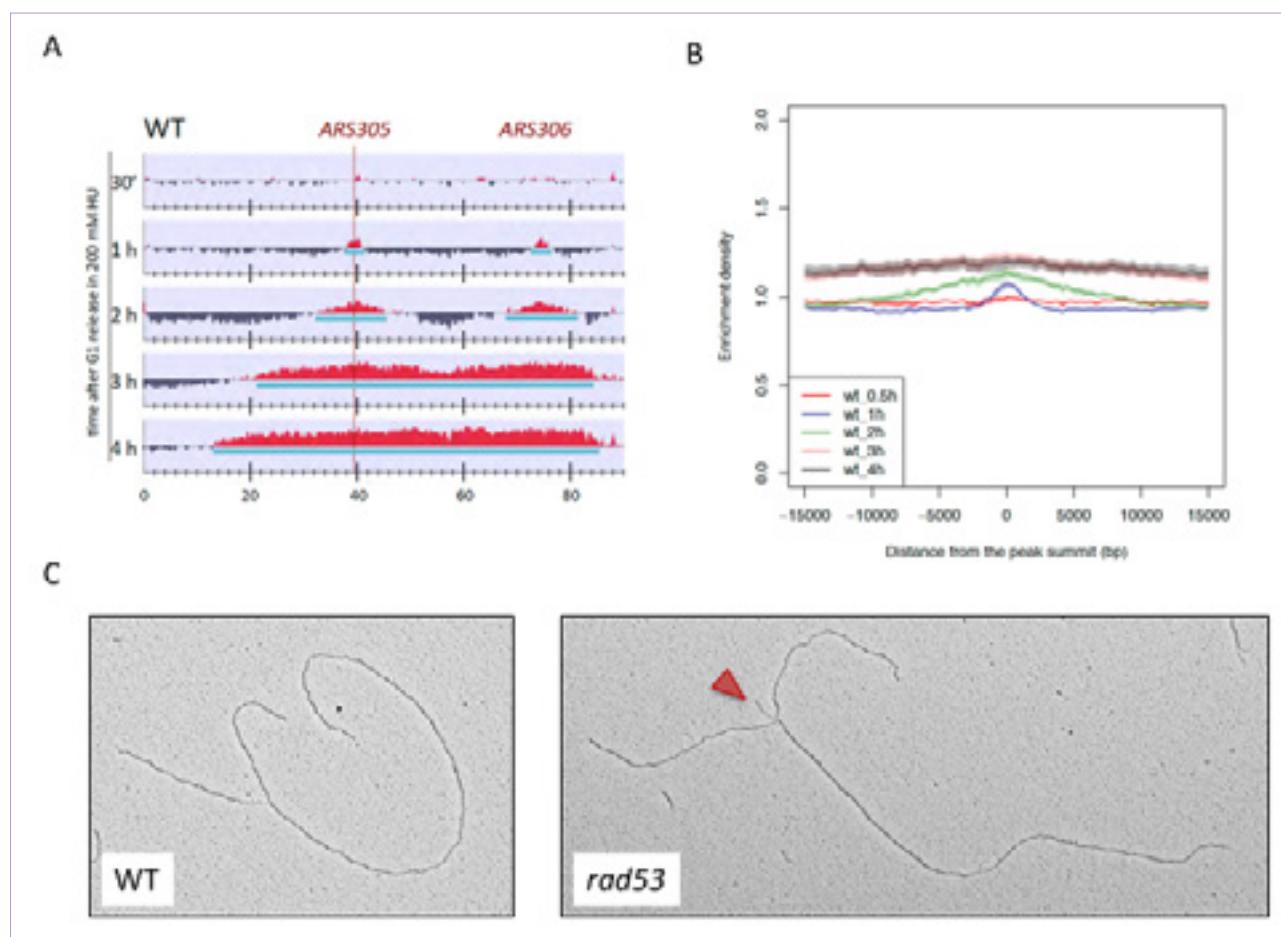


Figure 1

Monitoring replication fork progression and stability. (A) Comparative Genome Sequencing (GCS) profiles showing the progression of replication forks stalled with hydroxyurea (HU) along the left arm of budding yeast chromosome III. (B) Aggregated profiles showing averaged genome-wide stalled fork progression centered on early/efficient replication origins. (C) Visualization of replication intermediates at stalled and collapsed replication forks in wild type cells and (*rad53*) checkpoint mutants, respectively.

Miguel Ángel Vidal Caballero

Investigador Científico
mvidal@cib.csic.es



PhD, 1985 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1985-1989 • National Institute for Medical Research, MRC, UK
1989-1991 • CIEMAT, Madrid
Científico Titular, 1991
Jefe de Grupo, 1991
Investigador científico, 2008 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Sandra Serrano

Juan Daniel Gamonal

 <https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/epigenetic-control-polycomb-group-genes>

El Sistema Polycomb de Regulación Epigenética

Entre los principales sistemas de regulación epigenética, los genes del grupo Polycomb (PcG) son conocidos por sus funciones durante el desarrollo embrionario. Los productos PcG forman complejos modificadores de cromatina con impacto en la expresión de genes, funciones también esenciales en la renovación de tejidos adultos. Nuestro estudio se centra en la actividad de los complejos Polycomb PRC1 en el compartimento hematopoyético normal y malignizado.

Los productos del grupo de genes Polycomb forman complejos multiproteicos que actúan como modificadores de cromatina. Aunque característicamente relacionados con la represión transcripcional de genes relevantes en desarrollo, los complejos Polycomb (PRC) también son reguladores importantes de la homeostasis de tejidos adultos. Nuestro trabajo se centra en los complejos tipo PRC1, aquellos con capacidad para modificar la histona H2A (monoubiquitinación) y de participar en funciones de compactación de cromatina.

El módulo con actividad ubiquitina ligasa presente en todos los complejos PRC1 es un heterodímero de dos proteínas finger RING, una de las cuales es RING1A o su parálogo RING1B. Estas proteínas

fueron identificadas en el laboratorio, así como RYBP que, junto con su parálogo YAF2, está presente en todos los complejos PRC1 de tipo no canónico. Utilizando modelos genéticos (ratones y células derivadas de ellos) estudiamos qué papeles desempeñan los distintos complejos PRC1 en procesos de autorenovación y diferenciación de progenitores en condiciones fisiológicas, así como cuando están perturbados en situaciones tumorales.

En general, los componentes PRC1 participan en funciones compatibles con la promoción de proliferación y viabilidad de células inmaduras. Hemos visto que, además de la represión directa de reguladores negativos de ciclo celular, también participan en la respuesta de daño a DNA. En la médula ósea, donde se generan las células sanguíneas, hemos observado expansión y contracción de poblaciones de células inmaduras, según el componente PRC1 inactivado. Seguramente, la diversidad fenotípica refleja la heterogeneidad de tipos celulares afectados, así como la complejidad de vías reguladoras implicadas. Recientemente, hemos empezado a investigar funciones de productos PRC1 en el inicio y mantenimiento de tipos celulares hematopoyéticos inmortalizados, usando modelos ex-vivo de procesos tumorales y no tumorales. Esperamos que el uso, en ensayos de complementación, de variantes de proteínas RING1 y RYBP permita empezar a entender mecanísticamente su participación en las distintas funciones. Así mismo, utilizando inicialmente tipos celulares expandidos in vitro, estudiamos cómo los distintos complejos PRC1 se ensamblan a partir del conjunto compartido de subunidades.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Vidal M, Starowicz K [2017] Polycomb complexes PRC1 and their function in hematopoiesis. *Exp Hematol* 48:12-31.
- Santofimia-Castaño P, Rizzuti B, Pey AL, Soubeyran P, Vidal M, Urrutia, R, Iovanna JL, Neira JL [2017] The Intrinsically Disordered Chromatin Protein NUPR1 Binds to the C-terminal Region of Polycomb RING1B. *Proc Natl Acad Sci USA* 114:E6332-E6341.
- Maezawa S, Hasegawa K, Yukawa M, Sakashita A, Alavattam KG, Andreassen PR, Vidal M, Koseki H, Barski A, Namekawa SH [2017] Polycomb directs timely activation of germline genes in spermatogenesis. *Genes Dev* 31:1693-1703.
- Spaepen F, Eijssen LMT, Adriaens ME, Welting TJ, Prickaerts P, Salvaing J, Dahlmans V, Surtel DAM, Kruit F, Kuijer R, Takihara Y, Marks H, Stunnenberg HG, Wouters BG, Vidal M, Voncken JW [2017] PRC1 Prevents Replication Stress during Chondrogenic Transit Amplification. *Epigenomes* 1:22.
- Yakushiji-Kaminatsu N, Kondo T, Hironaka K, Sharif J, Endo TA, Nakayama M, Masui O, Koseki Y, Kondo K, Ohara O, Vidal M, Morishita Y, Koseki H [2018] Variant PRC1 competes with retinoic acid-related signals to repress Meis2 in distal forelimb bud. *Development* 145(19) doi: 10.1242/dev.166348.

Financiación | Funding

- SAF2016-80486-P (MINECO)



Epigenetic Control by the Polycomb Group of Genes

Among the major systems of epigenetic regulation, the Polycomb group (PcG) of genes is well known for their activities in embryonic development. Chromatin modification by protein complexes formed by the assembly of PcG products is also an essential function in the regulation homeostasis of adult tissues. We are focused on the activities of the PRC1 subset of Polycomb complexes in normal and malignant hematopoiesis.

The products of the Polycomb group of genes assemble into a variety of multiprotein complexes that act as chromatin modifiers. Typically related to transcriptional control of gene expression, usually - but not exclusively - through its repression, Polycomb complexes (PRC) are influential in the regulation of adult tissue homeostasis. Our work focuses on the PRC1 family of Polycomb complexes, known to be involved in histone H2A monoubiquitylation and chromatin compaction.

The ubiquitin ligase module present in all PRC1 complexes is a heterodimer, one of whose partners is any of the RING1A-RING1B paralogs. These RING finger proteins were originally identified in the lab, as RYBP, which together with

its paralog YAF2, define the subset of functionally distinct non-canonical PRC1 complexes. Our work aims to characterize the roles of PRC1 complexes in self-renewal and differentiation in normal and aberrant conditions. We use genetically modified mouse lines and cells derived from them in select experimental models.

Usually, PRC1 components promote proliferation/survival. An extreme manifestation of their activity is seen in the abrupt proliferative arrest of cells under the compound inactivation of Ring1A and Ring1B. We have seen that this is not due only to direct upregulation of cell cycle inhibitors, but also the consequence of the activation of DNA damage signaling pathways. Pools of progenitors of blood

cells, in the bone marrow, undergo distinct expansions or contractions with the inactivation of one or another PRC1 component. This probably reflects the heterogeneity of cell types affected and the intricacies of pathways involved. Recently, we have set out to investigate functions of these PRC1 products in the initiation and the maintenance of immortalized states in cellular models of tumoral and non-tumoral leukemic processes. It is expected that complementation assays using variants of the RING1 and RYBP proteins assist in the mechanistic dissection of their various functions. Likewise, using these and other cell types we are interested in the study of the assembly of PRC1 subunits out of the intracellular pool of coexisting individual subunits.

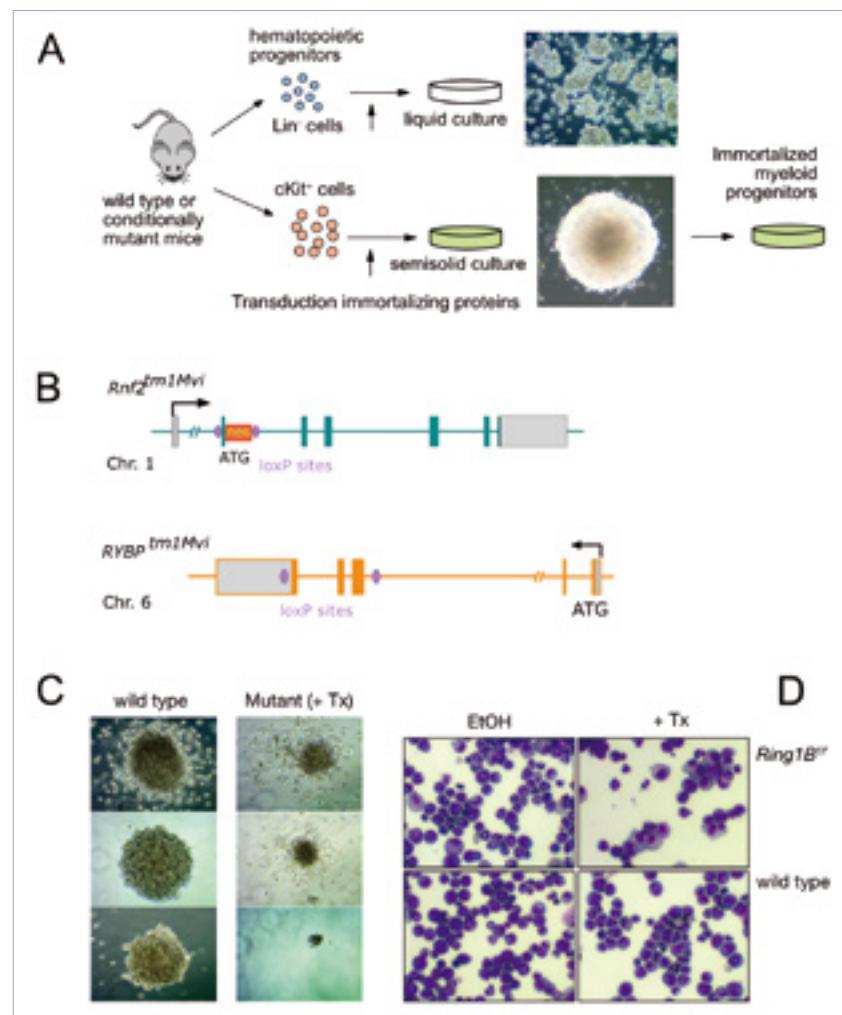


Figure 1

Ex-vivo model to study PRC1 functions in pre-neoplastic and tumoral hematopoietic immortalization. A, progenitors transduced to force expression of proteins that arrest their differentiation, thus resulting in immortal myeloid derivatives. B, schematic representation of the alleles generated in the lab. C, antiproliferative response to RING1B inactivation in representative colonies grown in semisolid media. D, Differentiation appreciated by the presence of cell types with enlarged cytoplasm in Giemsa-stained preparations.

José Luis Rodríguez Fernández

 Investigador Científico
 rodrifer@cib.csic.es


MSc (Life Sciences), 1989
 PhD (Life Sciences), 1993 • The Weizmann Institute of Science, (Rehovot, Israel)
 Postdoctoral, 1994-1997 • Imperial Cancer Research Fund (Londres, UK)
 Contrato de Reincorporación, 1997-2001 • Universidad Complutense, Madrid
 Contratado FIS, 2001-2003 • Hospital Gregorio Marañón, Madrid
 Ramón y Cajal program, 2003-2006 • CIB-CSIC
 Científico Titular, 2006-2010 • CIB-CSIC
 Investigador Científico, 2010 • CIB-CSIC

Otros miembros | Other members

 Olga Criado García
 Carolina Gómez Moreira

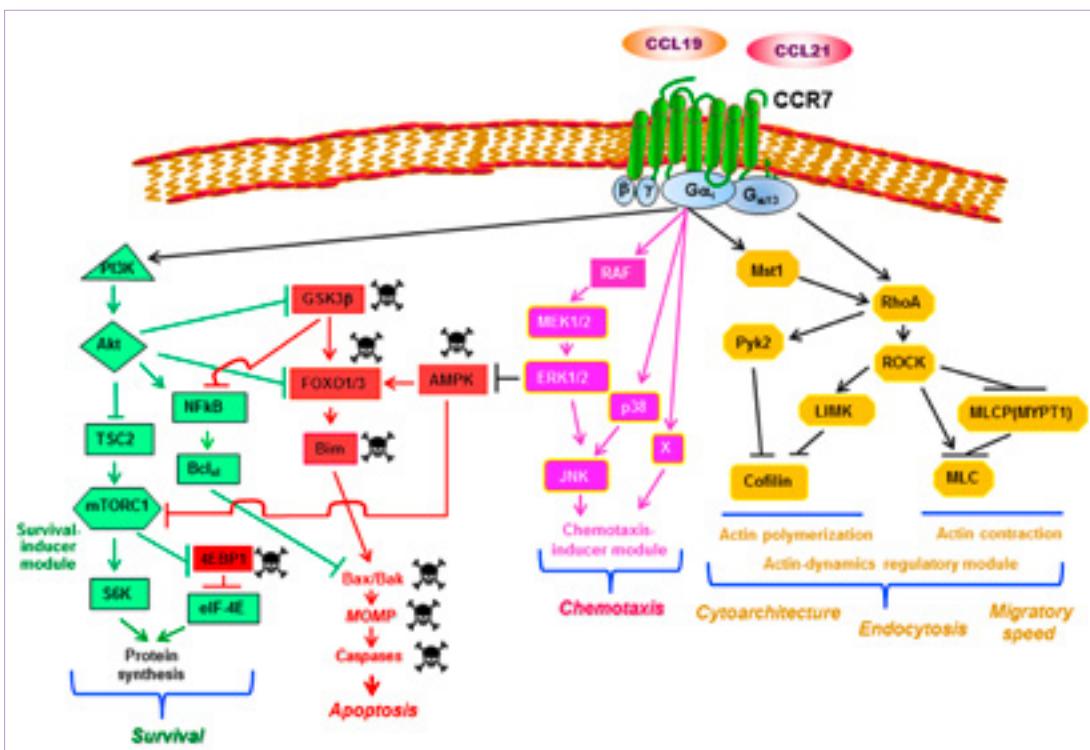
<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-celular-y-molecular/funciones-de-los-receptores-quimiotácticos-y-la-sinapsis>

Funciones de los Receptores Quimiotácticos y de la Sinapsis Inmunológica de las Células Dendríticas

En nuestro grupo estudiamos los mecanismos moleculares mediante los cuales el receptor de quimoquinas CCR7 y la sinapsis inmunológica modular las funciones de las células dendríticas (CDs). También analizamos el papel de la sinapsis inmunológica en la artritis reumatoide.

Las células dendríticas maduras (CDm) son responsables de la activación de las células T en los ganglios linfáticos (GL), un paso clave en la respuesta inmune adaptativa. Las CDm se dirigen a los GL guiadas por el receptor de quimoquinas CCR7, que reconoce los ligandos CCL19 y CCL21. Estas quimoquinas se expresan en los vasos linfáticos (CCL21), los conductos a través de los cuales las CDm migran a los GL y también en los mismos ganglios (CCL19, CCL21). Para activar a las células T, se requiere que se forme una compleja estructura molecular denominada sinapsis inmunológica (SI) en la zona de contacto entre la CDm y la célula T. La SI incluye estructuras moleculares tanto en el lado de la célula T como en el lado de la CDm. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre

la SI se han centrado en el lado de las células T y son escasos los estudios que analizan el lado de las CDm. CCR7 y la IS controlan las funciones de las CDm, aunque la información disponible sobre los mecanismos involucrados en estos procesos es escasa. La información que pueda obtenerse sobre estos mecanismos puede ser útil para el desarrollo de estrategias para modular la respuesta de las CDm durante múltiples procesos en los que participan estas células durante la respuesta inmune. En nuestro grupo estudiamos los mecanismos moleculares utilizados por CCR7 y la SI para controlar las funciones de las CDm, tanto en condiciones normales como en enfermedades autoinmunes, usando en este caso como modelo de enfermedad la artritis reumatoide.


Figure 1

Signaling molecules regulating the functions of the chemokine receptor CCR7 in dendritic cells.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Gómez-Cabañas L, López-Cotarelo P, Criado-García O, Murphy MP, Boya P, Rodríguez-Fernández JL [2019] Immunological synapse formation induces mitochondrial clustering and mitophagy in dendritic cells. *J Immunol* 202:1715-1723.
- Buxadé M, Huerga Encabo H, Riera-Borrull M, Quintana-Gallardo L, López-Cotarelo P, Tellechea M, Martínez-Martínez S, Redondo JM, Martín-Caballero J, Flores JM, Bosch E, Rodríguez-Fernández JL, Aramburu J, López-Rodríguez C [2018] Macrophage-specific MHCI expression is regulated by a remote Ciita enhancer controlled by NFAT5. *J Exp Med* 215:2901-2918.
- Martínez-Muñoz L, Villares R, Rodríguez-Fernández JL, Rodríguez-Frade JM, Mellado MU [2018] Remodeling our concept of chemokine receptor function: From monomers to oligomers. *J Leukoc Biol* 104:323-331.

- Beceiro S, Pap A, Czimmerer Z, Sallam T, Guillén JA, Gallardo G, Hong C, A-González N, Tabraue C, Díaz M, López F, Matalonga J, Valledor AF, Domínguez P, Ardavin C, Delgado-Martín C, Partida-Sánchez S, Rodríguez-Fernández JL, Nagy I, Tontonoz P, Castrillo A [2018] LXR nuclear receptors are transcriptional regulators of dendritic cell chemotaxis. *Mol Cell Biol* pii: MCB.00534-17.

Financiación | Funding

- SAF2017-83306-R (MINECO)
- RD16/0012/0007 (ISCIII)

Functions of Chemotactic Receptors and the Immunological Synapse of Dendritic Cells

We study the molecular mechanism whereby the chemokine receptor CCR7 and the immunological synapse control the functions of dendritic cells (DCs). We also analyze the role of the immunological synapse in rheumatoid arthritis.

Mature dendritic cells (mDCs) are responsible for the activation of T cells in the lymph nodes (LN), a key step during the adaptive immune response. mDCs migrate to the lymph nodes (LN) guided by the chemokine receptor CCR7, which recognizes the chemokines CCL19 and CCL21. These chemokines are expressed in the lymphatic vessels (CCL21), the conduits through which the mDCs migrate to the LN and also in the same LN (CCL19, CCL21). To activate the T cells, a complex molecular structure called immunological synapses (IS) should be formed at the zone of contact between a mDC and a T cell. The IS includes molecular structures both at the T cell and the mDC side. However, most studies on the IS have focused on the T cell side and less is known on the DC side of this structure. CCR7 and the IS can control the functions of the mDCs, although the information available on the mechanisms involved in these processes is sparse. Getting insight on these mechanisms

can be useful to develop strategies to modulate the response of the mDCs in the immune system. In our group we study the molecular mechanisms used by CCR7

and the IS to control the functions of the mDCs in health and during autoimmune processes, using rheumatoid arthritis as a model of disease.

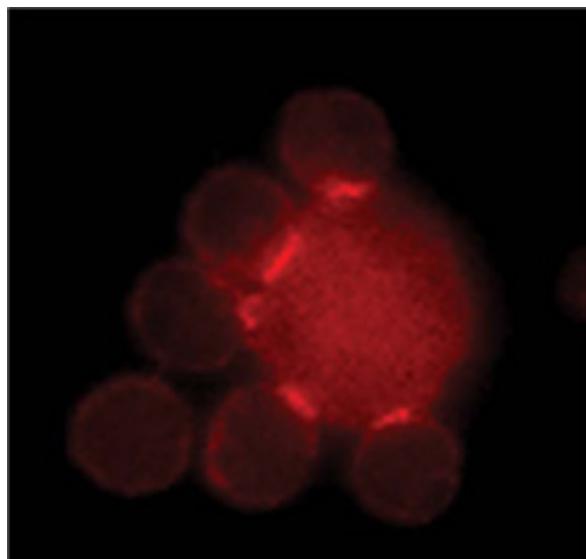


Figure 2

A dendritic cell forming immunological synapses with several T cells.



Vicente E. Larraga Rodríguez de Vera

Profesor de Investigación.
Doctor vinculado Ad Honorem
vlarraga@cib.csic.es



PhD, 1974 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1974-1975 • Universidad Hebreo e Instituto Weizman de Israel
1977-1978 • John's Hopkins University, USA
1994 • New York University
Científico Titular, 1975
Jefe de grupo, 1980
Investigador Científico, 1987
Profesor de Investigación, 1992
Director del CIB, 2004-2012
Vicepresidente del CSIC, 1987-1991

Otros miembros | Other members

Ana M.ª Alonso Ayala
Pedro J. Alcolea Alcolea

Luis Telles de Carvalho Martins
Jaime Larraga Criado



<https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/laboratory-molecular-parasitology>

Parasitología Molecular

El grupo se dedica al estudio de la expresión génica diferencial aplicado a la selección de moléculas candidatas como vacunas o dianas terapéuticas frente a la leishmaniasis, incluyendo el contenido de los exosomas. Se ha desarrollado una vacuna protectora frente a la enfermedad.

La línea principal del Laboratorio de Parasitología Molecular es el estudio de la expresión génica diferencial aplicado a la selección de moléculas candidatas como vacunas o dianas terapéuticas frente a la leishmaniasis. Se ha estudiado la expresión génica diferencial de los estadios principales (promastigote y amastigote) de diferentes especies de *Leishmania* tanto en cultivo axénico como en el microambiente natural (el tubo digestivo del flebotomo y el interior de los fagocitos del hospedador mamífero, respectivamente). Así, se han estudiado los niveles de proteínas en aislados resistentes y sensibles al óxido nítrico. Los promastigotes son más infectivos en el tubo

digestivo del vector que en cultivo axénico, y sobreexpresan la mayor parte de los genes que codifican la familia de las metaloproteasas de superficie gp63 y de los genes de autofagia, así como la proteína del vástago paraflagelar 1D y un cluster de genes de proteínas asociadas a microtúbulos. Además, se está caracterizando el contenido de los exosomas secretados por los promastigotes y los amastigotes (Figs. 1 y 2). Entre las proteínas detectadas se encuentran la histidina fosfatasa ácida secretada, la metalo-peptidasa, Clan MA(M), Familia M8 (gp63) y la β -tubulina. Se está determinando el contenido de los exosomas producidos por las fases más infectivas para proceder a la identificación de tránscritos y proteínas presentes en estas fases del parásito. Por último, se ha completado la fase experimental de la evaluación de la protección de la vacuna de tercera generación basada en el gen LACK, que ha mostrado efectividad frente a la leishmaniasis canina en términos de reducción de la carga parasitaria ($\geq 60\%$). Actualmente, se está desarrollando la prueba de campo. Esta vacuna se ha desarrollado con un nuevo vehículo plasmídico denominado pPAL (patente licenciada en la UE y en USA), que no es dependiente de la selección por resistencia a antibióticos, lo que es imprescindible para su uso.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Alcolea PJ, Alonso A, Baugh L, Paisie C, Ramasamy G, Sekar A, Sur A, Jiménez M, Molina R, Larraga V, Myler PJ [2018] RNA-Seq analysis reveals differences in transcript abundance between cultured and sand fly-derived *Leishmania infantum* promastigotes. *Parasitol Int* 67:476-480.
- Requena JM, Alcolea PJ, Alonso A, Larraga V [2018] Omics approaches for understanding gene expression in *Leishmania*: clues for tackling leishmaniasis. Pages: 77-112. In: *Protozoan Parasitism: From Omics to Prevention and Control*. Eds: de Pablos LM, Morales JM. Caister Academic Press.
- Alonso A, Larraga V, Alcolea PJ [2018] The contribution of DNA microarray technology to gene expression profiling in *Leishmania* spp.: A retrospective view. *Acta Trop* 187:129-139.
- Alcolea PJ, Alonso A, Larraga V [2018] Guide RNA genes up-regulated in *Leishmania infantum* metacyclic promastigotes. *Acta Trop* 187:72-77.
- Alcolea PJ, Alonso A, Larraga V [2019] The antibiotic resistance-free mammalian expression plasmid vector pPAL for development of third generation vaccines. *Plasmid* 101:35-42.

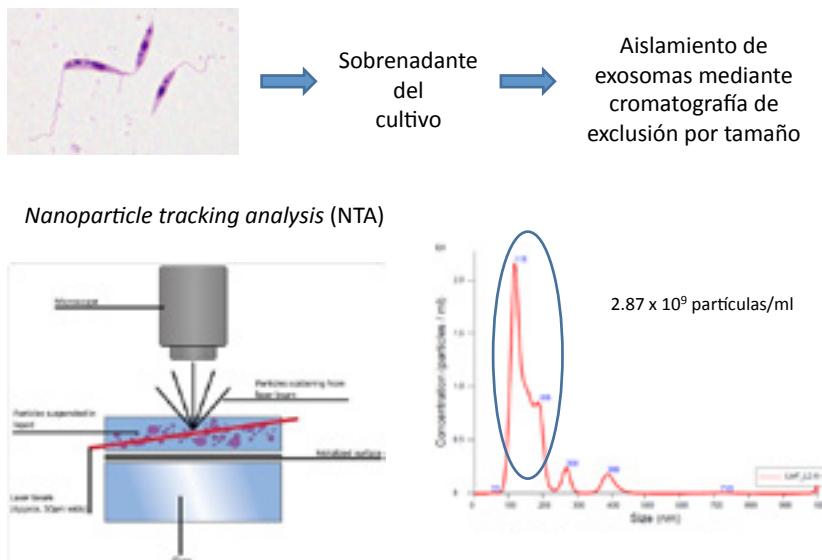
Patentes | Patents

- Pedro J. Alcolea, Ana M. Alonso, Vicente Larraga. "Molecular adjuvant and vaccine", pat USA 2018, 15/575,910
- EURO-PCT 16725105.7-1111/European publication number 3297666

Financiación | Funding

- Fundación Ramón Areces. (2018-2020)
- Contrato con la empresa CZVeterinaria (2017-2019)



**Figure 1**

Exosome obtention and purification from *Leishmania infantum* promastigotes in axenic culture.

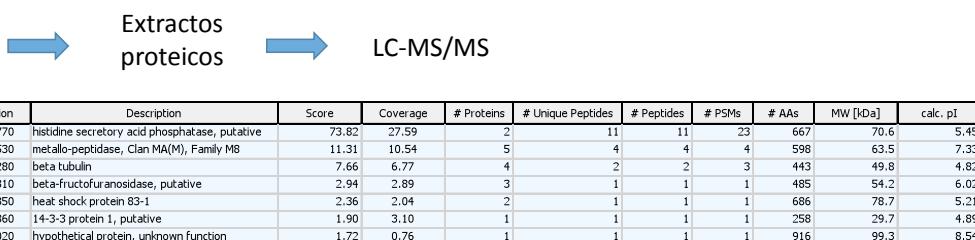
Molecular Parasitology

The group is devoted to the study of differential gene expression applied to the selection of vaccine and therapeutic target candidate molecules against leishmaniasis, including exosome cargo. A protective vaccine has been developed.

The main research line of the Laboratory of Molecular Parasitology is gene expression profiling applied to the selection of vaccine and therapeutic target candidate molecules. Differential gene expression of the main *Leishmania spp.* life cycles stages (promastigote and amastigote) has been studied in axenic culture and in the natural microenvironment (i.e., sand fly gut and mammalian host's phagocytes, respectively). For example, protein levels have been studied in nitric oxide sensitive and resistant isolates. Promastigotes are

more infective when developed in the sand fly gut than in culture, and up-regulate most genes encoding for the gp63 metalloprotease family and autophagy genes, as well as the paraflagellar rod protein 1D and a microtubule-associated protein gene cluster. Additionally, the cargo of exosomes secreted by promastigotes and amastigotes is being characterized (Figs 1 and 2). Among them, we have found the secreted acid histidine phosphatase, the metallo-peptidase, Clan MA(M), Family M8 (gp63) and the β -tubulin. The content of

exosomes produced by the infective stages is being studied for transcript and protein identification. Finally, the experimental stages of vaccination trials based on the LACK gene have shown protection against canine leishmaniasis in terms of parasite burden decrease ($\geq 60\%$). A field trial is currently being carried out. The vaccine has been developed using a new antibiotic resistance-free plasmid vehicle called pPAL (licensed patents in the EU and the USA), which is essential for its usage.



Histidine acid secretory phosphatase (SACP)

L. donovani secreta gran cantidad de SACP en promastigotes y amastigotes, a diferencia de otras especies como *L. major*. No había sido detectada previamente en exosomas, a pesar de que se ha hallado en el citoplasma de macrófagos infectados. Su función exacta es desconocida (revisado por Soulard y Bogdan, 2017).

Metallo-peptidase, Clan MA(M), Family M8 (gp63)

Secretada en exosomas de *L. major* y *L. donovani* (Silverman et al., 2010; Kulkarni et al., 2006; Joshi et al., 2002). Aumenta la resistencia de los promastigotes a la lisis mediada por el sistema del complemento (inactiva C3b).

Figure 2

Protein determination from exosomes cargo obtained from *Leishmania infantum* promastigotes in axenic culture.

Jesús del Mazo Martínez

Investigador Científico
jdelmazo@cib.csic.es



PhD, 1978 • Universidad Complutense de Madrid.
Research Associated 1987-1989 • California Institute of Technology, CALTECH, Pasadena, California, USA
Profesor Honorífico, 2006 • Universidad de Valparaíso, Chile
Miembro, 2009- presente • Scientific Advisors on Risk Assessment and Public Health, EC
Miembro, 2018- presente • Panel BIOCONTAM de la EFSA (European Food Safety Authority)
Científico Titular, 1981
Jefe de Grupo 1984
Investigador Científico, 2006 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Odei Barreñada Taleb
Eduardo Larriba Tornel

Daniel Fernández Pérez
Javier Isoler Alcaraz

[http://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-cellular-y-molecular/
biologia-molecular-de-la-gametogenesis](http://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-cellular-y-molecular/biologia-molecular-de-la-gametogenesis)

Biología Molecular de la Gametogénesis

Hemos continuado el análisis de la regulación de la expresión génica durante el desarrollo y diferenciación de las células germinales de ambos sexos en mamíferos, mediada por RNAs pequeños no-codificantes (sncRNAs) (microRNAs, piRNAs...). Los efectos genéticos y epigenéticos de contaminantes ambientales sobre tal regulación se ha evaluado en células germinales embrionarias (PGCs), su consecuencia en adulto y su transmisión transgeneracional.

La diferenciación de las células germinales en mamíferos se inicia en las primeras etapas embrionarias del desarrollo. En ratón, usado como modelo experimental, el periodo de desarrollo entre 11 y 13 días postcoitum (pc.) es clave para las diferencias entre ambos sexos. Desequilibrios en la regulación génica que controla este proceso tienen consecuencias en la funcionalidad gamética de los adultos, pudiendo generar patologías gonadales y en el desarrollo embrionario post-fecundación. Entre los múltiples elementos reguladores de tal expresión génica parece claro el papel que tienen los RNAs pequeños no-codificantes (sncRNAs): (miRNA, piRNAs, endo-siRNAs, snoRNAs...).

Nuestro interés está centrado en caracterizar la biogénesis e interacciones de tales sncRNAs con elementos del transcriptoma en la línea germinal, su papel en el complejo proceso gametogénico en ambos sexos. Para ello, analizamos mediante metodologías celulares y moleculares la regulación funcional de diversos sncRNAs tanto en células germinales primordiales (PGCs) como en procesos post-meiotícos hasta la formación de gametos viables y embriones preimplantacionales. El análisis mediante secuenciación masiva de sncRNAs en períodos definidos de la gametogénesis está siendo clave en tal estudio comparativo. Además, hemos iniciado modelos *in vitro* de gametogénesis que permitan interactuar en el análisis experimental y facilitar el conocimiento de los mecanismos en los que median los sncRNAs y sus potenciales patologías conducentes a infertilidad.

Por ello, directamente relacionado con la evaluación de los efectos de compuestos contaminantes ambientales (individualmente y en mezclas), del tipo de disruptores endocrinos, que se han asociado epidemiológicamente al descenso y alteraciones de la fertilidad en humanos y animales. Igualmente, estamos evaluando en este contexto el efecto epigenético que pueden tener, especialmente miRNAs y piRNAs, en la transmisión transgeneracional conducente a dichas patologías.

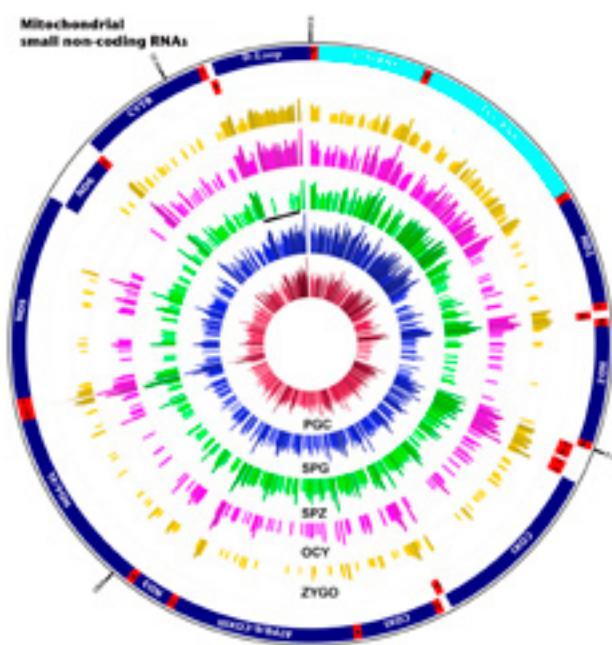


Figure 1

Circular representation of sncRNAs sequence coverages in the mitochondrial genome of male PGCs (PGC), spermatogonia (SPG), spermatozoa (SPZ), oocytes (OCY) and zygotes (ZYGO), obtained after bioinformatics analysis from NGS data. Annotation of the mitochondrial genes (dark blue), the rRNA (light blue) and tRNA (red). The radial bars represent the log transformation of the sncRNA read coverage (see *BMC Genomics* [2018] 19:634).



Molecular Biology of Gametogenesis

We have made progress in the analysis of the regulation of gene expression during the development and differentiation of germ cells of both sexes in mammals, mediated by small non-coding RNAs (sncRNAs) (microRNAs, piRNAs...). The genetic and epigenetic effects of environmental contaminants on such regulation have been evaluated on embryonic germ cells (PGCs), their consequences in adults and their transgenerational transmission.

The differentiation of germ cells in mammals starts in the early embryonic stages of development. In mouse, used as an experimental model, the developmental period between 11 to 13 days postcoitum (pc.) is crucial for the differences between both sexes. Imbalances in the gene regulation that controls this process can have consequences in the functionality of the gametes in adults, being able to generate gonadal and post-fertilization pathologies in the embryonic development. Among the multiple regulatory elements of such gene expression, the role of small non-coding RNAs (sncRNAs): (miRNA, piRNAs, endo-siRNAs, snoRNAs...) appears clear.

Our interest is focused on characterizing the biogenesis and interactions of such sncRNAs with elements of the transcriptome in the germ line, as well as its role in the complex gametogenic process in both sexes. To do this, we analysed the functional regulation of various sncRNAs through cellular and molecular methodologies, both in primordial germ cells PGCs and in post-meiotic processes until the formation of viable gametes and preimplantation embryos. The analysis by next generation sequencing (NGS) of sncRNAs in defined periods of gametogenesis is being key in such a comparative study. Besides, we have initiated in vitro models of gametogenesis that allow us to interact in the experimental analysis facilitating the knowledge of the mechanisms in

which sncRNAs mediate as well as their participation in potential pathologies leading to infertility.

All of this is directly related to the evaluation of the effects of environmental contaminating compounds (individually and in mixtures), of the type of calls endocrine disruptors, which have been epidemiologically associated with the decrease and alterations of fertility

in humans and animals. Likewise, we are evaluating in this context the epigenetic effect that may have, especially miRNAs and piRNAs, in the transgenerational transmission leading to such pathologies.

Financiación | Funding

- BFU2013-42164-R MINECO
- BFU2017-87095-R MICINN

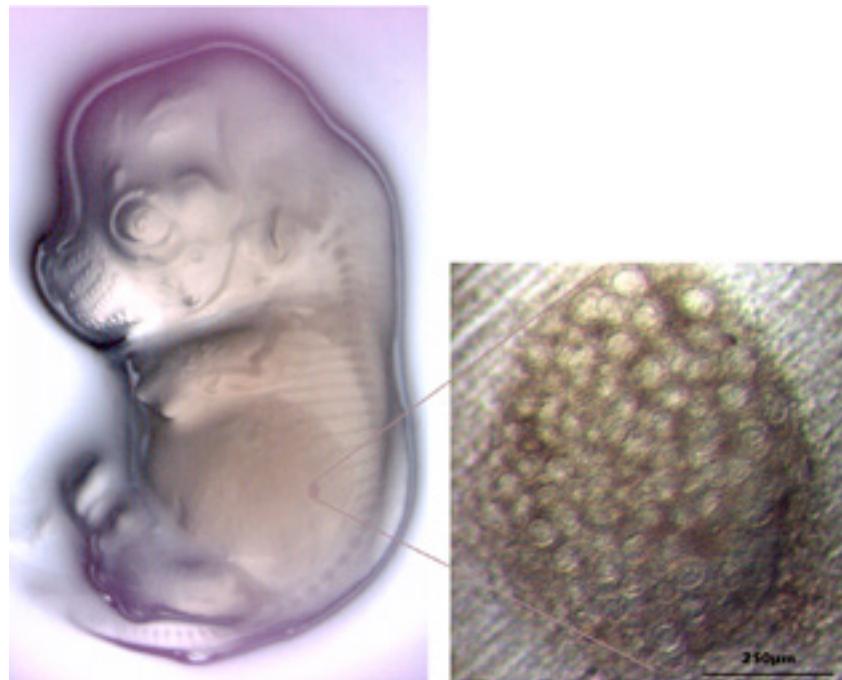


Figure 2

In vitro differentiation of primary follicles from PGCs of 13.dpc mouse female (left).

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Buñay J, Larriba E, Moreno R, del Mazo J [2017] Chronic low-dose exposure to a mixture of environmental endocrine disruptors induces microRNAs/isomiRs deregulation in mouse concomitant with intratesticular estradiol reduction. *Sci Rep* 7:3373.
- Isoler-Alcaraz J, Fernández-Pérez D, Larriba E, del Mazo J [2017] Cellular and molecular characterization of gametogenic progression in ex vivo cultured prepuberal mouse testes. *BMC Reprod Biol Endocrinol* 15:85.
- Buñay J, Larriba E, Patiño D, Cruz-Fernandes L, Castañeda S, Morales C, del Mazo J*, Moreno RD* (*equal contribution) [2018] Differential effects of exposure to single versus a mixture of endocrine-disrupting chemicals on steroidogenesis pathway in mouse testes. *Toxicol Sci* 161:76-86.
- Fernández-Pérez, D, Brieño-Enríquez MA, Isoler-Alcaraz J, Larriba E, del Mazo J [2018] MicroRNA dynamics at the onset of primordial germ and somatic cell sex differentiation during mouse embryonic gonad development. *RNA* 24:287-303.
- del Mazo J, Brieño-Enríquez MA, Larriba E [2018] A human mutated gene is guillotining spermatozoa. *Translation Cancer Research*. 7 (Suppl 4):S466-S468.
- Larriba E, del Mazo J [2018] An integrative piRNA analysis of mouse gametes and zygotes reveals new potential origins and gene regulatory roles. *Sci Rep* 8:12832.
- Larriba E, Rial E, del Mazo J [2018] The landscape of mitochondrial small non-coding RNAs in the PGCs of male mice, spermatogonia, gametes and in zygotes. *BMC Genomics* 19:634.
- Moreno RD, Buñay J, Larriba E, del Mazo J [2018] Combined proteomic and miRNome analyses of mouse testis exposed to a mixture of endocrine disruptors chemicals reveal altered toxicological pathways involved in male. *Andrology*, 6 (Suppl. 2):41-42.
- García-López J, Larriba E, del Mazo J [2018] Detection and characterization of small non-coding RNAs in mouse gametes and embryos prior to zygotic genome activation. In: *Zygotic Genome Activation: Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology*. Editor: Kiho Lee. Springer. New York, U.S.A. Chapter 7 pp. 105-120.

Jorge Bernardo Schwartzman Blinder

Profesor de Investigación.
Doctor vinculado *Ad Honorem*
schwartzman@cib.csic.es



PhD, 1979 • Universidad Politécnica de Madrid, España
Postdoctoral, 1980-1982 • Brookhaven National Laboratory, New York (USA)
Fullbright Fellow, 1987-1989 • Albert Einstein College of Medicine, New York (USA)
Científico Titular, 1985
Investigador Científico, 2002
Profesor de Investigación, 2007 • CIB, CSIC

Dora Beatriz Krimer Smunis
Científica Titular
dbkrimer@cib.csic.es



Pablo Hernández Valenzuela
Investigador Científico
p.hernandez@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Jesús A. Carballo
Vanessa Fernández Calleja
Alicia Castán García

David Álvarez Melo
Alicia Rodríguez Bernabé



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-cellular-y-molecular/biologia-molecular-de-los-cromosomas>

Biología Molecular de los Cromosomas

Nos interesan la interrelación y coordinación de los procesos biológicos en los que está involucrado el ADN durante la proliferación y la meiosis: replicación, transcripción, reparación y recombinación, cómo están regulados y cómo modifican o son afectados por factores genéticos, epigenéticos y ambientales como la topología del ADN, la organización de la cromatina y el estrés nutricional.

En eucariotas los genes ribosómicos (rDNA) están repetidos en tandem. Cada repetición tiene una unidad transcrita y un espaciador no transcrita. En *Saccharomyces cerevisiae* las horquillas de replicación que progresan contra la transcripción se detienen en sitios específicos llamados barreras polares de la replicación (rRFBs) en la región no transcrita cerca del extremo 3' de la unidad transcrita. El bloqueo requiere la unión al ADN de la proteína Fob1. Utilizamos la electroforesis bidimensional en geles de agarosa para identificar y cuantificar las horquillas detenidas en las rRFBs en minicromosomas circulares. Los resultados obtenidos indican que secuencias vecinas y la abundancia de la proteína Fob1 modulan la eficacia de las rRFBs para bloquear el progreso de las horquillas de replicación.

Los virus SV40 y EBV se utilizan como modelos para estudiar la replicación del ADN. Ambos son genomas circulares que se comportan como un único replicón. La replicación se inicia en un sitio específico después de la unión al DNA de una proteína concreta: el antígeno T en SV40 y la proteína EBNA-1 en EBV. La topología del ADN resultante de la unión ADN-proteína difiere significativamente en ambos casos. Utilizamos la electroforesis bidimensional en geles de agarosa para estudiar la topología de estos minicromosomas en células HEK 293 (Human Embryonic Kidney).

Las roturas de doble cadena (DSBs) en meiosis son catalizadas por la endonucleasa Spo11, una topoisomerasa de tipo II muy conservada. Las kinasas ATM y ATR, críticas en la estabilidad del genoma, son activadas por las DSBs meióticas generadas en regiones del genoma conocidas como "hotspots". ATM/ATR fosforilan factores del complejo de Spo11 (e.g. Rec114) para así retro-inhibir su actividad. Proteínas estructurales del complejo sinaptonémico, como Hop1, también son diana de ATM/ATR y su fosforilación es imprescindible para la selección del molde adecuado de reparación por recombinación y la activación de los "checkpoints" necesarios para la correcta reparación de las DSBs.

Financiación | Funding

- BFU2014-56835 (MINECO)
- ICOOPB20224 (CSIC)
- RYC-2013-13950 (MINECO)

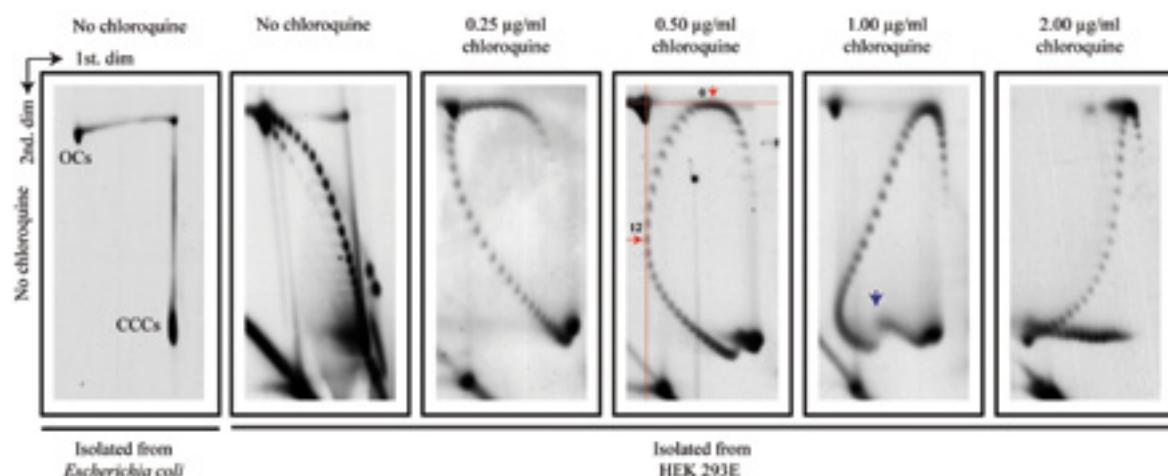


Figure 1

Immunograms of intact forms of pAC_EBVoriP (6,108 bp) isolated from *E. coli* and HEK 293E cells analyzed in 2D gels where the first dimension occurred without or in the presence of chloroquine. The mobility of topoisomers with $\Delta Lk = 0$ during the first and second dimensions are indicated by horizontal and perpendicular broken red lines in the mid immunogram. The blue arrow points the transition to a non-B conformation.

Molecular Biology of the Chromosomes

We are interested in the relationships and coordination between biological processes where DNA is involved during proliferation and meiosis: replication, transcription, repair and recombination, how are they regulated and how they alter or are affected by genetic, epigenetic and environmental factors such as DNA topology, chromatin organization and nutritional stress.

In eukaryotes, ribosomal genes (rDNA) are organized in tandem repeats. Each repeat encompasses a transcription unit and a non-transcribed spacer. In *Saccharomyces cerevisiae* replication forks moving in the direction opposite to transcription are blocked at specific sites called replication fork barriers (rRBs) in the non-transcribed spacer close to the 3' end of the transcription unit. Replication fork blockage requires binding to DNA of Fob1p. We used two-dimensional (2D) agarose gel electrophoresis to investigate and quantify the efficiency of rRBs in circular minichromosomes. The results obtained indicated that neighbor sequences and the relative abundance of Fob1p modulate the efficiency of rRBs to stall replication forks.

Simian Virus 40 (SV40) and Epstein-Barr Virus (EBV) are frequently used as model systems to study DNA replication upon the infection of eukaryotic cells. Their genomes are circular duplexes organized in a single replicon where replication initiates at a precise site upon binding of a specific protein: the large tumor (T) antigen for SV40 and the Epstein-Barr Nuclear Antigen 1 (EBNA-1) for EBV. The topology of DNA differs significantly upon protein binding to DNA in both cases. We used two-dimensional agarose gel electrophoresis to analyze the topology of these minichromosomes in human embryonic kidney (HEK) 293 cells.

Meiotic recombination begins with the introduction of Double Strand Breaks (DSBs) in the DNA. Spo11 is a type II topoisomerase which catalyses meiotic DSBs at regions known as hotspots. Presence of DSBs activates the conserved kinases, ATM/

ATR, required for genome stability. They phosphorylate multiple substrates, including component of the Spo11 complex, Rec114. Phospho-Rec114 downregulates Spo11 preventing further DSB formation. ATM/

ATR also phosphorylate Hop1, a structural component of the Synaptonemal Complex. Phosphorylation of Hop1 is required to ensure IH-recombination and checkpoint activity key processes for accurate DSB repair in meiosis.

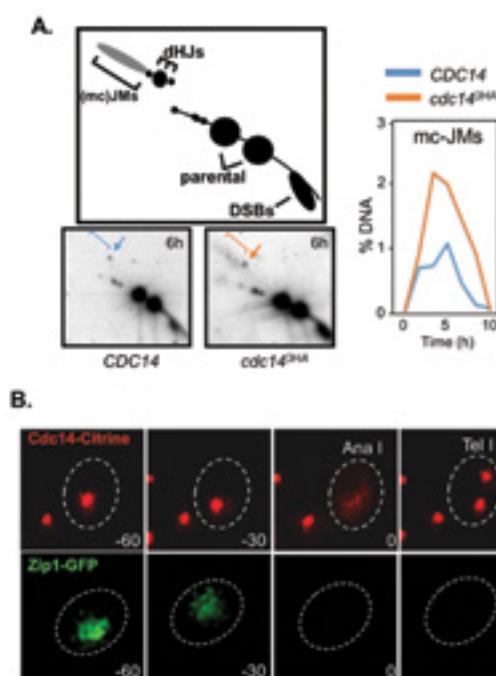


Figure 2

Control of recombination intermediates resolution by dephosphorylation. (A) Analysis by 2D-gels of DNA species at the HIS4LEU2 meiotic recombination hotspot. Quantification of multichromatid joint molecules species (mc-JM) is shown in graph. (B) Time frames showing Cdc14-Citrine (red) and Zip1-GFP (green) cells entering the first meiotic division.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Fernández-Calleja V, Hernández P, Schwartzman JB, Krimer DB [2017] Differential gene expression analysis by RNA-seq reveals the importance of actin cytoskeletal proteins in Friend Leukemia cells. *PeerJ* 7:e6284.
- Castán A, Hernández P, Krimer DB, Schwartzman JB [2017] The abundance of Fob1 modulates the efficiency of rRBs to stall replication forks. *Nucleic Acids Res* 45:10089-10102.
- Castán A, Fernández-Calleja V, Hernández P, Krimer DB, Schwartzman JB [2017] Analysis of DNA topology of EBV minichromosomes in HEK 293 cells. *PLoS One* 12:e0188172.
- Castán A, Hernández P, Krimer DB, Schwartzman JB [2018] DNA catenation reveals the dynamics of DNA topology during replication. *Methods Mol Biol* 1703:75-86.
- Fernández-Calleja V, Fernández-Nestosa MJ, Hernández P, Schwartzman JB, Krimer DB [2019] CRISPR/Cas9-mediated deletion of the Wiskott-Aldrich syndrome locus causes actin cytoskeleton disorganization in murine erythroleukemia cells. *PeerJ* (doi: 10.7717/peerj.6284).



Ángel Luis Corbí López

Profesor de Investigación
acorbi@cib.csic.es



PhD 1985 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, Dana Farber Cancer Institute, 1985-1987
• Harvard Medical School, Boston, USA
Postdoctoral, Center for Blood Research, 1987-1989
• Harvard Medical School, Boston, USA.
Postdoctoral, Servicio de Inmunología, 1989-1990
• Hospital de la Princesa, Madrid, España
Adjunto, Unidad de Biología Molecular, 1991-1994
• Hospital de la Princesa, Madrid, España
Científico Titular, 1994 • IPBLN
Investigador Científico, 2001 • CIB
Profesor de Investigación, 2003 • CIB

María Isabel Colmenares Brunet

Científica Titular CSIC
maria.colmenares@cib.csic.es



Miguel Ángel Vega Palacios

Investigador Científico CSIC
mavega@cib.csic.es



PhD 1987 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, Dana Farber Cancer Institute, 1987-1989
• Harvard Medical School, Boston, USA
Postdoctoral, Centro de Biología Molecular, 1990-1991
• UAM-CSIC, Madrid, España
Adjunto, Unidad de Biología Molecular, 1992-1994
• Hospital de la Princesa, Madrid, España
Científico Titular, 1994 • IPBLN
1998-2002 • Hospital Ramón y Cajal (Madrid)
2002 • CIB
Investigador Científico, 2008 • CIB

Otros miembros | Other members

Concepción Nieto Mazzarrón
Ángeles Domínguez Soto
Ignacio Rayo Hernández

Arturo González de la Aleja
Miriam Simón Fuentes
Bárbara Alonso Arenilla



<https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/myeloid-cell-biology>

Biología de las Células Mieloides

Los macrófagos son células presentadoras de antígeno “profesionales” cuya actividad es fundamental para la iniciación y resolución de respuestas inflamatorias e inmunitarias. Además contribuyen a la eliminación de agentes infecciosos y al mantenimiento de la integridad y homeostasis tisular. Nuestro grupo centra su investigación en el esclarecimiento de los mecanismos moleculares que subyacen a todas estas funciones efectoras de los macrófagos.

Las líneas de investigación actuales del grupo pretenden contribuir a la determinación de la base molecular de la participación de los macrófagos en la resolución de procesos inflamatorios y el mantenimiento de la homeostasis celular. Para ello, nuestro grupo 1) analiza la expresión tejido-específica, la especificidad de ligandos y la capacidad señalizadora de receptores de patógenos de relevancia clínica; y 2) disecciona los mecanismos transcripcionales que gobiernan los procesos de diferenciación y activación/polarización de macrófagos, con objeto de diseñar herramientas diagnósticas que permitan definir el potencial pro- y anti-inflamatorio de las células mieloides tisulares en condiciones homeostáticas y patológicas.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Domínguez-Soto Á, Simón-Fuentes M, de Las Casas-Engel M, Cuevas VD, López-Bravo M, Domínguez-Andrés J, Saz-Leal P, Sancho D, Ardavín C, Ochoa-Grullón J, Sánchez-Ramón S, Vega MA, Corbí AL [2018] IV Ig Promote Cross-Tolerance against Inflammatory Stimuli In Vitro and In Vivo. *J Immunol.* 201:41-52.
- Bravo García-Morato B, Aracil Santos FJ, Briones AC, Blázquez Moreno A, del Pozo Maté A, Domínguez-Soto A, Beato Merino MJ, del Pino Molina L, Torres Canizales J, Marin AV, Vallespín García E, Feito Rodríguez M, Plaza López Sabado D, Jiménez-Reinoso A, Mozo del Castillo Y, Sanz Santaeufemia FJ, de Lucas-Laguna R, Cárdenas PP, Casamayor Polo L, Coronel Diaz M, Valés-Gómez M, Roldán Santiago E, Ferreira Cerdán A, Nevado Blanco J, Corbí AL, Reyburn HT, Regueiro JR, López-Granados E, Rodríguez Pena R [2018] New human combined immunodeficiency caused by interferon regulatory factor 4 (IRF4) deficiency inherited by uniparental isodisomy. *J Allergy Clin Immunol.* 141:1924-1927.
- Nieto C, Bragado R, Municio C, Sierra-Filardi E, Alonso B, Escribese MM, Domínguez-Andrés J, Ardavín C, Castrillo A, Vega MA, Puig-Kröger A, Corbí AL [2018] The Activin A-Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Axis Contributes to the Transcriptome of GM-CSF-Conditioned Human Macrophages. *Front Immunol.* 9:31.
- Domínguez-Soto Á, Usategui A, Casas-Engel ML, Simón-Fuentes M, Nieto C, Cuevas VD, Vega MA, Luis Pablos J, Corbí ÁL [2017] Serotonin drives the acquisition of a profibrotic and anti-inflammatory gene profile through the 5-HT7R-PKA signaling axis. *Sci Rep.* 7:14761.
- Riera-Borrull M, Cuevas VD, Alonso B, Vega MA, Joven J, Izquierdo E, Corbí AL [2017] Palmitate Conditions Macrophages for Enhanced Responses toward Inflammatory Stimuli via JNK Activation. *J Immunol.* 199:3858-3869.
- Escribese MM, Rosace D, Chivato T, Fernández TD, Corbí AL, Barber D [2017] Alternative Anaphylactic Routes: The Potential Role of Macrophages. *Front Immunol.* 8:515.
- Cuevas VD, Anta I, Samaniego R, Orta-Zavalza E, de la Rosa JV, Baujat G, Domínguez-Soto A, Sánchez-Mateos P, Escribese MM, Castrillo A, Cormier-Daire V, Vega MA, Corbí AL [2017] MAFB determines human macrophage pro-anti-inflammatory polarization: relevance for the pathogenic mechanisms operating in Multicentric Carpotarsal Osteolysis. *J Immunol.* 198:2070-2081.



Myeloid Cell Biology

Macrophages are professional antigen presenting cells whose activity is essential for the initiation and resolution of inflammatory and immune responses. They also contribute to the elimination of infectious agents and the maintenance of tissue integrity and homeostasis. Our group focuses its activities on the determination of the molecular mechanisms underlying these effector functions of macrophages.

Our current research lines aim at determining the molecular basis that underlie the ability of macrophages to contribute to the resolution of inflammatory processes and to the maintenance of tissue homeostasis in the steady state. To address these issues, our group 1) analyzes the regulated expression, ligand specificity and

signaling capability of pathogen receptors, that capture clinically relevant pathogens; and 2) dissects the transcriptional mechanisms that govern macrophage differentiation and activation/polarization processes, with the aim of designing diagnostic genomic tools that will allow the definition of the inflammatory state of

tissue myeloid cells under homeostatic and pathological conditions.

Financiación | Funding

- 22/C/2016, Fundación TV3 / La Marató (2017-2019)
- SAF2017-83785-R, MINECO (2018-2020)
- RD16/0012/0007, RIER, ISCIII (2017-2021)

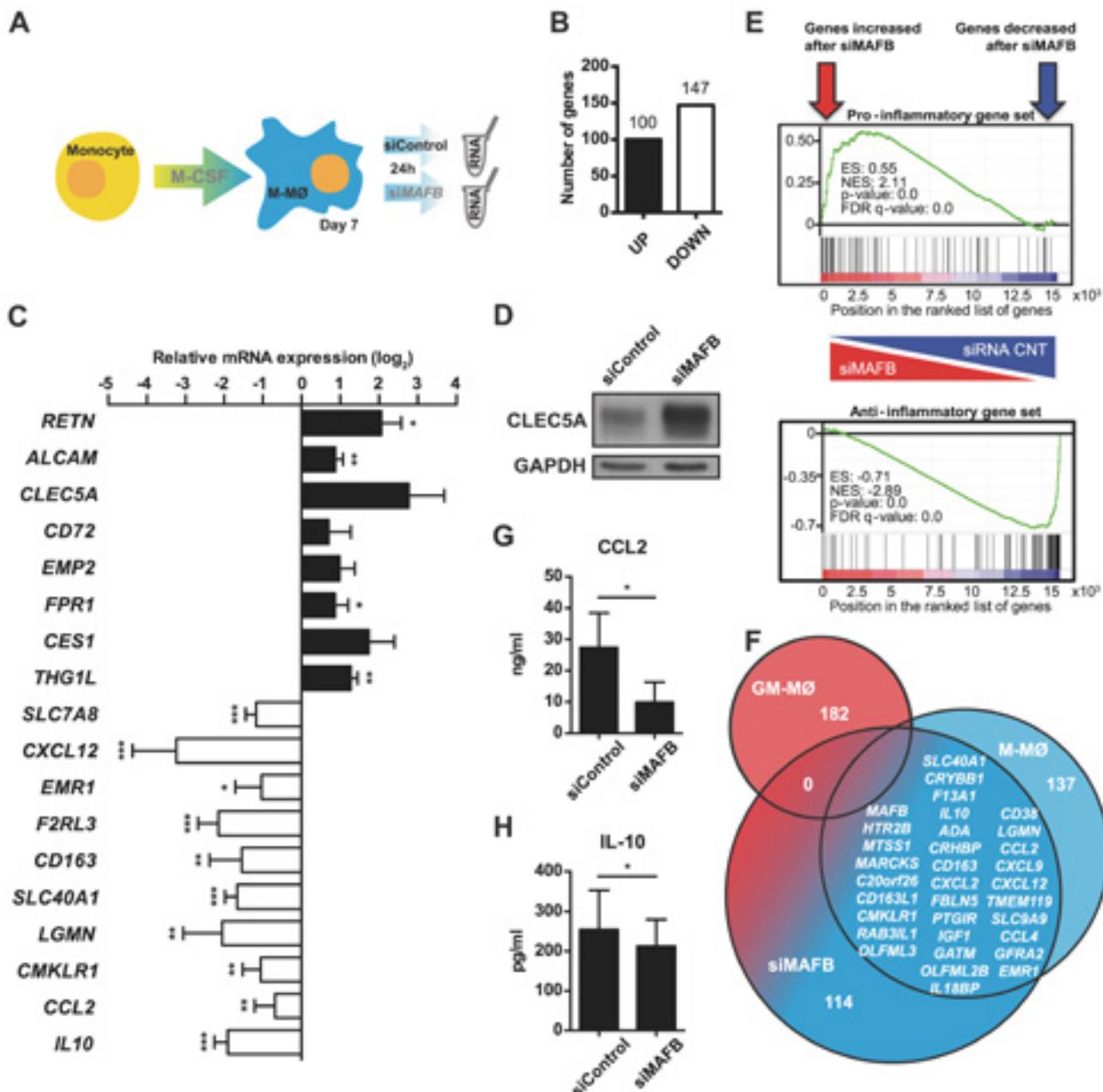


Figure 1

MAFB controls the anti-inflammatory transcriptional signature of M-MØ. (A) Experimental design. (B) Microarray results on siMAFB M-MØ. (C) Validation of microarray results. (D) CLEC5A expression in M-MØ. (E) GSEA analysis of siMAFB-M-MØ versus siControl-M-MØ, using pro-inflammatory and anti-inflammatory gene sets. (F) Anti-inflammatory genes with significantly lower expression in siMAFB M-MØ. (G, H) CCL2 and IL-10 production from M-MØ.

Patricia Boya

Investigadora Científica
 patricia.boya@csic.es

PhD, 2000 • Universidad de Navarra
 Marie Curie Fellow, 2001-2004 • CNRS, París (Francia)
 Postdoctoral, 2005 • University of Cambridge (UK)
 Contrato, 2005-2009 • Ramón y Cajal
 Científica titular, 2009
 Investigadora Científica, 2016 • CIB, CSIC



Otros miembros | Other members

Natalia Rodríguez Muela
 Katharina Bell
 Raquel Gómez Sintes

Elena Sierra Filardi
 Beatriz Villarejo Zori
 Petra Teresak

W <https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/roles-autophagy-health-and-disease>

Funciones de la Autofagia en la Fisiopatología de los Organismos

En nuestro laboratorio utilizamos modelos celulares y animales para comprender el papel de la autofagia en la fisiología y la patología de los organismos. Este es un proceso de degradación intracelular que permite la eliminación y el reciclaje de componentes celulares. Es una importante respuesta frente al ayuno nutricional, participa en la degradación de orgánulos celulares y permite la supervivencia en situaciones de estrés.

El interés de nuestro laboratorio se centra en entender por qué el proceso de la autofagia es esencial para mantener la homeostasis de las células y qué patologías subyacen a alteraciones de este mecanismo de degradación intracelular.

La importancia del proceso de autofagia queda patente por la letalidad embrionaria de animales deficientes en algunos de los genes Atg. En nuestro grupo estudiamos la relación de la autofagia con procesos esenciales para las células como la proliferación, diferenciación y la muerte celular. Hemos demostrado que este proceso es importante para la diferenciación neuronal ya que animales deficientes de autofagia no generan neuronas maduras y poseen defectos en neuritogenesis. Además nuestros datos recientes demuestran que la mitofagia, o degradación selectiva de las mitocondrias, es esencial para la neurogenesis y regula un cambio metabólico asociado a la diferenciación neuronal (Figura 1).

Por otro lado hemos demostrado que la inducción temprana de la autofagia durante procesos neurodegenerativos supone una respuesta citoprotectora. Daño axonal producido *in vivo* en animales deficientes de autofagia aumenta los niveles de muerte celular y por el contrario la inducción farmacológica de este

proceso retrasa el proceso de neurodegeneración. Estamos así mismo interesados en la relación de la autofagia con procesos de envejecimiento del sistema nervioso y hemos demostrado una disminución de la actividad de autofagia que podría en parte estar compensado por otros mecanismos de degradación lisosomal como la autofagia mediada por chaperonas.

Nuestra investigación tiene un importante componente traslacional. Tenemos una estrecha colaboración con empresas buscando nuevas moléculas que sean capaces de modular la autofagia. Hemos puesto a punto varios métodos de cribado para la determinación de nuevos compuestos que induzcan o bloquen este proceso y que puedan luego ser aplicados a la terapia de enfermedades humanas.

Financiación | Funding

- Proyectos en Neurociencia (Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno) 2018-2021
- BMD-3813 (Redes de la Comunidad de Madrid) 2018-2022
- MSCA-ITN-ETN 765912 (Horizonte H2020) 2017-2020
- BFU2015-65623-R (MINECO) 2016-2018
- TRANSAUTOPHAGY, COST Action CA15138 2016-2018
- BFU2015-71869-REDT (MINECO) 2015-2017

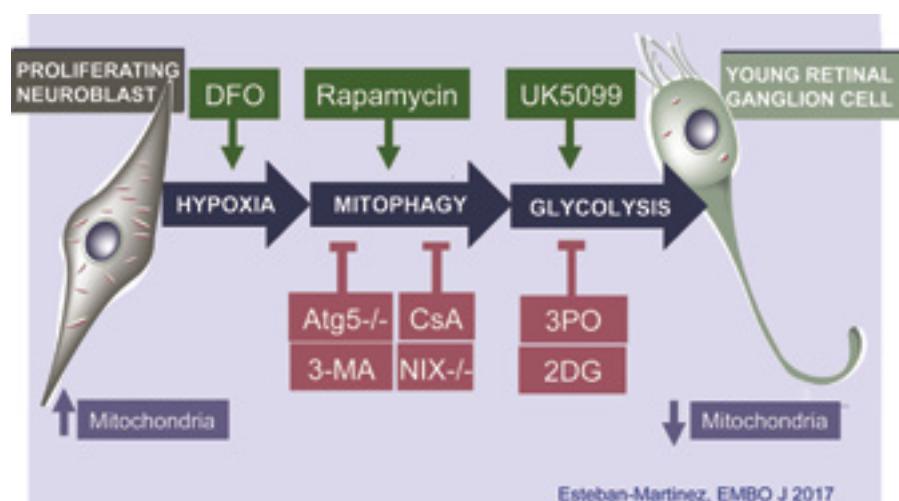


Figure 1

During retinal development, neuroblasts have many mitochondria and use oxidative phosphorylation while recently differentiated neurons rely on glycolysis and have fewer mitochondria. This metabolic shift is regulated by a hypoxia-like response, which results in an increase in NIX-dependent mitophagy, that decreases mitochondrial number, increases glycolysis and promotes RGC differentiation.

Roles of Autophagy in Health and Disease

We use cellular and animal models to understand the role of autophagy under physiological and pathological conditions.
Autophagy is an intracellular degradative process that allows the elimination and recycling of cellular constituents.
This process is induced in many stress situations acting as a cytoprotective response.

We want to understand why autophagy is essential to maintain cellular homeostasis and how deregulations in this mechanism influences disease.

Most of the autophagy deficient animals die during embryonic/perinatal stages revealing the importance of this process to maintain cellular homeostasis. In our group we study the relationship of autophagy with essential processes of proliferation, differentiation and cell death. We have recently demonstrated that autophagy is essential for neuronal differentiation since autophagy-deficient animals generate reduced numbers of neurons *in vitro* and have neuritogenesis defects. Interestingly, our recent data show that mitophagy is key for neurogenesis and for the metabolic reprogramming associated to neuronal differentiation. Autophagy and mitophagy-deficient animals display reduced number of retinal neurons and metabolic alterations (Figure 1).

We have also shown that autophagy is an early cytoprotective response during

several neurodegenerative conditions. Axonal damage in autophagy-deficient animals increases cell death and, conversely, pharmacological upregulation of this process increases neuronal survival. In addition, we are interested in the role of autophagy during the aging process in the nervous system and have recently found a decrease in the activity of macroautophagy that seems to be partially compensated by un-

upregulation of other lysosomal pathways as chaperone mediated autophagy.

Our research has also a translation side. We collaborate with several companies in the search of new autophagy regulators. We have developed several screening methods to find new autophagy inducers and inhibitors that could be used as new therapies for the treatment of human diseases.

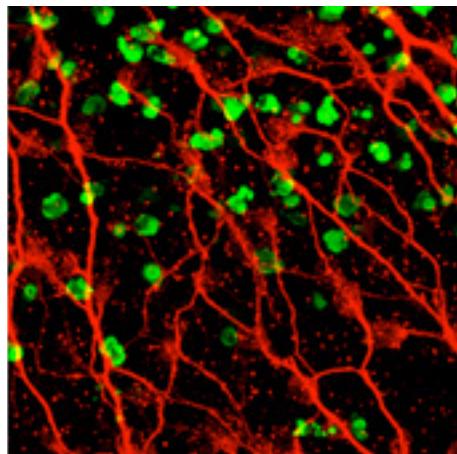


Figure 2

Embryonic chick retina labelled with TUNEL to stain apoptotic nuclei and with β -III-tubulin that stain the axons from retinal ganglion cells.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Esteban-Martínez L, Sierra-Filardi E, McGreal RS, Salazar-Roa M, Mariño G, Seco E, Durand S, Enot D, Graña O, Malumbres M, Cvekl A, Cuervo AM, Kroemer G, Boya P [2017] Programmed mitophagy is essential for the glycolytic switch during cell differentiation. *EMBO J* 36:1688-1706.
- Gómez-Sintes R, Villarejo-Zori B, Serrano-Puebla A, Esteban-Martínez L, Sierra-Filardi E, Ramírez-Pardo I, Rodríguez-Muela N, Boya P [2017] Standard assays for the study of autophagy in the ex vivo retina. *Cells* 6 (4) pii: E37.
- Esteban Martínez L, Villarejo-Zori B, Boya P [2017] Cytofluorometric assessment of mitophagic flux in mammalian cells and tissues. *Methods Enzymol* 588:209-217.
- Fernández ÁF, Bárcena C, Martínez-García GG, Tamargo-Gómez I, Suárez MF, Pietrocola F, Castoldi F, Esteban L, Sierra-Filardi E, Boya P, López-Otín C, Kroemer G, Mariño G [2017] Autophagy counteracts weight gain, lipotoxicity and pancreatic β -cell death upon hypercaloric pro-diabetic regimens. *Cell Death Dis*. 8:e2970.
- Blanco R, Martínez-Navarrete G, Valiente-Soriano FJ, Avilés-Trigueros M, Pérez-Rico C, Serrano-Puebla A, Boya P, Fernández E, Vidal-Sanz M, Villa P [2017] The S1P1 receptor-selective agonist CYM-5442 protects retinal ganglion cells in endothelin-1 induced retinal ganglion cell loss. *Exp Eye Res* 164:37-45.
- Esteban-Martínez L, Boya P [2018] BNIP3L/NIX-dependent mitophagy regulates cell differentiation via metabolic reprogramming. *Autophagy* 14:915-917.
- Wang F, Gómez-Sintes R, Boya P [2018] Lysosomal membrane permeabilization and cell death. *Traffi* 19:918-931.
- Ortiz-Rodríguez A, Acaz-Fonseca E, Boya P, Arévalo MA, García-Segura LM [2018] Lipotoxic Effects of Palmitic Acid on Astrocytes Are Associated with Autophagy Impairment. *Mol Neurobiol* doi: 10.1007/s12035-018-1183-9.
- Wang F, Salvati A, Boya P [2018] Lysosome-dependent cell death and deregulated autophagy induced by amine-modified polystyrene nanoparticles. *Open Biol* 8(4) doi: org/10.1098/rsob.170227.
- Boya P, Codogno P, Rodríguez-Muela N [2018] Autophagy in stem cells: repair, remodelling and metabolic reprogramming. *Development* 145(4) pii: dev146506. doi: 10.1242/dev.146506.



Rafael Giraldo Suárez

Profesor de Investigación
rgiraldo@cib.csic.es



PhD, 1991 • Universidad Complutense de Madrid / CIB-CSIC

Postdoctoral, 1992-1994 • División de Estudios Estructurales, Laboratorio de Biología Molecular del MRC, Cambridge, UK. Investigador Contratado MEC, 1995-1999, CIB-CSIC.

Científico Titular, 2000

Investigador Científico, 2008

Profesor de Investigación, 2010, CIB, CSIC

Miembro de la Academia Europea, 2010

Susana Moreno Díaz de la Espina

Investigadora Científica
smoreno@cib.csic.es



Juan Francisco Giménez Abián

Científico Titular
gimenezjf@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Aída Revilla García



<http://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-cellular-y-molecular/ensamblajes-macromoleculares-microbianos-sinteticos>

Ensamblajes Macromoleculares Microbianos Sintéticos

La Biología Sintética nos ha permitido generar en bacterias un modelo bioseguro de proteinopatía amiloide, con el objetivo de deconstruir sus mecanismos moleculares y encontrar rutas de toxicidad en común con las amiloidosis neurodegenerativas humanas. Además, desarrollamos dispositivos sintéticos susceptibles de ser utilizados, in vitro e in vivo, para la detección de proteínas amiloidogénicas y la identificación de inhibidores de amiloidosis.

Entre 1998 y 2008, desvelamos el mecanismo por el cuál la unión a secuencias específicas de DNA, o a una chaperona Hsp70 (DnaK), selecciona en la proteína RepA una conformación que inicia la replicación del DNA de plásmidos en bacterias Gram-negativas. También estudiamos las similitudes entre RepA y el complejo iniciador en levaduras (ORC).

Con posterioridad (2007-2014), encontramos que el mismo dominio que es activado en RepA para iniciar la replicación (WH1) puede ensamblarse *in vitro* en forma de fibras amiloideas. Cuando RepA-WH1 se expresa en *E. coli* fusionada a una proteína marcadora fluorescente, causa una proteinopatía amiloide sintética. Aunque RepA-WH1 no es un agente infeccioso, por lo que se considera un “prionoide”, durante su propagación acoplada a la división bacteriana se transmite epigenéticamente en forma de dos “estirpes” amiloides alternativas.

Durante el periodo (2015-2016), descubrimos que, en vesículas lipídicas modelo, RepA-WH1 se ensambla en forma de poros que permean la membrana. La interacción con fosfolípidos ácidos actúa promoviendo la transformación amiloide de RepA-WH1, al igual que sucede con el DNA en el nucleoide bacteriano donde se ensamblan los precursores amiloidogénicos. A este respecto, en la proteína RepA completa, el dominio WH1 nuclea el ensamblaje de un oligómero que inhibe la replicación del DNA. Éste fue el primer amiloide funcional intracelular encontrado en una bacteria. Por último, hemos desarrollado diversos sensores de amiloidosis inspirados en RepA-WH1: un anticuerpo conformativo específico de la conformación amiloidogénica de la proteína; un prion híbrido de levadura que incorpora secuencias de RepA-WH1; y, en colaboración con la UCM, nanopartículas de oro funcionalizadas que promueven la amiloidogénesis y permiten monitorizarla mediante espectroscopía Raman (SERS).

Entre 2017 y 2018, hemos acometido el estudio funcional y mediante Biología de Sistemas de las rutas de toxicidad amiloide de RepA-WH1 en las bacterias, así como el desarrollo de nuevos sistemas de cribado: *in vivo*, basado en la lectura corrida de codones stop por los ribosomas bacterianos, y un sistema de síntesis de proteínas *in vitro*, sensible al ensayo de la amiloidosis y su antagonismo por chaperonas.

Patentes | Patents

- “Chimeric protein switch for the optogenetic control of amyloidogenesis”. Inventor: Giraldo R. (CSIC). N° de solicitud OEPM: EP18382882. Fecha de prioridad: 03/12/2018.

Financiación | Funding

- CSD2009-00088
- BIO2012-30852
- i-LINK0889
- BIO2015-68730-R
- BFU-72271-EXP



Synthetic Microbial Macromolecular Assemblies

Through Synthetic Biology, we have generated in bacteria a biosafe model of an amyloid proteinopathy, with the purpose of deconstructing the molecular mechanisms, and finding the toxicity pathways, common to human neurodegenerative diseases. In addition, we are developing synthetic devices for their use, either *in vitro* or *in vivo*, in the detection of amyloidogenic proteins and to screen for inhibitors of amyloidosis.

Between 1998 and 2008, we discovered the mechanism through which binding to specific DNA sequences, or to an Hsp70 chaperone (DnaK), selects in the RepA protein a conformation competent to initiate DNA replication of plasmids in Gram-negative bacteria. We also studied the similarities between RepA and the initiator complex in yeast (ORC).

Later on (2007-2014), we found that the same domain in RepA that becomes active to initiate replication (WH1) can assemble as amyloid fibres *in vitro*. The expression of RepA-WH1, fused to a fluorescent protein marker, in *E. coli* causes a synthetic amyloid proteinopathy. Although RepA-WH1 is not an infectious agent (*i.e.*, it is a "prionoid"), it is epigenetically transmitted during its propagation, while coupled to cell division, as two alternative and distinct amyloid "strains".

During the period (2015-2016), we discovered that, in model lipid vesicles, RepA-WH1 assembles as pores that permeate the membrane. The interaction of acidic phospholipids with RepA-WH1 promotes amyloidogenesis of RepA-WH1, as much as it happens with DNA at the bacterial nucleoid where the amyloidogenic precursors are assembled. In the whole, functional RepA-WH1 nucleates the assembly of an amyloid oligomer that inhibits DNA replication. This was the first functional intracellular amyloid ever found in bacteria. Finally, we have developed several sensors of amyloidosis inspired in RepA-WH1: a monoclonal antibody specific of the amyloidogenic conformation of the protein; a chimeric yeast prion that includes sequences from RepA-WH1 and, in collaboration with Complutense University in Madrid, functionalized gold nanoparticles that promote and sense, through Raman spectroscopy (SERS), RepA-WH1 amyloidogenesis.

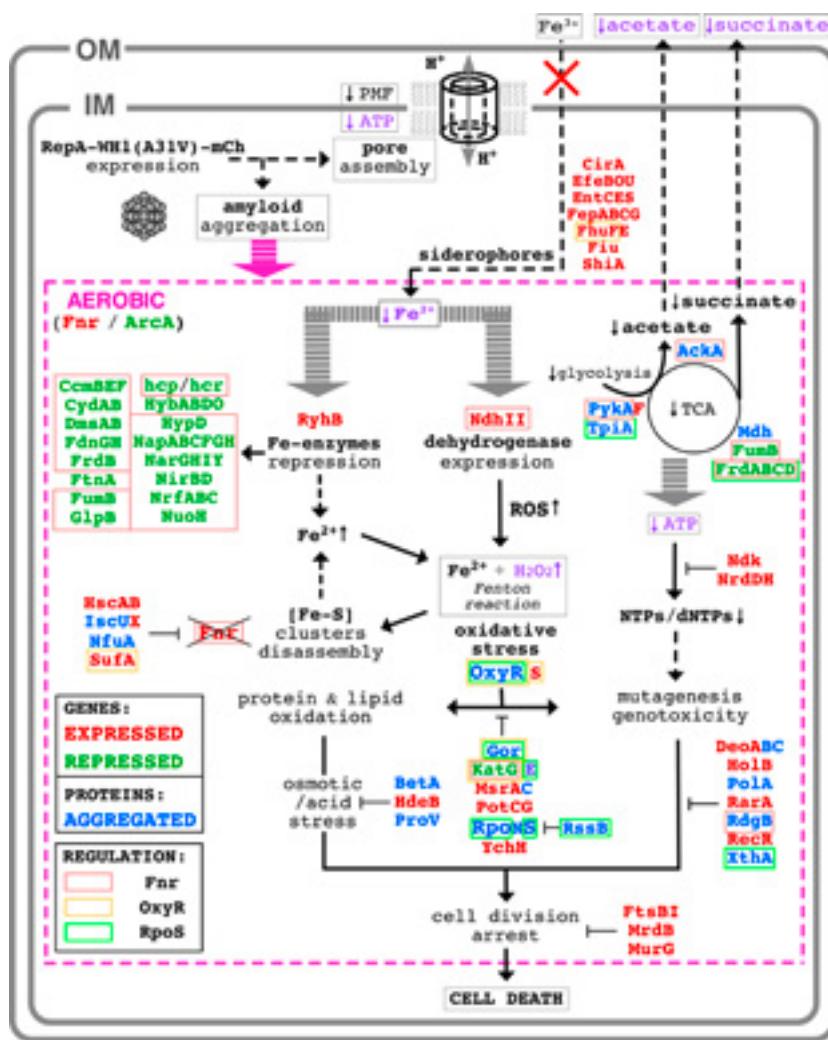
Figure 1

Transcriptomics, proteomics and functional assays reveal the systems response of *E. coli* to the expression of the prion-like protein RepA-WH1. Pore formation at the inner membrane (top) disrupts transport (affecting iron uptake and ATP synthesis), triggering oxidative stress (ROS; through the compensatory overexpression of the NdhII dehydrogenase). Co-aggregation with RepA-WH1 of key proteins for ROS detoxification results in massive geno- and proteotoxicity.

Between 2017 and 2018, we have studied using functional and Systems Biology approaches the toxicity routes for RepA-WH1 amyloids in bacteria. We have also developed two new systems for the screening of amyloidogenesis: *in vivo*, based on stop codon read-through by bacterial ribosomes, and *in vitro*, based on cytomimetic protein synthesis suitable for the assay of amyloid aggregation and its counteraction by chaperones.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Molina-García L, Moreno-del Álamo M, Botías P, Martín-Moldes Z, Fernández M, Sánchez-Gorostiaga A, Alonso-del Valle A, Nogales J, García-Cantalejo J, Giraldo R [2017] Outlining core pathways of amyloid toxicity in bacteria with the RepA-WH1 prionoid. *Front. Microbiol.* 8: 539.
- Fernández C, Rivas G, Giraldo R, Jiménez M [2017] Reconstruction of cytotoxic bacterial protein assemblies in lipid vesicles. En: A. Iglič, M. Rappolt, A.J. García-Sáez, Eds: "Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly". Vol. 26. ABL, Academic Press (UK), pp. 173-198. (Capítulo en un libro). ISBN 978-0-12-812079-8.
- Molina-García L, Giraldo R [2017] Enabling stop codon read-through translation in bacteria as a probe for amyloid aggregation. *Sci. Rep.* 7: 11908.
- Molina-García L, Gasset-Rosa F, Moreno-del Álamo M, Moreno-Díaz de la Espina S, Giraldo R [2018] Addressing intracellular amyloidosis in bacteria with RepA-WH1, a prion-like protein. En: E.M. Sigurdsson, M. Calero, M. Gasset, Eds. "Amyloid Proteins: Methods and Protocols", 3rd Edition. Chapter 18. *Methods Mol. Biol.* 1779: 289-312. Humana Press Inc./Springer Protocols. (Capítulo en un libro). ISBN 978-1-4939-7816-8.
- Fernández C, Giraldo R [2018] Modulation of the aggregation of the prion-like protein RepA-WH1 by chaperones in a cell-free expression system and in cytomimetic lipid vesicles. *ACS Synth. Biol.* 7: 2087-2093.



Biomedicina Molecular

Molecular Biomedicine

[38] **Flora de Pablo · Enrique J. de la Rosa**
Laboratorio 3D: Desarrollo,
Diferenciación y Degeneración
3D Lab: Development, Differentiation & Degeneration

[40] **José Alberto García Sanz**
Genética del Cáncer y de las Células
Madre del Cáncer
Cancer Genetics and Cancer Stem Cells

[42] **María Ángeles Martín Requero**
Bases Celulares y Moleculares de la
Enfermedad de Alzheimer y otras
Demencias
Cellular and Molecular Basis of Alzheimer's Disease and other Dementias

[44] **Joaquín Teixidó Calvo**
Migración Celular en Procesos Fisiológicos
y Patologías
Cell Migration in Physiology and Disease

[46] **José Ignacio Casal Álvarez**
Proteómica Funcional
Functional Proteomics

[48] **Faustino Mollinedo García**
Laboratorio de Muerte Celular
y Terapia del Cáncer
Laboratory of Cell Death and Cancer Therapy

[50] **Alicia G. Arroyo**
Metaloproteinasas de Matriz en
Angiogénesis e Inflamación
Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Inflammation

[52] **Santiago Rodríguez de Córdoba**
Patología Molecular / Genética del
Complemento
Molecular Pathology / Complement Genetics

[54] **José-María Sánchez-Puelles
González-Carvajal**
Farmacología Molecular
Molecular Pharmacology

[56] **María de los Ángeles García Pardo**
Mecanismos Patológicos en Neoplasias
Hematológicas Humanas
Pathological Mechanisms in Human Hematological Neoplasias

[58] **José María Rojo Hernández**
Activación de Linfocitos T
T Lymphocyte Activation

[60] **Carmelo Bernabeu Quirante ·
Luisa M. Botella Cubells**
Receptores de TGF-beta en Células
Endoteliales
TGF-beta Receptors in Endothelial Cells

[62] **María Montoya González**
Inmunología Viral: Terapias y Vacunas
Viral Immunology: Therapies and Vaccines



Biomedicina Molecular
Molecular Biomedicine

overview

The main research focus in the Department of Molecular Biomedicine is the study of the molecular mechanisms involved in human physiopathology and the development of novel therapies. Different groups in the Department are characterizing the molecular bases of various types of cancer, including epithelial neoplasms (melanoma, gastrointestinal and breast cancer), stem cells and hematological malignancies (myeloma, leukemia, lymphoma). Other aspects under study are vascular and hemostatic disorders, complement-related pathologies, T-cell regulation, cell differentiation and apoptosis-targeted therapy. We are also studying the processes involved in development, degeneration and aging, aiming to understand the pathological mechanisms of disorders like retinitis pigmentosa, Lafora or Alzheimer's diseases. The recent incorporation of two new groups working on angiogenesis and inflammation in pathophysiology and on viral immunology, therapies and vaccines, has expanded the fields of interest. All this research pursues the identification of diagnostic markers and target molecules that will help developing new and efficient therapeutic drugs for a variety of pathologies.

The Department has played a major role in the implementation and development of high-throughput technologies such as Genomics, Proteomics or Molecular Pharmacology, now basic tools in Biomedicine and other Departments in the Centre. We have as priority goal to attract promising young investigators performing pioneering research in Biomedicine. The Department also promotes technology transfer initiatives and translational research. This has already resulted in the generation of biotechnology spin-offs and holding the rights of Orphan Drug status for various molecules in rare diseases which represent added values for the Department, to be further supported in the future.

Flora de Pablo
Department Head

Flora de Pablo

Profesora de Investigación
fdepablo@cib.csic.es



M.D., 1975, Ph.D., MIR Endocrinología y Nutrición, 1979 • Universidad de Salamanca
Postdoctoral Visiting Fellow (1980-82) & Visiting Scientist (1984-91) • National Institutes of Health, Bethesda, U.S.A.
Visiting Scientist, 1996 • CalTech, U.S.A.
Directora General, 2007 • Instituto de Salud Carlos III
Investigadora Científica, 1991
Profesora de Investigación, 2003 • CIB, CSIC

Enrique J. de la Rosa

Investigador Científico
ejdelarosa@cib.csic.es



Ph.D. en Ciencias Biológicas, 1984 • Universidad Autónoma de Madrid y CBM, CSIC
Postdoctoral, 1986-1989 • Instituto Max-Planck de Biología del Desarrollo (Tübingen, Alemania)
Postdoctoral 1989-1992 • Instituto Cajal, CSIC
Visiting Scientist (1993) • NIH, Bethesda, USA
Visiting Scientist (2003) • Johns Hopkins University, Baltimore, USA
Visiting Scientist (2013) • McGill University, Montreal, Canadá
Científico Titular (1993), Investigador Científico (2002) • CIB, CSIC

Teresa Suárez

Científica Titular
teresa@cib.csic.es



Catalina Hernández Sánchez

Científica Titular
chernandez@cib.csic.es



Consuelo González Manchón

Científica Titular
cgmanchon@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

María Platón
Noemí L. Álvarez Lindo
Cayetana Murillo
María Donina Hernández

Alonso Sánchez
Mariano Redondo
Alberto M. Hernández Pinto



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/laboratorio-3d-desarrollo-diferenciacion-y-degeneracion>

Laboratorio 3D: Desarrollo, Diferenciación y Degeneración

Nuestro objetivo es caracterizar los mecanismos de regulación de procesos celulares básicos, proliferación, diferenciación y muerte celular programada, durante el desarrollo y la degeneración del sistema nervioso. Estudiamos especialmente la retina durante el desarrollo y en modelos de retinosis pigmentaria. Nos interesa también el desarrollo de microdispositivos nanoestructurados de silicio funcionalizados que introducimos en células vivas.

Hemos avanzado en el desarrollo de posibles terapias neuroprotectoras para distrofias de retina demostrando que la inyección intravítreo de microesferas biodegradables y biocompatibles cargadas con proinsulina, la inyección intravítreo de otras moléculas inhibidoras de p75(NTR) y el tratamiento sistémico con inhibidores de GSK-3 retrasan la muerte de los fotorreceptores y la pérdida de visión en modelos murinos de retinosis pigmentaria. La proinsulina protege también de la pérdida cognitiva relacionada con la edad, atenuando marcadores inflamatorios en el cerebro. Estamos estudiando la implicación de varios de estos factores en el mantenimiento de las sinapsis de los fotorreceptores con otras células de la retina (Figura 1) y el papel de algunos receptores, TLR2 y TLR4, mediadores de la inmunidad innata en degeneraciones retinianas. Por otra parte, tras demostrar que la DNA polimerasa pol μ, un componente esencial del sistema de reparación del DNA por "non homologous end-joining (NHEJ)", es necesaria para el desarrollo de la retina, estamos analizando el papel de RAG-2, endonucleasa que contribuye a la generación de roturas de doble hebra en el DNA. En ausencia de RAG-2, la disminución de roturas se acompaña

de muerte celular de las neuronas ganglionares y alteraciones del crecimiento y navegación de los axones.

Hemos desarrollado, en colaboración con el Centro Nacional de Microelectrónica de Barcelona (CNMB), una nueva tecnología de miniaturización de microobjetos basados en silicio que permiten el análisis de parámetros intracelulares múltiples en células vivas, incluido el pH (Figura 2). Así mismo, hemos estudiado el papel del enzima Tirosina Hidroxilasa en la función del tejido adiposo marrón, la termogénesis y la neuroinmunomodulación.

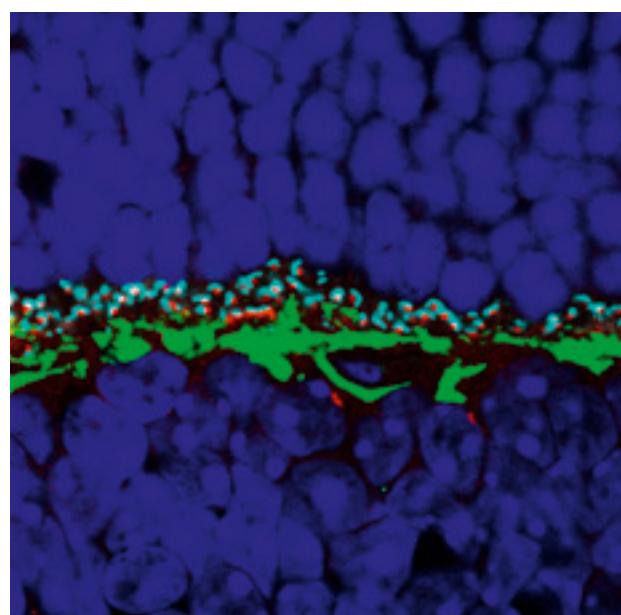


Figure 1

Photoreceptors synapse with bipolar and horizontal cells, forming a synaptic triad in mouse retina. Photoreceptors have a "synaptic ribbon" that allows the rapid release of the neurotransmitter glutamate (in cyan, ribbon protein Ctbp2). Bipolar cells have glutamate receptors (mGluR6, in red) and horizontal cells are shown in green (stained for calbindin). DAPI (in blue) depicts nuclei of photoreceptor and interneuron layers.

3D Lab: Development, Differentiation & Degeneration

Our goal is to characterize the mechanisms of regulation of basic cellular processes, proliferation, differentiation and programmed cell death during development and in nervous system degeneration. We specially focus in retinal development and in models of retinitis pigmentosa. We are also interested in developing nanostructured silicon microdevices that we introduce functionalized in living cells.

We have advanced in the development of possible neuroprotective therapies for retinal dystrophies showing that the intravitreal injection of biodegradable microspheres loaded with proinsulin, as well as the intravitreal injection of other molecules inhibitors of p75(NTR) and the systemic treatment with GSK-3 inhibitors delay photoreceptor cell death and the loss of vision in murine models of retinitis pigmentosa. Proinsulin also protects from the cognitive loss associated with age, decreasing inflammatory markers in the brain. We are studying the implication of several of these factors in the maintenance of the synapses of photoreceptors with other cells in the retina (Figure 1) and the role of receptors TLR2 and TLR4, mediators of innate immunity, in retinal degenerations. In another project, we are analyzing the role of the endonuclease RAG-2 which contributes to the generation of double strand DNA brakes, after we showed that the DNA polymerase pol μ , an essential component of the DNA reparation system by "non homologous end-joining (NHE)" is essential for retinal development. In the absence of RAG-2 the decrease in DNA brakes is concomitant with ganglion neurons death and alterations in axonal growth and navigation.

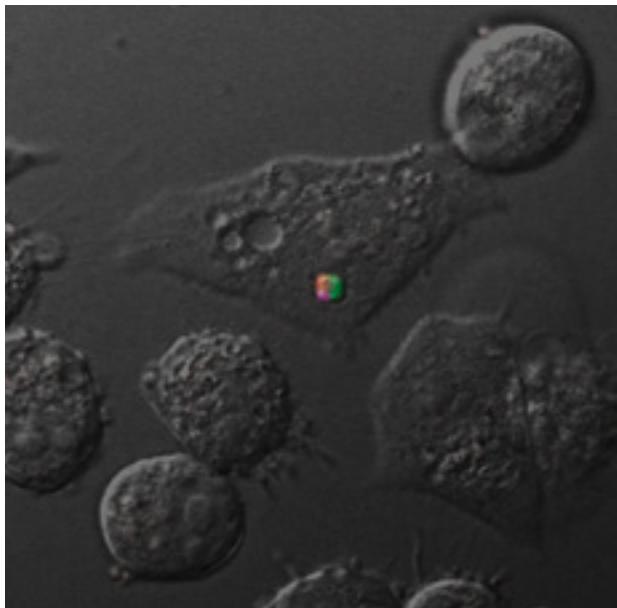


Figure 2

Living HeLa cell showing an intracellular pH silicon microsensor.

We have developed, in collaboration with the National Microelectronics Center in Barcelona (CNMB) a new technology to miniaturize silicon microdevices which allow the measurement of multiple intracellular parameters in living cells, including pH (Figure 2). Additionally, we have studied the role of the enzyme Tyrosine Hydroxylase in the function of brown adipose tissue, thermogenesis and neuroimmunomodulation.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Corpas R, Hernández-Pinto AM, Porquet D, Hernández-Sánchez C, Bosch F, Ortega-Aznar A, Comellas F, de la Rosa* EJ, Sanfelix C* [2017] Proinsulin protects against age-related cognitive loss through antiinflammatory convergent pathways. *Neuropharmacology* 123:221-232.
- Gamella-Pozuelo I, Grande MT, Clemente-Lorenzo M, Murillo-Gómez C, De Pablo F, López-Novoa JM, Hernández-Sánchez C [2017] Tyrosine hydroxylase haploinsufficiency prevents age-associated arterial pressure elevation and increases half-life in mice. *Biochim Biophys Acta* 1863:113-120.
- Marchena M, Villarejo-Zori B, Zaldivar-Díez J, Palomo V, Gil C, Hernández-Sánchez C, Martínez A, de la Rosa EJ [2017] Small molecules targeting glycogen synthase kinase 3 as potential drug candidates for the treatment of retinitis pigmentosa. *J Enzyme Inhib Med Chem* 32:522-52.
- Platón-Corcharo M, Barcelona PF, Jmaeff S, Marchena M, Hernández-Pinto AM, Hernández-Sánchez C, Saragovi HU, de la Rosa EJ [2017] p75 (NTR) antagonists attenuate photoreceptor cell loss in murine models of retinitis pigmentosa. *Cell Death Dis* 8:e2922.
- Sánchez-Cruz A, Villarejo-Zori B, Marchena M, Zaldivar-Díez J, Palomo V, Gil C, Lizasoain I, de la Villa P, Martínez A, de la Rosa EJ, Hernández-Sánchez C [2018] Modulation of GSK-3 provides cellular and functional neuroprotection in the rd10 mouse model of retinitis pigmentosa. *Mol Neurodegeneration* 13:19.
- Garrido A, Cruces J, Cepríán N, Hernández-Sánchez C, De la Fuente M [2018] Premature aging in behavior and immune functions in tyrosine hydroxylase haploinsufficient female mice. A longitudinal study. *Brain, Behav Immun* 69:440-445.
- Vázquez P, Hernández-Sánchez C, Escalona C, Pereira L, Contreras C, López M, Balsinde, J, De Pablo F, Valverde AM [2018] Increased FGF21 in brown adipose tissue of tyrosine hydroxylase heterozygous mice: implications for cold adaptation. *J Lipid Res* 59:2308-2320.
- Porras G, Ayuso MS, González-Manchón C [2018] Leukocyte-endothelial cell interaction is enhanced in podocalyxin-deficient mice. *Int J Biochem Cell Biol* 99:72-79.
- Rossi E, Pericacho M, Bachelot-Loza C, Pidard D, Gaussem P, Poirault-Chassac S, Blanco FJ, Langa C, González-Manchón C, Novoa JML, Smadja DM, Bernabeu C [2018] Human endoglin as a potential new partner involved in platelet-endothelium interactions. *Cell Mol Life Sci* 75:1269-1284.
- De Pablo F, Hernández-Sánchez C, de la Rosa EJ [2018] The prohormone proinsulin as a neuroprotective factor: past history and future prospects. *Front Mol Neurosci* 11:426.

Financiación | Funding

- SAF 2016-75681-R (MINECO) 2017-2019
- TEC2017-85059-C3-3-R (MINECO) 2018-2020



José Alberto García Sanz

Científico Titular CSIC
jasanz@cib.csic.es

PhD, 1987 • Universidad de Barcelona
Postdoctoral, 1987-1989 • Swiss Institute for Experimental Cancer Research, Lausanne, Suiza
Postdoctoral, 1989-1991 • University of Miami, School of Medicine, Miami, USA
Scientific Member, 1991-1996 • Basel Institute for Immunology, Basel, Suiza
Investigador Contratado, 1997-2003 • CNB-CSIC, Madrid
Investigador Ramón y Cajal, 2003-2008 • CIB-CSIC, Madrid
Científico Titular, 2008 • CIB-CSIC, Madrid



Otros miembros | Other members

Silvia Santamaría García-Minguillán
Sara Ortega Portero
Marisa Delgado Álvarez



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/genetica-del-cancer-y-de-las-celulas-progenitores-del-cancer>

Genética del Cáncer y de las Células Madre del Cáncer

El grupo está interesado en la biología de las células madre adultas, analizando la relación entre estas, que son las responsables del mantenimiento de la homeostasis celular, y las células madre del cáncer, o células capaces de desarrollar un tumor. Además, estamos analizando posibilidades terapéuticas de anticuerpos monoclonales frente a tumores cerebrales y frente a leucemias.

CÉLULAS MADRE DE MAMA. Tras demostrar que el número de células madre en la mama (MaSC) aumenta durante la pubertad debido a señales hormonales, hipotetizamos que dicha expansión puede ser responsable del aumento en la frecuencia de tumores de mama (124 veces) en mujeres adultas, en comparación con hombres adultos y mujeres pre-púberes. Estamos analizando el papel de esta expansión y su relación con la menor frecuencia de tumores de mama en hombres, y el papel del estroma en el desarrollo de tumores de mama.

CÉLULAS MADRE NEURALES (en colaboración con A. Ayuso (FHM) y Atrys Health). El anticuerpo monoclonal Nilo1 identifica las células de la glía radial en embriones y las células madre neurales (NSC) adultas en ratón, y reconoce los antígenos correspondientes en gliomas humanos. Estos datos, junto con la demostración de que las NSC migran de forma ordenada y rápida hacia la región del cerebro donde se produce un daño, posibilitan su uso *in vivo* para diagnóstico clínico. Como Nilo1 identifica las

NSC y una subpoblación de células en glioblastomas humanos, estamos analizando la posibilidad de que Nilo1 identifique las células madre del cáncer en estos tumores.

ANTICUERPOS TERAPÉUTICOS ANTI-hCCR9 (en colaboración con L. Kremer, CNB-CSIC y SunRock Biopharma). Hemos generado dos mAbs anti CCR9 humano capaces de inhibir el crecimiento del tumor humano MOLT-4 en xenotrasplantes (80-85% de inhibición). Estamos analizando su potencial terapéutico en tumores CCR9⁺ en distintos modelos de xenotrasplantes, intentando averiguar el mecanismo de acción de estos anticuerpos. Además, uno de estos anticuerpos ha sido humanizado y estamos analizando su efectividad para inhibir el crecimiento de tumores humanos CCR9⁺ en xenotrasplantes.

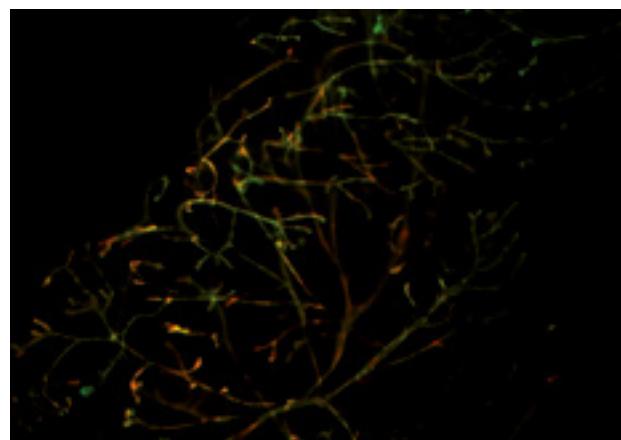
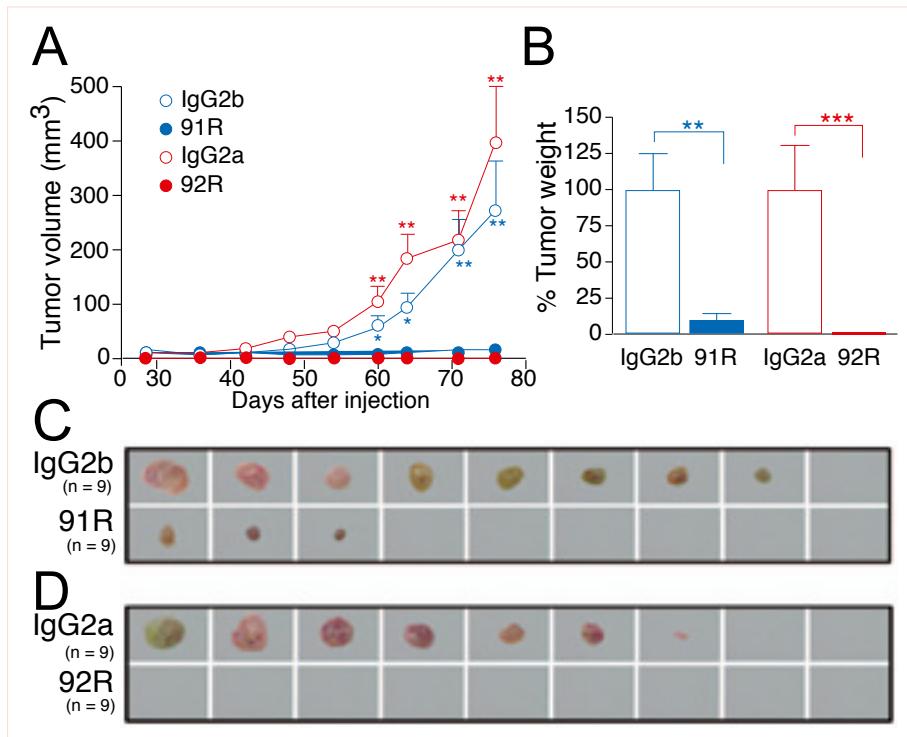


Figure 1

A mammary gland was reconstituted on a NSG female using MaSC from GFP and dsRed donor mice. The mammary tree was visualized with a fluorescent stereomicroscope.



**Figure 2**

The anti-CCR9 mAbs 91R and 92R inhibit the growth of subcutaneous xenotransplants of the human leukemia MOLT-4. (A) Growth kinetics of the xenotransplants, (B) Inhibition of tumor growth determined by tumor weight. (C and D) Images of the subcutaneous tumors from animals treated with 91R, 92R, or with isotype-control mAbs (IgG2b e IgG2a) (Somovilla-Crespo et al. [2018] *Front Immunol* 9:77).

Cancer Genetics and Cancer Stem Cells

The interest of the group resides in analyzing the relationship between adult stem cells, responsible for tissue maintenance and homeostasis, and cancer stem cells, the cells within a tumor able to generate metastasis and regenerate a tumor in xenografts. Furthermore, we analyze the therapeutic possibilities of monoclonal antibodies against brain tumors or against leukemia.

MAMMARY STEM CELLS. We demonstrated that the number of mammary stem cells (MaSC) increases 20-fold through puberty due to hormonal effects and hypothesized that this expansion could be linked to the increased mammary tumor frequency (124-fold) detected on adult females as compared to adult males and pre-pubertal females. We are currently investigating the hormones responsible for the MaSC expansion and to ascertain whether this hypothesis is correct. In addition we are analyzing the role of the mammary stroma on the generation of mammary tumors.

NEURAL STEM CELLS. (in collaboration with A. Ayuso (FHM) and Atrys Health). Nilo1 monoclonal antibody (mAb) identifies mouse embryonic radial glia and adult neural stem cells (NSC), and the corresponding antigens in human glioma cells. These data, together with our demonstration that NSC migrate fast and orderly towards brain damage sites open-up the possibility of its

in vivo use for diagnostic purposes. Since Nilo1 identifies the NSC and a subpopulation of cells within human glioblastomas, we are currently analyzing whether Nilo1 identifies the cancer stem cells on these tumors and thus, could be used in human glioblastomas as a therapeutic antibody, directly targeting the cancer stem cell population.

ANTI-hCCR9 THERAPEUTIC ANTIBODIES (In collaboration with L. Kremer, CNB-CSIC and SunRoc Biopharma). We have generated two anti-human CCR9 mAbs able to inhibit growth of human MOLT-4 cells in xenografts (80-85% inhibition). We analyze their potential as therapeutic tools against CCR9⁺ tumors in different xenograft models, trying to understand the mechanism of action of these antibodies. In addition one of the mAbs has been humanized and we are analyzing their effectiveness inhibiting the growth of the human CCR9⁺ tumors on xenograft models.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Corraliza-Gorjón I, Somovilla-Crespo B, Santamaría S, García-Sanz JA, Kremer L [2017] New Strategies Using Antibody Combinations to Increase Cancer Treatment Effectiveness. *Front in Immunol* 8:1804.
- Santamaría S, Delgado M, Kremer L, García-Sanz JA [2017] Will a mAb-based immunotherapy directed against cancer stem cells be feasible? *Front Immunol* 8:1509.
- Santamaría S, Sánchez N, Sanz M, García-Sanz JA [2017] Comparison of periodontal ligament and gingiva-derived mesenchymal stem cells for regenerative therapies. *Clin Oral Investig* 21:1095-1102.
- Kremer, L., and García-Sanz, JA. Eds. [2018] Is the recent burst of therapeutic anti-tumor antibodies the tip of an iceberg? In Kremer L, García-Sanz JA (eds) p 305. Switzerland: *Frontiers in Immunology*. doi: 10.3389/978-2-86945-462-4
- Kremer L, García-Sanz JA [2018] Editorial: Is the Recent Burst of Therapeutic Anti-tumor Antibodies the Tip of an Iceberg? *Frontiers in Immunology* 9: 442.
- Núñez J, Sánchez N, Vignoletti F, Sanz-Martín I, Caffesse R, Santamaría S, García-Sanz JA, Sanz M [2018] Cell therapy with allogenic canine periodontal ligament-derived cells in periodontal regeneration of critical size defects. *J Clin Periodontol* 45:453-461.
- Somovilla-Crespo B, Martín Monzón MT, Vela M, Corraliza-Gorjón I, Santamaría S, García-Sanz JA, Kremer L [2018] 92R Monoclonal Antibody Inhibits Human CCR9⁺ Leukemia Cells Growth in NSG Mice Xenografts. *Front Immunol* 9:77.

Financiación | Funding

- RTC-2015-3846-1 (MINECO)
- RTC-2015-3786-1 (MINECO)

María Ángeles Martín Requero

Investigadora Científica
amrequero@cib.csic.es

PhD, 1978 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1979-1982 • University of Pennsylvania, Philadelphia, USA
Profesora Titular, 1982-1983 • Universidad de Extremadura
Científica Titular, 1985 • CIB-CSIC
Visiting Scientist (1996-1998) • University of California (UCLA), Los Angeles, USA
Investigadora Científica, 2008 • CIB-CSIC



Matilde Sánchez Ayuso

Investigadora Científica,
Doctora vinculada Ad Honorem
msayuso@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Gracia Porras Franco



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/cellular-and-molecular-basis-alzheimers-disease-and-other-dementias>

Bases Celulares y Moleculares de la Enfermedad de Alzheimer y otras Demencias

El interés de nuestro laboratorio es el estudio de los mecanismos que causan la muerte neuronal en enfermedades neurodegenerativas tales como la enfermedad de Alzheimer, la demencia frontotemporal y la esclerosis lateral amiotrófica. Estudiamos fundamentalmente alteraciones en el control del ciclo celular, apoptosis, función mitocondrial, estrés oxidativo y proteostasis en modelos celulares de neurodegeneración que incluyen células extraneurales de pacientes.

Bases celulares y moleculares de la enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la forma más común de demencia, sin que hasta el momento se disponga de terapias efectivas para paliar o retrasar su aparición. Estamos trabajando en un proyecto que tiene como objetivo el diseño, síntesis y evaluación pre-clínica de nuevos agonistas del receptor de Cannabinoides de tipo 2 (CB2), con propiedades colinérgicas e inhibidoras del enzima β -secretasa (BACE-1). Se analizan los efectos de estos compuestos multidiaria en linfoblastos de pacientes, en modelos neuronales de la enfermedad y en ratones transgénicos.

TDP-43 Proteinopatías: Degeneración Lobar Frontotemporal y Esclerosis Lateral Amiotrófica

La degeneración del lóbulo frontotemporal (DLFT-TDP) designa a un grupo heterogéneo de procesos neurodegenerativos que

comportan deterioro cognitivo asociado a sintomatología motora o de lenguaje y trastornos de personalidad. La mayor parte de los casos con historia familiar de DLFT-TDP se asocia con haploinsuficiencia de progranulina. Por otra parte, la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad mortal, que afecta a las neuronas motoras de la médula espinal y de la corteza cerebral que facilitan la comunicación entre el SN y la musculatura. A pesar de las diferencias clínicas, estas enfermedades presentan características neuropatológicas similares, destacando la presencia de agregados de la proteína TDP-43 en el citoplasma de las neuronas afectadas. Estamos utilizando líneas linfoblásticas de pacientes de DLFT-TDP y de casos esporádicos de ELA, así como células de neuroblastoma humano SH-S5Y5 para estudiar la influencia patogénica del déficit en progranulina y elucidar los mecanismos moleculares implicados en la homeostasis de TDP-43. Este modelo experimental nos permite evaluar nuevas estrategias terapéuticas dirigidas a prevenir la excesiva fosforilación de TDP-43 y/o corregir los defectos en la degradación de la proteína (vía autófagia y proteasoma).

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- González-Naranjo P, Pérez-Macías N, Pérez C, Roca C, Vaca G, Girón R, Sánchez-Robles E, Martín-Fontelles MI, de Ceballos ML, Martín-Requero A, Campillo NE, Páez JA [2019] Indazolylketones: Hit to lead optimization of a multitarget drug. *Eur J Medical Chem.* doi: 10.1016/j.ejmech.2019.01.030.
- Posas D, Martínez-González L, Bartolomé F, Nagaraj S, Porras G, Martínez A, Martín-Requero A [2018] Recapitulation of pathological TDP-43 features in immortalized lymphocytes from sporadic ALS patients. *Mol Neurobiol.* doi: 10.1007/s12035-018-1249-8.
- Del Cerro P, Alquézar C, Bartolomé F, González-Naranjo P, Pérez C, Carro E, Páez JA, Campillo NE, Martín-Requero A [2018] Activation of the Cannabinoid type 2 receptor by a novel indazole derivative normalizes the survival pattern of lymphoblasts from patients with late-onset Alzheimer's disease. *CNS Drugs.* doi: 10.1007/s40263-018-0515-7.
- Porras G, Ayuso MS, González-Manchón C [2018] Leukocyte-endothelial cell interaction is enhanced in podocalyxin-deficient mice. *Int J Biochem Cell Biol* 99:72-79.
- Bartolomé F, Esteras N, Martín-Requero A, Boutolleau-Bretonniere C, Vercellotto M, Gabelle A, Le Ber I, Honda T, Dinkova-Kostova AT, Hardy J, Carro E, Abramov AY [2017] Pathogenic p62/SQSTM1 mutations impair energy metabolism through limitation of mitochondrial substrates. *Sci Rep* 7(1):1666. Erratum in: [2018] *Sci Rep* 8(1):4064.
- Wojsiat J, Laskowska-Kaszub K, Alquézar C, Bialozirowicz E, Esteras N, Zdziurk M, Martín-Requero A, Wojda U [2017] Familial Alzheimer's disease lymphocytes respond differently than sporadic cells to oxidative stress: upregulated p53-p21 signaling linked with Presenilin 1 mutants. *Mol Neurobiol.* 54(7):5683-5698.

Patentes | Patents

- Ana Martínez Gil, Carmen Gil Ayuso-Gontan, Ángeles Martín Requero, Elisa Rojas Prats, Loreto Martínez González. 21 Septiembre de 2018. "Derivados de purina inhibidores de CDC7 y su uso para el tratamiento de enfermedades neurológicas". P202830914

Financiación | Funding

- CTQ2015-66313-R (MINECO)
- S2017/BMD-3813 (Comunidad de Madrid)

Cellular and Molecular Basis of Alzheimer's Disease and other Dementias

Our laboratory is interested in mechanisms that cause cell death in disorders such as Alzheimer's disease, frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis. The work focuses on cell cycle dysfunction, apoptosis, mitochondrial impairment, oxidative damage and proteostasis, using *in vivo* models of neurodegeneration and *in vitro* culture of cells, including peripheral cells from patients.

Cellular and molecular basis of Alzheimer's disease

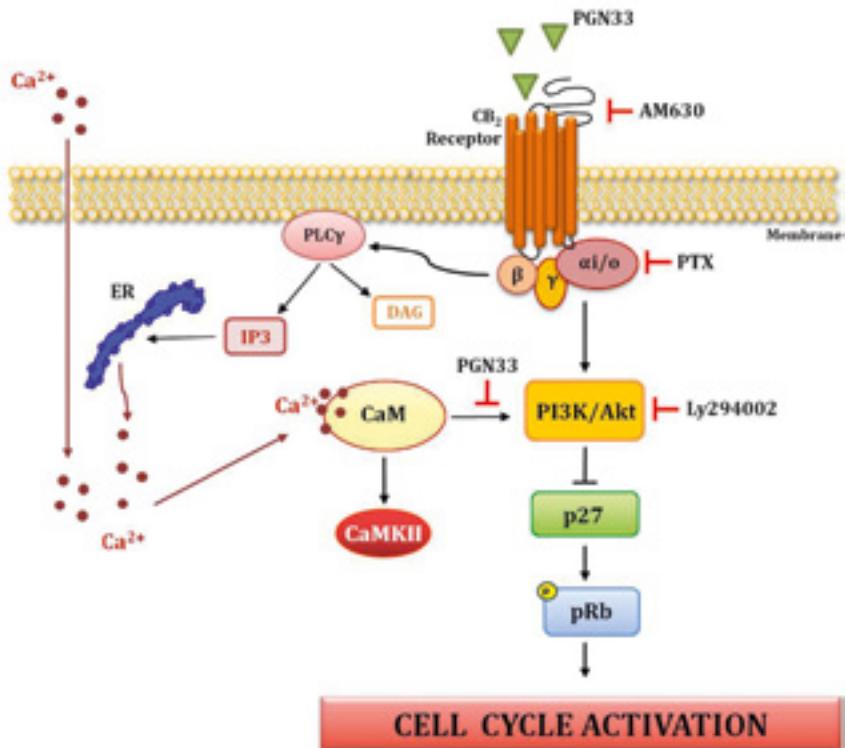
The most common cause of dementia in mid-to late-life is Alzheimer disease (AD), for which there are no disease modifying drugs currently available. We are working in a research project aimed at designing and evaluating the therapeutic potential of new compounds with a multitarget profile as CB2 cannabinoid agonists and β -secretase (BACE-1) and/or Butyrylcholinesterase (BuChE) inhibitors. To this end, we are carrying studies regarding the effects of these molecules on the mechanisms controlling cell survival/dead in lymphoblastic cell lines from AD patient as well as in neuronal cell models and transgenic mice.

TDP-43 proteinopathies: Frontotemporal Lobar Degeneration and Amyotrophic Lateral Sclerosis

Frontotemporal lobar degeneration (FTLD-TDP) is a neurodegenerative disorder associated with changes in personality and behavior, and language difficulties. Progranulin haploinsufficiency is considered a major pathogenic mechanism. In the other hand, Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) is a neurodegenerative disease characterized by the progressive loss of motoneurons, weakness of innervated muscles, and death by respiratory failure. Both, FTLD-TDP and ALS are considered as extreme points of a disease spectrum on the basis of common genetic and neuropathological features. Among them, the presence of TDP-43

inclusions within the CNS is consistently found in both disorders. We are investigating the pathogenic influence of progranulin deficit and the molecular mechanisms controlling TDP-43 homeostasis, using immortalized lymphocytes from FTLD-TDP and sporadic ALS patients and human

neuroblastoma cells as experimental models. The use of lymphoblastoid cell lines from patients allows us to evaluate novel therapeutic strategies aimed at preventing the enhanced TDP-43 phosphorylation, and/or to correct impaired degradation of the protein (via proteasome or autophagy).



CELL CYCLE ACTIVATION

Figure 1

Effects of targeting CB₂ receptors on the proliferative activity of Alzheimer's disease (AD) lymphoblasts. Lymphoblasts from AD patients show an overactivation of PI3K/Akt compared with control cells. Treatment of AD cells with the CB₂ agonist PGN33 prevented the Ca^{2+} /calmodulin-dependent activation of PI3K/Akt, normalized the cellular content of p27, and restored pRb phosphorylation and cell-cycle activation. ER endoplasmic reticulum, PTX pertussis toxin.



Joaquín Teixidó Calvo

Profesor de Investigación
joaquin@cib.csic.es



PhD, 1985 • Max Plank Institute für Molekulare Genetik, Berlin, and Centro de Biología Molecular, Universidad Autónoma de Madrid
 Postdoctoral, 1986-1992 • University of Massachusetts, Dana Farber Cancer Institute, Boston, USA, Hospital de La Princesa (Madrid)
 Científico Titular, 1992 • CSIC
 Incorporación y Jefe Grupo, 1994 • CIB
 Investigador Científico, 2003 • CIB
 Profesor de Investigación, 2007 • CIB

Otros miembros | Other members

Nohemí Arellano Sánchez
 Lucía Benito Jardón
 Silvia Sevilla Movilla

Marta Díaz Martínez
 Mónica Martínez Moreno

 [http://www.cib.csic.es/es/departamentos/medicina-celular-y-molecular/
quimoquinas-y-migracion-celular/](http://www.cib.csic.es/es/departamentos/medicina-celular-y-molecular/quimoquinas-y-migracion-celular/)

Migración Celular en Procesos Fisiológicos y Patologías

Una parte importante de nuestros estudios está enfocada a la caracterización de mecanismos moleculares implicados en la regulación de la migración de linfocitos y de células tumorales. Por otra parte, estamos identificando mecanismos de resistencia a quimioterapia de células de melanoma y de mieloma múltiple, y estudiando el papel de microRNAs en dicha resistencia.

La estimulación por quimiocinas de la adhesión linfocitaria mediada por la integrina VLA-4 es un paso crucial durante el tráfico de linfocitos a sitios de inflamación. Tras la unión quimiocinas/receptor se genera una señalización inside-out que incide en los dominios citoplásmicos de las integrinas. Estamos caracterizando las moléculas inside-out necesarias para la regulación de la adhesión linfocitaria dependiente de VLA-4, lo que

mejorará nuestro conocimiento de mecanismos implicados en el tráfico de estas células. Las células de melanoma son altamente invasivas y muestran un notable potencial metastásico. Mutaciones prevalentes en melanoma incluyen B-Raf V600E y N-Ras Q61K, lo que conduce a hiperactivación de la MAP quinasa Erk1/2. Nuevas terapias dirigidas a la vía Ras-Raf-MEK-Erk1/2, como vemurafenib, trametinib e inhibidores de Erk1/2 han mejorado la supervivencia en melanoma, aunque respuestas de resistencia son comunes. Estamos identificando mecanismos moleculares implicados en resistencia de células de melanomas a inhibidores de Erk1/2, y sus relaciones con el microambiente inmune tumoral. Asimismo, hemos iniciado un estudio sobre las relaciones espaciales y funcionales entre linfocitos T y macrófagos que infiltran el melanoma, para determinar su implicación en terapias inmunes frente a este tumor. El mieloma múltiple (MM) es una neoplasia de células B caracterizada por el tráfico y la acumulación de células malignas en la médula ósea (MO). Las células de MM utilizan VLA-4 para alojarse en la MO, lo que contribuye a la progresión de la enfermedad. La expresión y función de miRNAs en MM específicamente alteradas por la adhesión celular mediada por VLA-4 podría proporcionar pistas importantes sobre la progresión del MM. Finalmente, estamos caracterizando relaciones funcionales entre resistencia de células de MM al inhibidor del proteasoma bortezomib y expresión y función de VLA-4.

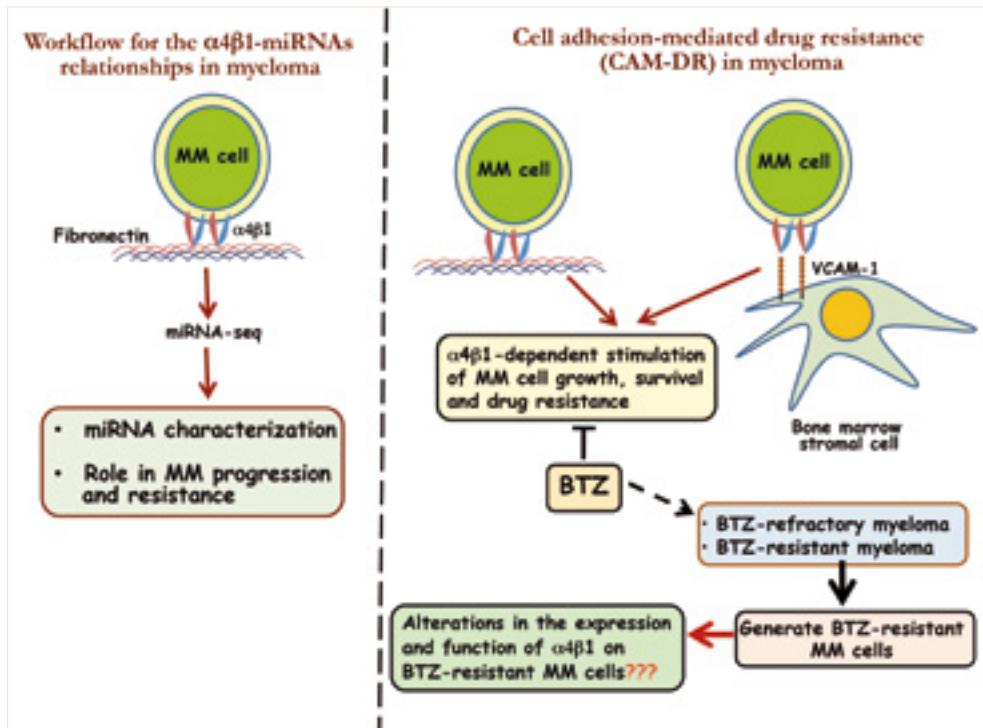
Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Bartolomé RA, Torres S, Isern de Val S, Escudero-Paniagua B, Calviño E, Teixidó J, Casal JI [2017] VE-cadherin RGD motifs promote metastasis and constitute a potential therapeutic target in melanoma and breast cancers. *Oncotarget* 8:215-227.
- Díaz-Martínez M, Benito-Jardón L, Alonso I, Koetz-Ploch L, Hernando E, Teixidó J [2018] MiR-204-5p and miR-211-5p contribute to BRAF inhibitor resistance of melanoma. *Cancer Res* 78:1017-1030.
- Teixidó J, Martínez-Moreno M, Díaz-Martínez M, Sevilla-Movilla S [2018] The good and bad faces of the CXCR4 chemokine receptor. *Int J Biochem Cell Biol* 95:121-131.
- Díaz-Martínez M, Benito-Jardón L, Teixidó J [2018] New insights in melanoma resistance to BRAF inhibitors: a role for microRNAs. *Oncotarget* 9:35374-35375.

Financiación | Funding

- SAF2014-53059-R
- Spanish Network of Cooperative Research in Cancer, Ministry of Health RD12/0036/0061 (2012-2017) - Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) cofunded by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER)
- SAF2017- 85146-R



**Figure 1**

The $\alpha 4\beta 1$ integrin, miRNAs and resistance to bortezomib. (Left) We are characterizing miRNAs in MM cells specifically induced by $\alpha 4\beta 1$ -dependent cell adhesion. (Right) We are also addressing the molecular connections between MM cell resistance to proteasome inhibitors (bortezomib, BTZ) and $\alpha 4\beta 1$.

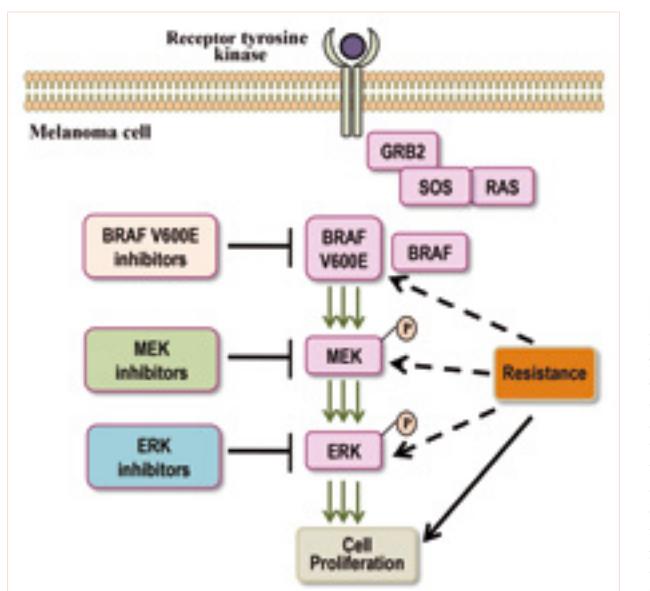
Cell Migration in Physiology and Disease

An important part of our studies is focused on the characterization of molecular mechanisms involved in the regulation of lymphocyte and tumor cell migration. On the other hand, we are identifying mechanisms of resistance to chemotherapy of melanoma and multiple myeloma cells, and studying the role of microRNAs in such resistance.

Chemokine stimulation of lymphocyte adhesion mediated by the integrin VLA-4 ($\alpha 4\beta 1$) is a crucial step during the trafficking of lymphocytes to sites of inflammation. After chemokine/receptor binding, an inside-out signaling is generated that impinges the cytoplasmic domains of the integrins. We are characterizing the inside-out molecules

necessary for the regulation of lymphocyte adhesion dependent on VLA-4, which will improve our knowledge of mechanisms involved in the trafficking of these cells. Melanoma cells are highly invasive and show a remarkable metastatic potential. Predominant mutations in melanoma include B-Raf V600E and N-Ras Q61K, which lead to hyperactivation of the

MAP kinase Erk1/2. New therapies targeting the Ras-Raf-MEK-Erk1/2 pathway, such as vemurafenib, trametinib and Erk1/2 inhibitors, have improved survival in melanoma, although resistance responses are common. We are identifying molecular mechanisms involved in the resistance of melanoma cells to Erk1/2 inhibitors, and their relationships with the tumor immune microenvironment. We have also begun a study on the spatial and functional relationships between T lymphocytes and macrophages that infiltrate melanoma, to determine their involvement in immune therapies against this tumor. Multiple myeloma (MM) is a B-cell neoplasm characterized by trafficking and the accumulation of malignant cells in the bone marrow (BM). MM cells use VLA-4 to lodge in BM, which contributes to the progression of the disease. The expression and function of miRNAs in MM specifically altered by cell adhesion mediated by VLA-4 could provide important clues about the progression of MM. Finally, we are characterizing functional relationships between resistance of MM cells to the proteasome inhibitor bortezomib and expression and function of VLA-4.

**Figure 2**

Resistance to MAPK inhibitors in melanoma cells. Hyperactivation of the MAPK pathway due to the BRAF V600E mutation leads to uncontrolled melanoma cell proliferation. We are elucidating molecular mechanisms involved in the resistance of melanoma cells to BRAF, MEK and ERK inhibitors.

José Ignacio Casal Álvarez

Investigador Científico
icasal@cib.csic.es

PhD, 1984 • Centro de Biología Molecular, CSIC,
Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1985-1986 • Massachusetts Institute of
Technology (MIT), USA
Jefe de Proyecto, 1987-1997 • INGENASA
Director de Investigación, 1997-2001 • INGENASA
Director Programa de Biotecnología, 2001-2008 • CNIO
Investigador Científico, 2007 • CSIC
Incorporación, 2008 • CIB



Otros miembros | Other members

Rubén A. Bartolomé Conde
Sofía Torres Moriano
Beatriz Escudero Paniagua

Consuelo Marín Vicente
Marta Jaén Castaño
Eva Calviño



[https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/
proteomica-funcional](https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/proteomica-funcional)

Proteómica Funcional

Nuestro grupo estudia los mecanismos moleculares implicados en la metástasis del cáncer colorrectal y otros tumores para el diseño de nuevas terapias, incluyendo anticuerpos terapéuticos, la transición epitelio-mesénquima en tumores y la identificación de biomarcadores diagnósticos y pronósticos de valor clínico. El laboratorio participa en múltiples actividades de transferencia tecnológica, incluida la plataforma Proteored (ISCIII).

Nuestro grupo estudia diversos aspectos de la biología del cáncer, con especial énfasis en la diseminación metastática y el papel del estroma en progresión, diagnóstico y pronóstico.

- Mecanismos moleculares implicados en la metástasis de cáncer colorrectal y otros tumores. Hemos identificado varias moléculas, entre otras IL13Ra2, CDH17 y VE-cadherina, que juegan un papel clave en adhesión, migración y supervivencia celular en metástasis. En IL13Ra2 hemos demostrado tanto su capacidad para señalización por IL-13 como identificado las moléculas mediadoras (FAM120A). Recientemente, hemos diseñado un péptido de IL13Ra2 capaz de inhibir la actividad pro-metastática de IL13. La CDH17 juega un papel clave en la colonización hepática y participa en la activación de integrinas utilizando un motivo RGD, presente también en otras cadherinas, como la VE-cadherina. El bloqueo de la unión cadherina RGD-integrina $\beta 1$ presenta una clara utilidad terapéutica no solo en cáncer colorrectal, sino en mama, melanoma y otros tumores. Un panel de anticuerpos terapéuticos anti-RGD cadherina ha sido preparado y se ha caracterizado su capacidad para inhibir metástasis en diferentes tumores. Los resultados han sido patentados y licenciados a empresas interesadas.
- El proceso de invasión tumoral va acompañado por cambios en la morfología y fenotipo celular conocidos como transición epitelio-mesénquima (EMT). Estamos estudiando factores de transcripción claves en la regulación de la EMT como SNAIL, TWIST o LOXL2, tanto en células tumorales como estromales.

Hemos demostrado la capacidad de TWIST para inducir actividad pro-metastática en fibroblastos del estroma tumoral. Por otro lado, la caracterización del estroma tumoral nos ha permitido descubrir diversos marcadores estromales de valor pronóstico y predictivos de supervivencia como LOXL2. LOXL2 puede ser utilizado para la estratificación de pacientes de cáncer colorrectal y el diseño de terapias más agresivas.

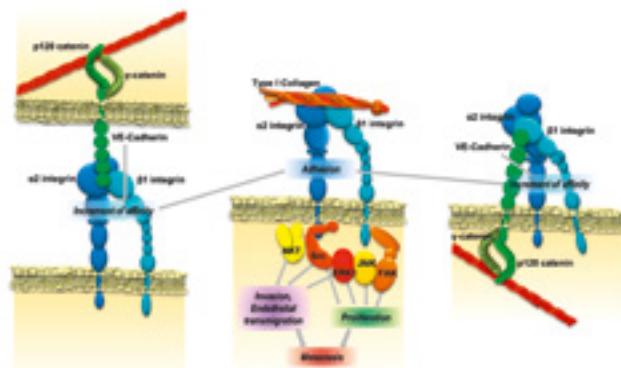


Figure 1

VE-cadherin promotes metastatic colonization. VE-cadherin RGD motifs might interact with $\alpha 2\beta 1$ integrin either inter- or intracellularly, thereby increasing its affinity for ligands in the extracellular matrix and leading to an increase of cell adhesion and signaling activation proteins. Integrin activation increases the ability of cancer cells to invade and proliferate, and consequently their metastatic capacity.



Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Merlos Rodrigo MA, Buchtelova H, de los Ríos V, Casal JI, EckschLAGER T, Hrhaba J, Belhajova M, Heger Z, Adam V [2019] Proteomic signature of neuroblastoma cells UKF-NB-4 reveals key role of lysosomal sequestration and the proteasome complex in acquiring chemoresistance to cisplatin. *J Proteome Res.* doi: 10.1021/acs.jproteome.8b00867.
- Bartolomé RA, Jaén M, Casal JI [2018] An IL13R α 2 peptide exhibits therapeutic activity in metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer* 119:940-9.
- Casal JI and Bartolomé RA [2018] RGD cadherins and α 2 β 1 integrin in cancer metastasis: A dangerous liaison. *BBA Reviews on Cancer* 1869:321-332.
- Torres S, García-Palmero I, Marín-Vicente C, Bartolomé RA, Calviño E, Fernández-Aceñero MJ, Casal JI [2018] Proteomic Characterization of Transcription and Splicing Factors Associated with a Metastatic Phenotype in Colorectal Cancer. *J Proteome Res.* 17:252-264.
- Bartolomé RA, Aizpurua C, Jaén M, Torres S, Calviño E, Imbaud JI, Casal JI [2018] Monoclonal antibodies directed against cadherin RGD exhibit therapeutic activity against melanoma and colorectal cancer metastasis. *Clin Cancer Res.* 24:433-44.
- Mendes M, Peláez-García A, López Lucendo M, Bartolomé RA, Calviño E, Barderas R, Casal JI [2017] Mapping the spatial proteome of metastatic cells in colorectal cancer. *Proteomics* 17:1700094.
- Torres S, García-Palmero I, Bartolomé RA, Fernández-Aceñero MJ, Molina E, Calviño E, Segura MF, Casal JI [2017] Combined miRNA profiling and proteomics demonstrates that different miRNAs target a common set of proteins to promote colorectal cancer metastasis. *J Pathol* 242:39-51.

• De Barrios O, Györffy B, Fernández-Aceñero MJ, Sánchez-Tilló E, Sánchez-Moral L, Siles L, Esteve-Arenys A, Rouge G, Casal JI, Darling DS, Castells A, Postigo A [2017] ZEB1-induced tumorigenesis requires senescence inhibition via activation of DKK1/mutant p53/Mdm2/CtBP and repression of macroH2A1. *Gut* 66:666-682.

• Bartolomé RA, Torres S, Isern de Val S, Escudero-Paniagua B, Calviño E, Teixidó J, Casal JI [2017] VE-cadherin promotes metastasis and constitutes a potential therapeutic target in melanoma and breast cancer. *Oncotarget* 8:215-227.

Patentes | Patents

- J. Ignacio Casal y Rubén A. Bartolomé. 03/11/2017. "IL13R α 2 PEPTIDE AND ITS USES". EP17382737.9

Financiación | Funding

- RTC-2017-6260-1 (MICINN)
- PRB3 (ISCIII. FIS. PT17/0019/0008)
- BIO2015-66489-R (MINECO).
- PRB2 (IPT13/0001-ISCIII-SGEFI/FEDER). Instituto de Salud Carlos III
- COOPB20276
- Fundación Ramón Areces
- UE Horizon 2020. SME instrument phase 2. Grant agreement No: 666540

Functional Proteomics

Our group studies the molecular mechanisms involved in metastasis of colorectal cancer and other tumors for the design of new therapies, including therapeutic antibodies, the epithelial-mesenchymal transition in tumors and the identification of diagnostic and prognostic biomarkers of clinical value. The laboratory participates in multiple technology transfer activities, including the Proteored platform (ISCIII).

Our group studies various aspects of cancer biology, with special emphasis on metastatic dissemination and the role of the stroma in progression, diagnosis and prognosis.

- Molecular mechanisms involved in the metastasis of colorectal cancer and other tumors. We have identified several

molecules, among others IL13R α 2, CDH17 and VE-cadherin, which play a key role in adhesion, migration and cell survival in metastasis. In IL13R α 2 we have demonstrated both its capacity for signaling by IL-13 and identified signaling mediator molecules (FAM120A). We have recently designed an IL13R α 2

peptide capable of inhibiting the pro-metastatic activity of IL13. CDH17 plays a key role in hepatic colonization and participates in the activation of integrins using an RGD motif, also present in other cadherins, such as VE-cadherin. Blocking of cadherin RGD-integrin β 1 binding presents a clear therapeutic utility not only in colorectal cancer, but also in breast, melanoma and other tumors. A panel of therapeutic anti-RGD cadherin antibodies has been prepared and its ability to inhibit metastasis in different tumors has been characterized. The results have been patented and licensed to interested companies.

- The process of tumor invasion is accompanied by changes in cell morphology and phenotype known as epithelial-mesenchymal transition (EMT). We are studying key transcription factors in the regulation of EMT such as SNAIL, TWIST or LOXL2, in both tumor and stromal cells. We have demonstrated the ability of TWIST to induce pro-metastatic activity in tumor stromal fibroblasts. On the other hand, the characterization of the tumor stroma has allowed us to discover various prognostic and survival predictive markers, such as LOXL2. LOXL2 can be used for the stratification of colorectal cancer patients and the design of more aggressive therapies in patients at risk.

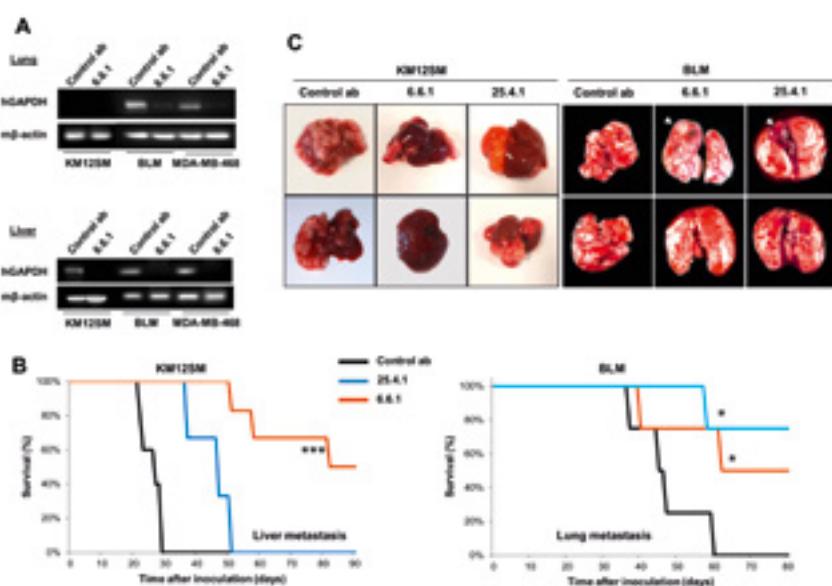


Figure 2

Anti-RGD mAbs increase mouse survival to liver and lung metastasis. (A) Anti-RGD 6.6.1 mAb specifically inhibited the homing in lung and liver, for melanoma, breast and colorectal cancer. (B) Starting at 48 h after inoculation, the indicated antibodies (50 mg/Kg, 7 doses) were administered intravenously for two weeks. Survival was significantly enhanced by the indicated mAb. (C) Representative pictures of livers and lungs from the inoculated mice after necropsy.

Faustino Mollinedo García

Profesor de Investigación
fmollin@cib.csic.es



PhD, 1982 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1982-1983 • Dartmouth Medical School (Hanover, NH, USA)
Postdoctoral, 1984-1985 • New York University Medical Centre (New York, NY, USA)
Jefe de Grupo, 1986-1994 • CIB (Madrid)
Jefe de Grupo en el Instituto de Biología y Genética Molecular, 1994-2000 • IBMG (Valladolid)
Jefe de Grupo en el Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer, 2000-2015 • IBMCC (Salamanca)
Jefe de Grupo en el CIB de Madrid (2015-actual)
Científico Titular, 1986 • CSIC
Investigador Científico, 1989 • CSIC
Profesor de Investigación, 2002 • CSIC

Otros miembros | Other members

Consuelo Gajate Fraile
Julia Mayor Pillado

Alba Vicente Blázquez



<http://cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/laboratorio-de-muerte-cellular-y-terapia-del-cancer>

Laboratorio de Muerte Celular y Terapia del Cáncer

Nuestros estudios se centran en: a) descubrimiento de nuevas dianas y compuestos inductores de muerte celular selectiva en tumores; b) terapia combinatoria, potenciando la muerte de la célula tumoral y evitando resistencia a fármacos; c) lipid rafts como nueva diana y su papel en la regulación de muerte celular; d) biología del neutrófilo y cáncer; e) mecanismo de acción de los denominados análogos alquilfosfolípidos frente a cáncer, leishmaniosis y enfermedades autoinmunes.

Los análogos alquil-fosfolípidos (APLs) son una familia de agentes antitumorales sintéticos, que actúan sobre las membranas celulares y poseen varias aplicaciones biomédicas. Entre los APLs se incluyen: miltefosina, primer fármaco oral frente a leishmaniosis y utilizada para tratamiento tópico de metástasis cutánea en cáncer de mama; y perifosina, actualmente en ensayos clínicos de cáncer. El éster lípido edelfosina es el prototipo de APLs e induce apoptosis en células tumorales, mediante un mecanismo selectivo y único. La actividad antitumoral de edelfosina en malignidades hematológicas implica el reclutamiento de receptores de muerte y subsiguientes moléculas de señalización en plataformas de lipid rafts. Esto ha conducido a identificar los dominios lipid rafts como una nueva diana terapéu-

tica, abriendose una nueva vía en la terapia del cáncer. Además, la actividad antitumoral de edelfosina sobre tumores sólidos está mediada por una respuesta de estrés de retículo endoplásmico. Estas señales mediadas por rafts y retículo endoplásmico convergen en las mitocondrias, que juegan un papel crítico en el destino final de la célula diana. Edelfosina también posee una potente actividad leishmanicida, superior a la mostrada por miltefosina, y sus acciones frente a *Leishmania* y células tumorales comparten algunos procesos de señalización, identificándose así nuevas dianas terapéuticas para la leishmaniosis. Uno de nuestros principales objetivos a largo plazo es descubrir los mecanismos moleculares que regulan el destino celular (muerte/supervivencia) en distintos tipos de células y sistemas biológicos (célula cancerosa, *cancer stem cell*, neutrófilo, *Leishmania*, levadura), identificando así nuevas dianas y transfiriendo este conocimiento a nuevas terapias dirigidas a muerte celular. Para potenciar la actividad de los APLs, estamos utilizando: a) terapia combinatoria con agentes anti-tubulina y otros agentes que afectan señalización; b) aproximaciones nanotecnológicas.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- González-Fernández Y, Imbuluzqueta E, Zalacain M, Mollinedo F, Patiño-García A, Blanco-Prieto MJ [2017] Doxorubicin and edelfosine lipid nanoparticles are effective acting synergistically against drug-resistant osteosarcoma cancer cells. *Cancer Lett* 388:262-268.
- Marín-Ramos NI, Piñar C, Vázquez-Villa H, Martín-Fontecha M, González Á, Canales Á, Algar S, Mayo PP, Jiménez-Barbero J, Gajate C, Mollinedo F, Pardo L, Ortega-Gutiérrez S, Viso A, López-Rodríguez ML [2017] Development of a nucleotide exchange inhibitor that impairs Ras oncogenic signaling. *Chemistry* 23:1676-1685.
- Gajate C., and Mollinedo F. [2017] Isolation of Lipid Rafts Through Discontinuous Sucrose Gradient Centrifugation and Fas/CD95 Death Receptor Localization in Raft Fractions. *Methods Mol Biol.* 1557:125-138.
- Villa-Pulgarín JA, Gajate C, Botet J, Jiménez A, Justics N, Varela-M RE, Cuesta-Marbán Á, Müller I, Modolell M, Revuelta JL, Mollinedo F [2017] Mitochondria and lipid raft-located F₀F₁-ATP synthase as major therapeutic targets in the antileishmanial and anticancer activities of ether lipid edelfosine. *PLoS Negl Trop Dis* 11(8):e0005805.
- Varela-M RE, Ochoa R, Muskus CE, Muro A, Mollinedo F [2017] Identification of a RAC/AKT-like gene in *Leishmania* parasites as a putative therapeutic target in leishmaniasis. *Parasit Vectors* 10(1):458.
- Gajate C, Mollinedo F. [2017] Fas/CD95, lipid rafts and cancer. In: TRAIL, Fas Ligand, TNF and TLR3 in Cancer (Olivier Micheau, ed.), chapter 9, pp. 187-228. Springer Nature, Springer International Publishing AG, Cham, Switzerland. ISBN: 978-3-319-56804-1. ISBN: 978-3-319-56805-8 (eBook). DOI: 10.1007/978-3-319-56805-8.
- Conde-Rioll M, Gajate C, Fernández JJ, Villa-Pulgarín JA, Napolitano JC, Norte M, Mollinedo F [2018] Antitumor activity of *Lepidium latifolium* and identification of the epithionitrile 1-cyano-2,3-epithiopropane as its major active component". *Mol Carcinog* 57(3):347-360.
- Bello C, Bai J, Zambron BK, Elías-Rodríguez P, Gajate C, Robina I, Caffa I, Cea M, Montecucco F, Nencioni A, Nahimana A, Aubry D, Breton C, Duchosal MA, Mollinedo F, Vogel P [2018] Induction of cell killing and autophagy by amphiphilic pyrrolidine derivatives on human pancreatic cancer cells. *Eur J Med Chem* 150:457-478.
- Álvarez R, Gajate C, Puebla P, Mollinedo F, Medarde M, Peláez R. [2018] Substitution at the indole 3 position yields highly potent indolecombretastatins against human tumor cells. *Eur J Med Chem* 158:167-183.

Patentes | Patents

- Pierre Vogel, Michel Duchosal, Nahimana Aimable, Inmaculada Robina, Faustino Mollinedo, Alessio Nencioni. 08 February 2018. "Piperidine derivatives for use in the treatment of pancreatic cancer". WO 2018/024907 A1



Laboratory of Cell Death and Cancer Therapy

Our research focuses on: a) the discovery of novel targets and drugs triggering selective tumor cell death; b) combination therapy, potentiating cancer cell death and avoiding drug resistance; c) lipid rafts as a novel therapeutic target and their role in cell death; d) neutrophil biology and cancer; e) elucidation of the mechanism of action of membrane-targeting alkylphospholipid analogs acting on cancer, leishmaniasis and autoimmune diseases.

The so-called alkylphospholipid analogs (APLs) are a family of synthetic antitumor compounds that target cell membranes and have several biomedical applications. APL family members include miltefosine, the first oral antileishmanial drug and used for topical treatment of breast cancer cutaneous metastases, and perifosine, currently in cancer clinical trials. The ether lipid edelfosine has been considered the prototype of APLs and induces apoptosis in tumor cells by a rather selective and unique mechanism. We have found that the antitumor activity of edelfosine involves the recruitment of death receptors and downstream signaling molecules in lipid raft platforms in hematologic malignancies. This has led to identify lipid rafts as a

novel therapeutic target, and to open a new avenue in cancer therapy. In addition, the antitumor activity of edelfosine on solid tumors is mainly mediated through an endoplasmic reticulum stress response. The lipid raft- and endoplasmic reticulum-mediated signals set off by edelfosine converge on the mitochondria, which play a critical role in the final fate of the target cell. On the other hand, we have found that edelfosine shows a potent antileishmanial activity, higher than that of miltefosine, and its antileishmanial and anticancer actions share some common signaling processes, thus identifying novel druggable targets for the treatment of leishmaniasis. One of our major long-term goals lies in unveiling the molecular mechanisms regulating

cell fate (death/survival) in different cell types and biological systems (including cancer cell, cancer stem cell, neutrophil, Leishmania, yeast), thus identifying novel targets, and transferring this insight into novel cell death-targeted therapies. In order to potentiate the antitumor and antileishmanial activity of APLs, we are using: a) combination therapy with anti-microtubule agents as well as agents affecting different signaling routes; b) different nanotechnology approaches.

Financiación | Funding

- Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer (RTICC) RD12/0036/0065 (ISCIII)
- SAF2014-59716-R (MINECO)
- SAF2017-89672-R (MINECO)

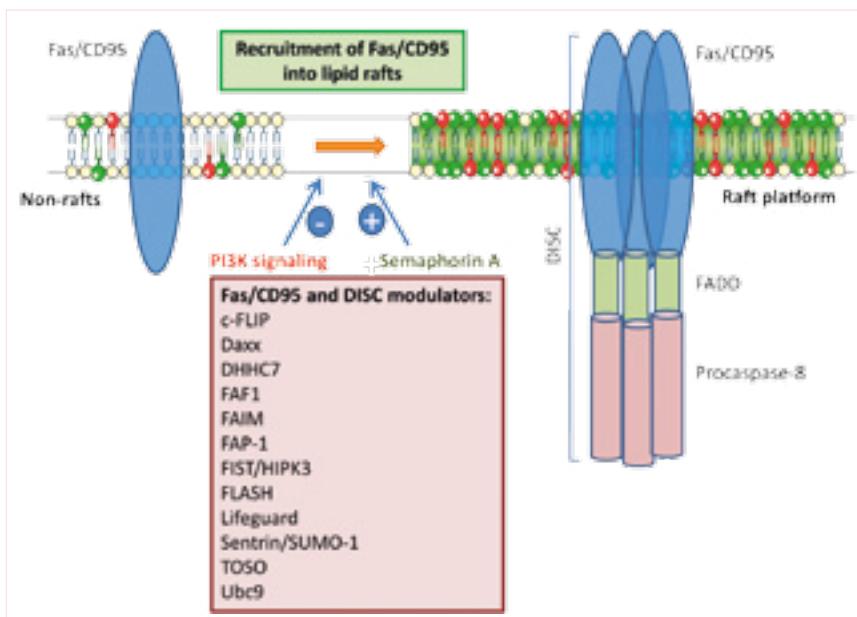


Figure 1

Proteins and signaling pathways affecting Fas/CD95-mediated apoptosis and recruitment of Fas/CD95 into lipid rafts. Fas/CD95, FADD and pro-caspase-8, forming the death-inducing signaling complex (DISC), are recruited and brought together in close proximity in large lipid raft platforms or raft clusters to launch an apoptotic signal.

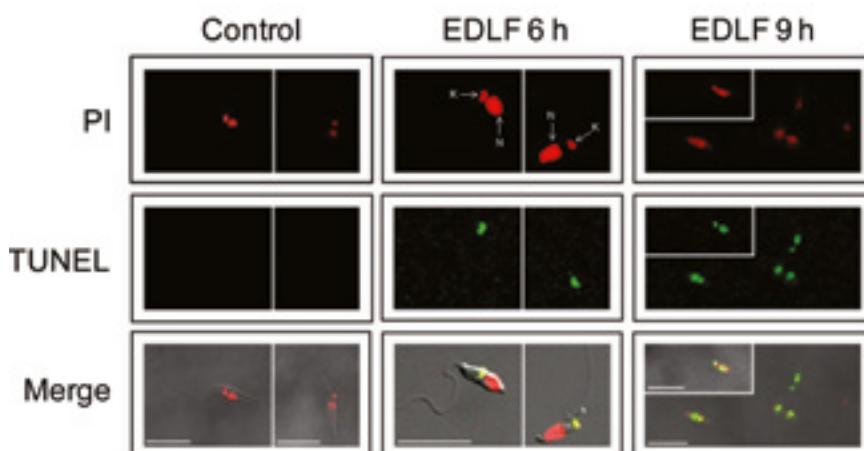


Figure 2

Edelfosine induces breakage of kinetoplast DNA prior to nuclear DNA breakdown in *Leishmania* parasites. Promastigotes were untreated (Control) or treated with 10 μM edelfosine (EDLF) for 6 and 9 h, and then analyzed by confocal microscopy for propidium iodide (PI) staining and TUNEL assay. N, nucleus. K, kinetoplast. Merge panels (PI + TUNEL) show the DNA-containing organelles with DNA cleavage in yellow. DIC, differential interference contrast images. Bar, 20 μm.

Alicia G. Arroyo

Científico Titular
agarroyo@cib.csic.es

MD, 1993 • Hospital de la Princesa
PhD, 1994 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1995-1998 • MIT, USA
Jefe de grupo, 1999-2002 • Hospital de la Princesa
Científico Titular 2002-2003 • CIB-CSIC
Jefe de grupo, 2004-2017 • CNIC
Incorporación Dic 2017 • CIB



Otros miembros | Other members

Cristina Clemente Toribio
Álvaro Sahún Español
Ricardo Santamaría Adame



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/matrix-metalloproteinases-angiogenesis-and-inflammation>

Metaloproteinasas de Matriz en Angiogénesis e Inflamación

Las respuestas vascular e inmune a daño contribuyen a la reparación tisular. Hemos descubierto que las metaloproteinasas de matriz de membrana regulan el remodelado de redes vasculares y el rastreo intravascular de los monocitos patrulleros. Estos hallazgos podrían ayudar a mejorar la perfusión capilar en enfermedad inflamatoria intestinal o infarto de miocardio y la actividad inmune endógena para combatir infecciones y metástasis tumorales.

La vasculatura se encarga de la distribución óptima de nutrientes y oxígeno a todo el organismo y para ello debe adaptarse continuamente a las necesidades cambiantes de los tejidos. Tras un daño o tras isquemia, la vasculatura responde formando nuevos capilares desde vasos pre-existentes (angiogénesis) y mediante la angioadaptación dependiente de flujo sanguíneo para promover la revascularización. El flujo sanguíneo también regula las células del sistema inmune favoreciendo su libre circulación y su contacto, rastreo, adhesión firme o transmigración endotelial en diferentes contextos. Nuestro grupo lleva años dedicado a dilucidar las bases celulares y mecanismos moleculares que gobiernan las respuestas vascular e inmune durante la inflamación y cómo pueden contribuir a la reparación tisular. Para ello, nos hemos centrado en las acciones de las metaloproteinasas de matriz extracelular ancladas a membrana (MT-MMPs), una subfamilia de proteasas

que pueden modificar dinámicamente la matriz extracelular y la actividad de proteínas de membrana o solubles, y en particular en su impacto sobre el comportamiento de células endoteliales y de músculo liso vascular así como de monocitos/macrófagos. Recientemente hemos descubierto que las MT-MMPs participan en el remodelado de las redes vasculares, la función mecánica de la pared vascular, y en el rastreo intravascular de los monocitos patrulleros, una subpoblación encargada de vigilar la integridad del endotelio y de combatir agentes extraños. Nuestras líneas de investigación actuales mejorarán nuestra comprensión de estos procesos regulados por el flujo sanguíneo y permitirán identificar dianas para: i) mejorar la perfusión capilar y la reparación tisular en patologías como la enfermedad inflamatoria intestinal y la isquemia cardíaca/periférica; y ii) aumentar la actividad inmune endógena para combatir infecciones y metástasis tumorales.

Figure 1

Blood flow dynamically regulates vascular networks. A. 3D-rendered confocal microscopy image of CD31-stained (green) mouse intestine. Increased blood flow upon DSS treatment induces capillary splitting (asterisks). B. Maximal intensity confocal microscopy projection of neonate (P6) mouse retina stained for IB4 (green) and COL IV (red). 'Empty sleeves' (IB4-/COL IV+, asterisks) indicate regression of poorly perfused capillaries.

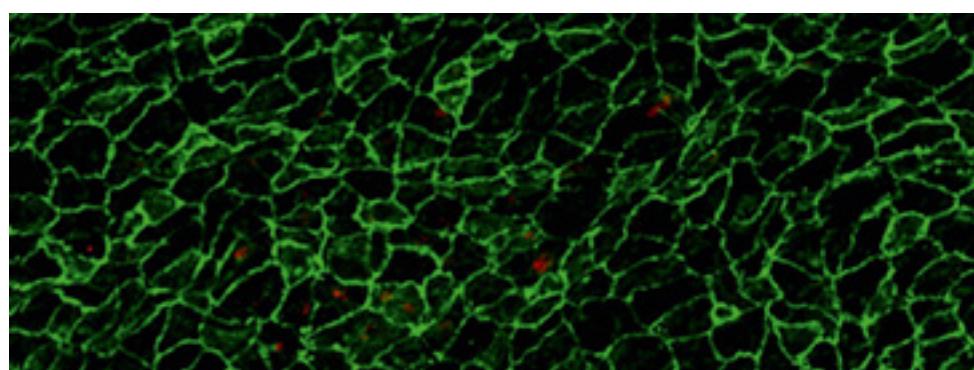
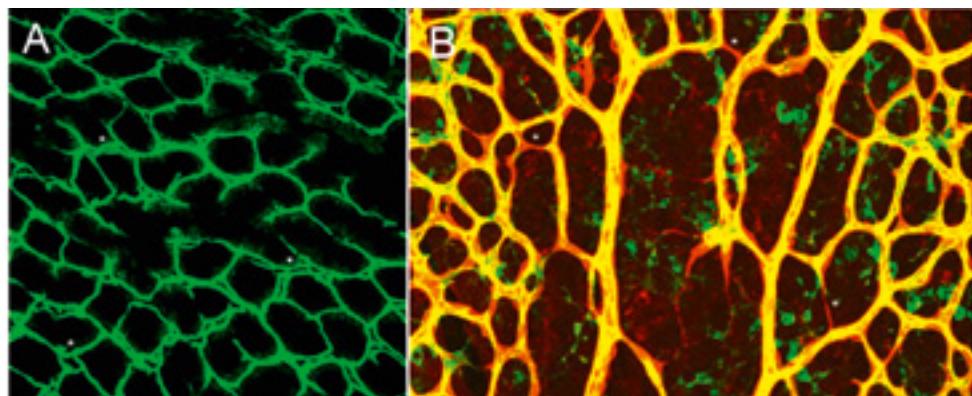


Figure 2

Patrolling monocytes monitor inflamed endothelial cells. The image shows patrolling monocytes (red) adhered to the inflamed endothelium (green) of the lesser curvature of the aortic arch during incipient atherosclerosis in mice.

Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Inflammation

Vascular and immune responses to damage contribute to tissue repair. We have recently recognized that membrane-type matrix metalloproteinases regulate blood flow-induced vascular network reshaping and intravascular crawling of patrolling monocytes. These findings may help improve capillary perfusion in inflammatory bowel disease or myocardial infarction and boost immune endogenous activities to combat infections and tumor metastasis.

The vasculature is in charge of optimally delivering nutrients and oxygen throughout the body and, for that, it must constantly adapt to varying tissue needs. Upon damage or ischemia, the vasculature responds by forming new capillaries from pre-existing ones (angiogenesis) and by flow-driven angioadaptation to promote revascularization. Vascular blood flow also regulates immune cells favoring their free circulation, tethering, crawling, firm adhesion or transmigration in different contexts. Our group has long dedicated to elucidate the cellular principles and molecular mechanisms that govern vascular and immune responses during inflammation and how these can contribute to tissue repair. For this, we have focused on the actions of membrane-type matrix

metalloproteinases (MT-MMPs), a subfamily of proteases that can modify dynamically the extracellular matrix and the activity of soluble and membrane proteins, and particularly in their impact on the behavior of endothelial and smooth muscle cells, and of monocytes/macrophages. We have recently recognized that MT-MMPs participate in vascular network reshaping, vessel wall mechanics, and intravascular crawling of patrolling monocytes, a subset in charge of surveying endothelial integrity and combating foreign agents. Our current research lines will deepen our understanding on these blood-flow regulated processes and allow identifying targets to: i) improve capillary perfusion and tissue repair in pathologies such as inflammatory bowel

disease and peripheral/cardiac ischemia; and ii) boost immune endogenous activities to combat infectious and tumor metastatic disease.

Patentes | Patents

- Alicia G. Arroyo, C. Clemente, F. Martínez, R. A. Mota. 5 Noviembre 2018. "Inhibitors of Membrane-type 4 matrix metalloproteinase (MT4-MMP) and its use in the treatment of diseases benefiting from an increase in the activity of patrolling monocytes". PCT/EP2018/080212

Financiación | Funding

- PR[17]_BIO_IMG_0114 (BBVA Foundation). 2018-2021.
- SAF2017-83229-R (MCIU). 2018-2020.
- SAF2014-52050-R (MINECO). 2015-2017.
- PITN-GA-2013-608027 (FP7-EC). 2013-2017.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Morcillo MÁ, García de Lucas Á, Oteo M, Romero E, Magro N, Ibáñez M, Martínez A, Garaulet G, Arroyo AG, López-Casas PP, Hidalgo M, Mulero F, Martínez-Torrecuadrada J [2018] MT1-MMP as a PET imaging biomarker for pancreas cancer management. contrast media. Mol Imaging 2018:8382148.
- Puig I, Tenbaum SP, Chicote I, Arqués O, Martínez-Quintanilla J, Cuesta-Borrás E, Ramírez L, Gonzalo P, Soto A, Aguilar S, Eguizabal C, Caratù G, Prat A, Argilés G, Landolfi S, Casanovas O, Serra V, Villanueva A, Arroyo AG, Terracciano L, Nuciforo P, Seoane J, Recio JA, Vivancos A, Dienstmann R, Tabernero J, Palmer HG [2018] TET2 controls chemoresistant slow-cycling cancer cell survival and tumor recurrence. J Clin Invest 128(9):3887-3905.
- Walter W, Alonso-Herranz L, Trappetti V, Crespo I, Ibberson M, Cedenilla M, Karaszewska A, Núñez V, Xenarios I, Arroyo AG, Sánchez-Cabo F, Ricote M [2018] Deciphering the dynamic transcriptional and post-transcriptional networks of macrophages in the healthy heart and after myocardial injury. Cell Rep 23(2):622-636.
- Clemente C, Rius C, Alonso-Herranz L, Martín-Alonso M, Pollán Á, Camafeita E, Martínez F, Mota RA, Núñez V, Rodríguez C, Seiki M, Martínez-González J, Andrés V, Ricote M, Arroyo AG [2018] MT4-MMP deficiency increases patrolling monocyte recruitment to early lesions and accelerates atherosclerosis. Nat Commun 9(1):910.
- Gkontra P, Norton KA, Źak MM, Clemente C, Agüero J, Ibáñez B, Santos A, Popel AS, Arroyo AG [2018] Deciphering microvascular changes after myocardial infarction through 3D fully automated image analysis. Sci Rep 8(1):1854.
- Sahún-Español Á, Clemente C, Arroyo AG [2018] 3D Image Analysis of the Microvasculature in Healthy and Diseased Tissues. Methods Mol Biol 1731:193-212.
- Gómez-Escudero J, Moreno V, Martín-Alonso M, Hernández-Riquer MV, Feinberg T, Colmenar A, Calvo E, Camafeita E, Martínez F, Oudhoff MJ, Weiss SJ, Arroyo AG [2017] E-cadherin cleavage by MT2-MMP regulates apical junctional signaling and epithelial homeostasis in the intestine. J Cell Sci 130(23):4013-4027.
- Blanco MJ, Rodríguez-Martín I, Learte AIR, Clemente C, Montalvo MG, Seiki M, Arroyo AG, Sánchez-Camacho C [2017] Developmental expression of membrane type 4-matrix metalloproteinase (Mt4-mmp/Mmp17) in the mouse embryo. PLoS One 12(9):e0184767.



Santiago Rodríguez de Córdoba

Profesor de Investigación
 srdecordoba@cib.csic.es



PhD, 1981 • Hospital Ramón y Cajal, Universidad Complutense de Madrid
 Visiting Scientist 1981 and Associate Investigator 1985 • The New York Blood Center, NY, USA

Científico Titular, 1986

Incorporación, 1989

Investigador Científico, 1990

Profesor de Investigación, 2000 • CIB, CSIC

Director Unidad de Patología Molecular, 1996-2002 • Fundación Jiménez Díaz, Madrid

Patología Molecular / Genética del Complemento

El objetivo del grupo es descifrar las bases moleculares de enfermedades humanas. Nuestra actividad incluye identificar los genes que las causan y caracterizar funcionalmente sus variantes patogénicas mediante el análisis bioquímico, celular y estructural de las proteínas que codifican. Además, generamos modelos animales de estas enfermedades con el fin de entender los mecanismos patogénicos y desarrollar estrategias diagnósticas y terapéuticas.

Nuestro trabajo actual se centra en el estudio del papel del sistema del complemento en enfermedad. El complemento es esencial en la inmunidad innata con papeles fundamentales en infección, eliminación de restos celulares e inmuno complejos y la modulación de la inmunidad adquirida. Sin embargo, es una espada de doble filo ya que su activación descontrolada se asocia con muchas enfermedades.

Nuestro objetivo es entender cómo se produce la desregulación del complemento en cada una de estas patologías y, así, profundizar en la comprensión de sus mecanismos patogénicos. Nuestra actividad experimental es multidisciplinar y se centra fundamen-

Otros miembros | Other members

Marta Subías Hidalgo
 Hugo Yébenes Revuelto
 Héctor Martín Merinero
 Adrián Martín-Ambrosio Doménech
 Lucía Juana López

Sheila Pinto García
 Jesús María García Fernández
 Emilia Arjona Bolaños
 Ángela Ruiz Sánchez
 Elena Isabel Goicoechea de Jorge



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/patologia-moleculargenetica-del-complemento>

<http://www.complementocm.es>

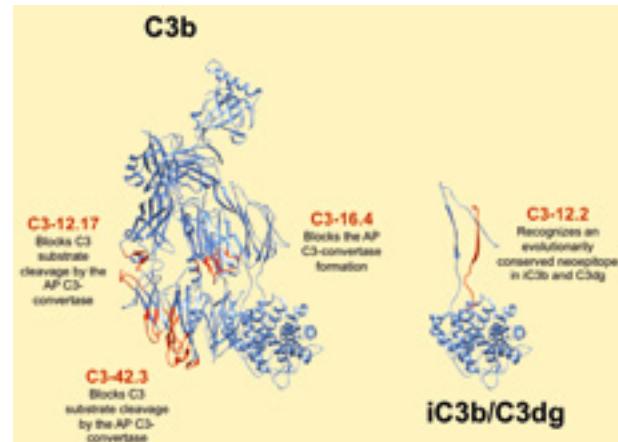


Figure 1

Generation, structural and functional characterization of anti-C3 monoclonal antibodies with potential diagnostic and therapeutic application.

talmente en el estudio del síndrome hemolítico urémico atípico y la glomerulopatía C3, interesándonos también la degeneración macular asociada a la edad, la hemoglobulinuria paroxística nocturna o la nefropatía IgA. La identificación y caracterización funcional y estructural de variantes patogénicas de proteínas del complemento asociadas a enfermedad nos está permitiendo también avanzar en aspectos básicos del sistema del complemento, aportando conocimiento mecanístico de sus actividades funcionales o describiendo funciones previamente desconocidas, como es el caso de la actividad de-reguladora de las proteínas FHRs.

Los resultados de nuestra actividad investigadora tienen una traslación casi inmediata a la práctica clínica. Lideramos el Grupo de Trabajo para el Estudio del Complemento en Patologías Renales, que coordina la actividad investigadora de diversos grupos de investigación y que se ha convertido en un referente internacional en la identificación del factor etiológico responsable del desarrollo de estas patologías, lo que está permitiendo implementar en este área una medicina individualizada.

A través de la creación de dos compañías start-up del CIB (SECUGEN SL, www.secugen.es; Advance Biotech srl, www.advance.com) estamos desarrollando y comercializando aplicaciones de la secuenciación del ADN en el ámbito del diagnóstico molecular y desarrollando nuevas moléculas recombinantes con interés terapéutico.



Financiación | Funding

- EURenOomics (Proyecto Europeo FP7)
- RTC-2016-4635-1 (MINECO/FEDER)
- SAF2015-66287-R (MINECO/FEDER)
- SAF2016-81876-REDT (MINECO/AEI)
- 2018012 (Fundación Inocente Inocente)
- S2017/BMD-3673 (CAM)

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Goicoechea de Jorge E, López A, Bayarri-Olmos R, Yébenes H, López-Trascasa M, Rodríguez de Córdoba S [2018] Common and rare genetic variants of complement components in human disease. *Mol Immunol* 102:42-57.
- Jiménez-Reinoso A, Marín AV, Subías M, López-Lera A, Román-Ortíz E, Payne K, Ma CS, Arbores G, Kolev M, Freeley SJ, Kemper C, Tangye SG, Fernández-Malavé E, Rodríguez de Córdoba S, López-Trascasa M, Regueiro JR [2018] Human plasma C3 is essential for the development of memory B, but not T, lymphocytes. *J Allergy Clin Immunol* 141:1151-1154.
- Goicoechea de Jorge E, Tortajada A, Pinto S, Gastoldi S, Martín-Merino H, García-Fernández J, Arjona E, Cao M, Remuzzi G, Noris M, Rodríguez de Córdoba S [2018] Factor H competitor generated by gene conversion events associates with Atypical Hemolytic Uremic Syndrome. *J Am Soc Nephrol* 28:240-249.
- Merinero HM, Pinto S, García-Fernández J, Arjona E, Tortajada A, Rodríguez de Córdoba S [2018] Complete functional characterization of disease-associated genetic variants in the complement factor H gene. *Kidney Int* 93:470-481.
- Huerta A, Arjona E, Portoles J, López-Sánchez P, Rabasco C, Espinosa M, Caverio T, Blasco M, Cao M, Manrique J, Cabello-Chavez V, Suñer M, Heras M, Fulladosa X, Belmar L, Sempere A, Peralta C, Castillo L, Arnau A, Praga M, Rodríguez de Córdoba S [2018] A retrospective study of pregnancy-associated atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* 93:450-459.
- Goicoechea de Jorge E, Yébenes H, Serna M, Tortajada A, Llorca O, Rodríguez de Córdoba S [2018] How novel structures inform understanding of complement function. *Semin Immunopathol* 40:3-14.
- Tortajada A, Gutiérrez E, Goicoechea de Jorge E, Anter J, Segarra A, Espinosa M, Blasco M, Román E, Marco H, Quintana LF, Gutiérrez-Tenorio J, Pinto S, López-Trascasa M, Praga M, Rodríguez de Córdoba S [2017] Elevated factor H-related protein 1 and factor H pathogenic variants decrease complement regulation in IgA nephropathy. *Kidney Int* 92:953-963.
- Nitschke F, Sullivan MA, Wang P, Zhao X, Chown EE, Perri AM, Israeli L, Juana-López L, Bovolenta P, Rodríguez de Córdoba S, Steup M, Minassian BA [2017] Abnormal glycogen chain length pattern, not hyperphosphorylation, is critical in Lafora disease. *EMBO Mol Med* 9:906-917.
- Caverio T, Rabasco C, López A, Román E, Avila A, Sevillano A, Huerta A, Rojas-Rivera J, Fuentes C, Blasco M, Jarque A, García A, Mendizábal S, Gavela E, Macías M, Quintana LF, Romera AM, Borrego J, Arjona E, Espinosa M, Portolés J, Gracia-Iguacel C, González-Parra E, Aljama P, Morales E, Cao M, Rodríguez de Córdoba S, Praga M [2017] Eculizumab in secondary atypical haemolytic uraemic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 32:466-474.
- Goodship THJ, Cook TH, Fakhouri F, Fervenza FC, Frémeaux-Bacchi V, Kavanagh D, Nester CM, Noris M, Pickering MC, Rodríguez de Córdoba S, Roumenina LT, Sethi S, Smith RJH, Conference Participants [2017] Atypical hemolytic uremic syndrome and C3 glomerulopathy: Conclusions from a "Kidney Disease: Improving Global Outcomes" (KDIGO) Controversies Conference. *Kidney Int* 91:539-551.

Molecular Pathology / Complement Genetics

We perform research with a specific interest in the molecular bases of human disease. Our activities involve gene identification, mutation detection and biochemical, cellular and structural analysis of the proteins encoded by the disease-associated genes. A major objective is generating animal models to increase our understanding of pathogenic mechanisms, to improve diagnostics and to develop preventive and therapeutic strategies.

Our current work focused on the study of disorders caused by the dysregulation of the complement system. Complement is central to innate immunity with roles in bacterial killing, apoptotic cell clearance, immune complex handling and modulating adaptive immunity. Complement is a double-edged sword, with uncontrolled activation contributing to pathology in many diseases.

Our current goal is to understand how deregulation of the complement occurs in each one of these pathologies and, thus, to deepen the understanding of its pathogenic mechanisms. Our experimental activity is multidisciplinary and it is mainly focused on the study of atypical hemolytic uremic

syndrome and C3 glomerulopathy, but we are also interested in age-related macular degeneration, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria or IgA nephropathy. The identification and functional and structural characterization of pathogenic variants of complement proteins associated to disease is also allowing us to advance in basic aspects of the complement system, providing mechanistic knowledge of its functional activities or describing previously unknown functions, such as the deregulatory activity of the FHRs proteins.

The results of our research activity are almost immediately translated into clinical practice. We lead the Working Group for the

Study of Complement in Renal Pathologies, which coordinates the research activity of various research groups and has become an international reference in the identification of the etiological factor responsible for the development of these pathologies, which is allowing the implementation of an individualized medicine in this area.

Through the creation of two CIB start-up companies (SECUGEN SL, www.secugen.es, Avance Biotech srl, www.Avance.com) we are developing and commercializing applications of DNA sequencing in the field of molecular diagnostics and developing new recombinant molecules with therapeutic interest.

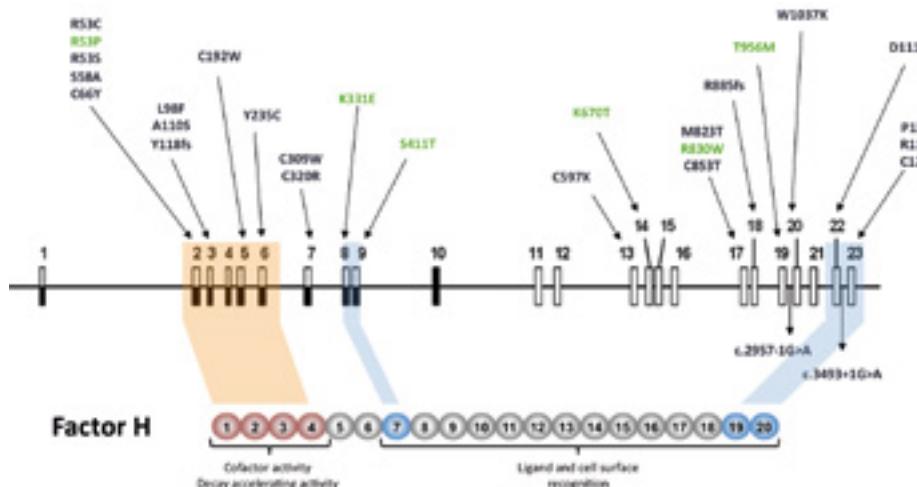


Figure 2

Identification and functional characterization of new genetic variants of factor H associated with pathology. In green are identified those that do not have functional consequences.

José-María Sánchez-Puelles González-Carvajal

Investigador Científico
jmspuelles@cib.csic.es

Doctor en C.C. Biológicas 1986 • Universidad Complutense de Madrid
Investigador Postdoctoral, 1987-88 • Max-Plank Institut, Tübingen, Alemania
Investigador Postdoctoral 1988- 1990 • CIB-CSIC
Investigador Senior, 1990 - 1992 • Merck, Sharp & Dohme, Centro de Investigación Básica, España
Director de Descubrimiento de Fármacos, 1992-1999 • SmithKline Beecham, Centro de Investigación Básica, España
Director de I+D, 1999-2003 • Pharmamar, Grupo Zeltia, España
Director de I+D, 2003-2008 • Centro de Investigación Príncipe Felipe, Valencia
Investigador Científico del CSIC desde 2008 • Jefe del grupo de Farmacología Molecular



Otros miembros | Other members

Tania Aguado Sánchez

 [https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/
farmacologia-molecular](https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/farmacologia-molecular)

Farmacología Molecular

La represión de ciertos genes implicados en la respuesta al estrés oxidativo está asociada con la Fragilidad, mientras que la mejora en el estado nutricional del viejo se asocia positivamente con la expresión del gen SIRT1.

El reposicionamiento de fármacos permitió la trasferencia al desarrollo clínico de la auranofina para infecciones tópicas resistentes, y la nueva protección de medicamentos genéricos en fibrosis -ya en desarrollo clínico- y glioblastoma.

La selección de una cohorte de 350 participantes del **Estudio de Toledo de Envejecimiento Saludable** permitió determinar que la expresión reducida de varios genes implicados en la respuesta celular al estrés oxidativo o a la hipoxia, se asocia significativamente con la presencia de la Fragilidad. Un mejor



estado nutricional entre los participantes se asocia significativamente con una mayor expresión del gen SIRT1, siendo independiente del estado de Fragilidad y del nivel de cumplimiento de la dieta mediterránea. Estos hallazgos pueden contribuir a proporcionar biomarcadores que orienten la intervención clínica, promoviendo la salud y la independencia de las personas mayores.

La epidermólisis bullosa distrófica recessiva (RDEB) es un trastorno fibrótico poco frecuente de la piel, causado por mutaciones en el gen COL7A1 que codifica el colágeno tipo VII. Los elevados rangos de TGF- β contribuyen en gran medida al progreso de la enfermedad rara RDEB. Nuestro estudio con 23 pacientes de RDEB identificó a la Endoglin como una diana potencial para interferir con la señalización del TGF- β , reduciendo los marcadores de fibrosis (Figura 1). Se ha patentado el Raloxifeno y la N-acetilcisteína como terapias de reposicionamiento que restauran la señalización no aberrante del TGF- β en fibroblastos de pacientes con RDEB. El desarrollo clínico de estas terapias para RDEB, fue iniciado en 2018 con pacientes voluntarios conocidos como "niños mariposa". Un nuevo magnetosensor para la Endoglin está ya disponible para su validación en el diagnóstico y el seguimiento terapéutico de RDEB (Figura 2).

Los gliomas son el cáncer cerebral más frecuente y una de las neoplasias de peor pronóstico. Llevamos el conocimiento clínico de perfiles de microARNs en glioblastoma al área preclínica y se ha identificado y protegido el ICI-118,551, un antagonista específico de los receptores adrenérgicos β_2 , que revierte los niveles fisiopatológicos de miR-21 y miR-205, inhibe la subpoblación de las células madre tumorales y retraza significativamente el crecimiento de los tumores *in vivo*. La elevada tasa de translacionalidad de esta estrategia de "miR-biosensing" se revela como una herramienta eficaz en el descubrimiento de fármacos, incluidas las estrategias de reposicionamiento.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- El Assar M, Angulo J, Carnicer JA, Walter S, García-García FJ, López-Hernández E, Sánchez-Puelles JM*, Rodríguez-Mañas L* [2017] Frailty is associated with lower expression of genes involved in cellular response to stress: Results from the Toledo Study for Healthy Aging". *J Am Med Dir Assoc* 18:734e1-734e7.
- El Assar M, Angulo J, Walter S, Carnicer JA, García-García FJ, Sánchez-Puelles C, Sánchez-Puelles JM, Rodríguez-Mañas L [2018] Better nutritional status is positively associated with mRNA expression of SIRT1 in community-dwelling older adults in the Toledo Study for Healthy Aging. *J Nutr* 148:1408-1414.
- Martínez-Periñán E, Sánchez-Tirado E, González-Cortés A, Barderas R, Sánchez-Puelles JM, Martínez-Santamaría L, Campuzano S, Yáñez-Sedeño P, Pingarrón JM [2019] Amperometric determination of endoglin in human serum using disposable immunosensors constructed with poly(pyrolepropionic) acid-modified electrodes. *Electrochim Acta*. DOI: 10.1016/j.electacta.2018.10.015.

Patentes | Patents

- Tania Aguado (6 inventores) J.M. Sánchez-Puelles. 7 noviembre 2018. "Inhibidores de TGF- β 1 y productores de endoglin para su uso en el tratamiento de Epidermolisis bullosa" ES1641.1402
- Aguado Tania, Ángel Cuesta, Virginia Albiñana, Luisa Botella, Karina Villar, J.M. Sánchez-Puelles. 19 de diciembre de 2018. "Tratamiento y prevención de Glioblastoma". EP18382917.5

Financiación | Funding

- CTQ2015-64402-C2-2-R

Molecular Pharmacology

In older individuals, a reduced expression of certain genes involved in response to oxidative stress is associated to Frailty, whereas improvement in nutritional status is positively associated with SIRT1.

Repurposing activities allowed the transfer to the clinical development of the auranofin, aimed in resistant topical infections, and the new protection of generic drugs in fibrosis – one already transferred to clinical setting – and glioblastoma.

A nested case-control study of 350 participants was selected from the Toledo Study for Healthy Aging. The reduced expression of certain genes implicated in cellular response to oxidative stress or hypoxia are significantly associated with the presence of Frailty. A better nutrition status among community-dwelling TSHA participants was significantly associated with a higher SIRT1 gene expression, independently of Frailty status or the Mediterranean diet. Overall, these findings may contribute to provide potential biomarkers and targets for clinical intervention, to promote health and independence in the elderly.

Recessive dystrophic epidermolysis bullosa (RDEB) is a rare skin blistering fibrotic disorder caused by mutations in COL7A1, coding for type VII collagen, in which changes in TGF- β activity greatly contribute to disease progression. Our research study with 23 RDEB patients, identified Endoglin as a potential target to directly interfere with TGF- β signaling and, concomitantly, reducing markers of fibrosis (Figure 1). We patented Raloxifene and N-acetyl-cysteine as repurposed therapies that ameliorate

TGF- β signaling in fibroblasts from patients of RDEB. The clinical development of these therapies for RDEB, initiated in 2018, would improve the quality of life of patients known as "butterfly children". A novel magnetosensor for Endoglin is now available for diagnosis and therapy assessment of RDEB (Figure 2).

Gliomas are by far the most common brain cancer found in adults with poor prognosis. The role of microRNAs (miRs) is now well documented in glioblastoma. We used this accumulating knowledge

from clinic in the preclinical arena and we have identified and protected the oncogenic capacity of ICI-118,551, a specific antagonist of the β 2-adrenergic receptors, that restores non-tumorigenic levels of miR-21 and miR-205, inhibits the subpopulation of cancer stem cells and decrease significantly the growth of glioblastoma tumors *in vivo*. The enhanced "chain of translatability" of this strategy is highlighting the potential of miR biosensing as an efficient tool in modern drug discovery, including repurposing strategies.

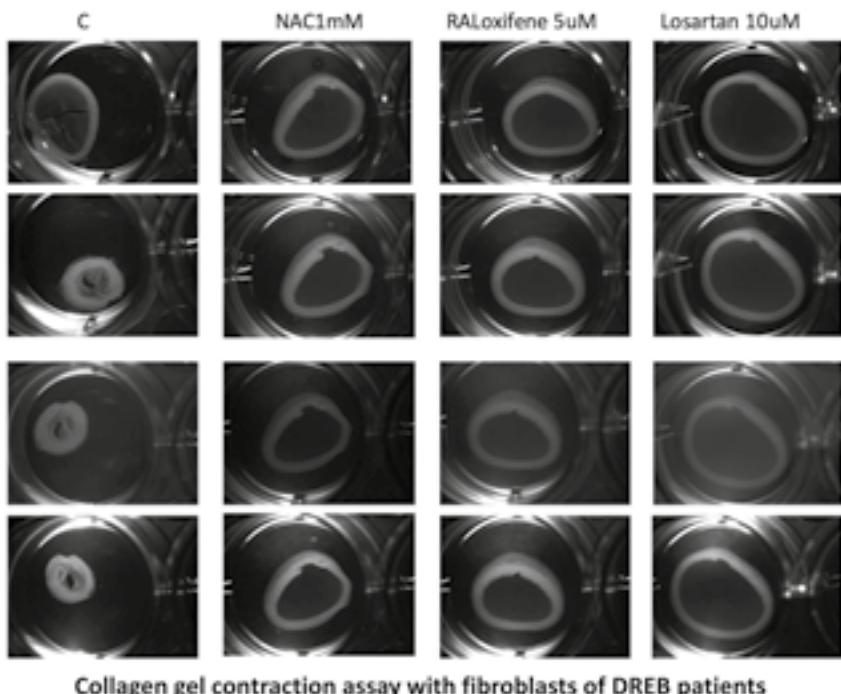


Figure 1

Raloxifene and NAC effectively inhibited RDEB fibroblast contractility.

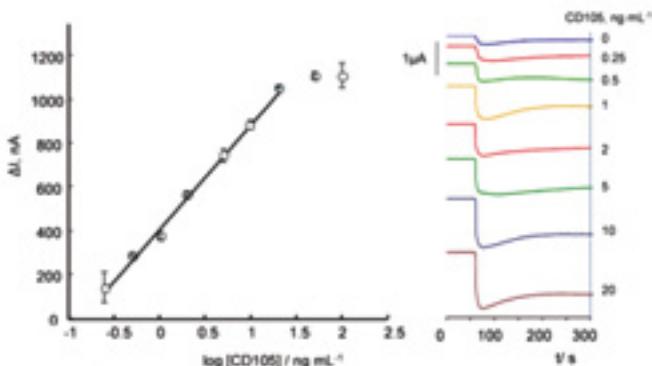
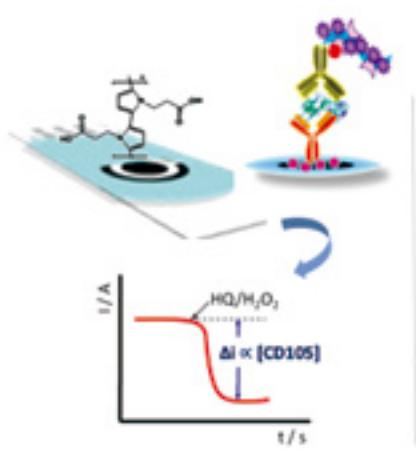


Figure 2

Calibration plot (left) and amperograms recorded for the determination of CD105 standards at the poly-HRP-Strept-Biotin-anti-CD105-CD105-anti-CD105-pPPA/SPCE. Error bars estimated as triple of the standard deviation ($n = 3$).

María de los Ángeles García Pardo

Profesora de Investigación
agarcipardo@cib.csic.es



Assistant Research Scientist, 1974-76 • NYU Medical Center, NY, USA
 PhD, 1976 • Universidad Complutense de Madrid
 Postdoctoral 1977-78 • MIT, Cambridge, MA, USA
 Adjunto, 1978-81 • Fundación Jiménez Díaz, Madrid
 Research Assistant Professor 1981-86 • NYU Medical Center, NY, USA
 Assistant Investigator 1986-89 • The New York Blood Center, NY, USA
 Assistant Professor 1990 • Columbia University, NY, USA
 Científica Titular, 1987 • CSIC
 Incorporación CIB y Jefe de grupo 1991
 Investigadora Científica, 1993
 Profesora de Investigación, 2007

Otros miembros | Other members

Noemí Aguilera Montilla
Alejandra Gutiérrez González

Andrea Santos Cáceres

<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/pathological-mechanisms-human-hematological-neoplasias>

Mecanismos Patológicos en Neoplasias Hematológicas Humanas

Nuestro principal interés es la caracterización de los mecanismos moleculares implicados en la progresión de la leucemia linfocítica crónica, una neoplasia de linfocitos B muy común. Nos hemos centrado en el estudio de moléculas implicadas en adhesión, migración, supervivencia celular, y angiogénesis, como la integrina $\alpha 4\beta 1$ y la metaloproteinasa de matriz-9. Estudiamos también el papel del estroma en la patología de esta neoplasia.

La leucemia linfocítica crónica (LLC) es la leucemia más común en países occidentales y es todavía incurable. La progresión de la LLC conlleva la migración y localización de las células tumorales en tejidos linfoides, donde reciben señales de supervivencia y proliferación. Entre las muchas moléculas que regulan la migración de células LLC (Figura 1), estamos estudiando el papel de la integrina $\alpha 4\beta 1$ y de la metaloproteinasa de matriz-9 (MMP-9). Utilizando una línea celular transfectada establemente con MMP-9 o con el mutante catalíticamente

inactivo MMP-9MutE, hemos encontrado que niveles elevados de MMP-9 inhiben la migración celular, favoreciendo la retención de las células tumorales en los nichos de LLC y por tanto, la progresión de la enfermedad. Resultados similares se obtuvieron con células LLC primarias, incubadas con MMP-9 o MMP-9MutE. El efecto de la MMP-9 es debido parcialmente a la modulación de rutas de señalización relacionadas con migración, e implica funciones catalíticas y no catalíticas de la MMP-9, ya que MMP-9MutE tiene un efecto par-

cial (Figura 2). Estamos estudiando otros posibles mecanismos implicados en la regulación de la migración/parada celular por MMP-9, incluyendo la posible regulación de genes relevantes.

Otra característica del avance de la LLC es el aumento de angiogénesis en la médula ósea. Dado que las integrinas regulan la angiogénesis en células endoteliales, estamos estudiando la posible conexión entre la integrina $\alpha 4\beta 1$ y el sistema VEGF/VEGFR2. También estamos analizando si MMP-9 regula genes relacionados con angiogénesis e identificando los mecanismos implicados. Por último, nuestro grupo estudia también las consecuencias de la interacción de células LLC con macrófagos, componente abundante de los tejidos linfoides, sobre la patología de la LLC. Estamos caracterizando las señales que afectan a la función de ambos tipos celulares, células LLC y macrófagos, y que contribuyen a la progresión de la LLC.

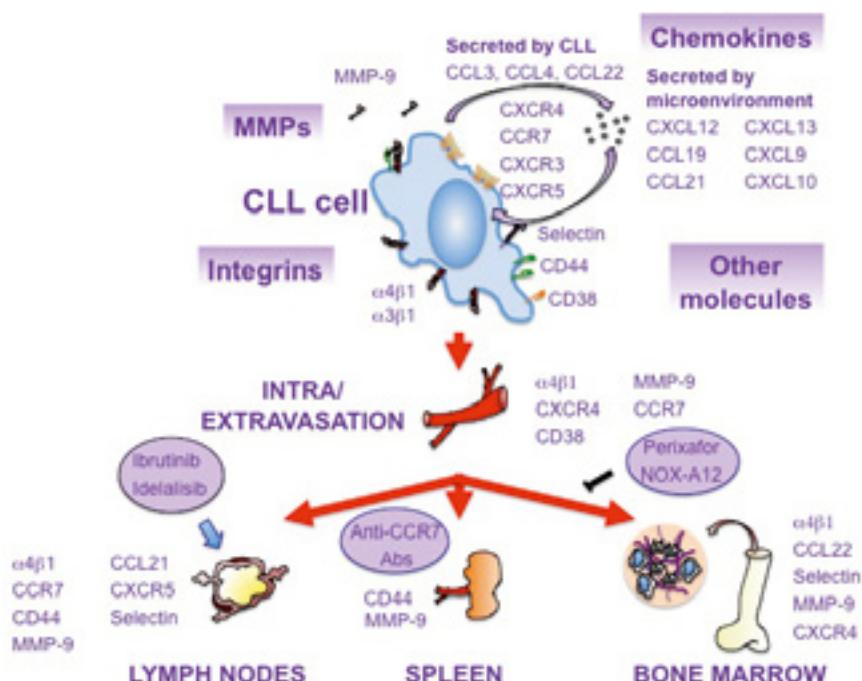
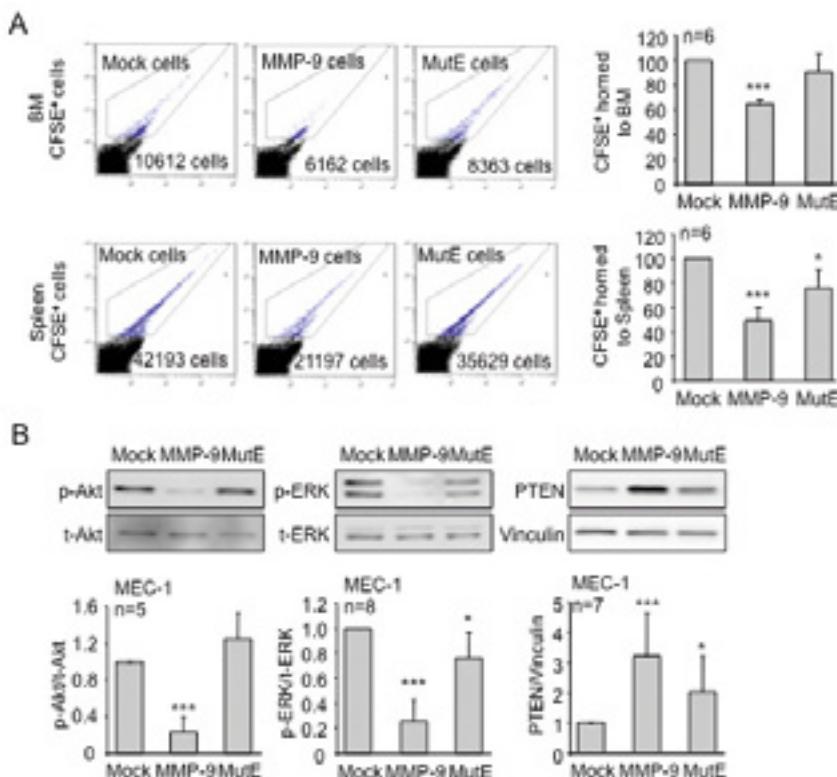


Figure 1

CLL cells extravasate and infiltrate lymphoid organs. This process involves several molecules, including integrins, chemokines and chemokine receptors. Inhibitors of some of these molecules (ibrutinib, idelalisib, NOX-A12, perixafor) are being tested in the clinic. These molecules also mediate the interaction of CLL cells with the microenvironment, which contribute to disease progression.

Pathological Mechanisms in Human Hematological Neoplasias

Our major interest is the characterization of the molecular mechanisms accounting for the progression of chronic lymphocytic leukemia, a common B-lymphocyte neoplasia. We focus on molecules involved in cell adhesion, migration, survival and angiogenesis, including $\alpha 4\beta 1$ integrin and matrix metalloproteinase-9. We are also studying the role of the stroma in the pathology of this malignancy.



Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common leukemia in Western countries and remains incurable. Progression of CLL involves the migration and localization of malignant cells in lymphoid tissues, where they receive survival and proliferative signals. Among the many molecules that regulate CLL cell migration (Figure 1), we are studying the roles of $\alpha 4\beta 1$ integrin and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9). Using a CLL cell line stably transfected with MMP-9 or with the catalytically inactive mutant MMP-9MutE, we have found that elevated levels of MMP-9 inhibit cell migration, favouring retention in CLL niches and, thus, disease progression. Similar results were obtained with primary CLL cells incubated with MMP-9 or MMP-9MutE. The MMP-9 effect is partly due to the modulation of migration

regulatory pathways and involves MMP-9 catalytic and not catalytic activities, since MMP-9MutE has a partial effect (Figure 2). We are studying other possible mechanisms involved in the regulation of cell migration/arrest by MMP-9, including the possible modulation of relevant genes.

Increased bone marrow angiogenesis is another characteristic of advanced CLL. Because integrins regulate endothelial cell angiogenesis, we are studying the possible connection between $\alpha 4\beta 1$ integrin and the VEGF/VEGFR2 system. We are also analyzing whether MMP-9 regulates genes related to angiogenesis and trying to identify the mechanisms involved. Finally, our group is also studying the consequences of the interaction of CLL cells with macrophages, abundant components of lymphoid tissues, on CLL pathology. We are characterizing the crosstalk signals that affect the function of both, CLL cells and macrophages, and that ultimately contribute to CLL progression.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Bailón E, Aguilera-Montilla A, Gutiérrez-González A, Ugarte-Berzal E, Van den Steen P, Opdenakker O, García-Marco JA, García-Pardo A [2018] A catalytically inactive gelatinase B/MMP-9 mutant impairs homing of chronic lymphocytic leukemia cells by altering migration regulatory pathways. *Biochem Biophys Res Comm* 495:124-130.
- Redondo-Muñoz J, García-Pardo A*, Teixidó J* [2019] Molecular players in hematologic tumor cell trafficking. *Frontiers Immunol*, en prensa. *Corresponding authors. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00156>.
- Aguilera-Montilla N, Bailón E, Uceda-Castro R, Ugarte-Berzal E, Santos A, Gutiérrez-González A, Pérez-Sánchez C, Van den Steen PE, Opdenakker G, García-Marco JA, García-Pardo A [2019] MMP-9 affects gene expression in chronic lymphocytic leukemia revealing CD99 as an MMP-9 target and a novel partner in malignant cell migration/arrest. *Oncogene*. <https://doi.org/10.1038/s41388-019-0744-3>.

Financiación | Funding

- RTICC D12/0036/0061, 2013-2017 (FIS)
- SAF2015-69180R (MINECO), 1/2016-8/2019



José María Rojo Hernández

Investigador Científico
jmrojo@cib.csic.es

PhD, 1978 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1980-1981 • Institute of Animal Physiology,
A.R.C. Cambridge, UK
Research Associate and Fulbright Fellow, 1986-1988 •
Yale University School of Medicine, New Haven,
CT, USA
Científico Titular, 1988 • CIB
Jefe de Grupo, 1988 • CIB
Investigador Científico, 1990 • CIB



Otros miembros | Other members

Laura Aragoneses Fenoll



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/activacion-de-linfocitos-t>

Activación de Linfocitos T

Analizamos el papel de CD28, su molécula homóloga ICOS (CD278), su ligando (ICOS-L, B7h, CD275), y las señales de PI3K en la regulación de la activación de linfocitos T y células NK in vivo e in vitro empleando aproximaciones farmacológicas y genéticas.

Además, se ha estudiado la utilidad y el impacto de nanomateriales en la modificación de mecanismos innatos y adaptativos de inmunidad.

Las moléculas de la familia de CD28 y sus vías de señalización son dianas esenciales en inmunoterapia. El interés de nuestro grupo se centra en los mecanismos que subyacen al control de la activación de linfocitos por moléculas como CD28 e ICOS y su aplicación a la modulación de respuestas inmunes. Las Fosfatidil-Inositol-3 quinasas (PI3K) de clase IA se unen a CD28 e ICOS y participan en la activación de linfocitos T. Nuestros datos previos indican que las subunidades p110 α de PI3K se expresan por y modulan las señales de linfocitos T. Pese a la importancia de PI3K p110 α en distintos tipos de células, incluyendo las tumorales, su papel en las respuestas inmunes ha sido oscurecido por p110 β , una subunidad expresada por leucocitos de importancia bien establecida en la ontogenia y función de linfocitos.

La activación de MAP quinasas y Akt está incrementada en ratones con linfocitos T deficientes en p110 α (p110 $\alpha^{-/-}$ T). También aumentan los niveles de T-bet, IFN- γ , y otras citocinas y moléculas efectoras esenciales para respuestas de anticuerpos, anti-virus, y anti-tumorales, mientras que disminuye la expansión de células Treg. Así, p110 α modula la función de células T y su pérdida favorece la respuesta frente a melanoma (Fig. 1). La reducción de linfocitos T CD4 $^{+}$ observada en ratones p110 $\alpha^{-/-}$ T viejos produce el efecto contrario en enfermedades autoinmunes.

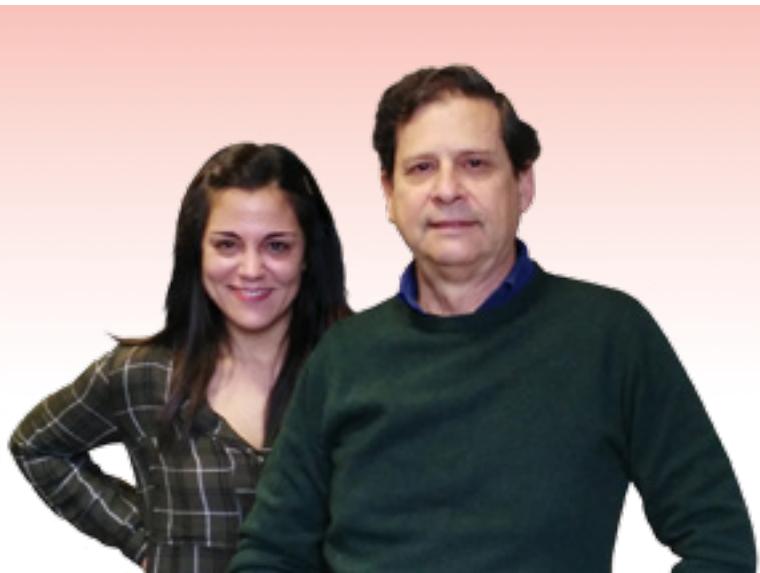
Estudios paralelos sobre la disminución de linfocitos NK en ratones deficientes en ICOS (ICOS-KO) confirmaron la expresión de ICOS por estas células y su importancia en maduración y homeostasis de NK, en las que participan factores intrínsecos y extrínsecos. Las células NK ICOS-KO producen menores cantidades de IFN- γ y tienen menor capacidad citotóxica, así como menor función efectora en la respuesta frente a poly(I:C) o infección por virus vaccinia *in vivo*. Además, las células NK expresan a la vez ICOS e ICOS-L funcionales en la coestimulación de señales activadoras. Estos datos confirman las posibilidades de inmunomodulación por moléculas de la familia CD28 en las células del sistema inmune innato.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Feito MJ, Díez-Orejas R, Cicuéndez M, Casarrubios L, Rojo JM, Portolés MT [2018] Characterization of M1 and M2 polarization phenotypes in peritoneal macrophages after treatment with graphene oxide nanosheets. *Colloids Surf B Biointerfaces*. doi: 10.1016/j.colsurfb.2018.12.063.
- Feito MJ, Díez-Orejas R, Cicuéndez M, Casarrubios L, Rojo JM, Portolés MT [2018] Graphene oxide nanosheets increase *Candida albicans* killing by pro-inflammatory and reparative peritoneal macrophages. *Colloids Surf B Biointerfaces* 171: 250-259.
- Aragoneses-Fenoll L, Ojeda G, Montes-Casado M, Acosta YY, Dianzani U, Portolés P, Rojo JM [2018] T-cell specific loss of the PI-3 kinase p110 α catalytic subunit results in enhanced cytokine production and anti tumor response. *Front Immunol* 9:332.
- Díez-Orejas R, Feito MJ, Cicuéndez M, Rojo JM, Portolés MT [2018] Differential effects of graphene oxide nanosheets on *Candida albicans* phagocytosis by murine peritoneal macrophages. *J Colloid Interface Sci* 512: 665-673.

Financiación | Funding

- PI13/01809
- Acción Estratégica en Salud, IS Carlos III



T Lymphocyte Activation

The roles of CD28, the CD28 homolog molecule ICOS (CD278), the ICOS ligand (ICOS-L, B7h, CD275) and PI3K signals in T lymphocyte and NK activation in vitro or in vivo are analyzed using pharmacologic and genetic approaches. We are also interested in the use and impact of nanomaterials as modulators of innate and adaptive immunity.

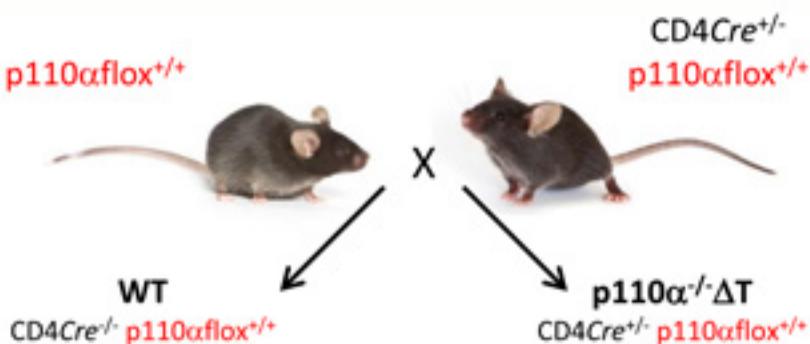
CD28 family molecules and their signaling pathways have become important targets in immunotherapy. Our group is interested in the basic mechanisms underlying the control of lymphocyte activation by costimulatory molecules like CD28 and ICOS and its application to modulation of immune responses. Class IA phosphoinositide-3 kinases (PI3K) bind to CD28 and ICOS and participate in activation of T lymphocytes. We have previously shown that PI3K p110 α subunits are expressed by and regulate costimulatory signals in T lymphocytes. Despite the relevance of PI3K p110 α in many cell types, including tumor cells, its role in immune reactions has been shadowed by p110 δ , an isoform expressed by leukocytes and very important to lymphocyte function and ontogeny.

Early activation of Akt, Erk, or P38 was increased in mice with p110 α deleted in CD4 $^+$ and CD8 $^+$ T lymphocytes (p110 $\alpha^{-/-}\Delta T$ mice). Levels of T-bet, IFN- γ , and other cytokines and effector molecules involved in antibody, anti-virus and anti-tumor responses were enhanced, whereas expansion of Treg cells was diminished. Thus, p110 α subunits modulate T cell function, and its loss favoured immune responses against the B16.F10 melanoma (Fig. 1). Reduced numbers of CD4 $^+$ T cells in older mice were observed with an impact in experimental autoimmune diseases.

In parallel, the observation that ICOS-deficient (ICOS-KO) mice present low NK cells led us to analyze its role in NK cell development and function. Indeed,

we observed that NKs express ICOS, and ICOS-KO mice show deficient NK cell maturation and homeostasis, due to both NK-intrinsic and -extrinsic factors. ICOS-KO NK cells show impaired production of IFN- γ and cytotoxicity, as well as NK cell-mediated effector function during the response to poly(I:C) or vaccinia virus infection in vivo. Interestingly, NK cells can simultaneously express ICOS and ICOS-L, and both are functional in costimulation of NK activation signals. These data confirm the immunomodulatory potential of CD28 family molecules in innate immune cells.

Deletion of PI3K p110 α catalytic subunits in T lymphocytes



↑ Early Akt /MAPk activation

↑ IFN- γ , TNF- α , IL-21, Granzyme B

↓ iTreg

B16F10
Melanoma

Tumor Growth, Treg
↑ Anti-melanoma immunity

Figure 1

Removal of p110 α is lethal to the embryo, so mice with p110 α -deficient T lymphocytes (p110 $\alpha^{-/-}\Delta T$) were obtained by crossing CD4-Cre mice with mice with a "floxed" pik3ca gene (p110 $\alpha^{floxed/floxed}$). The p110 $\alpha^{-/-}\Delta T$ mice show enhanced activation of CD4 $^+$ and CD8 $^+$ T cells in vitro, including early signaling, and production of IFN- γ and other cytokines and effector molecules involved in anti-tumor responses, as shown in a model of melanoma.

Carmelo Bernabeu Quirante

Profesor de Investigación
bernabeu.c@cib.csic.es



PhD, 1977 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1980-1981 • Molecular Biology Institute, University of California, Los Angeles, USA
Research Fellow, 1982-1983 • Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, Massachusetts, USA
Científico Titular, 1985 • CIB
Investigador Científico, 1987 • CIB
Jefe de grupo, 1988 • CIB
Profesor de Investigación, 2003 • CIB

Luisa M. Botella Cubells

Investigadora Científica
cibluisa@cib.csic.es



PhD, 1985 • Universidad de Valencia
Visiting scientist, Post-doc, 1986-1988 • Genetiska Institutionen, Wallenberg Laboratory, Universidad de Lund, Suecia
Científica Titular, 1989 • CIB
Investigadora Científica, 2007 • CIB

Otros miembros | Other members

Virginia Albiñana Díaz
Ángel Cuesta Martínez
Eunate Gallardo Vara

Lidia Ruiz Llorente
Elena de Blas Brotons
Lucía Recio Poveda

 <http://www.cib.csic.es/es/departamentos/medicina-cellular-y-molecular/receptores-de-tgf-beta-en-celulas-endoteliales/>

Receptores de TGF-beta en Células Endoteliales

Endoglin y ALK1 son miembros del complejo receptor de TGF-beta en células endoteliales con implicaciones en la fisiopatología vascular. Mutaciones en los genes de endoglin o ALK1 (ACVR1L) son responsables de la Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT), una enfermedad vascular autosómica dominante. Endoglin y ALK1 regulan la angiogénesis y homeostasis vascular, y una forma soluble de endoglin tiene un papel patogénico en preeclampsia.

Nuestro laboratorio estudia la expresión génica, estructura y función de los receptores de TGF-beta endoglin y ALK1, tanto en la fisiología normal como en el contexto de la patología humana, y en especial en HHT. Ambos receptores son capaces de unir específicamente el ligando BMP9, un miembro de la superfamilia del TGF-beta. Mutaciones en los genes de endoglin, ALK1 o BMP9 dan lugar a HHT1, HHT2 o HHT5, respectivamente, las cuales están

asociadas con frecuentes epistaxis, hemorragias gastrointestinales, telangiectasias cutáneas, y malformaciones arteriovenosas en pulmón, hígado y cerebro. Entre los objetivos científicos del grupo se incluyen: i) Diagnóstico molecular en la población de pacientes HHT; ii) Identificar nuevos biomarcadores en HHT; iii) Analizar los mecanismos patogénicos de las mutaciones en genes HHT; iv) Obtener cultivos primarios de células endoteliales y monocitos activados a partir de sangre periférica de pacientes HHT para estudios funcionales; v) Análisis proteómico y funcional de endoglin humana y proteínas asociadas; y vi) Buscar medicamentos huérfanos con posible aplicación en HHT y estudiar su mecanismo de acción.

Recientemente, nuestro grupo ha empezado a estudiar la enfermedad de von Hippel Lindau (VHL), causada por mutaciones en el gen VHL. Dado que esta enfermedad cursa con carcinoma renal y hemangioblastomas altamente vascularizados a lo largo del sistema nervioso central, estamos buscando medicamentos con base anti-angiogénica para tratarla.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Gallardo-Vara E, Tual-Chalot S, Botella LM, Arthur HM, Bernabeu C [2018] Soluble endoglin regulates expression of angiogenesis-related proteins and induction of arteriovenous malformations in a mouse model of hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Dis Model Mech* 11(9). doi: 10.1242/dmm.034397
- Rossi E, Pericacho M, Bachet Loza C, Pidard D, Gaussem P, Poirault-Chassac S, Blanco FJ, Langa C, González-Manchón C, Novoa JML, Smadja DM, Bernabeu C [2018] Human endoglin as a potential new partner involved in platelet-endothelium interactions. *Cell Mol Life Sci* 75:1269-1284.
- Núñez-Gómez E, Pericacho M, Ollaura-Ibáñez C, Bernabéu C, López-Novoa JM [2017] The role of endoglin in post-ischemic revascularization. *Angiogenesis* 20:1-24.
- Albiñana V, Escribano RMJ, Soler I, Padial LR, Recio-Poveda L, Villar Gómez De Las Heras K, Botella LM [2017] Repurposing propranolol as a drug for the treatment of retinal hemangioblastomas in von Hippel-Lindau disease. *Orphanet J Rare Dis* 12:122.
- Ruiz-Llorente L, Gallardo-Vara E, Rossi E, Smadja DM, Botella LM, Bernabeu C [2017] Endoglin and alk1 as therapeutic targets for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Expert Opin Ther Targets* 21:933-947.
- Albiñana V, Zafra MP, Colau J, Zarzabeitia R, Recio-Poveda L, Olavarrieta L, Pérez-Pérez J, Botella LM [2017] Mutation affecting the proximal promoter of Endoglin as the origin of hereditary hemorrhagic telangiectasia type 1. *BMC Med Genet* 18:20.
- Albiñana V, Recio-Poveda L, Zarzabeitia R, Botella LM [2017]. Current and emerging pharmacotherapies for hereditary hemorrhagic telangiectasia. *Expert Opin Orphan Drugs* 5:665-675.
- Rossi E, Smadja D, Goyard C, Cras A, Dizier B, Bacha N, Lokajczyk A, Guerin CL, Gendron N, Planquette B, Mignon V, Bernabéu C, Sánchez O, Smadja DM [2017] Co-injection of mesenchymal stem cells with endothelial progenitor cells accelerates muscle recovery in hind limb ischemia through an endoglin-dependent mechanism. *Thromb Haemost* 117:1908-1918.

Patentes | Patents

Medicamentos huérfanos designados por EMA (Agencia Europea Medicamento)

- Albiñana V, Recio L, Villar K, Botella LM. Propranolol hydrochloride. EU orphan designation number: EU/3/17/1841. Enero 2017. Indication: Treatment of von Hippel-Lindau disease. Sponsor: Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).
- Albiñana V, Recio L, Cuesta A, Patier JL, Botella LM. Etamsilato. EU orphan designation: EMA/OD/135/18. COMP 18-10-2018. Indication: Topical treatment of HHT epistaxis. Sponsor: Agencia Estatal del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)



TGF-beta Receptors in Endothelial Cells

Endoglin and ALK1 are components of the TGF-beta receptor complex in endothelial cells that are involved in vascular physiopathology. Mutations in endoglin or ALK1 (ACVRL1) genes give rise to the Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (HHT), a dominant autosomic vascular dysplasia. Endoglin and ALK1 regulate angiogenesis and vascular homeostasis, and a soluble form of endoglin has a pathogenic role in preeclampsia.

Our laboratory studies the gene expression, structure and function of the TGF-beta receptors endoglin and ALK1, in normal physiology and in the context of human pathology, with special emphasis in HHT. Both receptors are able to bind specifically the ligand BMP9, a member of the TGF-beta superfamily. Mutations in endoglin, ALK1 or BMP9 genes give raise to HHT1, HHT2 or HHT5, respectively, which are associated with frequent epistaxis, gastrointestinal hemorrhages, cutaneous telangiectasias and arteriovenous malformations in

lung, liver and brain. The scientific objectives of the group include:

- Molecular diagnosis in the population of HHT patients;
- Identify new biomarkers in HHT;
- Analyze the pathogenic mechanisms of mutations in HHT genes;
- Obtain primary cultures of activated endothelial cells and monocytes from peripheral blood of HHT patients for functional studies;
- Proteomic and functional analysis of human endoglin and associated proteins; and
- Search for orphan drugs with possible application in HHT and study their mechanism of action.

Recently, our group has started studying von Hippel Lindau disease (VHL), caused by mutations in the VHL gene. Given that this disease occurs with renal carcinoma, as well as highly vascularized hemangioblastomas throughout the central nervous system, we are looking for anti-angiogenic drugs to treat it.

Financiación | Funding

- SAF2013-43421-R (MINECO)
- SAF2014-52374-R (MINECO)
- SAF2017-83351R (MINECO)
- CB06/07/0038 (CIBERER-ISCIII)
- 201420E039 (CSIC)
- 201820E073 (CSIC)

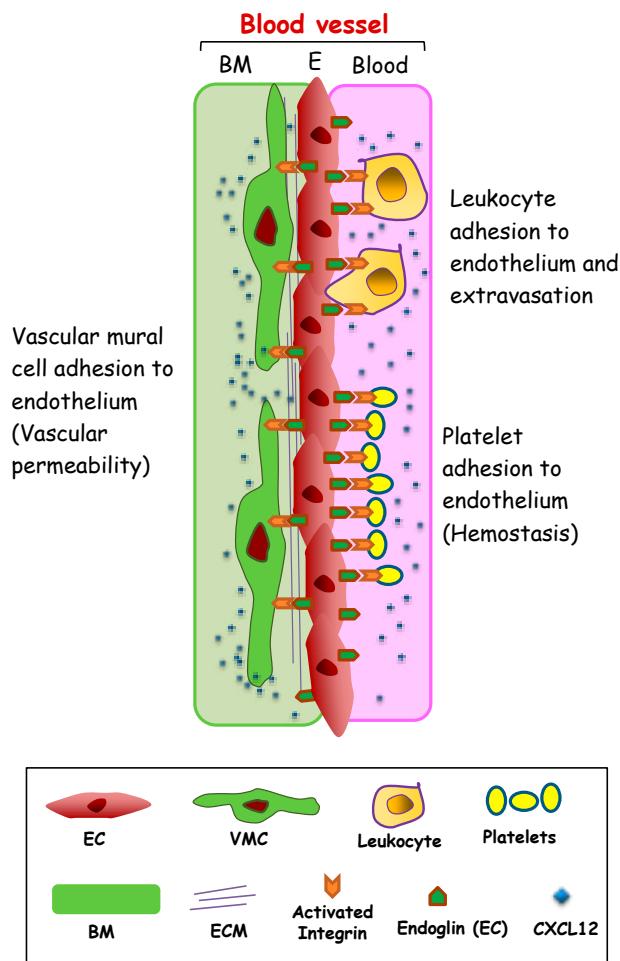


Figure 1

Hypothetical model of endoglin in integrin-mediated cell adhesions. The chemokine CXCL12 activates integrins on leukocytes, VSMCs and platelets, promoting their binding to endothelial endoglin. Endoglin haploinsufficiency (HHT1) leads to an impaired VSMCs recruitment, leukocyte extravasation, and endothelial-dependent hemostasis. BM, Basal Membrane; E, Endothelium; EC, Endothelial Cell; ECM, Extracellular Matrix; VMCs, Vascular Mural Cells. Adapted from Ruiz-Llorente et al. 2017.

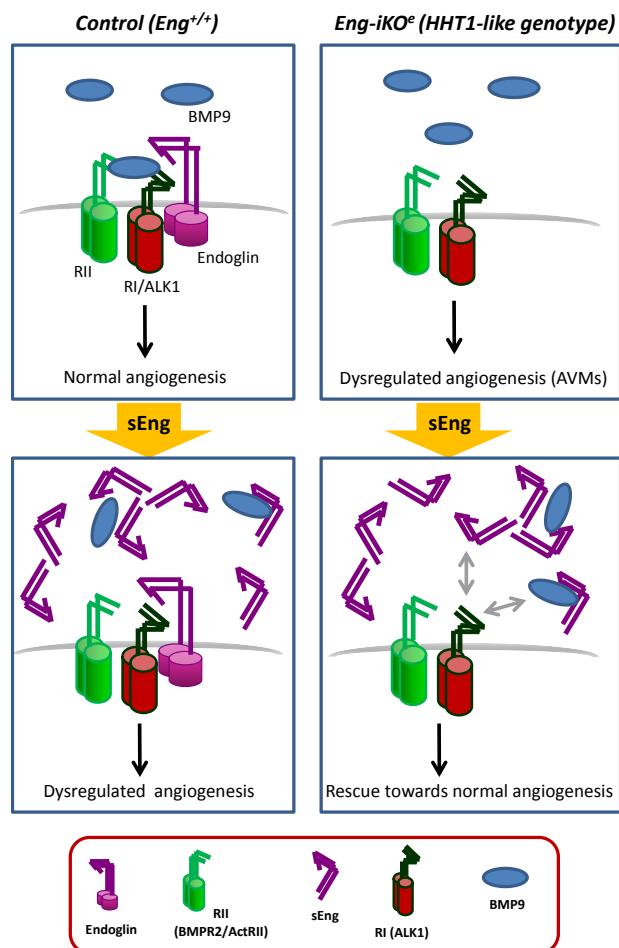


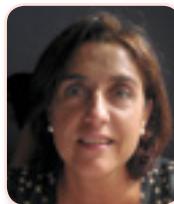
Figure 2

Hypothetical model of soluble endoglin (sEng) action on the vasculature. Membrane endoglin associates with type I (RI; ALK1) and type II (RII; BMPR2/ActRII) TGF- β receptors in a complex that can be activated by BMP9. In endoglin-silenced endothelial cells (Eng-iKOe), BMP9 cannot bind to membrane endoglin, but interacts with sEng and the resulting BMP9/sEng complex interacts with the ALK1 receptor, enhancing the proangiogenic ALK1 signalling and decreasing the incidence of arteriovenous malformations (AVMs). Adapted from Gallardo-Vara et al. 2018.

María Montoya González

Investigadora distinguida
maria.montoya@cib.csic.es

PhD, 1997 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1998-2005 • The Edward Jenner Institute,
Reino Unido
Jefe de grupo, 2005-2014 • CReSA, Universidad
Autónoma de Barcelona
Jefe de grupo, 2014-2017 • The Pirbright Institute,
Reino Unido
Investigadora distinguida, 2018 • CIR



 <https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biomedicina-molecular/immunologia-viral-terapias-y-vacunas>

Inmunología Viral: Terapias y Vacunas

El principal objetivo del grupo es profundizar en la relación inmunológica de las infecciones virales con el hospedador natural para diseñar nuevos tratamientos o vacunas. Se usará el cerdo como modelo para terapias celulares.

A parte de la importancia como agente zoonótico, el virus de la gripe porcina (VGP) es una enfermedad respiratoria relevante, cuya importancia muchas veces se ha infravalorado debido al impacto de otras patologías respiratorias. El virus de la peste porcina africana (VPPA) causa una enfermedad muy grave en cerdos domésticos que puede resultar en hasta un 100% de mortalidad. Actualmente, no existe vacuna frente al VPPA.

Se necesitan otras estrategias vacunales, que solo se pueden desarrollar mediante un profundo conocimiento de la respuesta inmune durante la interacción virus-hospedador (Fig. 1). El trabajo en el grupo está dirigido a comprender la respuesta inmune requerida para conseguir una protección eficaz, que se aplicará en diseño racional de vacunas frente el VGP o el VPPA.

En colaboración con otros grupos internacionales, hemos aplicado la vacunología reversa para indentificar epítopos T presentados por el MHC de clase I (SLA-I en cerdos) e identificado varios peptidos antigenicos del VGP.

También hemos desarrollado métodos para rastrear células *in vivo* usando resonancia magnética que servirán para mejorar las terapias celulares.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Almansa R, Martínez-Orellana P, Rico L, Iglesias V, Ortega A, Vidana B, Martínez J, Expósito A, Montoya M, Bermúdez-Martín JF [2017] Pulmonary transcriptomic responses indicate a dual role of inflammation in pneumonia development and viral clearance during 2009 pandemic influenza infection. *PeerJ* 5:e3915.
 - Baratelli M, Pedersen LE, Trebbien R, Larsen LE, Jungersen G, Blanco E, Nielsen J, Montoya M [2017] Identification of cross-reacting T-cell epitopes in structural and non-structural proteins of swine and pandemic H1N1 influenza A virus strains in pigs. *J Gen Virol* 98 (5):895-899.
 - Montoya M, Foni E, Solorzano A, Razzuoli E, Baratelli M, Bilato D, Córdoba L, Del Burgo MAM, Martínez J, Martínez-Orellana P, Chiapponi C, Perlin DS, Del Real G, Amadori M [2017] Expression Dynamics of Innate Immunity in Influenza Virus-Infected Swine. *Front Vet Sci* 4:48.
 - Post J, Weesendorp E, Montoya M, Loeffen WL [2017] Influence of Age and Dose of African Swine Fever Virus Infections on Clinical Outcome and Blood Parameters in Pigs. *Viral Immunol* 30 (1):58-69.
 - Sánchez-Cordon PJ, Chapman D, Jabbar T, Reis AL, Goatley L, Netherton CL, Taylor G, Montoya M, Dixon L [2017] Different routes and doses influence protection in pigs immunised with the naturally attenuated African swine fever virus isolate OURT88/3. *Antiviral Res* 138:1-8.
 - Soria I, Quattrochi V, Langellotti C, Gammella M, Digiacomo S, García de la Torre B, Andreu D, Montoya M, Sobrino F, Blanco E, Zamorano P [2017] Dendrimeric peptides can confer protection against foot-and-mouth disease virus in cattle. *PLoS One* 12 (9):e0185184.
 - Guzmán E, Montoya M [2018] Contributions of Farm Animals to Immunology. *Front Vet Sci* 5:307.
 - Montaner-Tarbes S, Novell E, Tarancón V, Borras FE, Montoya M, Fraile L, Del Portillo HA [2018] Targeted-pig trial on safety and immunogenicity of serum-derived extracellular vesicles enriched fractions obtained from Porcine Respiratory and Reproductive virus infections. *Sci Rep* 8 (1):17487.
 - Sánchez-Cordon PJ, Montoya M, Reis AL, Dixon LK [2018] African swine fever: A re-emerging viral disease threatening the global pig industry. *Vet J* 233:41-48.
 - Tungatt K, Dolton G, Morgan SB, Attaf M, Fuller A, Whalley T, Hemmink JD, Porter E, Szomolay B, Montoya M, Hammond JA, Miles JJ, Cole DK, Townsend A, Bailey M, Rizkallah PJ, Charleston B, Tchilian E, Sewell AK [2018] Induction of influenza-specific local CD8 T-cells in the respiratory tract after aerosol delivery of vaccine antigen or virus in the Babraham inbred pig. *PLoS Pathog* 14 (5):e1007017.

Viral Immunology: Therapies and Vaccines

The main aim of the group is to provide new insights into immunological host-pathogen interactions by studying the immune system of the pigs in the context of natural relevant viral infections. Pigs will be used as model for cellular therapies.

Besides its importance as a zoonotic agent, Swine Influenza Virus (SwIV) is a relevant porcine respiratory disease, whose importance has been often underestimated due to the impact of other respiratory pathologies. African swine fever virus (ASFV) causes severe disease in domestic pigs that can result in up to 100% mortality. Nowadays, there is no vaccine against ASFV.

Other vaccination approaches are required, which can only be informed by a deeper knowledge of immune responses during host-pathogen interactions (Fig. 1). The work in the group is directed into a better understanding of the immune responses required for protection in order to provide the information for rationally design a vaccine against ASFV or SwIV.

Our team and in collaboration with other international groups have applied reverse vaccinology to identify SLA-I T-cell epitopes. We have identified several antigenic peptides from SwIV.

Also, we have set up a model for cell tracking *in vivo* using magnetic resonance imaging that will be used in improving cellular therapies.

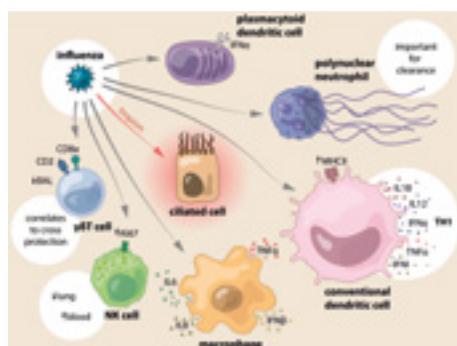
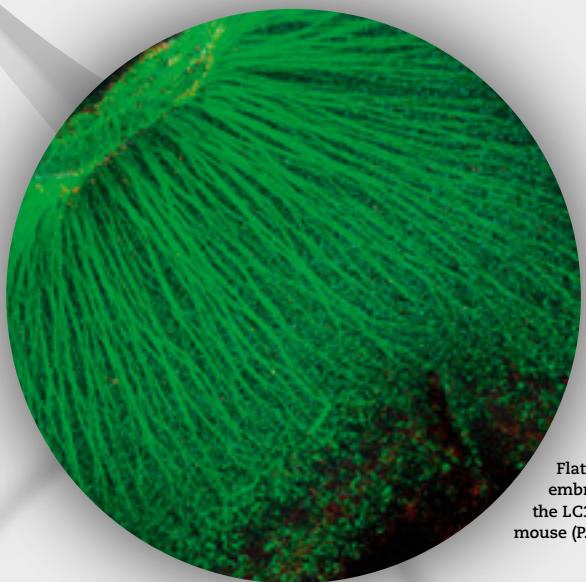
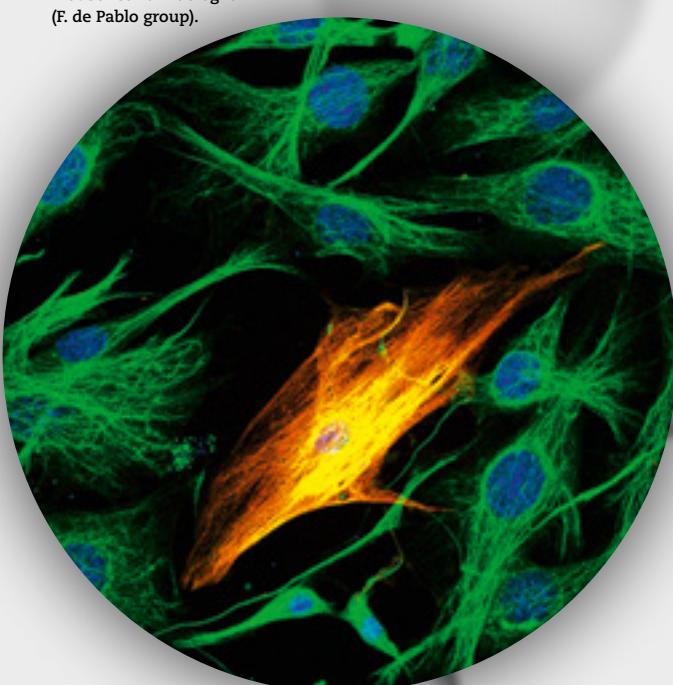


Figure 1

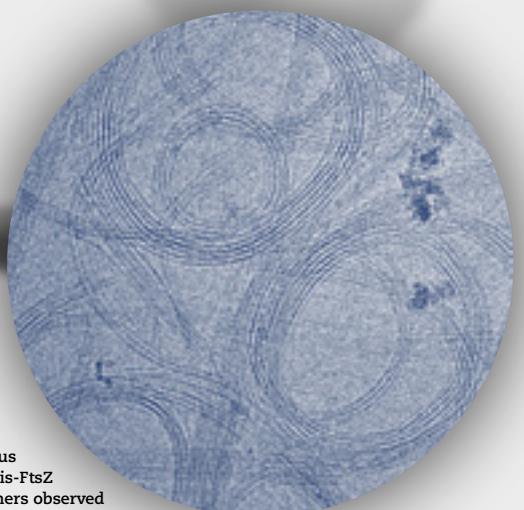
SwIV
interaction with
cells from the
innate immune
system and the
main effects
reported



Flatmount of an embryonic retina from the LC3 -GFP reporter mouse (P. Boya group).



Mouse retina macroglia
(F. de Pablo group).



Bacillus subtilis-FtsZ polymers observed by cryo-EM
(J.M. Andreu group).



Arabidopsis leaves exposed to freezing temperature
(J. Salinas group).

Biología Estructural y Química

Structural and Chemical Biology

[66] **Valle Palomo**

Biosensores y Química Biológica
Biosensors and Chemical Biology

[67] **Daniel Lietha**

Señalización y Adhesión Celular
Cell Signalling and Adhesion

[68] **Sonsoles Martín Santamaría**

Química Biológica Computacional
Computational Chemical Biology

[70] **Luis Ignacio Rivas López** ·

Eduardo Rial Zueco

Metabolismo Energético y Desarrollo
de Fármacos
Energy Metabolism and Drug Development

[72] **José Fernando Díaz Pereira** ·

Isabel Barasoain Blasco

Agentes Estabilizantes de Microtúbulos
Microtubule Stabilizing Agents

[74] **Francisco Javier Cañada Vicinay**

RMN y Reconocimiento Molecular
NMR and Molecular Recognition

[76] **M.ª Dolores Pérez-Sala Gozalo**

Modificación Postraduccional de Proteínas
Posttranslational Modification of Proteins

[78] **M.ª Cristina Vega Fernández**

Biología Estructural de las Interacciones
Huésped-Patógeno
*Structural Biology of Host-Pathogen
Interactions*

[80] **Antonio Romero Garrido**

Biología Estructural de Proteínas
Structural Biology of Proteins

[82] **Carlos Fernández Tornero**

Estructura de Ensamblados
Macromoleculares
Structure of Macromolecular Assemblies

[84] **Germán Alejandro Rivas Caballero**

Bioquímica de Sistemas de la División
Bacteriana
Systems biochemistry of bacterial division

[86] **Ana Martínez Gil** ·

Carmen Gil Ayuso-Gontán

Química Médica y Biológica Traslacional
*Translational Medicinal and Biological
Chemistry*

[88] **José Manuel Andreu Morales**

Tubulinas y FtsZ: Modulación
del Ensamblaje de Proteínas
*Tubulins and FtsZ: Targeting Protein
Self-Assembly*

[90] **Ernesto Arias Palomo**

Crio-ME de Máquinas Macromoleculares
Cryo-EM of Macromolecular Machines

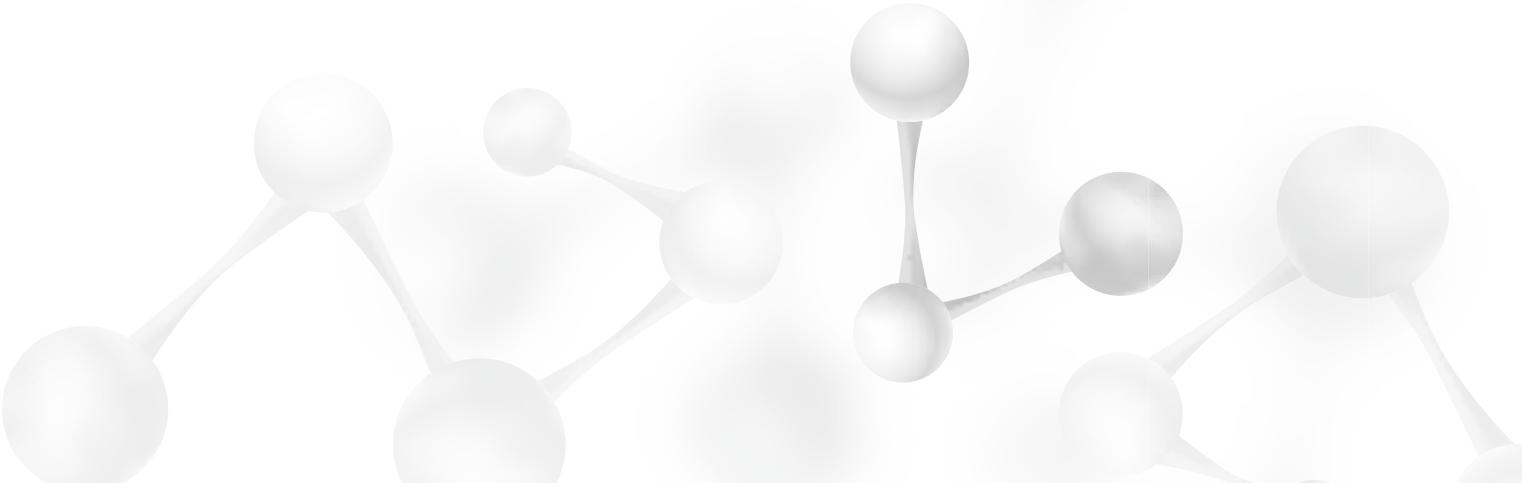


Biología Estructural y Química
Structural and Chemical Biology

overview

The Structural and Chemical Biology Department (SCB) integrates people with expertise in structural, chemical and computational biology. Research at SCB aims to understand specific biological problems at different levels of complexity, from the single molecule level to sub-cellular macromolecular assemblies, in an effort to develop new compounds of pharmacological interest. In order to meet these challenges, the SCB gathers a powerful combination of experimental and theoretical strengths in structural biology, mechanistic biochemistry, chemical biology, molecular biophysics, synthetic and computational biology, and medicinal chemistry. Our research targets include carbohydrate recognition, pathogenic microorganisms, microtubules, transcription, DNA replication and repair, and immune response, with additional emphasis on cancer and neurological diseases. The resulting knowledge is expected to provide insight into essential biological functions, eventually leading to drug design and other biomedical applications.

Antonio Romero
Department Head



Valle Palomo

Junior Leader

vpalomo@cib.csic.es

PhD in Chemistry, 2012 • Universidad Autónoma de Madrid

Postdoctoral Researcher 2013-2016 • The Scripps Research Institute

Juan de la Cierva Incorporación, 2016-2018

Jefa de Grupo, 2018 • CIB, CSIC



Biosensores y Química Biológica

Nuestra investigación se centra en el uso de nanopartículas y otras herramientas químicas para comprender procesos biológicos de condiciones patológicas y la búsqueda de fármacos para las mismas. Utilizamos Quantum Dots de Cd/Se como nanopartículas luminiscentes sensores de macromoléculas y de procesos biológicos dinámicos.

El grupo de Biosensores y Química Biológica se centra en el estudio molecular de enfermedades y la búsqueda de tratamientos farmacológicos innovadores.

Nuestro grupo trabaja principalmente con nanopartículas luminescentes de tipo Quantum Dot (QD) conjugadas con anticuerpos monoclonales (mAb) o con péptidos substratos de enzimas de interés. Con los conjugados de QD-mAb, estamos trabajando para poner a punto una plataforma multicolor para medir de forma simultánea hasta 5 moléculas de interés a nivel de célula única.

Por otro lado, trabajamos en el desarrollo de péptidos penetradores de membrana selectivos de tipos celulares concretos, y en su conjugación con: a) fluoróforos que permitan el estudio de su comportamiento celular y b) fármacos que puedan ser dirigidos específicamente a la población celular donde ejercer su acción terapéutica.

Premios | Awards

- Nozal V, García-Rubia A, Pérez C, Martínez A, Palomo V. Improved linkage design for the discovery of multitarget ligands as powerful drugs for Alzheimer's disease. Premio de la Real Academia Nacional de Farmacia. Concurso Científico 2018.

Financiación | Funding

- LCF/BQ/PR18/11640007 (La Caixa, 2018-2021)
- B2017/BMD-3813 (CM, 2018-2021)
- JCI-2014-20767 (MINECO, 2016-2018)

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Palomo V, Cistrone PA, Zhan N, Palau G, Mattoossi H, Dawson PE [2018] Efficient assembly of quantum dots with homogenous glycans derived from natural n-linked glycoproteins. *Bioconjug Chem* 29:3144-3153.
- Sánchez-Cruz A, Villarejo-Zori B, Marchena M, Zaldívar-Díez J, Palomo V, Gil C, Lizasoain I, de la Villa P, Martínez A, de la Rosa EJ, Hernández-Sánchez C [2018] Modulation of GSK-3 provides cellular and functional neuroprotection in the rd10 mouse model of retinitis pigmentosa. *Mol Neurodegener* 13:19.
- Marchena M, Villarejo-Zori B, Zaldívar-Díez J, Palomo V, Gil C, Hernández-Sánchez C, Martínez A, de la Rosa E [2017] Small molecules targeting glycogen synthase kinase 3 as potential drug candidates for the treatment of retinitis pigmentosa. *J Enzyme Inhib Med Chem* 32:522-526.
- Palomo V, Pérez DI, Roca C, Anderson C, Rodríguez-Muela N, Pérez C, Morales-García JA, Reyes JA, Campillo NE, Pérez-Castillo AM, Rubin LL, Timchenko L, Gil C, Martínez A [2017] Subtly modulating glycogen synthase kinase 3 β : allosteric inhibitor development and their potential for the treatment of chronic diseases. *J Med Chem* 60:4983-5001.
- Palomo V, Martínez A [2017] Glycogen synthase kinase 3 (GSK-3) inhibitors: a patent update (2014-2015). *Expert Opin Ther Pat* 27:657-666.

Otros miembros | Other members

Carlota Tosat Bitrián



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biología-estructural-y-química/biosensores-y-química-biológica>

Biosensors and Chemical Biology

Our research is focused in the use of nanoparticles and other chemical tools to understand biological processes of pathological conditions and search for drugs able to tackle them. We use Quantum Dots of Cd/Se as luminescent nanoparticle sensors of macromolecules and dynamic biological processes.

The group of Biosensors and Chemical Biology works on the molecular study of diseases and the search for innovative pharmacological treatments.

We work with Quantum Dot (QD) luminescent nanoparticles conjugated with monoclonal antibodies (mAb) or peptidic substrates of target enzymes. With QD-mAb conjugates we are working on establishing a multicolor platform to measure simultaneously up to 5 molecular targets at the single cell level.

We also work in the development of specific cell penetrating peptides, conjugating them with: a) fluorophores to allow the study of their biological behavior and b) therapeutic drugs, to direct them to a specific cellular type to pursue their action.

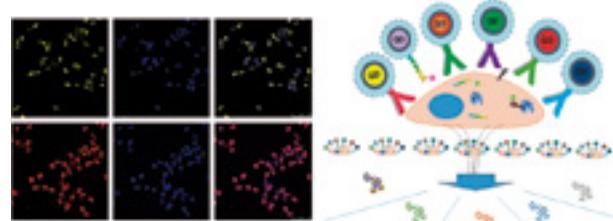


Figure 1

Confocal microscope images of QD conjugates staining nuclear proteins. Multicolor molecular profile with QDs for the discovery of therapeutic drugs.

- Polonskaya Z, Deng S, Sarkar A, Kain L, Comellas-Aragonés M, McKay CS, Kaczanowska K, Holt M, McBride R, Palomo V, Self KM, Taylor S, Irimia A, Mehta SR, Dan JM, Brigger M, Crotty S, Schoenberger SP, Paulson JC, Wilson IA, Savage PB, Finn MG, Teyton L [2017] T cells control the generation of nanomolar-affinity anti-glycan antibodies. *J Clin Invest* 127:1491-1504.
- Pérez-Domper P, Palomo V, Gradarí S, Gil C, de Ceballos ML, Martínez A, Trejo JL [2017] The GSK-3-inhibitor VP2.51 produces antidepressant effects associated with adult hippocampal neurogenesis. *Neuropharmacology* 116:174-187.
- Medina-Rodríguez EM, Briñá A, Boyd A, Palomo V, Pastor J, Lagares A, Gil C, Martínez A, Williams A, de Castro F [2017] Promoting *in vivo* remyelination with small molecules: a neuroreparative pharmacological treatment for Multiple Sclerosis. *Sci Rep* 7:43545.
- Susumu K, Field LD, Oh E, Hunt M, Delehanty J, Palomo V, Huston AL, Dawson PE, Medintz IL [2017] Purple-, blue-, and green-emitting multishell alloyed quantum dots: synthesis, characterization, and application for ratiometric extracellular pH sensing. *Chem Mater* 29:7330-7344.

Daniel Lietha

Investigador Distinguido
daniel.lietha@cib.csic.es



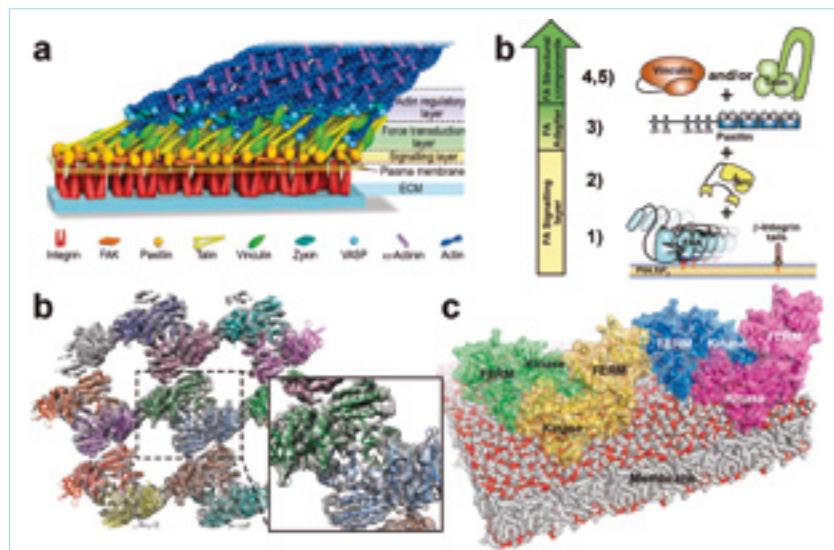
PhD, 2004 • Birkbeck College, University of London, UK
Postdoc, 2004-2009 • Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA
Group Leader, 2009-2018 • CNIO, Spain
Group Leader, Investigador Distinguido, since 1st Oct 2018 • CIB, CSIC

<http://cib.csic.es/es/departamentos/biologia-estructural-y-quimica/señalizacion-y-adhesión-cellular>

Señalización y Adhesión Celular

Estudiamos la estructura, función y señalización de las adhesiones focales, complejos clave en la migración celular. Estas señales están sobreactivadas e inician la metástasis en el cáncer. Queremos utilizar nuestros conocimientos para desarrollar compuestos antimetastásicos.

Estudiamos la arquitectura y los mecanismos de acción de un complejo de proteínas involucrado en la migración celular conocido como adhesión focal. Las señales de este complejo son clave para la migración celular coordinada y en cáncer son sobreactivadas en los procesos de invasión y la metástasis. Mi grupo ha originado esta línea de investigación en el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas y recientemente la ha incorporado al CIB. Nuestro principal objetivo en el CIB es reconstituir la disposición en capas del complejo de adhesión focal en la membrana plasmática para realizar estudios estructurales y dilucidar cómo los reordenamientos de los distintos componentes activan las señales de adhesión focal. Utilizamos un enfoque de biología estructural integrado que combina cristalografía de rayos X y microscopía crioelectrónica (cryo-EM) con estudios bioquímicos y funcionales para comprender estos mecanismos a nivel atómico y poder racionalizar cómo los eventos oncogénicos producen una perturbación en estos mecanismos. Utilizamos esta información para el diseño basado en la estructura de posibles compuestos antimetastásicos que competen con los eventos de activación en las adhesiones focales.

**Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications**

- Bauer MS, Baumann F, Daday C, Redondo P, Durner E, Jobst MA, Milles LF, Mercadante F, Pippig DA, Gaub HE, Gräter F, Lietha D [2019] Structural and mechanistic insights into mechanoactivation of Focal Adhesion Kinase. *PNAS*. DOI: 10.1073/pnas.1820567116.
- Yen-Pon E, Li B, Acerbón M, Tomkiewicz-Roulet C, Dawson J, Lietha D, Frame MC, Coumoul X, Garbay C, Etheve-Quelquejeu M, Chen H [2018] Structure-based design of a potent and irreversible inhibitor of focal adhesion kinase. *ACS Chem Biol* 13:2067-2073.
- Toledo RA, Garralda E, Mitsi M, Pons T, Monsech J, Vega E, Otero Á, Albarán MI, Baños N, Durán Y, Bonilla V, Sarno F, Camacho-Artacho M, Sánchez-Pérez T, Perea S, Álvarez R, De Martino A, Lietha D, Blanco-Aparicio C, Cubillo A, Domínguez O, Martínez-Torrecuadrada JL, Hidalgo M [2018] Whole-exome sequencing of plasma DNA identifies KDR/VEGFR2 somatic mutations as colorectal cancer drivers and modulators of anti-angiogenic therapies. *Clin Cancer Res* 24:3550-3559.
- Le Coq J, Camacho-Artacho M, Velázquez JV, Santiveri CM, Heredia L, Campos-Olivas R, Dolker N, Lietha D [2017] Structural basis for allosteric interdomain signaling in SHIP2 required for high phosphatase activity. *ELife* 6:e26640.
- Dao P, Lietha D, Etheve-Quelquejeu M, Garbay C, Chen H [2017] Synthesis of novel 1,2,4-triazine scaffold as FAK inhibitors with antitumor activity. *Bioorg Med Chem Lett* 27:1727-1730.

Cell Signalling and Adhesion

We study the structure, function and signalling in focal adhesions, a key protein complex in cell migration. In invasive cancers these signals are upregulated to initiate metastasis. We aim to use our insights to develop anti-metastatic compounds.

We perform structural and mechanistic studies on a macromolecular protein complex involved in mesenchymal cell migration, known as focal adhesion complex. Signals generated in this complex are key for coordinated cell migration and in cancer they are upregulated to trigger tumour invasion and metastasis. The group has started this research line in the Spanish National Cancer Research Centre (CNIO, Madrid) and has only recently been incorporated into the CIB. At the CIB, we aim to reconstitute the layered arrangement of the focal adhesion complex on the plasma membrane for structural studies and elucidate how rearrangements trigger focal adhesion signals. We use an integrated structural biology approach, combining X-ray crystallography and cryo-electron microscopy (cryo-EM) with biochemical and functional studies to understand these mechanisms at atomic detail and to rationalise how oncogenic events result in their deregulation. Further we utilise this information for a structure based design of potential anti-metastatic compounds that compete with activating events in focal adhesions.

Financiación | Funding

- BFU2016-77665-R (MINECO)
- 15-1177 (WCR, formerly AICR)

Figure 1

Bottom-up strategy for analysing the layered focal adhesion structure. (a-b) We reconstitute the focal adhesion complex layer by layer on a lipid membrane for an integrated structural biology analysis. (b-c) Using cryo-EM we have already obtained an atomic model of the first layer containing oligomerised FAK on the membrane revealing large rearrangements of its FERM and kinase domains that trigger focal adhesion signals.

Sonsoles Martín Santamaría

Científico Titular

smsantamaria@cib.csic.es



PhD in Organic and Pharmaceutical Chemistry, 1998

- University Complutense of Madrid (ES)

Postdoctoral, 1998-2000 • Imperial College London (UK)

Postdoctoral, 2000-2003 • University of Alcalá (ES)

"Ramón y Cajal" Researcher, 2004-2008 • University CEU San Pablo, Madrid (ES)

Assistant Professor, 2008-2011; Associate Professor (Profesor Titular), 2011-14 • University CEU San Pablo, Madrid (ES)

Principal Investigator, 2012

Científico Titular, 2014 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Alessandra Lacetera

Lucía Pérez-Regidor

Joan Guzmán-Caldentey

Jean-Marc Billod

Enrique Crisman Vigil

Elena Gómez Rubio

<http://cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/computational-chemical-biology>

Química Biológica Computacional

Nuestro interés como investigadores se sitúa en la interfase entre la Química y la Biología. Aplicamos Modelado Molecular y Química Computacional al estudio de interacciones ligando-receptor y procesos de reconocimiento molecular con relevancia para el diseño de fármacos y sondas biológicas. Combinamos esta investigación con estudios estructurales y biológicos dentro de una aproximación multidisciplinar e integradora.

Nuestro trabajo está centrado fundamentalmente en el modelado molecular y estudio computacional de procesos de reconocimiento molecular en los que están implicados receptores de reconocimiento de patrones moleculares (PRRs): los receptores Toll-like y las galectinas.

- 1) Los receptores Toll-like (TLRs) son los actores principales en la inmunidad innata y reconocen patrones moleculares asociados a patógenos (PAMPs). Empleamos metodologías computacionales, como simulaciones de dinámica molecular y "coarse-grained", "docking" proteína-proteína y simulaciones de membrana, para estudiar los mecanismos moleculares

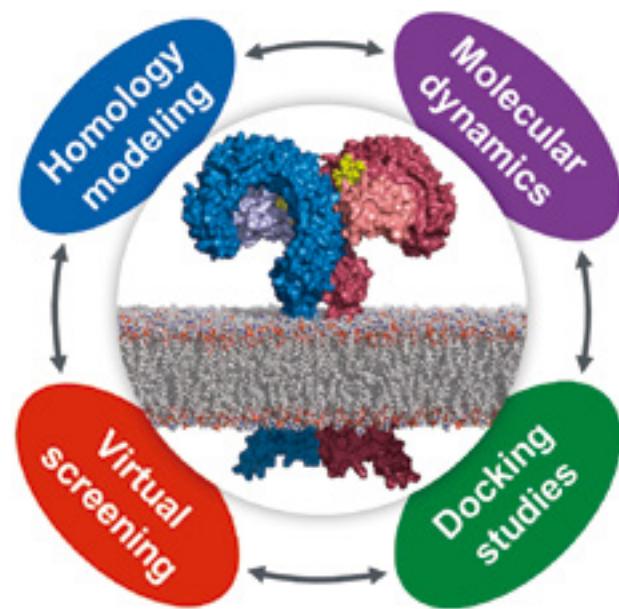


Figure 1

We use diverse computational approaches for the study of the TLR4/MD-2 complex.

involucrados en la funcionalidad de los TLRs y en el reconocimiento de PAMPs, como lipopolisacáridos, lipopéptidos y glicopéptidos. También empleamos técnicas de "docking" ligando-proteína y cribado virtual como fuente de nuevos compuestos capaces de modular el comportamiento de los TLRs con posibles aplicaciones terapéuticas en infección, inflamación, cáncer y enfermedades neurodegenerativas, o bien como sondas biológicas.

- 2) Las galectinas son lectinas de unión de beta-galactósidos que juegan un papel importante en infección, enfermedades inflamatorias y progresión tumoral. Nuestro trabajo se centra en la dilucidación del mecanismo que gobierna el reconocimiento de oligosacáridos, naturales y sintéticos, por parte de las diferentes galectinas. Combinamos "docking", simulaciones de dinámica molecular y técnicas de cribado virtual para entender cómo se transfiere la información biológica contenida en la estructura química de los glicanos a procesos biológico/patológicos a través de estas lectinas.

Combinamos nuestro trabajo computacional con estudios biológicos y estructurales, así como con la síntesis de nuevos compuestos y mutagénesis dirigida, en colaboración muy próxima con grupos experimentales.

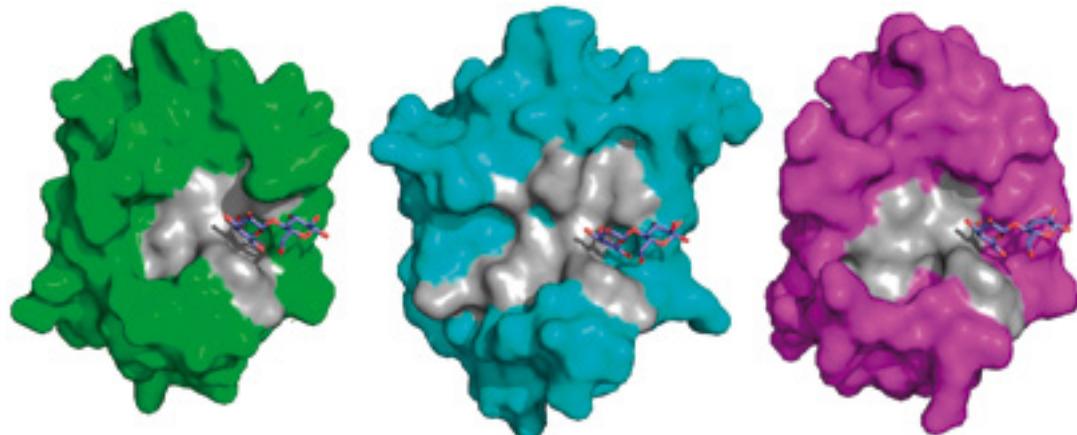


Figure 2

The relevance of the subtle differences in galectin binding may determine different glycan recognition and biological outcomes. Representation of human galectins 1, 3, and 7 in complex with lactose.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Di Lorenzo F, Billod JM, Martín Santamaría S, Silipo A, Molinaro A [2017] Gram negative extremophile lipopolysaccharides: promising source of inspiration for a new generation of endotoxin antagonists. *Eur J Org Chem* 28:4055-4073.
- Sestito SE, Facchini FA, Morbioli I, Billod JM, Martín-Santamaría S, Casnati A, Sansone F, Peri F [2017] Amphiphilic guanidinocalixarenes inhibit lipopolysaccharide (LPS)- and lectin-stimulated Toll-like receptor 4 (TLR4) signaling. *J Med Chem* 60:4882-4892.
- El-Halfawy OM, Klett J, Ingram RJ, Loutet SA, Murphy ME, Martín-Santamaría S, Valvano MA [2017] Antibiotic capture by bacterial lipocalins uncovers an extracellular mechanism of intrinsic antibiotic resistance. *MBio* 8(2): pii: e00225-17.
- Facchini FA, Zaffaroni L, Minotti A, Rapisarda S, Calabrese V, Forcella M, Fusì P, Airolidi C, Ciaramelli C, Billod JM, Schromm AB, Braun H, Palmer C, Beyaert R, Lapenta F, Jerala R, Pirianov G, Martín-Santamaría S, Peri F [2018] Structure-activity relationship in monosaccharide-based Toll-like receptor 4 (TLR4) antagonists. *J Med Chem* 61:2895-2909.
- Moleres J, Fernández-Calvet A, Ehrlich RL, Martí S, Pérez-Regidor L, Euba B, Rodríguez-Arce I, Balashov S, Cuevas E, Liñares J, Ardanuy C, Martín-Santamaría S, Ehrlich GD, Mell JC, Garmendia J [2018] Antagonistic pleiotropy in the bifunctional surface protein FadL (OmpP1) during adaptation of *Haemophilus influenzae* to chronic lung infection associated with chronic obstructive pulmonary disease. *MBio* 9: pii: e01176-18.
- Entova S, Billod JM, Swiecicki JM, Martín-Santamaría S, Imperiali B [2018] Insights into the key determinants of membrane protein topology enable the identification of new monotopic folds. *Elife* 7: pii: e40889.
- Lembo-Fazio L, Billod JM, Di Lorenzo F, Paciello I, Pallach M, Vaz-Francisco S, Holgado A, Beyaert R, Fresno M, Shimoyama A, Lanzetta R, Fukase K, Gully D, Giraud E, Martín-Santamaría S, Bernardini ML, Silipo A [2018] Bradyrhizobium lipid A: immunological properties and molecular basis of its binding to the myeloid differentiation protein-2/Toll-Like receptor 4 complex. *Front Immunol* 9:1888.
- Martín-Santamaría S, editor [2018] Computational tools for Chemical Biology. London. Chemical Biology series. Royal Society of Chemistry.
- Pérez-Regidor L, Guzmán-Caldentey J, Rodríguez CF, Billod J-M, Nogales J, Martín-Santamaría S [2018] Current challenges in the computational modelling of molecular recognition processes. Chapter in book: S. Martín-Santamaría (Ed.). Computational Tools for Chemical Biology (pp. 221-246). Cambridge: Royal Society of Chemistry.
- Lacetera A, Berbés A, Nurisso A, Jiménez-Barbero J, Martín-Santamaría S [2018] Computational chemistry tools in glycobiology: modelling of carbohydrate-protein interactions. Chapter in book: S. Martín-Santamaría (Ed.). Computational Tools for Chemical Biology. Cambridge: Royal Society of Chemistry, 2018.

Financiación | Funding

- CTQ2014-57141-R (MINECO)
- CTQ2017-88353-R (MINECO)
- S2017/BMD-3673L. Red excelencia Comunidad de Madrid
- ETN-2014-642157 (EU, H2020, Marie Skłodowska-Curie Actions)
- BES-2012-053653 (MINECO)
- BES-2015-071588 (MINECO)

Computational Chemical Biology

Our research interests lie at the interface between Chemistry and Biology. We apply Molecular Modeling and Computational Chemistry to the understanding of ligand-receptor interactions and molecular recognition processes relevant for the design of drugs and biological probes. We combine these investigations with structural and biological studies, within a multidisciplinary and integrative approach.

Our work is focused in the molecular modeling and computational study of molecular recognition processes involving Pattern Recognition Receptors (PRRs): Toll-like receptors, and Galectins.

1) Toll-like receptors (TLRs) are the main actors in innate immunity and are specialized in the recognition of pathogen-associated molecular patterns (PAMPs). We apply computational methodologies, such as MD and CG simulations, protein-protein docking and membrane simulations, to the study of the molecular mechanisms involved in the TLRs functionality,

and in the recognition by PAMPs, such as natural lipopolysaccharides, lipopeptides and glycopeptides. We also make use of ligand-protein docking and virtual screening as a source of new compounds able to modulate the TLRs behaviour with possible therapeutic applications in infection, inflammation, cancer, and neurodegenerative diseases, and also as biological probes.

2) Galectins are beta-galactoside-binding lectins that play an important role in infection, inflammatory diseases and tumor progression. Our work is focused on the elucidation of the mechanisms

that govern natural and synthetic oligosaccharides recognition by different galectins. Combination of docking, molecular dynamics simulations and virtual screening techniques are exploited to understand how the bioinformation contained in the glycans chemical structure is transferred to biological/pathological processes via lectins.

We combine our work with biological and structural studies, site-directed mutagenesis, and synthesis of novel compounds, in close collaboration with experimental groups.



Luis Ignacio Rivas López

Investigador Científico
luis.rivas@cib.csic.es



PhD, 1984 • Universidad Complutense de Madrid
PostDoctoral, 1984-1985 • Weizmann Institute of Science (IS), Yale University, USA
Científico Titular, 1986
Jefe de Grupo, 1988
Investigador Científico, 2006 • CIB, CSIC

Eduardo Rial Zueco

Investigador Científico
rial@cib.csic.es



PhD 1984 • Universidad del País Vasco
Estudiante Doctorado • Universidad de Dundee (Escocia) 1982-1984
Research Assistant • Universidad de Dundee (Escocia) 1984-1987
Científico Titular, 1988
Jefe de Grupo, 1990
Investigador Científico, 2004 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Montserrat Nácher Vázquez
Paula Martínez de Iturraté Sanz
María Isabel Porras Santa Cruz

Lorena Rodríguez González
Gustavo Nardini Cecchino



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biología-estructural-y-química/metabolismo-energético-y-desarrollo-de-fármacos>

Metabolismo Energético y Desarrollo de Fármacos

El metabolismo energético es clave para el mantenimiento de las funciones celulares y, por tanto, diana farmacológica para el tratamiento de distintas patologías. Investigamos nuevos péptidos membrano-activos e inhibidores mitocondriales o de rutas de señalización para, por ejemplo, luchar frente a las infecciones causadas por el protozoo parásito Leishmania o para sensibilizar las células tumorales frente a agentes quimioterapéuticos.

El metabolismo energético juega un papel central en todos los organismos vivos por lo que sus alteraciones en diversas patologías se han convertido en una atractiva diana para el desarrollo de nuevos enfoques terapéuticos. Aunque nuestra experiencia en bioenergética celular nos ha permitido abordar diferentes problemas biológicos, con fructíferas colaboraciones con otros grupos de investigación, nuestro principal objetivo es el desarrollo de nuevas estrategias para tratar la leishmaniasis.

La leishmaniasis es una enfermedad tropical desatendida cuya incidencia global es de 10 a 12 millones de personas infectadas en todo el mundo. Actualmente, los tratamientos se limitan a la quimioterapia y los pocos medicamentos disponibles están amenazados por el aumento de las resistencias y sus graves efectos secundarios.

El ciclo de vida de *Leishmania* incluye dos etapas principales, el promastigote que habita dentro de su vector invertebrado y el amastigote, un parásito intracelular obligatorio del macrófago. Ambas formas muestran profundas diferencias en su metabolismo debido a su adaptación a los diferentes entornos. Nuestra

estrategia se centra en el desarrollo de terapias combinadas dirigidas tanto al parásito como al metabolismo energético del macrófago.

Las familias de compuestos que se investigan se pueden dividir en tres categorías:

- 1) Compuestos conocidos que alteran el metabolismo energético de los macrófagos o vías de señalización implicadas en la respuesta a la infección.
- 2) Bibliotecas de compuestos de bajo peso molecular que inhiben el metabolismo energético de *Leishmania*.
- 3) Nuevos péptidos membrano-activos que eliminan al parásito por permeabilización de la membrana plasmática, o que puedan utilizarse para vehicular drogas.

El objetivo final es desarrollar nuevos fármacos leishmanicidas que, en combinación con drogas dirigidas al metabolismo energético en la interacción *Leishmania*-macrófago, permitan un nuevo enfoque terapéutico efectivo para la leishmaniasis.



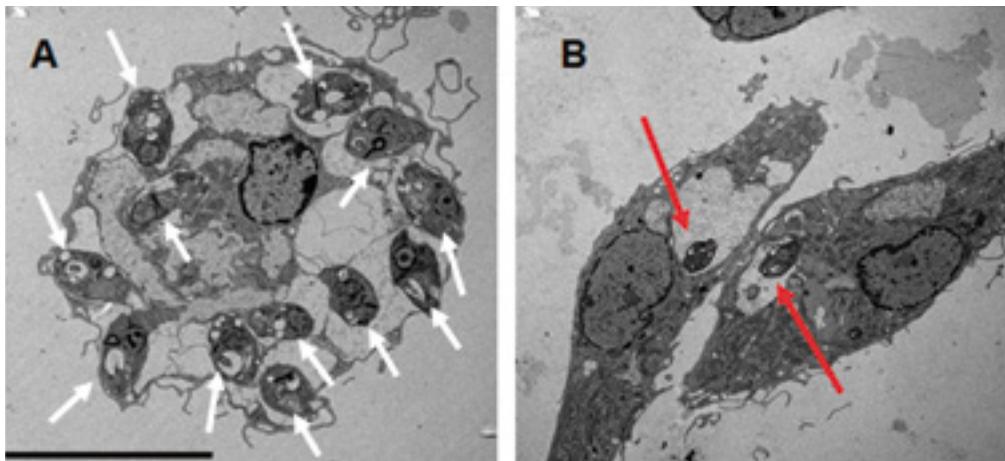


Figure 1

Leishmanicidal activity of the enterocin AS-48 on RAW 264.7 macrophages infected with *Leishmania pifanoi* amastigotes. A) Untreated infected macrophages. B) Infected macrophages treated with 7 μ M AS-48 for 24 h. White arrows identify alive amastigotes within the parasitophorous vacuoles, while red arrows point at residual dead amastigotes. Magnification bar = 10 μ m. (Abengózar et al. (2017) Antimicrob Agents Chemother 61: pii: e02288-16. Copyright ASM)

Energy Metabolism and Drug Development

Energy metabolism is essential for the maintenance of cellular functions, thus, a drug target to treat a variety of pathologies. We investigate new mitochondrial inhibitors, membrane active peptides and disruptors of the signal transduction pathways involved in the regulation of the energy metabolism to fight, for example, against infection by the human protozoan parasite Leishmania or to sensitize cancer cells to chemotherapeutic agents.

The pivotal role of the energy metabolism in all living organisms and its modification under a variety of pathologies has become an appealing target for the development of new therapeutic approaches. Although our expertise in cellular bioenergetics has allowed us to address different biological and pathological systems, with fruitful collaborations with other research groups, our main goal is the development of new strategies to treat leishmaniasis.

Leishmaniasis is a neglected tropical disease whose global incidence is of 10-12 million people infected worldwide. Treatments are currently limited to chemotherapy and the few available drugs are threatened by rising resistance and severe side effects. Consequently, new therapeutic approaches are needed.

The life cycle of *Leishmania* includes two major stages, the promastigote that dwells inside its invertebrate vector and the amastigote, an obligatory intracellular parasite of the macrophage in vertebrates. Both forms display profound differences in their metabolism due to their adaptation to their different environments. Our strategy focuses on combination therapies targeting both the parasite and the energy metabolism of the macrophage.

The families of compounds that are under investigation can be divided into three major categories:

- 1) Compounds known to alter the energy metabolism of the macrophage or key signalling pathways involved in its response to infection.

- 2) Phenotypic screening of libraries of low molecular weight compounds as inhibitors of the energy metabolism of *Leishmania*.
- 3) New membrane-active peptides that either kill the parasite by disruption of the plasma membrane, or that could be used to vehicle inside *Leishmania* a variety of cargo molecules.

The final aim is the discovery of new leishmanicidal drugs that, in combination with drugs aimed at energy metabolism in the *Leishmania*-macrophage interaction, allow a new effective therapeutic approach to leishmaniasis.

Financiación | Funding

- SAF2015-65740-R (MINECO)
- RETICS RD16/0027/0010 (MINECO – ISCIII)
- CTQ2015-7278-EXP

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Lima ML, Abengózar, MA, Nácher-Vázquez M, Martínez-Alcázar MP, Barbas C, Tempone AG, López-González A, Rivas L [2018] Drug repurposing for leishmaniasis. Molecular basis of the leishmanicidal activity of the antidepressant sertraline. *Antimicrob Agents Chemother* 62: pii: e01928-18.
- Rivas L, Nácher-Vázquez M, Andreu D [2018] The physical matrix of the plasma membrane as a target: The charm of drugs with low specificity. In: Drug Discovery for Leishmaniasis (Rivas L, Gil C eds.) RSC Drug Discovery Series, pp. 248-281.
- Larriba E, Rial E, Del Mazo J [2018] The landscape of mitochondrial small non-coding RNAs in the PGCs of male mice, spermatogonia, gametes and in zygotes. *BMC Genomics* 19:634.
- Marín-Royo G, Gallardo I, Martínez-Martínez E, Gutiérrez B, Jurado-López R, López-Andrés N, Gutiérrez-Tenorio J, Rial E, Bartolomé MAV, Nieto ML, Cachofeiro V [2018] Inhibition of galectin-3 ameliorates the consequences of cardiac lipotoxicity in a rat model of diet-induced obesity. *Dis Model Mech* 11: pii: dmm032086.
- Martín-Sánchez F, Martínez-García JJ, Muñoz-García M, Martínez-Villanueva M, Noguera-Velasco JA, Andreu D, Rivas L, Pelegrín P [2017] Lytic cell death induced by melittin bypasses pyroptosis but induces NLRP3 inflammasome activation and IL-1 β release. *Cell Death Dis* 8:e2984.
- Defaus S, Gallo M, Abengózar MA, Rivas L, Andreu D [2017] A synthetic strategy for conjugation of paromomycin to cell-penetrating Tat(48-60) for delivery and visualization into leishmania parasites. *Int J Pept* 2017:4213037.
- Abengózar MA, Cebrián R, Saugar JM, Gárate T, Valdivia E, Martínez-Bueno M, Maqueda M, Rivas L [2017] Enterocin AS-48 as evidence for the use of bacteriocins as new leishmanicidal agents. *Antimicrob Agents Chemother* 61: pii: e02288-16.
- Contreras L, Rial E, Cerdán S, Satrustegui J [2017] Uncoupling Protein 2 (UCP2) Function in the Brain as Revealed by the Cerebral Metabolism of (1-13C)-Glucose. *Neurochem Res* 42:108-114.
- Rodríguez-Sánchez L, Rial E [2017] The distinct bioenergetic properties of the human UCP1. *Biochimie* 134:51-55.

José Fernando Díaz Pereira

Investigador Científico
fer@cib.csic.es



PhD, 1993 • Universidad Complutense de Madrid
Becario Postdoctoral, 1994 • Universidad Católica de Lovaina, Bélgica
Investigador Asociado, 1996 • Universidad Católica de Lovaina, Bélgica
Investigador Contratado, 1998
Científico Titular, 2001
Investigador Científico, Jefe de Grupo 2008 • CIB, CSIC

Isabel Barasoain Blasco

Científica Titular
i.barasoain@cib.cisc.es



PhD, 1976 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1978 • Rosenstiel Basic Research Center, Brandeis University, Waltham, MA, USA
Postdoctoral, 1980 • Center for Cancer Research, MIT, Cambridge, MA, USA
Científica Titular, 1981 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Francisco de Asís Balaguer Pérez
Juan Estévez Gallego
Fernando Josa Prado

Daniel Lucena Agell
María Ángela Oliva Blanco
Mariano Redondo Horcado

Agentes Estabilizantes de Microtúbulos

El desarrollo de nuevos y mejores antitumorales es un campo de la mayor importancia en la investigación biomédica. Nuestro grupo trabaja en la caracterización de la modulación farmacológica de tubulina y actina, dos proteínas diana de compuestos con actividad antitumoral, estudiando a nivel bioquímico, celular y estructural la interacción de compuestos con su proteína diana y sus efectos biológicos.

Los agentes moduladores de tubulina y actina son un grupo de compuestos químicamente muy diversos capaces de inhibir o promover el ensamblaje de estas proteínas en microtúbulos y microfilamentos. La regulación en el ensamblaje de estas proteínas está muy finamente regulada a nivel celular y resulta crucial en distintas funciones esenciales (correcto posicionamiento y segregación de los cromosomas durante la mitosis, tráfico de vesículas y orgánulos, migración y mantenimiento de la forma celular, entre otras). Dado que estas funciones son imprescindibles en distintos procesos tumorales tales como la proliferación celular, la metástasis y la angiogénesis, estos filamentos son una diana óptima para agentes antitumorales. Más aún, debido a que

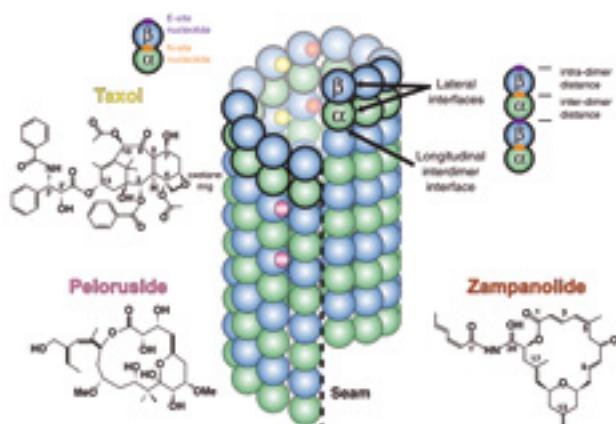


Figure 1

Schematic of an MT and the binding sites for three MSAs. Taxol and zanpanolide bind to the same luminal binding pocket, whereas peloruside binds to a pocket located on the MT exterior. Kellogg et al [2017] *J. Mol. Biol.* 429:633–646.

son funciones esenciales, los tumores no pueden desarrollar resistencia contra los compuestos que las inhiben utilizando rutas de señalización alternativas, tal y como ocurre en el caso de las resistencias que aparecen contra los inhibidores de quinasas.

Durante el bienio 2017-2018 la actividad del grupo se ha centrado en la determinación estructural de los complejos entre agentes moduladores de tubulina y la proteína, en la caracterización de nuevos sitios farmacológicos en la molécula y en el estudio de la relación estructura función de distintas familias de fármacos.

Como hitos más relevantes cabe resaltar:

- El desarrollo de un test de cribaje de alto rendimiento para el sitio de maitansina. Menchon G. et al. [2018] *Nature Communications* 9:2016.
- La descripción de un nuevo sitio interfacial en tubulina que al que, contrariamente a los otros sitios interfaciales descritos (Vinblastina, Eribulina y Maitansina), la unión de ligandos promueve el ensamblaje de tubulina. Sáez-Calvo G. et al. [2017] *Cell Chemical Biology* 24:737-750.
- El hallazgo de la primera evidencia de comunicación estructural entre los sitios de nucleótido y taxanos en tubulina. Field JJ. et al. [2018] *J. Nat. Prod.* 81:494-505.

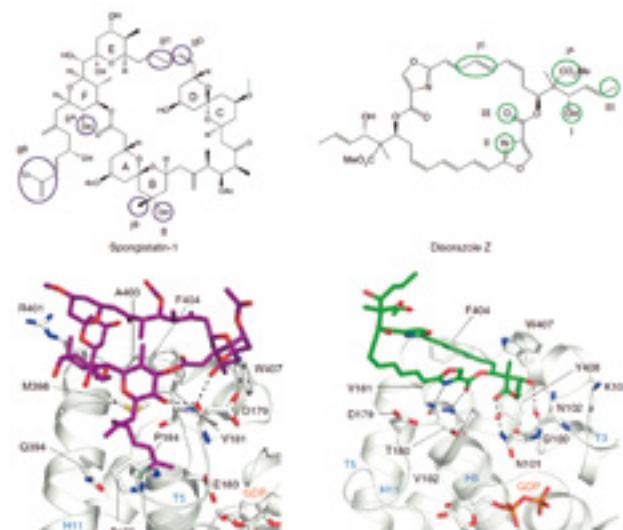


Figure 2

Spongistatin-1 and disorazole Z are maytansine-site ligands. Molecular structures of spongistatin-1 and disorazole Z. Close-up views of the interaction mode between spongistatin-1 and tubulin and between disorazole Z and tubulin. Menchon G. et al [2018] *Nature Communications* 9:2016.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Kellogg EH, Hejab NMA, Howes S, Northcote P, Miller JH, Díaz JF, Downing KH, Nogales E [2017] Insights into the distinct mechanisms of action of taxane and non-taxane microtubule stabilizers from cryo-EM structures. *J Mol Biol* 429:633–646.
- Bohnacker T, Prota A, Beaufils F, Burke J, Melone A, Inglis A, Rageot D, Sele A, Cmiljanovic V, Cmiljanovic N, Bargsten K, Aher A, Akhmanova A, Diaz JF, Fabbro D, Zvelebil M, Williams R, Steinmetz M, Wymann M [2017] Deconvolution of Buparlisib's mechanism of action defines specific PI3K and tubulin inhibitors for therapeutic intervention. *Nat Commun* 8:14683.
- Prota AE, Bargsten K, Redondo-Horcajo M, Smith III AB, Yang C-PH, McDaid HM, Paterson I, Horwitz SB, Díaz JF, Steinmetz MO [2017] Structural basis of microtubule stabilization by discodermolide. *ChemBioChem* 18:905–909.
- Sáez-Calvo G, Sharma A, Balaguer F, Barasoain I, Rodriguez-Salarichs J, Olieric N, Muñoz-Hernández H, Berbis MA, Wendeborn S, Peñalva MA, Matesanz R, Canales A, Prota AE, Jiménez-Barbero J, Andreu JM, Lamberth C, Steinmetz MO, Díaz JF [2017] Triazolopyrimidines are microtubule-stabilizing agents that bind the vinca inhibitor site of tubulin. *Cell Chem Biol* 24:737–750.
- Sharma A, Sáez-Calvo G, Olieric N, Balaguer F, Barasoain I, Lamberth C, Díaz JF*, Steinmetz MO* (corresponding authors) [2017] Quinolin-6-Yloxyacetamides are microtubule destabilizing agents that bind to the colchicine site of tubulin. *Int J Mol Sci* 18:1336.
- Field JJ, Pera B, Estévez-Gallego J, Calvo E, Rodríguez-Salarichs J, Sáez-Calvo G, Zuvera D, Jordi M, Andreu JM, Prota AE, Méchon G, Miller JH, Altmann KH, Díaz J.F. [2018] Zampanolide binding to tubulin indicates crosstalk of taxane site with colchicine and nucleotide sites. *J Nat Prod* 81:494–505.
- Bueno O, Tobajas G, Quesada E, Estévez-Gallego J, Camarasa MJ, Díaz JF, Liekens S, Priego EM, Pérez-Pérez MJ [2018] Conformational mimetics of the α -methyl chalcone TUB091 binding tubulin: Design synthesis and antiproliferative activity. *Eur J Med Chem* 148:337–348.
- Bueno O, Estévez-Gallego J, Martins S, Prota AE, Gago F, Gómez Sanjuan A, Camarasa MJ, Barasoain I, Steinmetz, MO, Díaz JF, Pérez-Pérez MJ, Liekens S, Priego EM [2018] High-affinity ligands of the colchicine domain in tubulin based on a structure-guided design. *Sci Rep* 8:4242.
- Menchon G, Prota AE, Lucena-Agell D, Bucher P, Jansen R, Irschik H, Mueller R, Paterson I, Díaz JF, Altmann KH, Steinmetz MO [2018] A fluorescence anisotropy assay to discover and characterize ligands targeting the maytansine site of tubulin. *Nat Commun* 9:2016.

Patentes | Patents

- José Fernando Díaz, José Manuel Andreu y Mariano Redondo Horcajo. 28 Diciembre 2016 Licenciado a Pursolutions LLC 2017. "PREPARACION Y CONSERVACION DE TUBULINA PURIFICADA" SECRETO INDUSTRIAL 4577/2016.

Financiación | Funding

- COST Action number: CM1407. (2016-2019)
- BFU2016-75319-R Ministerio de Economía y Competitividad (2017-2019)
- CSIC 201620E051 (2016-2018)

Microtubule Stabilizing Agents

The development of new and better antitumourals is a field of outmost importance in the biomedical research. Our group works in the characterization of the pharmacological modulation of tubulin and actin, two proteins target of compounds with antitumoural activity, studying the interaction of the compounds with their target and their biological effects at biochemical, cellular and molecular level.

Actin- and tubulin-binding agents are a wide group of chemical compounds able to promote or inhibit the assembly of these proteins into microfilaments and microtubules, respectively. The correct regulation of the assembly of these filaments is fine-tuned and is crucial for different essential cellular functions (correct chromosome positioning and segregation during mitosis, cell trafficking of vesicles and/or organelles, cell migration and appropriate cell shape, among others). These functions are critical in different tumoral processes such as cell proliferation, metastasis and angiogenesis which make these filaments an optimal target for cancer chemotherapy. Moreover, due to their crucial role in essential tumor processes it is not possible to generate mechanisms of resistance bypassing cells' signaling pathways, in contrast to what happens with chemotherapy based on kinase inhibitors.

During this biannual period 2017-2018, the activity of this group has focused in the structural determination of ligand-tubulin complexes, the characterization of new pharmacological binding

sites within the protein and in the study of structure-function relationships for different families of drugs.

Several milestones have to be emphasized:

- Development of a High-Throughput Screening system for ligands of the Maytansine binding site. Menchon G. et al [2018] *Nature Communications* 9:2016.
- Description of a new interfacial binding site for ligands in the tubulin that, in contrast to the other interfacial sites previously described (Vinblastine, Eribulin and Maytansine), promotes tubulin assembly into microtubules. Sáez-Calvo G et al [2017] *Cell Chemical Biology* 24:737–750.
- Discovery of the first evidence for structural communication between the nucleotide- and taxane-binding sites within tubulin. Field J.J. et al. [2018] *J. Nat. Prod.* 81:494–505.



Francisco Javier Cañada Vicinay

Profesor de Investigación
jcanada@cib.csic.es



PhD, 1985 • Universidad del País Vasco
Postdoctoral • Centro de Biología Molecular, CSIC 1985-87
Harvard Medical School (EEUU), 1988-90
Instituto Química Orgánica General, CSIC, 1991
Científico Titular, 1992 • IQOG, CSIC
Investigador Científico, 2004 • CIB, CSIC
Profesor de Investigación, 2009 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

M.ª Carmen Fernández Alonso	Diego García Puentes
Ioanna Kalograiaiki	Javier Sastre Martínez
Beatriz Fernández de Toro Ronda	Eva Calviño
Amaia Pereda	



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/nmr-and-molecular-recognition>

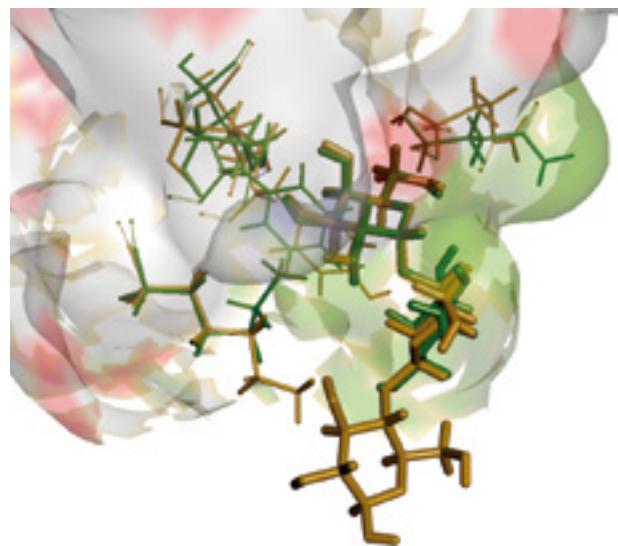


Figure 2

Model of the molecular recognition of the lipopolysaccharide of *Haemophilus influenzae* through its branches terminated in galactose by viscumin, selective lectin towards galactose residues obtained from *Viscum album* (mistletoe). (Kalograiaiki I, et al. [2018] Scientific Reports 8:16292).

RMN y Reconocimiento Molecular

El grupo de resonancia magnética nuclear y reconocimiento molecular está interesado, en general, en el análisis de procesos de reconocimiento molecular en sistemas biológicos con especial énfasis en el estudio de interacciones carbohidrato-receptor aplicando y desarrollando metodologías basadas en la RMN con el objetivo de caracterizar la estructura y dinámica de proteínas, carbohidratos y sus complejos, así como otras biomoléculas en disolución.

El grupo de RMN y reconocimiento molecular se centra en el estudio de los procesos de reconocimiento molecular de carbohidratos aplicando y desarrollando metodologías de resonancia magnética nuclear con una estrategia colaborativa con otros grupos, tanto dentro del CIB como nacionales e internacionales, que permite un abordaje multidisciplinar incluyendo síntesis orgánica, biología molecular y química computacional. Se han desarrollado estudios en sistemas modelo (ácido nucleico-carbohidrato) o biológicos de diversos orígenes: vírico (adenovirus, gripe, fagos), vegetal (lectinas), bacteriano (*Haemophilus*, *Listeria*), fúngico (enzimas glicosidasas) y animal (receptores y lectinas del sistema inmunológico). En este contexto, una colaboración reciente del grupo con otros del CIB dentro de la red sobre el sistema del complemento de la Comunidad de Madrid, se enfoca en el estudio del reconocimiento de carbohidratos por el factor H. Por otro lado, se mantiene una colaboración con la empresa Inmunotek con el objetivo de caracterizar carbohidratos derivados de células tumorales y desarrollar vacunas antineoplásicas o antialérgicas que incorporen carbohidratos. En todos estos estudios se han aplicado estrategias de RMN basadas tanto en la observación del ligando (transferencia de saturación, relajación, efectos paramagnéticos) como en la observación del receptor (perturbación de desplazamiento químico y difusión translacional). Al mismo tiempo, en el grupo se siguen desarrollando nuevas estrategias de RMN usando flúor o mediante la introducción de efectos paramagnéticos por el etiquetado químico con lantánidos. Estas metodologías de RMN se han extendido al estudio de otros sistemas en colaboración con otros grupos del CIB (vimentina, proteína de unión de DNA, enzimas peroxidasa, colinesterasas y sensor de calcio neuronal). El grupo mantiene una estrecha colaboración con el Prof. Jiménez Barbero, del CICbioGUNE (Bilbao), que lideró el grupo en el CIB hasta 2014.

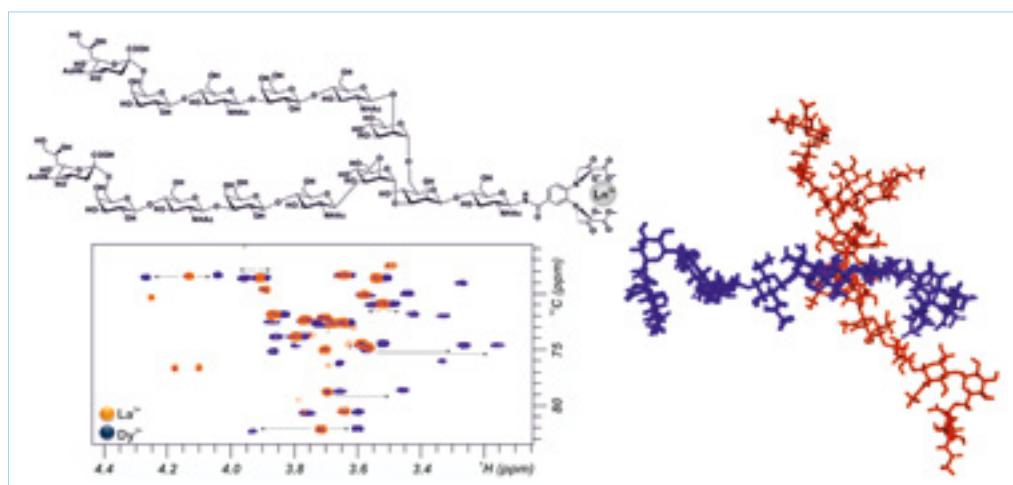


Figure 1

3-D structure of sialylated branched N-glycan recognized by hemagglutinin from human strains of influenza virus. The paramagnetic lanthanide tag differentiates the pseudosymmetric branches, otherwise indistinguishable. This allowed to obtain experimental heteronuclear ^1H - ^{15}N correlation NMR data and model its structure (Fernández de Toro B, et al. [2018] Angew Chem Inter Ed 57:15051).

NMR and Molecular Recognition

The group of nuclear magnetic resonance and molecular recognition is interested, from a general point of view, in the analysis of molecular recognition processes in biological systems with special emphasis on the study of carbohydrate-receptor interactions applying and developing methodologies based on NMR in order to characterize the structure and dynamics of proteins, carbohydrates and their complexes as well as other biomolecules in solution.

The NMR and molecular recognition group focuses on the study of molecular recognition of carbohydrates by applying and developing nuclear magnetic resonance methodologies with a collaborative strategy with other groups, within the CIB and national and international, which allows a multidisciplinary approach including organic synthesis, molecular biology and computational chemistry. Studies have been carried out in model systems (nucleic acid-carbohydrate) or biological systems of various origins: viral (adenovirus, influenza, phages), vegetal (lectins), bacterial (*Haemophilus*, *Listeria*), fungal (glycosidase enzymes)

and animal (receptors and lectins of the immune system). In this context, a recent collaboration of the group with others at CIB within the network on the complement system of the Community of Madrid, is focused on the study of the recognition of carbohydrates by the factor H. On the other hand, the group also maintains a collaboration with the company Inmunotek with the objective of characterizing carbohydrates derived from tumor cells and develop antineoplastic or antiallergic vaccines that incorporate carbohydrates. In all these studies, NMR strategies have been applied based on ligand observation (saturation transfer, relaxation disturbance,

paramagnetic effects) and receptor observation (translational diffusion and chemical shift perturbations). At the same time, the group continues developing new NMR strategies using fluorine or by introducing paramagnetic effects by chemical labeling with lanthanides. These NMR methodologies have been extended to the study of other systems in collaboration with other groups of the CIB (eg. vimentin, protein of DNA binding, peroxidase enzymes, cholinesterase and neuronal calcium sensor). The group maintains a close collaboration with Prof. Jiménez Barbero, from CICbioGUNE (Bilbao), who led the group at CIB until 2014.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Kalograiaki I, Euba B, Fernández-Alonso MdC, Proverbio D, St. Geme JW, Aastrup T, Garmendia J, Cañada FJ, Solís D [2018] Differential recognition of *Haemophilus influenzae* whole bacterial cells and isolated lipooligosaccharides by galactose-specific lectins. *Sci Rep* 8:16292.
- Fernández de Toro B, Peng W, Thompson AJ, Domínguez G, Cañada FJ, Pérez-Castells J, Paulson JC, Jiménez-Barbero J, Canales Á [2018] Avenues to characterize the interactions of extended N-Glycans with proteins by NMR spectroscopy: The influenza hemagglutinin case. *Angew Chem Inter Ed* 57:15051-15055.
- Chierrito TPC, Pedersoli-Mantoani S, Roca C, Sebastián-Pérez V, Martínez-González L, Pérez DI, Pérez C, Canales A, Cañada FJ, Campillo NE, Carvalho I, Martínez A [2018] Chameleon-like behavior of indolylpiperidines in complex with cholinesterases targets: Potent butyrylcholinesterase inhibitors. *Eur J Med Chem* 145:431-444.
- Carro J, Fernández-Fueyo E, Fernández-Alonso MdC, Canada J, Ullrich R, Hofrichter M, Alcalde M, Ferreira P, Martínez AT [2018] Self-sustained enzymatic cascade for the production of 2,5-furan dicarboxylic acid from 5-methoxymethylfurfural. *Biotechnol Biofuels* 11:86.
- Unione L, Alcalá M, Echeverría B, Serna S, Ardá A, Franconetti A, Cañada FJ, Diercks T, Reichardt N, Jiménez-Barbero J [2017] Fluoroacetamide moieties as NMR spectroscopy probes for the molecular recognition of GlcNAc-containing sugars: Modulation of the CH-π stacking interactions by different fluorination patterns. *Chemistry-E* 23:3957-3965.
- Soria I, Álvarez J, Manzano AI, López-Relano J, Cases B, Mas-Fontao A, Cañada FJ, Fernández-Caldas E, Casanovas M, Jiménez-Barbero J, Palomares O, Viñals-Flores LM, Subiza JL [2017] Mite allergoids coupled to nonoxidized mannan from *Saccharomyces cerevisiae* efficiently target canine dendritic cells for novel allergy immunotherapy in veterinary medicine. *Vet Immunol Immunopath* 190:65-72.
- Mónico A, Martínez-Senra E, Cañada FJ, Zorrilla S, Pérez-Sala D [2017] Drawbacks of dialysis procedures for removal of EDTA. *Plos One* 12(1):e0169843.
- Gimeno A, Reichardt N-C, Cañada FJ, Perkams L, Unverzagt C, Jiménez-Barbero J, Ardá A [2017] NMR and molecular recognition of N-Glycans: Remote modifications of the saccharide chain modulate binding features. *ACS Chem Biol* 12:1104-1112.
- Canales A, Boos I, Perkams L, Karst L, Luber T, Karagiannis T, Domínguez G, Cañada FJ, Pérez-Castells J, Haussinger D, Unverzagt C, Jiménez-Barbero J [2017] Breaking the limits in analyzing carbohydrate recognition by NMR spectroscopy: Resolving branch-selective interaction of a tetra-antennary N-glycan with lectins. *Angew Chem Inter Ed* 56:14987-14991.
- Roca C, Martínez-González L, Daniel-Mozo M, Sastre J, Infantes L, Mansilla A, Chaves-Sanjuan A, González-Rubio JM, Gil C, Cañada FJ, Martínez A, Sánchez-Barrena MJ, Campillo NE [2018] Deciphering the inhibition of the neuronal calcium sensor 1 and the guanine exchange factor Ric8a with a small phenothiazine molecule for the rational generation of therapeutic synapse function regulators. *J Med Chem* 61:5910-5921.

Financiación | Funding

- CTQ2015-64597-C2-2-P (MINECO)
- RTC-2015-3805-1 (MINECO)
- S2017/BMD-3673 (CAM)
- Contrato de Apoyo Técnico (Inmunotek S.L.)



M.ª Dolores Pérez-Sala Gozalo

 Investigadora Científica
 dperezsala@cib.csic.es

MD, 1983 • Universidad de Extremadura
 PhD, 1987 • Universidad Complutense de Madrid
 Postdoctoral • Harvard University, Boston, USA
 Científica Titular, 2000
 Responsable de Grupo CIB, 2003
 Investigadora Científica, 2006 • CIB, CSIC


<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/posttranslational-modification-proteins>
María de los Ángeles Pajares

 Tarancón
 Investigadora Científica
 mapajares@cib.csic.es

Otros miembros | Other members

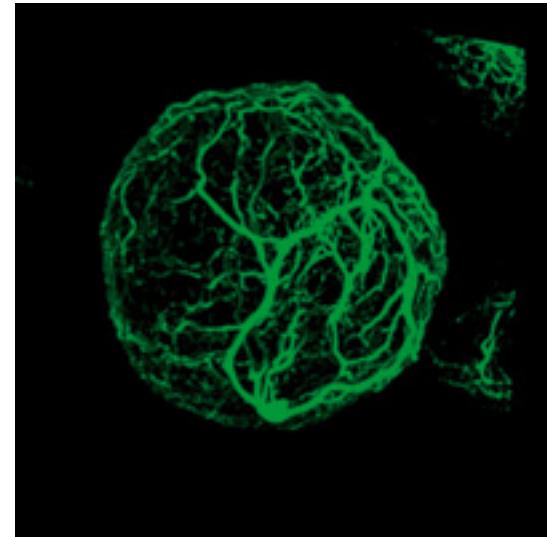
 Francisco J. Sánchez Gómez
 Juan M. González Morena
 Álvaro Viedma Poyatos

 Sofia Duarte
 Andreia Mónico
 M.ª Jesús Carrasco Soto

Modificación Postraduccional de Proteínas

La modificación postraduccional de proteínas es un mecanismo esencial para la regulación de su actividad por mediadores endógenos, especies reactivas y fármacos. Nuestro grupo aborda la caracterización estructural y funcional de diversos tipos de modificación postraduccional, la identificación de las proteínas y los residuos modificados, sus repercusiones fisiopatológicas y su papel en el mecanismo de acción y de los efectos adversos de los fármacos.

La modificación postraduccional de proteínas es un proceso esencial para la generación de formas proteicas estructural y funcionalmente diversas (proteoformas). Las modificaciones no enzimáticas, como las oxidaciones o la adición de compuestos electrófilos, suponen importantes mecanismos de regulación de la actividad de las proteínas. Los residuos de cisteína son dianas clave de estas modificaciones. Las proteínas de filamentos intermedios, vimentina y proteína ácida fibrilar de la glía (GFAP) poseen una única cisteína que es necesaria para la organización de estos componentes del citoesqueleto y para su remodelación en respuesta a estrés. Modificaciones de esta cisteína, por ejemplo por adición de lípidos electrófilos (lipoxidación), inducen cambios morfológicos de los filamentos que dependen de la estructura resultante. El estudio de las modificaciones de proteínas puede contribuir a desvelar mecanismos fisiopatológicos, mejorar el diseño de fármacos y caracterizar procesos celulares esenciales. Recientemente, hemos observado que los filamentos de vimentina se encuentran en estrecha asociación con la corteza celular en mitosis y la alteración de esta interacción produce anomalías


Figure 1

Vimentin filaments in a dividing cell.

<https://www.biorxiv.org/content/early/2018/09/30/356642>

mitóticas. La modificación de proteínas también puede provocar su agregación y aumentar su inmunogenicidad. La formación de aductos de fármacos con proteínas se considera un proceso clave en el desarrollo de alergia a medicamentos. Hemos observado que la amoxicilina modifica proteínas celulares que pueden ser secretadas en exosomas, estructuras que podrían contribuir a la respuesta alérgica. Estos hallazgos proporcionan nuevas perspectivas para la comprensión y el diagnóstico de la alergia a fármacos. Actualmente estamos profundizando en los mecanismos de estas modificaciones de proteínas, sus repercusiones en la homeostasis celular y sus implicaciones fisiopatológicas. Con ello pretendemos avanzar en el conocimiento de procesos moleculares básicos con posibles aplicaciones biomédicas.



Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Mónico A, Duarte S, Pajares MA, Pérez-Sala D [2019] Vimentin disruption by lipoxidation and electrophiles: role of the cysteine residue and filament dynamics. *Redox Biol.* doi: 10.1016/j.redox.2019.101098.
- Duarte S, Viedma-Poyatos A, Navarro-Carrasco E, Martínez AE, Pajares MA, Pérez-Sala D [2018] Vimentin filaments interact with the mitotic cortex allowing normal cell division. *BioRxiv*. DOI: <https://doi.org/10.1101/356642>.
- García-Martín E, Sánchez-Gómez FJ, Amo G, García Menaya J, Cordobés C, Ayuso P, Plaza Serón MC, Blanca M, Campo P, Esguevillas G, Pajares MA, G Agúndez JA, Pérez-Sala D [2018] Asthma and allergic rhinitis associate with the rs2229542 variant that induces a p.Lys90Glu mutation and compromises AKR1B1 protein levels. *Hum Mut* 39:1081-1091.
- Viedma-Poyatos A, de Pablo Y, Pekny M, Pérez-Sala D [2018] The cysteine residue of glial fibrillary acidic protein is a critical target for

- lipoxidation and required for efficient network organization. *Free Rad Biol Med.* 120:380-394.
- Garrido F, Pacheco M, Vargas-Martínez R, Velasco-García R, Jorge I, Serrano H, Portillo F, Vázquez J, Pajares MA [2018] Identification of hepatic protein-protein interaction targets for betaine homocysteine S-methyltransferase. *PLoS ONE* 13, e0199472.
 - Pérez-Sala D, Martínez-Costa OH, Aragón JJ, Pajares MA [2018] Alterations in nucleocytoplasmic localization of the methionine cycle induced by oxidative stress during liver disease. pp 21-42. In: *The Liver: Oxidative stress and dietary antioxidants* (Patel, V.B., Rajendram, R., Preedy, V.R., eds.) Academic Press doi: 10.1016/B978-0-12-803951-9.00003-3
 - Pajares MA, Pérez-Sala D [2018] Mammalian sulfur amino acid metabolism: a nexus between redox regulation, nutrition, epigenetics and detoxification. *Antioxid Redox Signal* 29:408-452.

- Pérez-Miguelanz J, Vallecillo N, Garrido F, Reytor E, Pérez-Sala D, Pajares MA [2017] Betaine homocysteine S-methyltransferase emerges as a new player of the nuclear methionine cycle. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 1864:1165-1182.
- Mónico A, Martínez-Senra E, Cañada FJ, Zorrilla S, Pérez-Sala D [2017] Drawbacks of dialysis procedures for removal of EDTA. *PLoS ONE* 12(1):e0169843.
- Sánchez-Gómez FJ, González-Moreno J, Vida Y, Pérez-Inestrosa E, Blanca M, Torres MJ, Pérez-Sala D [2017] Amoxicillin hapteneates intracellular proteins that can be transported in exosomes to target cells. *Allergy* 72:385-396.

Financiación | Funding

- EU Project 675132 (H2020-MSCA-ITN-2015), Masstrplan
- SAF2015-68590R (Mineco/FEDER)
- EU COST Action TD1304 "ZincNet"
- EU COST Action CA15214 "EuroCellNet"
- RETIC RIRAAF RD16/0006/0021 ISCIII/FEDER

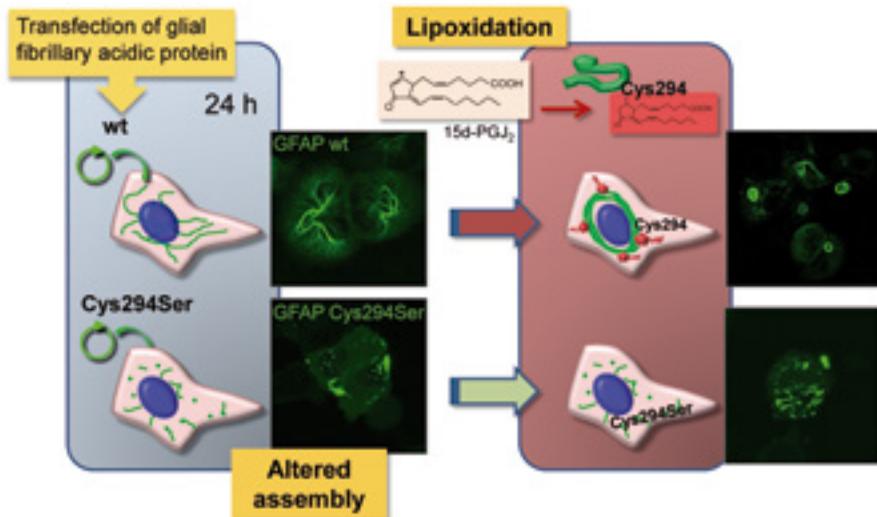


Figure 2

The single cysteine residue of the intermediate filament protein GFAP is important for optimal network formation and its remodeling in response to electrophilic agents, such as reactive lipids, i.e.: 15-deoxy-PGJ₂.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0891584918301722?via%3Dihub>

Posttranslational Modification of Proteins

Protein posttranslational modification is an essential mechanism for the regulation of protein activity by endogenous mediators, reactive species and therapeutic agents. Our work aims at the structural and functional characterization of novel types of posttranslational modifications, the identification of the targeted proteins and residues, their pathophysiological consequences and their role in the beneficial and adverse effects of drugs.

The posttranslational modification of proteins is a key process for the generation of structurally and functionally diverse protein species (proteoforms). Among posttranslational modifications, non-enzymatic oxidations and/or addition of electrophilic species are arising as widespread mechanisms for modulation of protein function. Cysteine residues are critical targets of these modifications. In particular, we have observed that the single cysteine residue of the intermediate filament protein glial fibrillary acidic protein (GFAP) and vimentin is required for network organization and response to stress. Moreover, we have found that modifications of these residues, for

instance by oxidation or electrophilic lipid addition (lipoxidation), can bring about structure-dependent changes in filament morphology. Exploring protein modifications can provide insight into pathophysiological mechanisms, pave the way for drug discovery and unveil novel protein functions in essential cellular processes. Recently, we have unveiled the intimate association of vimentin filaments with the cellular cortex during mitosis, an interaction that, if impaired, results in mitotic abnormalities.

Protein modifications may also elicit protein aggregation and increase immunogenicity. In particular, drug-

protein adduct formation is considered a key process for development of drug allergy. We have recently identified cellular proteins that can be covalently modified by amoxicillin. These proteins are secreted in exosomes, thus providing structures which could contribute to the activation of the immune system. These findings offer novel views for the understanding of drug allergy. We are currently studying the mechanisms of these various modifications, their consequences for cellular homeostasis and their pathophysiological implications. Thus, we aim to obtain a deeper knowledge of basic molecular and cellular processes ultimately leading to novel biomedical applications.

M.ª Cristina Vega Fernández

 Científica Titular
 cvega@cib.csc.es

Científica Titular, 2008 • CIB, CSIC
 Investigadora RyC, 2004-2008 • IBMB, CSIC
 Postdoctoral, 2001-2004 • EMBL Outstation
 (Hamburg, DE)
 Postdoctoral, 1997-2000 • EMBL (Heidelberg, DE)
 PhD, 1997 • UPC,CID-CSIC


Otros miembros | Other members

 Fabrizio Martino
 Sara Gómez Quevedo

 Eduardo de la Usada Molinero
 Sergio Navas Yuste

<http://cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/structural-biology-host-pathogen-interactions>

Biología Estructural de las Interacciones Huésped-Patógeno

Nuestro grupo estudia las interacciones que median la comunicación del huésped con bacterias comensales/patógenas y su papel en la biología de las infecciones, incluyendo los mecanismos de inmunoevasión del sistema inmune innato y del complemento. La combinación de métodos de producción de proteínas, bioquímicos, biofísicos y de difracción de rayos-X nos permite caracterizar la estructura de complejos proteicos y sus interacciones. Adicionalmente, son objeto de estudio enzimas de interés biotecnológico y biomédico.

Interacciones Huésped-Patógeno y el Sistema Inmune

El sistema del complemento de la inmunidad innata es una de las primeras barreras de defensa frente a los patógenos, marcándolos para su eliminación. Los patógenos han evolucionado sofisticados mecanismos de inmunoevasión para escapar a la vigilancia del complemento. En este contexto, la biología estructural juega un papel central en el avance de nuestra comprensión de la comunicación molecular entre el huésped y las bacterias, la estructura-función de los factores de inmunoevasión, y su aplicación en la búsqueda de nuevos agentes antimicrobianos

y anticuerpos terapéuticos. El desarrollo y la producción de agentes terapéuticos han originado la fundación de la spin-off del CSIC, **Avance**, cuyo objetivo es el desarrollo de medicinas innovadoras basadas en anticuerpos para el tratamiento de enfermedades inmunes, inflamatorias y neurodegenerativas. Adicionalmente, son también objeto de estudio enzimas de interés biotecnológico y biomédico relacionadas con el metabolismo bacteriano de carbohidratos, nucleósidos y aminoácidos. El análisis estructural de estas enzimas proporciona modelos precisos e información mechanística para el diseño racional de nuevas enzimas, inhibidores potentes y su explotación industrial.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

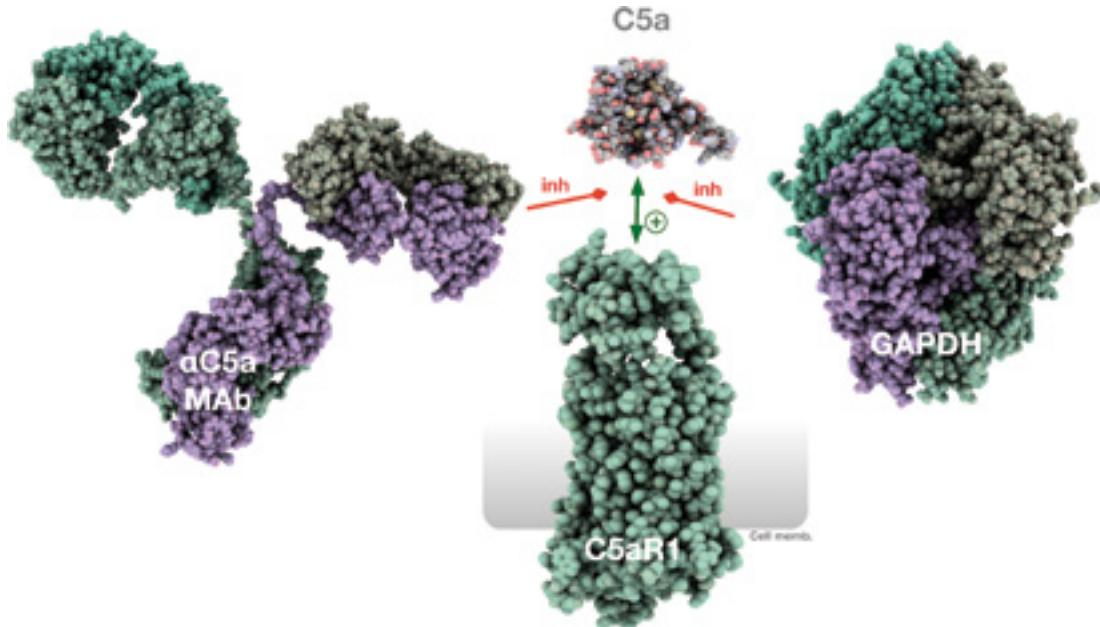
- Regueiro JR, Fernández FJ, Vega MC [2019]. Complement in leucocyte development and function. *Seminars Cell Dev Biol* 85: 84-85.
- Fernández FJ, Gómez S, Vega MC [2019]. Pathogens' toolbox to manipulate human complement. *Seminars Cell Dev Biol* 85: 98-109.
- Herrera-Morande A, Castro-Fernández V, Merino F, Ramírez-Sarmiento CA, Fernández FJ, Vega MC*, Guixé V* [2018] Protein topology determines substrate-binding mechanism in homologous enzymes. *Biochim Biophys Acta* 1862:2869-2878.
- Peña-Soler E, Aranda J, López-Estepa M, Gómez S, Garces F, Coll M, Fernández FJ, Tuñón I, Vega MC [2017] Insights into the inhibited form of the redox-sensitive SuffE-like sulfur acceptor CsdE. *PLoS ONE* 12:e0186286.
- Fernández FJ, Gómez S, Navas-Yuste S, López-Estepa M, Vega MC [2017] Protein-tRNA agarose gel retardation assays for the analysis of the N6-threonylcarbamoyladenosine TcdA function. *J Vis Exp* 124:e55638.
- Querol-García J, Fernández FJ, Marin AV, Gómez S, Fullà D, Melchor-Tafur C, Franco-

Hidalgo V, Albertí S, Juanhuix J, Rodríguez de Córdoba S, Regueiro JR, Vega MC [2017] Crystal structure of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase from the Gram-positive bacterial pathogen *A. vaginalis*, an immuno-evasive factor that interacts with the human CSa anaphylatoxin. *Front Microbiol* 8:541.

Patentes | Patents

- M. Cristina Vega Fernández, Francisco J. Fernández Pérez e Imre Berger. 6 agosto 2016 "Tools for multiprotein complex expression in *Pichia pastoris*". EP15179986.3.



**Figure 1**

Inhibition of the C5a-C5aR1 axis by means of therapeutic antibodies (α C5a MAb) or immunoevasion factors (GAPDH from bacterial pathogens).

Structural Biology of Host-Pathogen Interactions

Our group studies the interactions that mediate host communication with commensal / pathogenic bacteria and their role in the biology of infections, including the immunoevasion mechanisms from the innate and complement immune system. The combination of protein production, biochemical, biophysical and X-ray diffraction methods allows us to characterize the structure of protein complexes and their interactions. Additionally, we are also studying enzymes of interest in biotechnology and biomedicine.

Host-pathogen interactions and the immune system

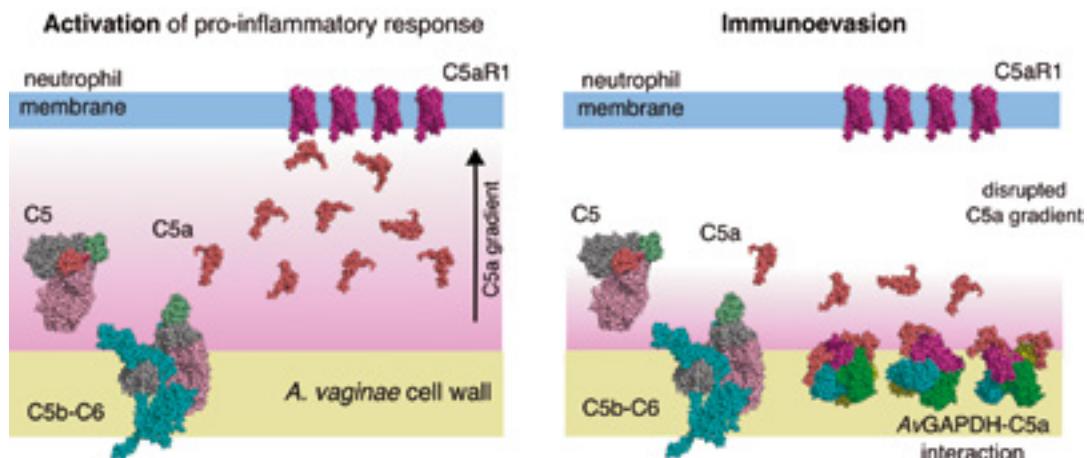
The complement system of innate immunity is one of the first defense barriers against pathogens, marking them for elimination. Pathogens have evolved sophisticated mechanisms to escape complement surveillance, or immunoevasion. In this context, structural biology plays a central role in advancing our understanding of the molecular communication between host and bacteria, the structure-function

of immunoevasion factors, and in the search for new antimicrobials and therapeutic antibodies. The development and production of biologics that inhibit and interfere with the complement system has led to the foundation of the CSIC spin-off company, Abvance, to develop innovative medicines based on antibodies for the treatment of immune, inflammatory and neurodegenerative diseases. We also study enzymes of relevance in biotechnology and biomedicine involved in the bacterial metabolism of carbohydrates, nucleosides,

and amino acids. The structural analysis of related enzymes provides accurate models and mechanical information for the rational design of new enzymes, potent inhibitors and their industrial exploitation.

Financiación | Funding

- S2017/BMD-3673 (Comunidad de Madrid), 2018-2021
- SAF2016-81876-REDT (MINECO) 2017-2019
- SAF2014-59993-JIN (MINECO) 2016-2018
- SAF2015-72961-EXP (MINECO) 2017-2018
- CTQ2015-66206-C2-2-R (MINECO) 2016-2018
- 20160E064-PIE (CSIC) 2016-2019

**Figure 2**

Model of C5a-C5aR1 inhibition by pathogenic bacterial GAPDH (*A. vaginalis*) by sequestering C5a and interfering with the proinflammatory signaling cascade.

Antonio Romero Garrido

Profesor de Investigación
romero@cib.csic.es

PhD, 1987 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1988-1990 • Université de Rennes I (France)
Max-Planck Contract, 1991-1993 • Max-Planck Institut für Biochemie (Munich, Germany)
Científico Titular, 1990
Jefe de grupo, 1997
Profesor de Investigación, 2008 • CIB, CSIC



Otros miembros | Other members

Elena Santillana Heras
Francisco Javier Medrano Martín

Federico Martín Ruiz
Irene Davó Siguero



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/structural-biology-proteins>

Biología Estructural de Proteínas

Las dos líneas de investigación del grupo se centran en:
(i) comprender las bases moleculares de las infecciones causadas por *Acinetobacter baumannii*, un patógeno multirresistente, y (ii) el mecanismo de reconocimiento de carbohidratos por lectinas, que se encuentran involucradas en algunas patologías como en cáncer. Para ello empleamos la cristalográfica de rayos X junto con otras técnicas biofísicas y bioquímicas para lograr nuestros objetivos.

Una de nuestras líneas de investigación está relacionada con la resistencia antibiótica y la patogénesis bacteriana. La aparición y proliferación de cepas multirresistentes (MDR o superbacterias) en el entorno hospitalario se considera un desafío en alza para la salud en este siglo. Sin embargo, el descubrimiento de nuevos antibióticos se ha reducido considerablemente en los últimos años. Esto hace que se estén desarrollando nuevas vías a tratamientos innovadores. Una de éstas es inhibir los factores de virulencia bacteriana. Sin embargo, a pesar de los avances más recientes para caracterizar los componentes del sistema de secreción VI (T6SS), muchas preguntas siguen aún sin respuesta: ¿cómo son reclutados los efectores y cómo se activa toda la maquinaria del sistema? La respuesta a esta

pregunta podría ser determinante para luchar contra las enfermedades infecciosas. Debido a las dificultades inherentes del sistema, hemos diseñado una estrategia para poder caracterizar los componentes individuales y, posteriormente, abordar mediante crio microscopía electrónica el estudio de los diferentes complejos. En relación a este proyecto, hemos podido resolver las estructuras 3D de dos componentes de la aguja contráctil Hcp (TssD) de *A. baumannii* y de VgrG1 de *P. aeruginosa*.

La segunda línea de investigación está relacionada con galectinas y cáncer. Las galectinas se sobreexpresan con frecuencia en varios tipos de tumores, particularmente en tipos celulares que normalmente no expresan galectinas, con una relación directa entre los niveles de expresión y la agresividad de dichos tumores. Aunque los efectos biológicos de las galectinas relacionadas con cáncer se han investigado durante mucho tiempo, aún no se ha podido establecer una relación directa entre estructura y función. Este campo ha sido de gran interés para el grupo desde sus inicios, con resultados muy recientes en el diseño por ingeniería genética de galectinas modulares (*Angew Chem*, 2017) y en obtener la primera fotografía de la estructura de un dominio flexible de la región N-terminal de la galectina 3 (*Sci Rep*, 2018).

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Fernández-Fueyo E, Davó-Siguero I, Almendral D, Linde D, Baratto MC, Pogni R, Romero A, Guallar V, Martínez AT [2018] Description of a non-canonical Mn(II)-oxidation site in peroxidases. *ACS Catalysis* 8:8386-8395.
- Flores-Ibarra A, Vértesy S, Medrano FJ, Gabius H-J, Romero, A [2018] Crystallization of a human galectin-3 variant with two ordered segments in the shortened N-terminal tail. *Sci Rep* 8:9835.
- García-Caballero G, Manning JC, Ludwig A-K, Ruiz FM, Romero A, Kaltner H, Gabius H-J [2018] Members of the Galectin Network with deviations from the canonical sequence signature. 1. Galectin-Related Inter-Fiber Protein (GRIFIN). *Trends GlycoSci Glyc* 30:SE1-SE9.
- Manning JC, García-Caballero G, Ruiz FM, Romero A, Kaltner H, Gabius H-J [2018] Members of the Galectin Network with deviations from the canonical sequence signature. 2. Galectin-Related Protein (GRP) *Trends GlycoSci Glyc* 30: SE11-SE20.
- Ruiz FM, Gilles U, Ludwig A-K, Sehad C, Shiao T-C, García-Caballero G, Kaltner H, Lindner I, Roy R, Reusch D, Romero A*, Gabius H-J [2018] Chicken GRIFIN: Structural characterization in crystals and in solution. *Biochimie* 146:127-138.
- Kopitz J, Xiao Q, Ludwig A-K, Romero A, Michalak M, Sherman SE, Zhou X, Dazen C, Vértesy S, Kaltner H, Klein ML, Gabius H-J, Percec V [2017] Reaction of a programmable glycan presentation of glycodendrimersomes and cells with engineered human lectins to show the sugar functionality of the cell surface. *Angew Chem Int Ed Engl* 56: 14677-14681.
- Manning JC, Romero A*, Habermann FA, García-Caballero G, Kaltner H, Gabius H-J [2017] Lectins: a primer for histochemists and cell biologists. *Histochem Cell Biol* 147:199-222.



Structural Biology of Proteins

Our research interests focus on two major research lines: (i) the molecular basis of *Acinetobacter baumannii* infection, a life-threatening pathogen, and (ii) the mechanism of carbohydrate recognition by lectins, which have been shown to be involved in cancer development. For this, we use X-ray crystallography in conjunction with other biophysical and biochemical techniques to accomplish our goal.

One of our research areas is associated to antibiotic resistance and bacterial pathogenesis. The appearance and proliferation of multidrug resistant bacteria (MDR or superbugs) in the hospital environment, especially by opportunistic nosocomial pathogens, is considered a major health security challenge for this century. Unfortunately, the rate of discovery of new and effective antibiotic compounds has declined during the last years. Consequently, new research lines about innovative treatments have begun to be considered. One of the alternative options is to inhibit bacterial virulence factors. However, despite recent advances in the characterization of components of the type VI secretion system (T6SS), many questions remain to be answered: how effectors are recruited and how the T6SS is activated to trigger bacterial invasion? A response to this growing threat will be an essential tool in the battle against infectious diseases. Due to the difficulties inherent to this system, we have designed a strategy to address first each individual component and subsequent carry out cryo electron microscopic studies of different complexes. In regard to the current project, we were able to solve the structures of two components of the contractile needle-like cell-puncturing, Hcp (TssD) from *A. baumannii* and VgrG1 from *P. aeruginosa*.

Our second goal is related with galectins and cancer. Galectins are frequently overexpressed in cancerous cells and cancer-associated stromal cells, particularly in those cell types that do not normally express the specific galectins. The biological effects of galectins linked to tumours have been investigated for a long time but no structural relationships have been inferred up to now. This has been a major interest in the group since the beginning, with recent landmark results on engineered modular galectins (Angew Chem, 2017) and on the first crystallographic picture of the N-terminal flexible domain of galectin-3 (Sci Rep, 2018).

Financiación | Funding

- BFU2016-77835-R (MINECO)

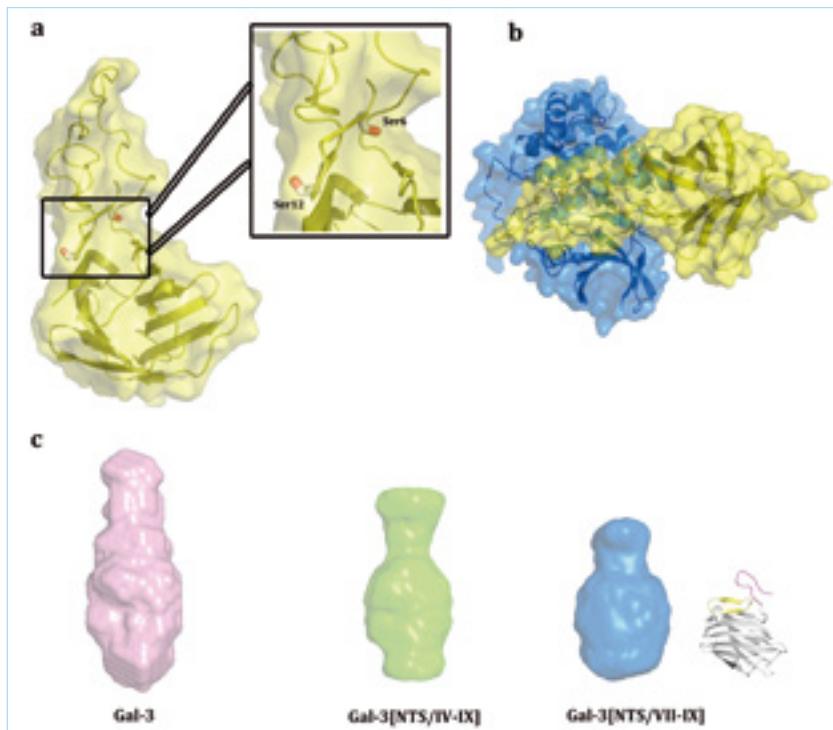


Figure 1

(a) Serine phosphorylation sites at the Gal-3 [NTS/VII-IX] structure. Ser6 and Ser12 are easily accessible in the pocket. (b) Docking of casein kinase I (CK1) onto the structure of Gal-3[NTS/VII-IX]. (c) SAXS ab initio models for Gal-3 and two truncated variants. A comparison between the calculated model and the crystallographic structure of Gal-3[NTS/VII-IX] is given on the right side of panel c (Sci Rep, 2018).

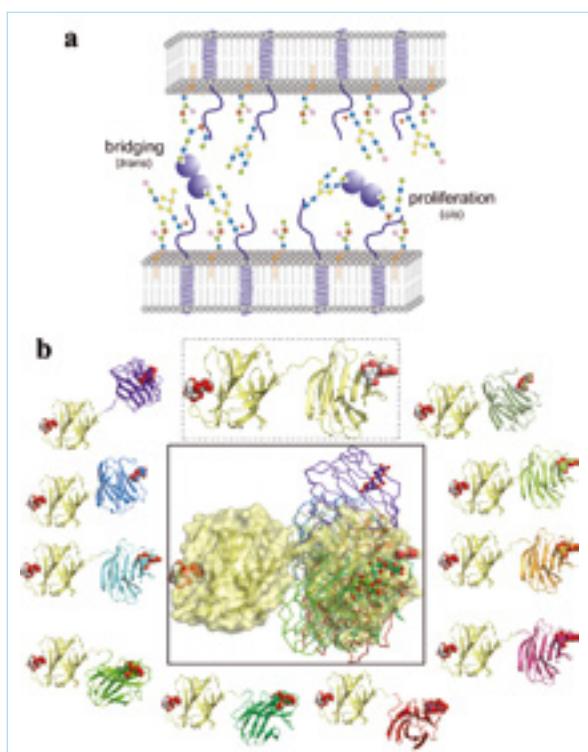


Figure 2

(a) Two modes of cross-linking activity of homodimeric Galectin 1. (b) Molecular dynamics of the Gal1-GG-Gal1 dimer. The initial model is shown inside the dashed line box and the lowest energy conformers around the figure. The middle box shows a superposition of all the conformers (Angew Chem, 2018).

Carlos Fernández Tornero

Investigador Científico
cftornero@cib.csic.es



Licenciado en Bioquímica, 1997 • Universidad de Granada
 Premio Nacional de Licenciatura
 Doctor en Biología Molecular, 2002 • Universidad Autónoma de Madrid
 Premio Juan Abelló Pascual (Real Academia Doctores)
 Premio Josep Tormo
 Postdoctoral, 2002 • EMBL-Grenoble (Francia)
 Científico de Plantilla, 2007 • EMBL-Heidelberg (Alemania)
 Científico Titular, 2009 • CIB, CSIC
 Investigador Científico, 2017 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Marta Sanz Murillo
 Srđa Drakulic



<http://cib.csic.es/research/chemical-and-physical-biology/structure-macromolecular-assemblies>

Estructura de Ensamblados Macromoleculares

Nuestro objetivo es comprender la relación entre la estructura de las macromoléculas y el desarrollo de enfermedades. Para ello empleamos la criomicroscopía electrónica (cryo-EM) y la cristalografía de rayos X, combinadas con otras técnicas biofísicas y bioquímicas. Los estudios estructurales permiten comprender cómo funcionan las proteínas y sus complejos, y sirven de base para desarrollar aplicaciones farmacológicas.

La transferencia de la información genética codificada en el ADN es el principal determinante de la expresión génica. Las alteraciones en este proceso tienen un fuerte impacto en la célula y se relacionan con diversas enfermedades. Las ARN polimerasas (Pol) transcriben la información genética del ADN al ARN, catalizando

la adición de nucleótidos complementarios a la cadena molde del ADN. Los eucariotas requieren tres Pol diferentes, cada una de las cuales transcribe un conjunto concreto de genes. Nuestro grupo ha contribuido a la caracterización estructural y bioquímica de estas enzimas y sus factores reguladores. Durante 2017-2018, hemos avanzado en dos líneas de investigación principales.

Regulación de la transcripción de Pol I. Fuimos pioneros en la obtención de la estructura de rayos X de la Pol I, una enzima de 14 subunidades implicada en la síntesis del ARN ribosómico [Nature, 2013]. Ahora hemos complementado este estudio con las estructuras de cryo-EM de la Pol I en su estado monomérico y en complejo con el factor activador Rrn3 [eLife, 2017; Transcription 2018]. Las estructuras revelan los cambios conformacionales e interacciones que son necesarias para la activación de la enzima, también caracterizadas *in vivo*. Adicionalmente, estudiamos un mecanismo único por el que la Pol I reconoce lesiones en el ADN inducidas por la luz ultravioleta (Figura 1), lo que dispara la reparación del ADN por enzimas correctoras [PNAS, 2018].

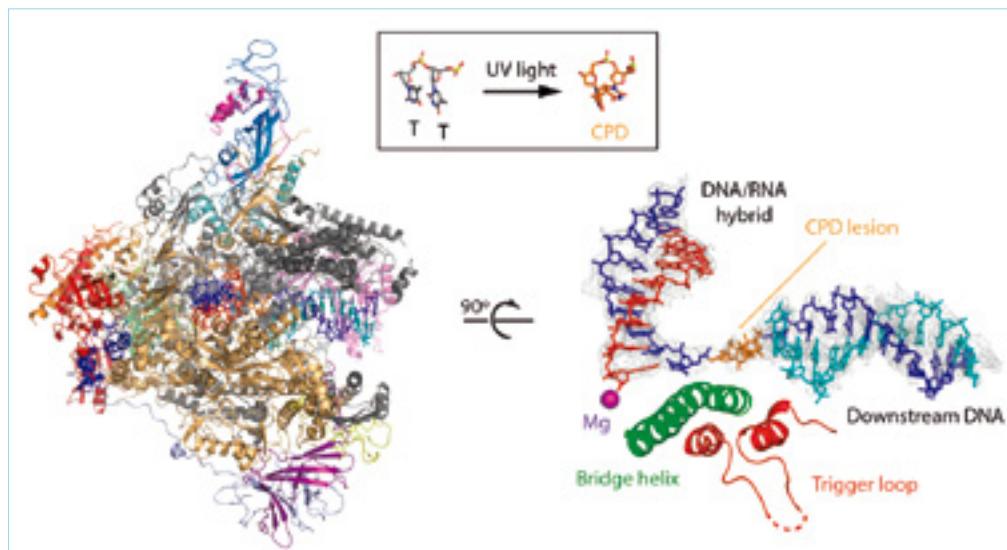
Regulación de la transcripción de Pol II. Diversos factores de transcripción regulan la síntesis de ARN mensajero que realiza la Pol II. Empleamos métodos bioquímicos y resonancia magnética nuclear para identificar segmentos con propensión a formar α -hélices en la región desordenada de CHOP (Figura 2), un factor implicado en la respuesta al estrés de retículo endoplásmico [PLoS One, 2017]. Además, también participamos en la caracterización funcional de Sub1 [Nucleic Acids Res, 2017], un regulador esencial de la Pol II.

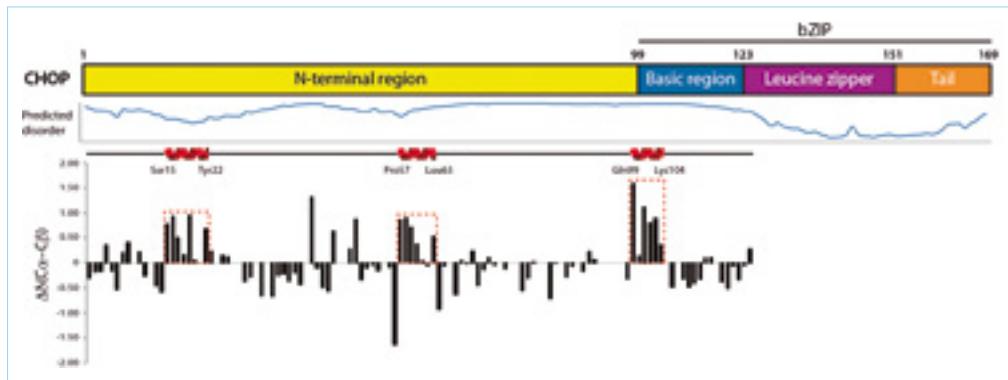
Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Sanz-Murillo M, Xu J, Belogurov GA, Calvo O, Gil-Carton D, Moreno-Morcillo M, Wang D, Fernández-Tornero C [2018] Structural basis of RNA polymerase I stalling at UV light-induced DNA damage. Proc Natl Acad Sci USA 115:8972-8977.
- Fernández-Tornero C [2018] RNA polymerase I activation and hibernation: unique mechanisms for unique genes. Transcription 9:248-254.
- Canales Á, Rösinger M, Sastre J, Felli IC, Jiménez-Barbero J, Giménez-Gallego G, Fernández-Tornero C [2017] Hidden α -helical propensity segments within disordered regions of the transcriptional activator CHOP. PLoS One 12:e0189171.
- Torreira E, Louro JA, Pazos I, González-Polo N, Gil-Carton D, Duran AG, Tosi S, Gallego O, Calvo O, Fernández-Tornero C [2017] The dynamic assembly of distinct RNA polymerase I complexes modulates rDNA transcription. *elife* 6:e20832.
- Garaví M, González-Polo N, Allepuz-Fuster P, Louro JA, Fernández-Tornero C, Calvo O [2017] Sub1 contacts the RNA polymerase II stalk to modulate mRNA synthesis. Nucleic Acids Res 45:2458-2471.

Figure 1

On the left, overall cryo-EM structure of the 14-subunit Pol I enzyme stalled at a cyclobutane pyrimidine dimer (CPD), a frequent DNA lesion induced by UV light, as shown in the top inset. On the right, lateral view where the enzyme has been omitted (with the exception of the 'Bridge helix' and 'Trigger loop') and the cryo-EM map around the CPD-containing nucleic acid scaffold is shown.



**Figure 2**

On top, diagram of domains in transcription factor CHOP, with level of disorder according to bioinformatic analysis. At the bottom, nuclear magnetic resonance study showing three segments with α -helical propensity, as indicated with red dashed squares and helices.

Structure of Macromolecular Assemblies

Our research group aims to unveil the structural basis of human diseases, covering from basic research on protein function to drug development. For this we use electron cryomicroscopy (cryo-EM) and X-ray crystallography, combined with other biophysical and biochemical techniques. The structural characterization of proteins and their complexes allows understanding how they work and also assist the development of pharmacological applications.

The transfer of genetic information encoded in the DNA is the main determinant of gene expression. Alterations in this process have significant impact on cell homeostasis and are directly related to disease. RNA polymerases (Pol) transcribe the genetic information from DNA to RNA, by catalyzing the addition of nucleotides that are complementary to the DNA template strand. Eukaryotes require three different Pols, each transcribing a specific set of genes. Our group has made relevant contributions in the structural and biochemical characterization of these essential enzymes and their regulatory factors. During 2017-2018, we have made progress in two major research lines.

Regulation of Pol I transcription. We pioneered the X-ray structural determination of Pol I, a 14-subunit complex involved in ribosomal RNA synthesis [Nature, 2013]. We now have complemented this study with the cryo-EM structures of Pol I in the free monomeric state and in complex with the activating factor Rrn3 [eLife, 2017; Transcription 2018]. The structures reveal the conformational changes and specific interactions that are necessary for enzyme activation, which we also characterized *in vivo*. Additionally, we studied a unique mechanism for the recognition of UV light-induced DNA lesions by Pol I (Figure 1),

which triggers damage correction by DNA repair enzymes [PNAS, 2018].

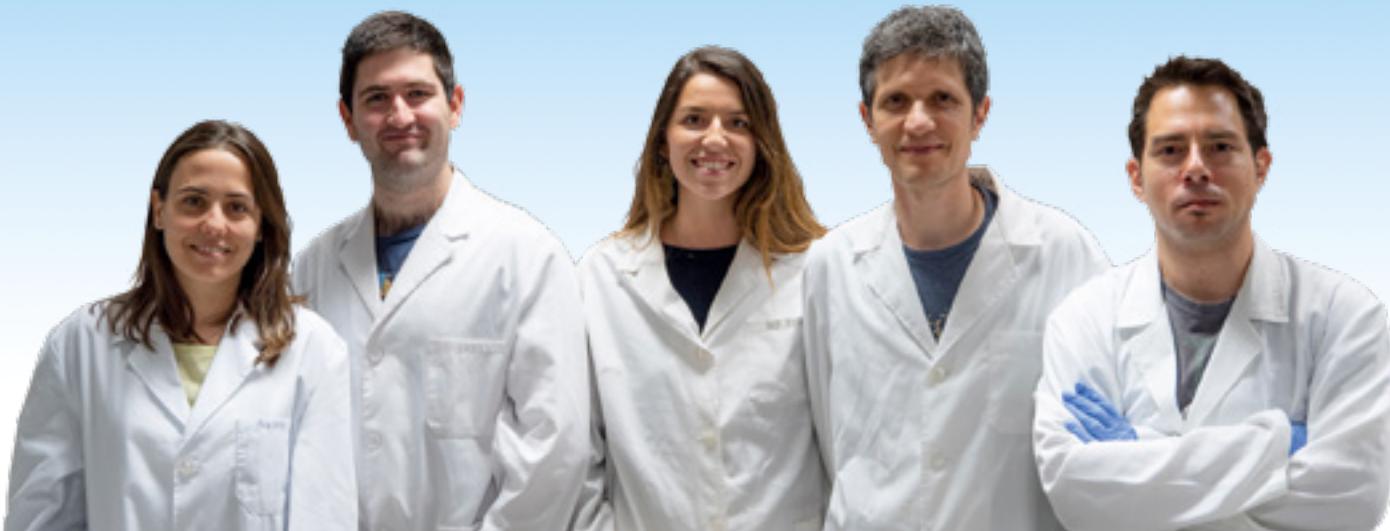
Regulation of Pol II transcription. Several transcription factors regulate the synthesis of messenger RNA by Pol II. We use biochemical methods and nuclear magnetic resonance to identify segments with propensity to form α -helices in the intrinsically disordered region of CHOP (Figure 2), a factor involved in the response to endoplasmic reticulum stress [PLoS One, 2017]. In addition, we participated in the functional characterization of Sub1 [Nucleic Acids Res, 2017], an essential Pol II regulator.

Premios | Awards

- "FEBS Letters Poster Award" concedido a Marta Sanz Murillo en el 41 Congreso de la SEBBM [2018].

Financiación | Funding

- BFU2017-87397-P [2018-2020] (MICINN)
- BFU2015-71978-REDT [2016-2018] (MINECO)
- BFU2013-48374-P [2014-2017] (MINECO)
- INSTRUCT [2018-2020] (ANR - Francia)
- XVII Concurso Nacional [2015-2018] (Fundación Ramón Areces)
- Colaboración con industria [2011-2018] (PharmaMar)



Germán Alejandro Rivas Caballero

Profesor de Investigación
grivas@cib.csic.es

PhD en Química, 1989 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1990-1992 • NIH, Bethesda, USA
Postdoctoral, 1993 • Biozentrum, Univ. Basilea, Suiza
Investigador postdoctoral 1994 • CSIC
Científico titular, 1995
Jefe de Grupo, 1996
Investigador científico, 2006
Profesor de investigación, 2015 • CIB, CSIC



Carlos Alfonso Botello

Científico Titular
carlosa@cib.csic.es



Mercedes Jiménez Sarmiento

Científica Titular
enoe@cib.csic.es



Silvia Zorrilla López

Científica Titular
silvia@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Begoña Monterroso Marco
Ana Raso Alonso
Miguel Ángel Robles Muñoz

Marta Sobrinos Sanguino
Noelia Ropero de Torres



<http://www.cib.csic.es/en/grupo.grivas>

Bioquímica de Sistemas de la División Bacteriana

Nuestro programa de investigación integra bioquímica, biofísica y biología sintética para reconstruir maquinarias de división bacteriana a partir de sus bloques moleculares en entornos citomiméticos controlados. Este esfuerzo, que se enmarca en la aventura de construir células sintéticas desde sus elementos básicos, contribuirá a entender cómo se dividen las células, y abrirá nuevos horizontes para aplicaciones biotecnológicas y biomédicas.

Nuestro objetivo es comprender los mecanismos moleculares responsables de la organización bioquímica de la maquinaria de división bacteriana (el divisoma). El propósito es lograr una descripción cuantitativa de cómo FtsZ (el elemento central del divisoma en la mayoría de las bacterias) y las proteínas que modulan la estabilidad del anillo de división trabajan como un sistema integrado de múltiples interacciones para ensamblar el motor molecular funcional que impulsa la citoquinesis. Esta

información bioquímica contribuirá a definir condiciones más precisas para reconstruir diferentes combinaciones de subconjuntos del divisoma y para probar su organización funcional en sistemas mínimos de membranas y contenedores citomiméticos, como vesículas y microgotas producidas mediante microfluídica. Los sistemas sintéticos pueden ser diseñados para reproducir elementos de la complejidad intracelular (como los efectos de exclusión de volumen debido a la aglomeración molecular fisiológica, las interacciones de superficie, y la condensación macromolecular mediada por procesos de separación de fase) en medios de composición conocida y controlada (Fig. 1). Este enfoque integrador nos ha permitido demostrar que FtsZ, en presencia de la proteína SlmA que inhibe su ensamblaje, se organiza en condensados mediados por separación de fases en condiciones de aglomeración molecular (Fig. 2). Nuestros hallazgos sugieren que la condensación biomolecular también puede contribuir a la organización del espacio intracelular en las bacterias.

Financiación | Funding

- BFU2016-75471-C2-1-P. Spanish Government Plan Nacional I+D+i. BIOROOMS - Analysis, synthesis and reassembly of the biorooms active in bacterial division. 2017-2019.
- EU Project 675132 (H2020-MSCA-ITN-2015). Innovative Training Network. MASSTRPLAN - MASS Spectrometry TRaining network for Protein Lipid adduct Analysis. 2015-2019.



Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Monterroso B, Zorrilla S, Sobrinos-Sanguino M, Robles-Ramos MA, López-Álvarez M, Margolin W, Keating CD, Rivas G [2018] Bacterial FtsZ protein forms phase-separated condensates with its nucleoid-associated inhibitor SlmA. *EMBO Rep* 20(1). pii: e45946.
- Val-Calvo J, Luque-Ortega JR, Crespo I, Miguel-Arribas A, Abia D, Sánchez-Hevia DL, Serrano E, Gago-Córdoba C, Ares S, Alfonso C, Rojo F, Wu LJ, Boer DR, Meijer WJJ [2018] Novel regulatory mechanism of establishment genes of conjugative plasmids. *Nucleic Acids Res* 46:11910-11926.
- Sobrinos-Sanguino M, Krupka M, Jiménez M, Rivas G, Margolin W [2018] Escherichia coli ZipA organizes FtsZ polymers into dynamic ring-like protofilament structures. *MBio* 9(3). pii: e01008-18.
- Ramírez-Díaz DA, García-Soriano DA, Raso A, Mücksch J, Feingold M, Rivas G, Schwille P [2018] Treadmilling analysis reveals new insights into dynamic FtsZ ring architecture. *PLoS Biol* 16(5):e2004845.
- Te Brinke E, Groen J, Herrmann A, Heus HA, Rivas G, Spruijt E, Huck WTS [2018] Dissipative adaptation in driven self-assembly leading to self-dividing fibrils. *Nat Nanotechnol* 13(9):849-855.
- Rivas G, Minton AP [2018] Toward an understanding of biochemical equilibria within living cells. *Biophys Rev* 10:241-253.
- Ahijado-Guzmán R, Menten J, Prasad J, Lambertz C, Rivas G, Sönnichsen C [2017] Plasmonic nanosensors for the determination of drug effectiveness on membrane receptors. *ACS Appl Mater Interfaces* 9:218-223.
- Sobrinos-Sanguino M, Zorrilla S, Monterroso B, Minton AP, Rivas G [2017] Nucleotide and receptor density modulate binding of bacterial division FtsZ protein to ZipA containing lipid-coated microbeads. *Sci Rep* 7:13707.
- Sobrinos-Sanguino M, Zorrilla S, Keating CD, Monterroso B, Rivas G [2017] Encapsulation of a compartmentalized cytoplasm mimic within a lipid membrane by microfluidics. *Chem Commun (Camb)* 53:4775-4778.
- Fernández C, Rivas G, Giraldo R, Jiménez M [2017] Reconstruction of cytotoxic bacterial protein assemblies in lipid vesicles. In *Advances in Biomembranes and Lipid Self-Assembly*, Vol 26, pp 173-193, Academic Press, UK.

Systems Biochemistry of Bacterial Division

Our research program integrates biochemistry, biophysics, and bottom-up synthetic biology to reconstruct minimal bacterial division machineries from its molecular building blocks in controlled cell-like environments. This effort, which is framed on the quest of building synthetic cells from scratch, will contribute to our understanding of how cells divide and will provide new horizons for biotechnological and biomedical applications.

We aim at understanding the molecular mechanisms responsible for the biochemical organization of the bacterial division machinery (the divisome). The purpose is to

achieve a quantitative description of how FtsZ (the central element of the divisome in most bacteria) and the proteins modulating division ring stability work

together as an integrated system of multiple interactions to assemble the functional molecular engine that drives cytokinesis. This biochemical information will contribute to defining more precise conditions to reconstruct different combinations of divisome subsets and to test their functional organization in minimal membrane systems and cell-like containers, as vesicles and droplets produced by microfluidics. Synthetic systems can be devised to mimic elements of the intracellular complexity (as excluded volume effects due to natural crowding, surface interactions, and macromolecular condensation resulting from biologically regulated liquid-liquid phase separation) in media of known and controllable composition (Fig. 1). This integrative approach has allowed us to demonstrate that FtsZ, together with its nucleoid-associated inhibitor SlmA, assembles into dynamic condensates driven by phase separation in crowded cell-like conditions (Fig. 2). Our findings suggest that phase-separated biomolecular condensation may also help to organize intracellular space in bacteria.

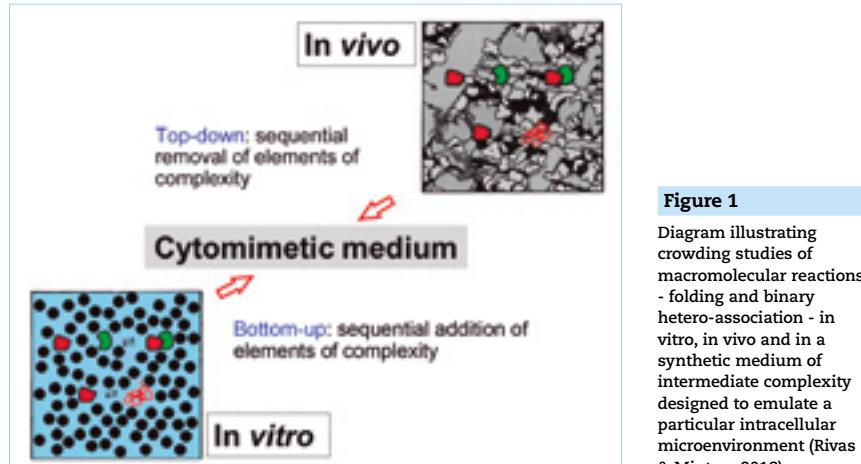


Figure 1

Diagram illustrating crowding studies of macromolecular reactions - folding and binary hetero-association - *in vitro*, *in vivo* and *in a synthetic medium* of intermediate complexity designed to emulate a particular intracellular microenvironment (Rivas & Minton, 2018).

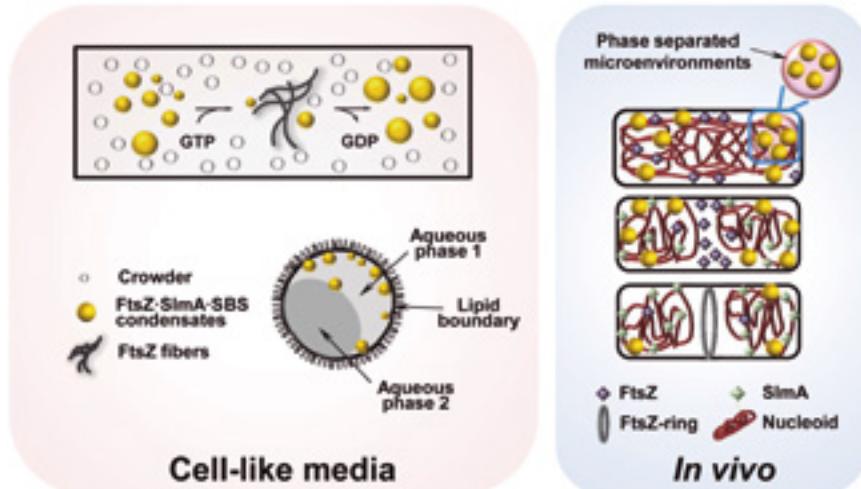


Figure 2

FtsZ forms dynamic condensates by phase separation mediated by molecular crowding in the presence of nucleoprotein complexes organized by SlmA protein, an FtsZ spatial regulator. These condensates may constitute a novel organizer of bacterial intracellular biochemistry (Monterroso & Zorrilla et al., 2018).

Ana Martínez Gil

Profesora de Investigación
ana.martinez@csic.es

PhD, 1987 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1988-1990 • IQM, CSIC
Científica Titular, 1990 • IQM, CSIC
Directora I+D, 2002-2008 • NeuroPharma S. A.
Investigadora Científica, 2008
Profesora de Investigación, 2009 • IQM, CSIC
Incorporación CIB, 2014



Carmen Gil Ayuso-Gontán

Investigadora Científica
carmen.gil@csic.es

PhD, 2001 • Universidad Complutense de Madrid
Marie Curie Postdoctoral Fellow, 2001-2004 • University of Bonn (Germany)
Postdoctoral, 2004-2007 • IQM, CSIC
Científica Titular, 2007 • IQM, CSIC
Incorporación CIB, 2014
Investigadora Científica, 2017 • CIB, CSIC



Nuria E. Campillo Martín

Científica Titular
nuria.campillo@csic.es



Ruth Pérez Fernández

Científica Titular
ruth.perez@csic.es



Otros miembros | Other members

Alfonso García Rubia
Josefa Zaldívar Díez de Bonilla
Elisa Rojas Prats
Víctor Sebastián Pérez
Loreto Martínez González

Carlos Roca Magadán
Vanesa Nozal García
Inés Maestro Inarejos
Rocío Benítez Fernández
Carlota Tosat Bitrián



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/translational-medicinal-and-biological-chemistry>

Química Médica y Biológica Traslacional

El grupo de Química médica y biológica traslacional centra su esfuerzo en el desarrollo de fármacos efectivos en diferentes enfermedades tanto neurodegenerativas como parasitarias. En este proceso de desarrollo de fármacos empleamos diferentes técnicas y herramientas habituales en química médica tales como quimioinformática, síntesis orgánica, química combinatoria dinámica o cribado biológico entre otras.

El grupo de Química Médica y Biológica Traslacional está centrado en el desarrollo de nuevos fármacos con aplicaciones en diferentes campos terapéuticos.

Nuestro grupo tiene una gran experiencia en el diseño y desarrollo de fármacos que incluyen metodologías tales como bioinformática y quimioinformática, síntesis orgánica, cribado biológico, optimización de propiedades ADMETox, e incluso la gestión empresarial. Los proyectos de investigación del grupo se diseñan para identificar tanto dianas farmacológicas innovadoras en enfermedades neurodegenerativas y parasitarias, así como nuevas moléculas multidiana candidatas a fármacos. Trabajamos con moléculas pequeñas heterocíclicas en las que optimizamos sus propiedades tipo fármaco. Contamos con una quimioteca propia con más de 2000 compuestos para utilizar en diferentes programas de genética química. Hacemos investigación aplicada con un alto contenido traslacional. Nuestros programas de investigación cubren desde las fases tempranas del descubrimiento de nuevos fármacos hasta la prueba de eficacia en modelos animales representativos. Las colaboraciones científicas así como la transferencia de tecnología hacia empresas del sector farmacéutico son clave en la consecución de nuestros objetivos.

En el bienio 2017-18 nuestros resultados más importantes han sido:

- Identificación de moléculas pequeñas inhibidoras de interacciones proteína-proteína con actividad sinaptogénica.
- Prueba de eficacia de inhibidores de fosfodiesterasa en modelos de infección por *Leishmania*, *Schistosoma mansoni* y *Trypanosoma cruzi*.
- Desarrollo de moduladores alostéricos de proteínas quinasas y colinesterasas.
- Regulación de la proteinopatía de TDP-43 en linfoblastos de pacientes de esclerosis lateral amiotrófica por diferentes inhibidores de proteínas quinasas.

Premios | Awards

- Nozal V, García-Rubia A, Pérez C, Martínez A, Palomo V. Improved linkage design for the discovery of multitarget ligands as powerful drugs for Alzheimer's disease. Premio de la Real Academia Nacional de Farmacia. Concurso Científico 2018.



Translational Medicinal and Biological Chemistry

The translational medicinal and biological chemistry group focuses its efforts on developing effective drugs in different neurodegenerative and parasitic diseases. During the drug development process we employ different medicinal chemistry techniques and tools such as chemoinformatics, organic synthesis, dynamic combinatorial chemistry, biological screening or ADME properties determination among others.

The Translational Medicinal and Biological Chemistry group works on the design, synthesis, biological evaluation, study and further optimization of structurally diverse chemical entities for drug discovery. The efforts of our group are focused on the pharmacological validation of new targets for both neurodegenerative and parasitic diseases that allow the discovery of innovative drugs with novel mechanism of action as disease-modifying agents for unmet severe pathologies. In order to do this, we apply classical medicinal chemistry methodologies and techniques.

For the design of our drugs, mainly small heterocyclic molecules, different strategies are used. These include computer-aided drug design, multifunctional compounds bearing different pharmacophore moieties in the same molecule to interact with different targets, and improving ADME properties of the candidates, among others. Our own chemical library contains more than 2000 compounds with privileged scaffolds that are used in directed biological screening programs.

It is an applied research with high translational content. The group research programs are designed from the early stages of drug discovery to proof of efficacy in representative animal models. Scientific collaborations and technology transfer to companies in the pharmaceutical sector are our key drivers in achieving our goals.

Main achievements during 2017-18:

- Discovery of small-molecules able to inhibit protein-protein interaction with sinaptogenic activity.
- Proof of concept of phosphodiesterase inhibitors for the treatment of Leishmania, Schistosoma mansoni and Trypanosoma cruzi infection.
- Development of allosteric modulators of protein kinases and cholinesterases.
- Prevention of TDP-43 proteinopathy in lymphoblasts of amyotrophic lateral sclerosis patients by our protein kinase inhibitors.

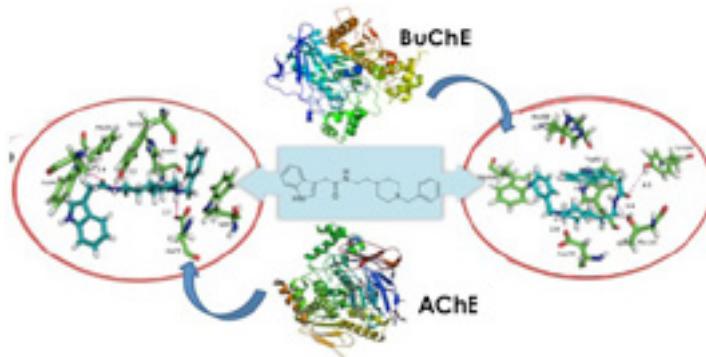


Figure 1
Chamaleon molecules: changing conformation to bind properly the target.

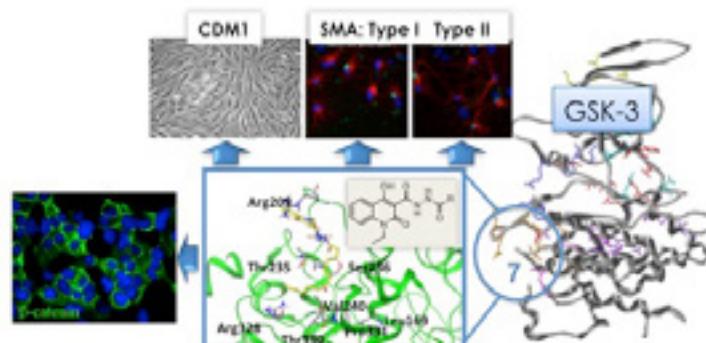


Figure 2
Allosteric modulators of GSK3 β .

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Roca C, Martínez-González L, Daniel-Mozo M, Sastre J, Infantes L, Mansilla A, Chaves-Sanjuan A, González-Rubio JM, Gil C, Cañada FJ, Martínez A, Sánchez-Barrena MJ, Campillo NE [2018] Deciphering the inhibition of the neuronal calcium sensor 1 and the guanine exchange factor Ric8a with a small phenothiazine molecule for the rational generation of therapeutic synapse function regulation. *J Med Chem* 61:5910-5921.
- Gandini A, Bartolini M, Tedesco D, Martínez-González L, Roca C, Campillo NE, Zaldívar-Díez J, Pérez C, Zuccheri G, Miti A, Petralia S, Monti B, Rossi M, Moda F, Legname G, Martínez A, Bolognesi ML [2018] Tau-centric multi-target approach for Alzheimer's disease: development of first-in-class dual glycogen synthase kinase 3 β and tau-aggregation inhibitors. *J Med Chem* 61:7640-7656.
- Sebastián-Pérez V, Hendrickx S, Munday JC, Kalejaiye T, Martínez A, Campillo NE, de Koning H, Caljon G, Maes L, Gil C [2018] Cyclic nucleotide specific phosphodiesterases as potential drug targets for anti-Leishmania therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e00603-18.
- Del Cerro P, Alquézar C, Bartolome F, González-Naranjo P, Pérez C, Carro E, Pérez JA, Campillo NE, Martín-Requero A [2018] Activation of the cannabinoid type 2 receptor by a novel indazole derivative normalizes the survival pattern of lymphoblasts from patients with late-onset Alzheimer's disease. *CNS Drugs* 32:579-591.
- Sebastián-Pérez V, Roca C, Awale M, Raymond JL, Martínez A, Gil C, Campillo NE [2017] Medicinal and Biological Chemistry (MBC) Library: An efficient source of new hits. *J Chem Inform Model* 57:2143-51.

- Palomo V, Pérez DI, Roca C, Anderson C, Rodríguez-Muela N, Pérez C, Morales-García JA, Reyes JA, Campillo NE, Pérez-Castillo AM, Rubin L, Timchenko L, Gil C, Martínez A [2017] Subtly modulating Glycogen Synthase Kinase 3 (GSK-3): allosteric inhibitors development and their potential for the treatment of chronic diseases. *J Med Chem* 60:4983-5001.

Patentes | Patents

- Ana Martínez, Carmen Gil, Ángeles Martín-Requero, Elisa Rojas, Loreto Martínez-González. 21 Septiembre 2018. "Derivados de purina inhibidores de CDC-7 y su uso para el tratamiento de patologías neurológicas". P201830914
- José Antonio Pérez Simón, María Victoria Barbado González, Mayte Medrano Domínguez, Juan Antonio Pérez, Nuria E. Campillo, Pedro José González Naranjo. 24 Abril 2017. "Indazole derivatives for cancer treatment". PCT/ES2017070261
- Ruth Pérez Fernández, Andrea Canal Martín, María José Sánchez-Barrena, Alicia Mansilla Aparicio. 27 Septiembre 2018. "Acilhidrazonas para el tratamiento de enfermedades neurológicas". P201830933.

Financiación | Funding

- SAF2017-90913-REDT (MINECO, 2018-2019)
- B2017/BMD-3813 (CM, 2018-2021)
- MSCA-ITN-ETN DRIVE GA 765912 (EU-H2020, 2017-2020)
- SAF2016-76693-R (MINECO, 2017-2019)
- SAF2015-72325-EXP (MINECO, 2017-2018)
- SAF2015-65740-R (MINECO, 2016-2019)
- CTQ2015-66313-R (MINECO, 2016-2018)
- CTQ2015-69643-R (MINECO, 2016-2018)
- RTC-2015-3439-1 (MINECO, 2015-2018)
- PDE4NPD GA 602666 (EU-FP7-Health, 2014-2018)

José Manuel Andreu Morales

Profesor de Investigación
j.m.andreu@cib.csic.es

PhD, 1976 • Universidad Complutense de Madrid
Visiting Scientist, 1976 • Max-Planck-Institut, Freiburg (D)
Postdoctoral, 1978-1981 and
Visiting Scientist, 1985 • Department of Biochemistry,
Brandeis University (MA, USA)
Staff Scientist, 1981
Group Leader, 1983
Senior staff Scientist, 1987
Research Professor, 1993 • CIB, CSIC



Otros miembros | Other members

Sonia Huecas Gayo
Lidia Araujo Bazán
María A. Oliva Blanco

Albert Vergoñós Tomás
Alejandro J. Canosa Valls
David Juan Rodríguez

<http://www.cib.csic.es/tubulinas>

Tubulininas y FtsZ

FtsZ es una GTPasa homóloga de tubulina, que guía la división bacteriana, una diana de factores reguladores y para descubrir nuevos antibióticos. Los monómeros de FtsZ cambian de conformación inactiva a activa para ensamblar cabeza con cola, formando filamentos sencillos que hidrolizan GTP, crecen por un extremo y decrecen por el otro. Los filamentos de FtsZ se organizan en grupos que se mueven alrededor del anillo para la formación del septo.

Filamentos ordenados y colas intrínsecamente desordenadas

Después de la demostración del funcionamiento en solución del interruptor de ensamblaje de FtsZ, utilizando sondas fluorescentes que se unen en la hendidura entre sus dominios, se han determinado por fin las estructuras cristalográficas de una misma FtsZ de *Staphylococcus aureus* en la forma monomérica cerrada y en la forma abierta formando filamentos, en colaboración con el MRC LMB (Cambridge), y también por un grupo en Japón. Este interruptor estructural explica el ensamblaje cooperativo de filamentos sencillos de FtsZ y la dinámica de cinta deslizante por hidrólisis de GTP. La propia unión de GTP es necesaria para el plegamiento de FtsZ de *S. aureus*, cuyo núcleo estructural también se puede estabilizar utilizando osmólitos.

Los filamentos de FtsZ se asocian lateralmente entre ellos, y unen proteínas asociadas, a través de las colas C-terminales desordenadas que no se observan en las estructuras cristalográficas. Hemos estudiado las propiedades auto-organizativas de los filamentos de FtsZ en solución. Resultados de SAXS indican un espacio característico de 7 nm centro a centro entre protofilamentos, que se puede explicar mediante modelos computacionales

solo con un hueco de 2 nm entre los núcleos estructurales de los monómeros de FtsZ de filamentos vecinos curvados. Propusimos que el conector C-terminal intrínsecamente desordenado de FtsZ puentea el hueco. Mediante crió-microscopía electrónica, en el Servicio de Microscopía Electrónica del CIB, hemos analizado imágenes de ensamblados formados por construcciones de FtsZ con diversos extremos C-terminales, que apoyan el modelo. Las interacciones débiles entre los filamentos de FtsZ mediadas por las colas C-terminales podrían facilitar la dinámica de deslizamiento coherente de manojos de filamentos de FtsZ asociados a membrana en sistemas reconstituidos, así como los movimientos circulares de FtsZ que guían la síntesis correcta de la pared septal y la división celular bacteriana.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Artola M, Ruiz-Ávila LB, Ramírez-Aportela E, Martínez RF, Araujo-Bazán L, Vázquez-Villa L, Martín-Fontecha M, Oliva MA, Martín-Galiano AJ, Chacón P, López-Rodríguez ML, Andreu JM, Huecas S [2017] The structural assembly switch of cell division protein FtsZ probed with fluorescent allosteric inhibitors. *Chemical Science* 8:1525-1534.
- Sáez-Calvo G, Sharm A, Balaguer FA, Barasoain I, Rodríguez-Salarichs J, Muñoz-Hernández H, Berbis MA, Wendeborn S, Peñalva MA, Matesanz R, Canales A, Prota AE, Jiménez-Barbero J, Andreu JM, Lamberth C, Steinmetz M, Díaz JF [2017] Triazolopyrimidines stabilize microtubules by binding to the vinca inhibitor site of tubulin. *Cell Chemical Biology* 24: 737-750.
- Wagstaff J, Tsim M, Oliva MA, García-Sánchez A, Kureisaite-Ciziene D, Andreu JM, Löwe J [2017] A polymerisation-associated conformational switch in FtsZ that enables treadmilling. *Mbio* 8:e00254-17.
- Huecas S, Ramírez-Aportela E, Vergoñós A, Nuñez-Ramirez R, Llorca O, Díaz JF, Juan-Rodríguez D, Oliva MA, Castellen P, Andreu JM [2017] Self-organization of FtsZ polymers in solution reveals spacer role of the disordered C-terminal tail. *Biophysical Journal* 113:1831-1844 & cover.
- Field J, Pera B, Estévez-Gallego J, Calvo E, Rodríguez-Salarichs J, Sáez-Calvo G, Zuñerra D, Jordi M, Andreu JM, Prota A, Menchon G, Altmann K-H, Díaz JF [2018] Zampanolide binding to tubulin indicates crosstalk of taxane site with colchicine and nucleotide sites. *J Nat Prod* 81: 494-505.
- Araújo-Bazán L, Huecas S, Valle J, Andreu D, Andreu JM [2019] Synthetic developmental regulator McI β targets FtsZ across *Bacillus* species and inhibits bacterial division. *Mol Microbiol*, accepted article.
DOI:10.1111/mmi.14198.

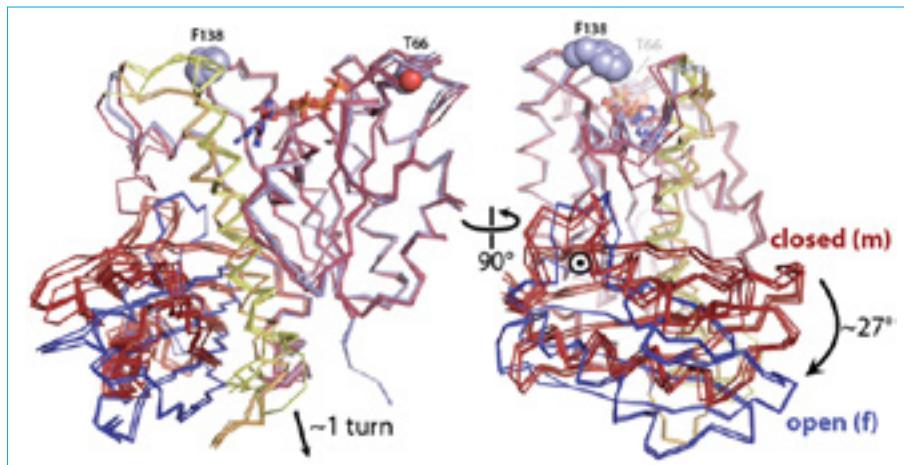


Figure 1

Superposition of closed (monomer) and open (forming filaments by crystal contacts) structures of FtsZ from *S. aureus*. Nucleotides are shown as sticks, non-carbon atoms coloured by element. Sidechains of mutated residues F138 and T66 of wildtype structure are shown as spheres. The axis of interdomain rotation is indicated. From Wagstaff et al *mBio* 8:e00254-17.

Tubulins & FtsZ

FtsZ is a tubulin-like self-assembling GTPase that guides the bacterial division machinery, a target of regulating factors and for discovering new antibiotics. FtsZ monomers switch from inactive to active conformation and associate head-to-tail, forming single-stranded filaments that treadmill with GTP hydrolysis, in a partially understood process. How FtsZ filaments organize into clusters moving around the division ring is still a challenging problem.

A tale of ordered filaments and intrinsically disordered tails

Following the demonstration of the FtsZ assembly switch in solution with fluorescent probes binding into the interdomain cleft of FtsZ, the crystal structures of closed-cleft monomers and open-cleft filaments of FtsZ structural cores from *Staphylococcus aureus* were finally determined in collaboration with the MRC LMB (Cambridge), and also by a group in Japan. This structural switch explains cooperative assembly of FtsZ single filaments and efficient treadmilling upon GTP hydrolysis. GTP binding is required for folding FtsZ monomers, whose structure can also be stabilized with osmolytes.

However, rather than forming a well-defined structure, FtsZ filaments laterally associate among them in a relatively disordered fashion, and bind partner proteins, through the FtsZ C-terminal disordered tail that is missing from the crystal structures. We have studied the nanoscale self-organization properties of FtsZ in solution. Small-angle X-ray solution scattering (SAXS) results indicated a characteristic 7 nm center to center lateral spacing between FtsZ filaments. Comprehensive model building and scattering calculations showed that

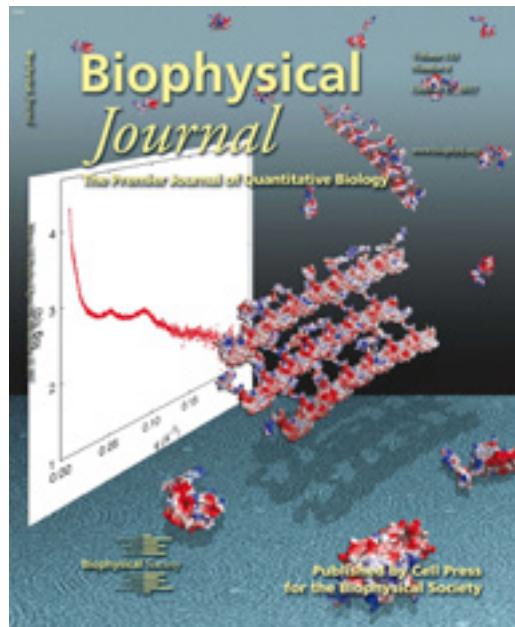


Figure 2

Architecture of bacterial cell division protein FtsZ polymers. Combining SAXS, cryo-EM and molecular modeling approaches has provided insight into the self-organizing properties of FtsZ that we think underlie the assembly of the bacterial division ring. Cover image, Biophysical Journal 113 (8) 2017.

multiple associated filaments of variable curvature and length, leaving a 2 nm gap between core filament structures, were required to reproduce the X-ray scattering features. We hypothesized that the gap would be bridged by the FtsZ intrinsically disordered C-terminal linker region. Cryo-electron microscopy, at the CIB Electron Microscopy Facility, provided views of unstained individual assemblies in vitrified solutions.

Analyzing polymers assembled from FtsZ constructs with diverse C-termini supported the model. Weak interactions between curved polar FtsZ protofilaments through their C-tails may facilitate the coherent treadmilling dynamics of membrane-associated FtsZ bundles in reconstituted systems, as well as the circular movement of FtsZ clusters that guides correct septal cell wall synthesis and bacterial cell division.

Financiación | Funding

- BFU2014-51823-R (MINECO)



Ernesto Arias Palomo

 Científico Titular (2018)
 earias@cib.csic.es


PhD, 2008 • Universidad Complutense de Madrid
 Premio Juan Abelló Pascual I de la Real Academia de Doctores
 Postdoctoral, 2010-2013 • University of California, Berkeley (USA)
 Postdoctoral, 2013-2014 • Johns Hopkins University (USA)
 Research Associate, 2015-2017 • Johns Hopkins University (USA)
 Investigador RyC, 2017-2018 • CIB, CSIC
 Científico Titular, 2018 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

María de las Mercedes Spínola Amilibia


[https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/
cryo-em-macromolecular-machines](https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/cryo-em-macromolecular-machines)

Crio-ME de Máquinas Macromoleculares

Nuestro grupo está interesado en entender cómo las máquinas macromoleculares controlan el flujo de la información genética. Para ello empleamos crio-microscopía electrónica, cristalográfica de rayos X, junto con técnicas bioquímicas y funcionales.

En nuestro grupo utilizamos una combinación de técnicas estructurales, biofísicas y funcionales para desarrollar modelos a nivel atómico que ayuden a entender cómo se copia y transfiere la información genética.

La replicación del DNA es un proceso central para todos los organismos. Uno de los pasos clave en el inicio de la replicación es la carga de la helicasa replicativa, un motor hexamérico encargado de desenrollar la doble hélice para que pueda ser copiada. La carga de la helicasa depende de ATPasas de la familia AAA+, sin embargo, se desconoce cómo este proceso sucede a nivel molecular. Estamos analizando la estructura y función del complejo helicasa:cargador para ayudar a comprender cómo la proteína motora se deposita en el origen de replicación, cómo la unión al DNA regula la actividad de estos factores, y cuál es la función del nucleótido en el proceso.

Curiosamente, varios miembros de la familia AAA+ también juegan un papel determinante en la transposición del DNA. En el grupo estamos estudiando IS21, un transposón ampliamente distribuido, con el fin de entender cómo estos factores altamente conservados son capaces de reorganizar regiones enteras de genoma o de diseminar genes de resistencia a antibióticos.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Arias-Palomo E, Berger JM [2015] An atypical AAA+ ATPase assembly controls efficient transposition through DNA remodeling and transposase recruitment. *Cell* 162(4):860-71.
- Strycharski MS, Arias-Palomo E, Lyubimov AY, Erzberger JP, O'Shea VL, Bustamante CJ, Berger JM [2013] Nucleotide and partner-protein control of bacterial replicative helicase structure and function. *Mol Cell* 52(6):844-54.
- Arias-Palomo E, O'Shea VL, Hood IV, Berger JM [2013] The bacterial DnaC helicase loader is a DnaB ring breaker. *Cell* 153(2):438-48.
- Arias-Palomo E*, Puri N, O'Shea Murray VL, Yan Q, Berger JM* [2019] Physical basis for the loading of a bacterial replicative helicase onto DNA. *Mol Cell*. DOI: 10.1016/j.molcel.2019.01.023. *Corresponding authors.

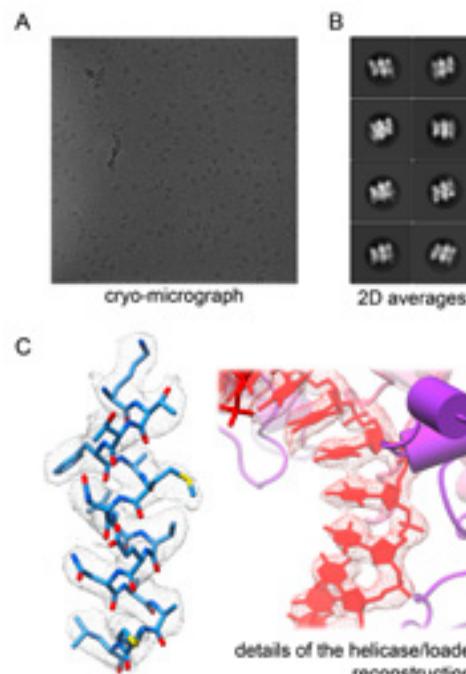
Cryo-EM of Macromolecular Machines

Our group is interested in understanding how macromolecular machines control the flow of genetic information. We rely on a blend of cryo-electron microscopy, X-ray crystallography, with biochemical and functional assays to analyze this process.

In our group we use a combination of structural, biophysical and biochemical techniques to develop atomic-level models that explain how macromolecular complexes control DNA replication and other essential nucleic acid transactions.

DNA replication is central to the proliferation of all living organisms. In cells, a key step at the onset of DNA replication is the loading of a ring-shaped, hexameric replicative helicase onto origin DNA that promotes the unwinding of parental template DNA strands. Helicase loading is catalyzed by dedicated AAA+ ATPases, however, how this process occurs at the molecular level is not known. We are analyzing the architecture and function of the bacterial replicative helicase:loader complex to help understand how the motor protein is deposited at the origin of replication, how DNA binding modulates the function of these factors, and what is the role of nucleotide turnover in the process.

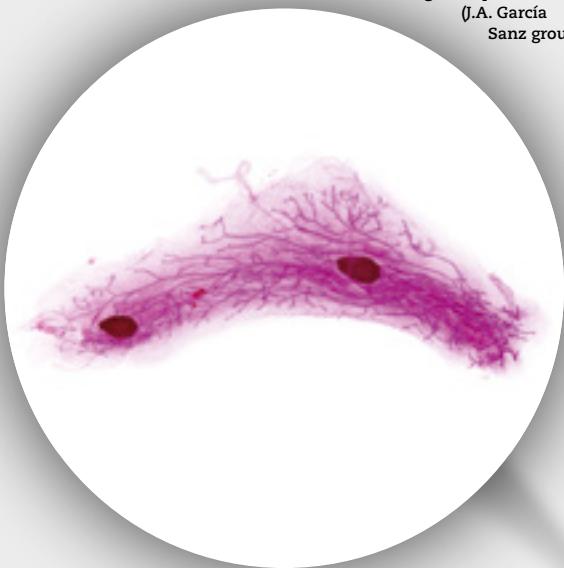
Interestingly, members of the AAA+ family also play a pivotal role in DNA transposition. We are studying IS21, a particularly streamlined transposon, to help understand how these highly conserved ATPases reshuffle complete genomic regions and promote the dissemination of antibiotic resistance genes.


Figure 1

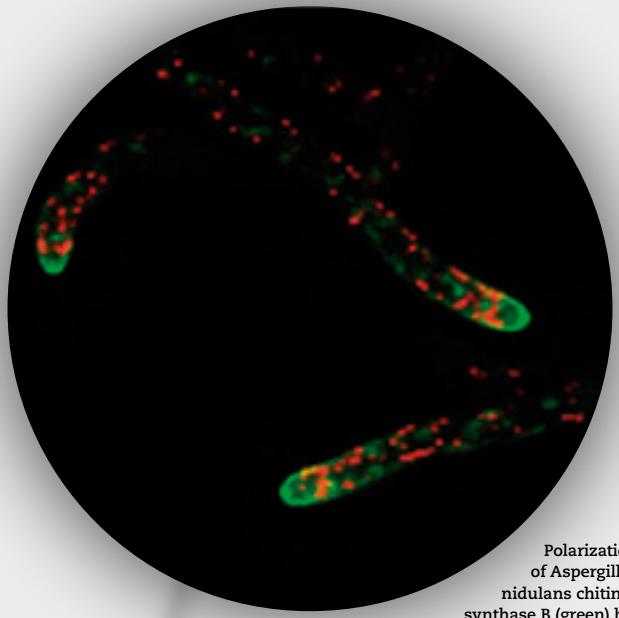
Cryo-EM analysis of a bacterial helicase:loader complex.
 (A) Micrograph.
 (B) 2D averages.
 (C) Details of the 3D structure.

Financiación | Funding

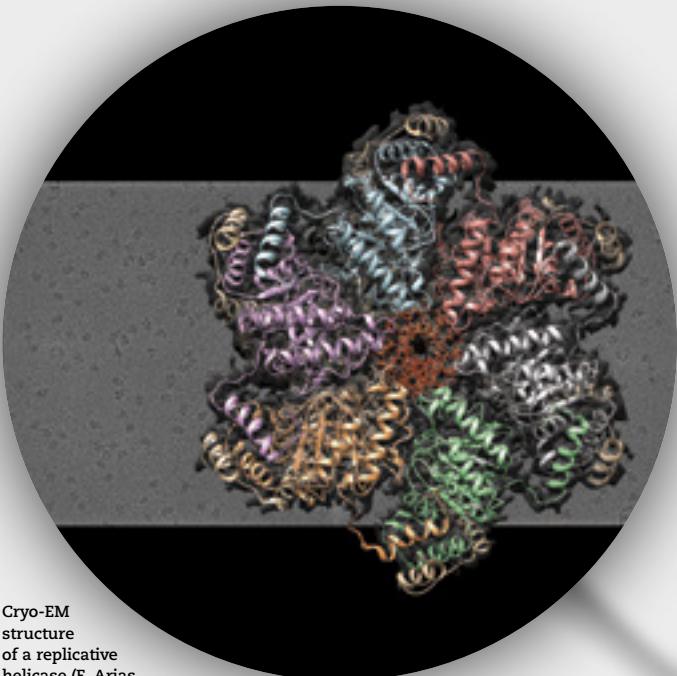
- BFU2017-89143-P (MINECO)
- RYC-2015-19059 (MINECO)



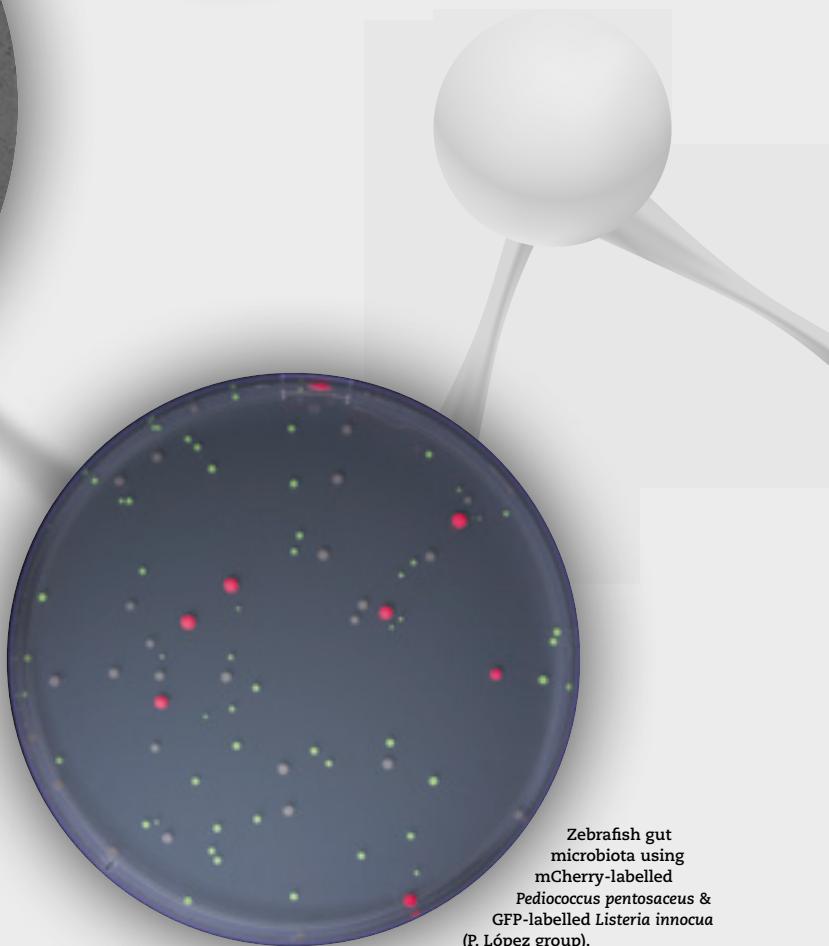
Adult mouse mammary
gland epithelia
(J.A. García
Sanz group).



Polarization
of Aspergillus
nidulans chitin
synthase B (green)
by
endocytic recycling dependent
on a sub apical collar of actin
patches (red) (M.A. Peñalva group).



Cryo-EM
structure
of a replicative
helicase (E. Arias
Palomo group).



Zebrafish gut
microbiota using
mCherry-labelled
Pediococcus pentosaceus &
GFP-labelled Listeria innocua
(P. López group).

Biotecnología Microbiana y de Plantas

Microbial and Plant Biotechnology

- [94] **Ángel T. Martínez Ferrer .**
M.ª Jesús Martínez Hernández
Biotecnología para la Biomasa
Lignocelulósica
Biotechnology for Lignocellulosic Biomass
- [96] **José Luis García**
Biotecnología Medioambiental
Environmental Biotechnology
- [98] **Eduardo Díaz Fernández**
Microbiología Medioambiental
Environmental Microbiology
- [100] **Pedro García González .**
Ernesto García López
Interacciones Huésped-Parásito en
Infecciones Neumocócicas
Host-Parasite Interplay in Pneumococcal
Infection
- [102] **Pedro Castañera Domínguez .**
Félix Ortego Alonso
Interacción Planta-Insecto
Insect-Plant Interaction
- [104] **Paloma López García .**
Gloria del Solar Dongil
Biología Molecular de Bacterias
Gram-positivas
Molecular Biology of Gram-positive Bacteria
- [106] **Tomás Canto Ceballos .**
Francisco Tenllado Peralo
Interacciones Moleculares
Planta/Virus/Vector
Molecular Plant/Virus/Vector Interactions
- [108] **Francisco Javier Medina Díaz**
Nucleolo, Proliferación Celular y
Microgravedad en Plantas
Plant Cell Nucleolus, Proliferation
and Microgravity
- [110] **Julio Salinas Muñoz**
Biología Molecular de Plantas
Plant Molecular Biology
- [112] **Pilar Sánchez Testillano .**
María del Carmen Risueño Almeida
Biotecnología del Polen de Plantas
Cultivadas
Pollen Biotechnology of Crop Plants
- [114] **María Auxiliadora Prieto Jiménez**
Biotecnología de Polímeros
Polymer Biotechnology
- [116] **César Llave**
Regulación Génica y Estrés
Gene Regulation and Stress

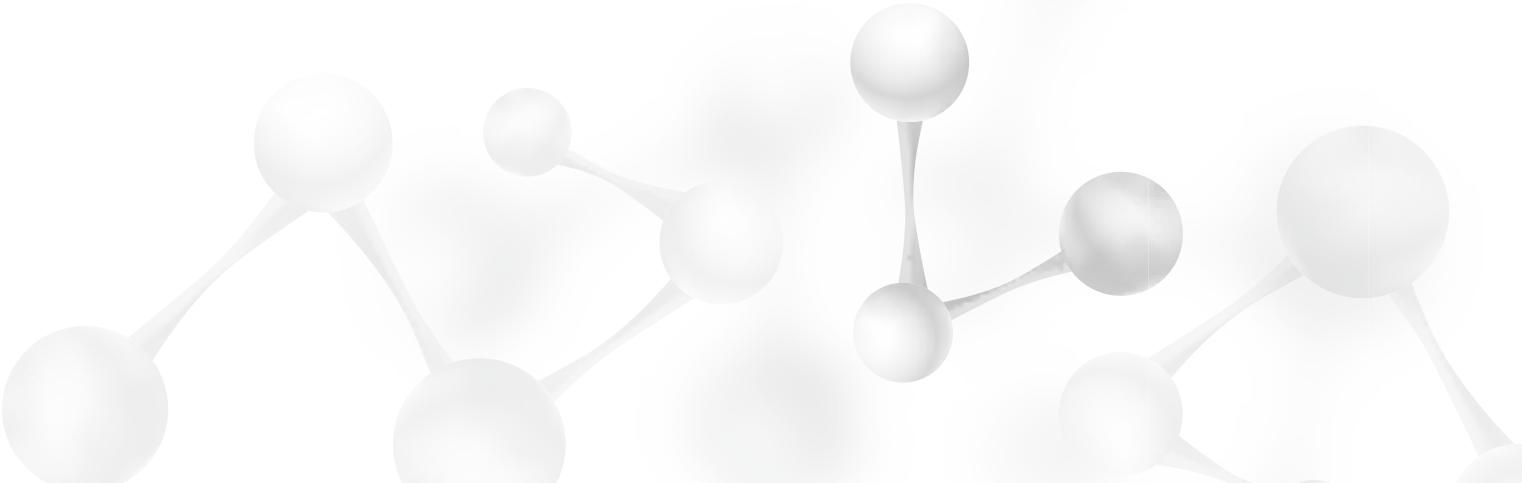


Biotecnología Microbiana
y de Plantas
Microbial and Plant Biotechnology

o v e r v i e w

The Department of Microbial and Plant Biotechnology is dedicated to understanding how plants, animals and microorganisms interact and respond to their environment. Multidisciplinary research at all organizational levels, from molecules and cells to whole organisms, is ensured by 12 groups that provide excellence in both, fundamental and applied science. Main research interests include interaction between plants and their abiotic and biotic environment, management of insect pest populations, contaminant bioremediation, and production of chemicals from biomass or industrial wastes in biorefineries. The significance of the research developed in our Department is reflected in highly-cited publications in leading journals, as well as in collaborations with other scientists from institutions all over the world. In this scenario, the Department of Microbial and Plant Biotechnology constitutes a unique entourage for graduate students to perform their Ph.D. thesis. Our commitment to the future is to further develop national and international leadership in integrated environmental studies of plants and microorganisms, and to maintain a stimulating, competitive ambiance for talented young scientists.

Julio Salinas
Department Head



Ángel T. Martínez Ferrer

Profesor de Investigación
atmartinez@cib.csic.es

PhD 1976 • Universidad de Navarra
Postdoctoral • CNRS, Vandoeuvre-les-Nancy, Francia (1977-78) y Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn y Delft, Países Bajos (1978-79)
Científico Titular, 1981-1990 • CIB, CSIC
Investigador Científico, 1990-2003 • CIB, CSIC
Miembro electo de la International Academy of Wood Sciences



M.ª Jesús Martínez Hernández

Profesora de Investigación (2017)
mjmartinez@cib.csic.es

PhD 1980 • Universidad Complutense de Madrid.
Postdoctoral • Instituto Jaime Ferrán de Microbiología, CSIC, Madrid (1980-1986).
Científica Titular, 1986-2006 • CIB, CSIC
Investigadora Científica, 2006-2016 • CIB, CSIC
Consejo de Dirección del Círculo de Biotecnología de la Comunidad de Madrid (2006-2009)
Profesora honorífica de la Facultad de Biología de la Univ. Complutense (desde 2013)



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/biotechnology-lignocellulosic-biomass>

Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica

Nuestros objetivos científicos están relacionados con el uso de microorganismos (principalmente hongos filamentosos) y sus enzimas en procesos industriales para la obtención de combustibles, materiales y productos químicos (Biotecnología Blanca) a partir de recursos vegetales. El propósito final es contribuir al desarrollo sostenible de nuestra sociedad (economía circular) a través de un uso más amplio de las materias primas renovables basado en la biotecnología.

El grupo pretende profundizar en el conocimiento de aspectos clave del sistema enzimático implicado en la biodegradación de la lignocelulosa por los hongos para el desarrollo de aplicaciones que permitan el aprovechamiento integral de la biomasa vegetal, de acuerdo con el concepto de Biorrefinería, incluyendo:

- Proyectos más básicos, sobre estudios bioquímicos y de relaciones estructura-función de algunas de las enzimas clave en los procesos de biodegradación (para mejorar sus propiedades cata-

Susana Camarero Fernández

Científica Titular
susanacam@cib.csic.es



Alicia M.ª Prieto Orzanco

Científica Titular
aliprieto@cib.csic.es



Francisco Javier Ruiz Dueñas

Científico Titular
fjruiz@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Jorge Barriuso Maicas
Elena Fernández Fueyo
Marta Pérez Boada
M.ª Dolores Linde López
Ana Serrano Esteban
Neumara L. Silva Hakalin
Manuel J. Nieto Domínguez
Juan R. Carro Aramburu
Laura I. de Eugenio Martínez
Francisco Rodríguez Ventura

Iván Ayuso Fernández
Juan Antonio Méndez Liter
María Molina Gutiérrez
M.ª Isabel Sánchez Ruiz
Pablo Aza Toca
Marta Espada Sánchez
Rashid Babiker Sánchez
David Rodríguez Escribano
Rosa M.ª Peces Pérez

líticas y/o operacionales) incluyendo: i) hemoperoxidases (como la peroxidasa versátil, VP) y hemoperoxigenasas; ii) Flavooxidases que generan peróxido, como la aril-alcohol oxidasa (AAO); iii) Oxidasas multicobre, como las lacasas (y sus mediadores redox); iv) Esterasas/lipasas con diferentes especificidades de sustrato; y v) Otras hidrolasas de interés, como celulasas y xilananas.

- Proyectos más aplicados, relacionados con el uso de los hongos y sus enzimas –enzimas nuevas aisladas de cultivos o identificadas a partir de genomas, o mejoradas mediante diseño racional o evolución dirigida– en aplicaciones industriales o medioambientales tales como las relacionadas con las biorrefinerías de la lignocelulosa para: i) La obtención de bioetanol de segunda generación; y ii) La producción de productos químicos y materiales mediante el uso de biocatalizadores enzimáticos (considerando también la valorización de la fracción lipídica de residuos industriales).

Dentro de estas líneas, A Prieto y MJ Martínez trabajan con hidrolasas que actúan sobre los polisacáridos y lípidos de la biomasa, mientras que S Camarero, FJ Ruiz-Dueñas y AT Martínez lo hacen con diferentes oxidoreductasas que actúan sobre la fracción de lignina y otros compuestos. El trabajo realizado en el periodo 2017-2018 ha dado lugar a unas treinta publicaciones (algunas representativas se citan a continuación) y varias patentes (EP17382211.5 2017, PCT/ES2018/070466, PCT/ES2018/070428, EP1641.1440 2018, y EP18382514.0 2018).



Biotechnology for Lignocellulosic Biomass

Our scientific objectives are related to the use of microorganisms (mainly filamentous fungi) and their enzymes in industrial processes to obtain fuels, materials and chemicals (White Biotechnology) from plant resources. The final aim is to contribute to the sustainable development of our society (circular economy) through an integrated use of renewable plant feedstocks based on biotechnology.

The group aims to better understand several key aspects of the enzymatic mechanisms involved in lignocellulose biodegradation by fungi, using this information to develop different applications for the integrated use of plant biomass as a renewable feedstock according to the Biorefinery concept. This research line includes:

- More basic projects on biochemistry and structure-function of key enzymes involved in lignocellulose biodegradation (to improve their catalytic and/or operational properties) including: i) Hemeperoxidases (like versatile peroxidase, VP) and hemeperoxygenases; ii) Flavooxidases providing peroxide, like aryl-alcohol oxidase (AAO); iii) Multicopper oxidases like laccases (and their redox mediators); iv) Esterases/lipases with different substrate specificities; and v) Other hydrolases of interest, such as cellulases and xylanases.



Figure 1

Recreation of a Jurassic landscape showing wood degrading fungi growing on a fallen log. The zoom recreates a detail of the ancestral process of lignin oxidation mediated by Mn²⁺ ions catalyzed by enzymes that arose at the end of the Carboniferous period (in green), as well as more recent enzymes that appeared several times throughout evolution (in orange), with the ability of degrading lignin more efficiently by acting directly on the polymer units.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Ayuso-Fernández I, Ruiz-Dueñas FJ, Martínez AT [2018] Evolutionary convergence in lignin-degrading enzymes. *Proc Natl Acad Sci USA* 115: 6428-6434.
- Pardo S, Rodríguez-Escribano D, Aza P, de Salas F, Martínez AT, Camarero S [2018] A highly stable laccase obtained by swapping the second cupredoxin domain. *Sci Rep* 8:5669.
- Fernández-Fueyo E, Davó-Siguero I, Almendral D, Linde D, Baratto MC, Pogni R, Romero A, Guallar V, Martínez AT [2018] Description of a Non-Canonical Mn(II)-Oxidation Site in Peroxidases. *ACS Catalysis* 8:8386-839.
- Barriuso J, Hogan DA, Keshavarz T and Martínez MJ [2018] Role of quorum sensing and chemical communication in fungal biotechnology and pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev*. doi: 10.1093/femsre/fuy022.
- Martínez AT, Camarero S, Ruiz-Dueñas FJ, Martínez MJ [2018] Biological Lignin Degradation. In "Lignin Valorization: Emerging Approaches" Ed. Gregg Beckham. RSC, pp. 199-225.
- Hakalin NLS, Molina-Gutiérrez M, Prieto A, Martínez, MJ [2018] Optimization of lipase-catalyzed synthesis of beta-sitostanol esters by response surface methodology. *Food Chem* 261:139-148.
- Carro J, Fernández-Fueyo E, Fernández-Alonso C, Cañada J, Ullrich R, Hofrichter M, Alcalde M, Ferreira P, Martínez AT [2018] Self-sustained enzymatic cascade for the production of 2,5-furandicarboxylic acid from 5-methoxymethylfurfural. *Biotechnol Biofuels* 11:86.
- Martínez AT, Ruiz-Dueñas FJ, Camarero S, Serrano A, Linde D, Lund H, Vind J, Tovborg M, Herold-Majumdar OM, Hofrichter M, Liers C, Ullrich R, Scheibner K, Sannia G, Piscitelli A, Pezzella C, Sener ME, Kılıç S, van Berkel WJ, Guallar V, Lucas F, Zuhse R, Ludwig R, Hollmann F, Fernández-Fueyo E, Record E, Faulds CB, Tortajada M, Winckelmann I, Rasmussen J, Gelo-Pujic M, Gutiérrez A, del Río JC, Renoret J, Alcalde M [2017] Oxidoreductases on their way to industrial biotransformations. *Biotechnol Adv* 35: 815-831.

- More applied projects related to the use of fungi and their enzymes – new enzymes isolated from fungal cultures or identified by genome mining, or improved enzymes from rational design or directed evolution – in industrial or environmental applications such as those related to the lignocellulose biorefineries for: i) Production of second generation bioethanol; and ii) Sustainable production of chemicals and materials based on the use of enzymatic biocatalysts (valorization of the lipidic fraction of industrial residues is also studied).

In the above research lines, A Prieto and MJ Martínez work on hydrolases acting on biomass polysaccharides and lipids, whereas S Camarero, FJ Ruiz-Dueñas and AT Martínez work on different oxidoreductases acting on the lignin fraction and other compounds. The group projects resulted in around thirty scientific publications during the 2017-2018 period (a selection of which is included below) as well as several patents (EP17382211.5 2017, PCT/ES2018/070466, PCT/ES2018/070428, EP1641.1440 2018, and EP18382514.0 2018).

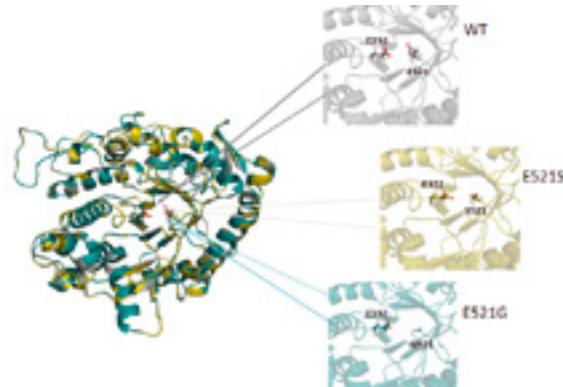


Figure 2

Molecular modeling of the β-glucosidase 1 from *Talaromyces amestolkiae*. Mutants E521S and E521G were obtained using protein engineering techniques, converting the original enzyme into a glucosynthase.

- Ayuso-Fernández I, Martínez AT, Ruiz-Dueñas FJ [2017] Experimental recreation of the evolution of lignin-degrading enzymes from the Jurassic to date. *Biotechnol Biofuels* 10: 67.
- Molina-Gutiérrez M, Hakalin NLS, Rodríguez-Sánchez L, Prieto A, Martínez MJ [2017] Green synthesis of β-sitostanol esters catalyzed by the versatile lipase/sterol esterase from *Ophiostoma* piecae. *Food Chem* 221:1458-1465.

Financiación | Funding

- H2020-BBI-JU-2017-792070 (EC-BBI JU, 2018-2021)
- H2020-BBI-JU-2017-792063 (EC-BBI JU, 2018-2022)
- BIO2017-86559-R (MICINN, 2018-2022)
- BIO2017-90757-REDT (MICINN, 2018-2020)
- H2020-BBI-PPP-2015-2-720297 (EC-BBI JU, 2016-2019)
- BIO2015-68387-R (MINECO, 2016-2018)
- BIO2014-56388-R (MINECO, 2015-2017)
- RTC-2014-1777-3 (MINECO, 2014-2017)
- S2013/MAE-2907 (CM, 2014-2018)

José Luis García

Profesor de Investigación
jlgarcia@cib.csic.es

Licenciado en CC Químicas, 1977
Licenciado en Farmacia, 1978
Doctor en CC Químicas, 1980 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1982-1986 • Antibióticos S.A., University of Stony Brook New York, USA
Científico Titular, 1986 • CIB
Investigador Científico, 1990 • CIB
Profesor de Investigación, 2001 • CIB



Otros miembros | Other members

Beatriz Galán Sicilia
Lucía Agudo Algabe
Patricia Álvarez Villanueva
Amaya Blanco Rivero
Oliver Drzyzga
Carmen Felpeto Santero
Lorena Fernández Cabezón
José Luis Gómez Botrán
Juan Gerardo Hernández Delgado

Juan Ibero Caballero
Dina Kacár
Igor Martínez Sánchez
Sonia Méntrida Calleja
Claudia Mérida Shahin
Ignacio Plaza Gordo
Irene Sánchez Pascual
Marta de Vicente García

<https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/environmental-biotechnology>

Biotecnología Medioambiental

El grupo de Biotecnología Ambiental fue creado con el fin de investigar las habilidades metabólicas de bacterias para aplicaciones ambientales. Estudiamos los genes, las enzimas y la regulación de las rutas metabólicas tanto para degradar los contaminantes ambientales como para sintetizar compuestos químicos mediante procesos de biotransformación/biorrefinería (por ejemplo, productos farmacéuticos, biocombustibles, biomateriales, enzimas).

En el grupo trabajamos en la caracterización genética y bioquímica de las rutas catabólicas implicadas en la degradación de esteroides (genes catabólicos y reguladores) utilizando la bacteria *Mycobacterium smegmatis* como organismo modelo. El conocimiento de estas rutas bioquímicas nos permite generar bacterias modificadas genéticamente para la producción de esteroides de interés farmacéutico a partir de sustancias naturales. Además hemos utilizado otros organismos industriales como nuevos chasis como *Corynebacterium* o degradadores de disruptores endocrinos como *Novosphingobium* (proyecto ELISA). En el campo farmacéutico también estamos desarrollando proyectos utilizando técnicas metagenómicas y de ingeniería metabólica para la producción bacteriana de policétidos antitumorales o antioxidantes con el objetivo de definir un proceso biotecnológico que asegure su suministro (proyectos DESPOL y HELIOS). En el grupo también estamos trabajando con cianobacterias para determinar sus aplicaciones en el sector alimentario usando *Arthrosira* (*Spirulina*) como sistema modelo (proyectos INSPIRA1 y A4HW) o explorando nuevas soluciones ambientales usando *Synechococcus* (proyecto Europeo FET-LIAR).

La Química Verde y Sostenible es una de las actividades del grupo dirigidas al desarrollo de bioprocessos industriales limpios con varias aplicaciones: i) Biodesulfuración de petróleo con microorganismos recombinantes (*Rhodococcus*, *Pseudomonas*); ii) Bioenergética para producir biocombustibles (butanol, isobutanol) con microorganismos modificados por ingeniería metabólica (*Clostridium*, *Escherichia*); iii) Biocatalítica para producir enzimas (acilasas, quimosina, amino oxidadas, arabinosa isomerasa, celulasas).

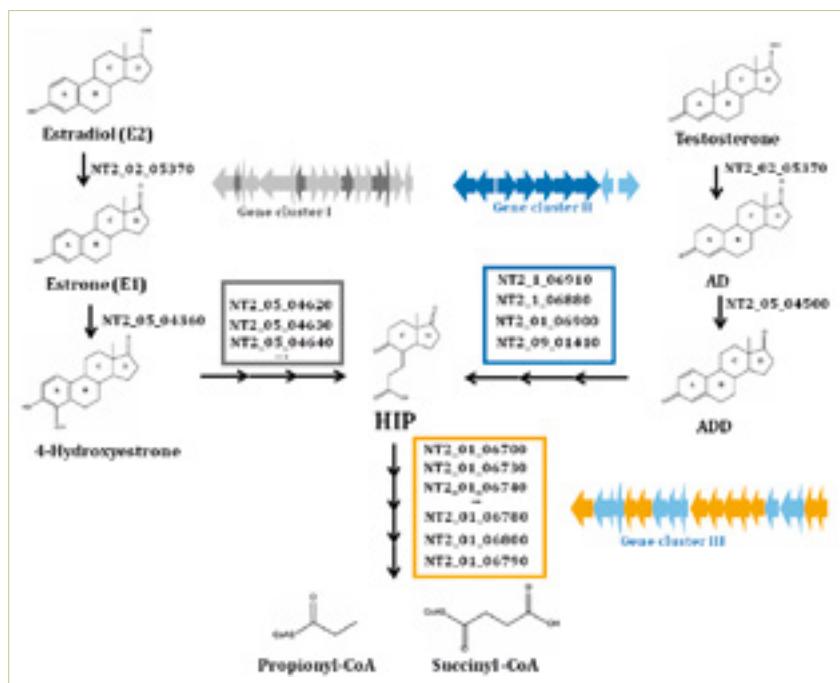
Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Fernández-Cabezón L, Galán B, García JL [2017] Engineering *Mycobacterium smegmatis* for testosterone production. *Microb Biotechnol* 10:151-161.
- Fernández-Cabezón L, García-Fernández E, Galán B, García JL [2017] Molecular characterization of a new gene cluster for steroid degradation in *Mycobacterium smegmatis*. *Environ Microbiol* 7:2546-2563.
- García-Fernández J, Papavinasaundaram K, Galán B, Sassetti CM, García JL [2017] Unravelling the pleiotropic role of the McE4 ATPase in *Mycobacterium smegmatis*. *Environ Microbiol* 7:2564-2576.
- García JL, De Vicente M, Galán B [2017] Microalgae, old sustainable food and fashion nutraceuticals. *Microb Biotechnol* 10(5):1017-1024.
- García-Fernández J, Martínez I, Fernández-Cabezón L, Felpeto-Santero C, García JL, Galán B [2017] Bioconversion of Phytosterols into Androstadienedione by *Mycobacterium smegmatis* CECT 8331. *Methods Mol Biol* 1645:211-225.
- García-Fernández J, Papavinasaundaram K, Galán B, Sassetti CM, García JL [2017] Molecular and functional analysis of the mce4 operon in *Mycobacterium smegmatis*. *Environ Microbiol* 9:3689-3699.
- García-Fernández J, Galán B, Felpeto-Santero C, Barredo JL, García JL [2017] Production of 4-Ene-3-ketosteroids in *Corynebacterium glutamicum*. *Catalysts* 7: 316.
- Fernández-Cabezón L, Galán B, García JL [2018] Unravelling a new catabolic pathway of C-19 steroids in *Mycobacterium smegmatis*. *Environ Microbiol* 20(5):1815-1827.
- Fernández-Cabezón L, Galán B, García JL [2018] New Insights on Steroid Biotechnology. *Front Microbiol* 9:958.
- García-Jiménez B, García JL, Nogales J [2018] FLYCOP: metabolic modeling-based analysis and engineering microbial communities. *Bioinformatics* 34(17):i954-i963.



Financiación | Funding

- RTC-2014-2249-1 (2014-2017) (MINECO)
- XVII Concurso Nacional (2015-2017) (Fundación Ramón Areces)
- S2013/ABI-2783 (2014-2018) (CAM)
- FET-OPEN 686585. H2020 (2016-2019) (EU)
- BIO2015-66960-C3-3-R (2016-2019) (MINECO)
- BIOPOLIS S.L. (2017-2019)

**Figure 1**

Steroid degradation pathways confluence in *Novosphingobium tardaugens* NBR16725.

Environmental Biotechnology

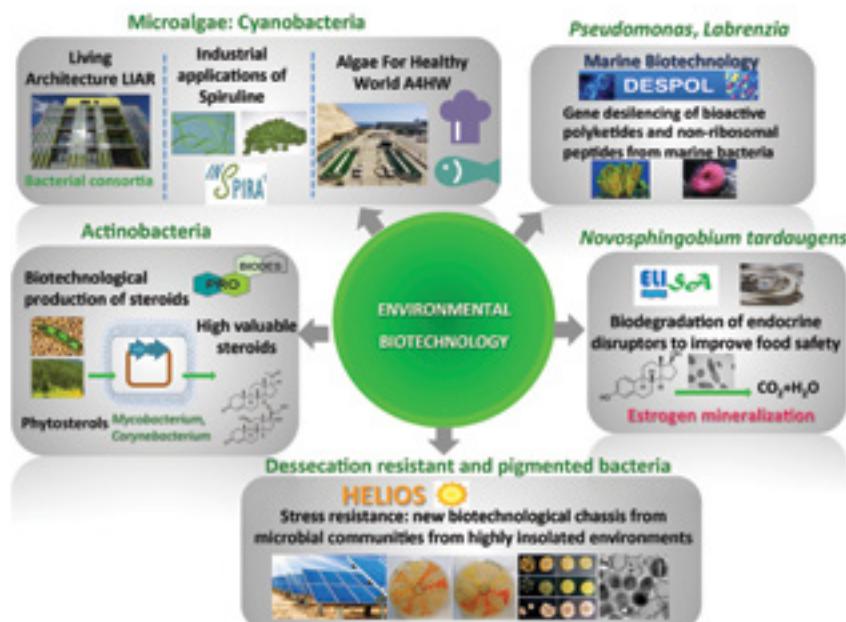
The Environmental Biotechnology group was created to investigate the metabolizing abilities of bacteria for environmental applications. We study the genes, enzymes and regulation of the metabolic pathways to degrade the environmental contaminants and to synthesize chemical compounds by biotransformation/biorefinery processes (e.g., pharmaceuticals, biofuels, biomaterials, enzymes).

The group is working on the genetic and biochemical characterization of the catabolic pathways involved in the degradation of steroids (catabolic and regulatory genes) using the bacterium *Mycobacterium smegmatis* as a model organism. The knowledge of these biochemical pathways allows us to generate genetically modified bacteria for the production of steroids of pharmaceutical interest from natural substances. In addition, we have used other industrial organisms as novel chassis like *Corynebacterium* or degraders of endocrine disruptors like *Novosphingobium* (ELISA project). In the pharmaceutical field we are also developing projects using metagenomic and metabolic engineering techniques for the bacterial production of antitumoral polyketides, carotenoids and antioxidants with the aim of defining a biotechnological process to ensure their supply (DESPOL and HELIOS projects). In the group we are also working with cyanobacteria to explore their applications in the food industry using *Arthrospira* (*Spirulina*) as a model system (INSPIRA1 and A4HW projects) or exploring new environmental solutions using *Synechococcus* (LIAR EU-FET project). Green and sustainable chemistry is also one of the current

activity areas of the group focused in the development of clean industrial bioprocesses with several applications:

i) Biodesulphurization of petroleum with recombinant microorganisms (*Rhodococcus*, *Pseudomonas*);

ii) Bioenergy to produce biofuels (butanol, isobutanol) with metabolically engineered microorganisms (*Clostridium*, *Escherichia*); iii) Biocatalytic to produce enzymes (acylases, chymosin, amino oxidases, arabinose isomerase, cellulases).

**Figure 2**

Projects and research activities.

Eduardo Díaz Fernández

Investigador Científico
ediaz@cib.csic.es



PhD, 1991 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1992-1995 • GBF-National Res. Center for Biotechnology, Braunschweig, Germany
Científico Titular, 1999
Investigador Científico, 2007
Jefe de Grupo, 2012 • CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/environmental-microbiology>

<http://emciblab.com/index.html>

Manuel Carmona Pérez

Científico Titular
mcarmona@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Juan Nogales Enrique
Gonzalo Durante Rodríguez
Helena Gómez Álvarez
Beatriz García Jiménez
Blas Blázquez Castiñeira
Ana Valencia Hernando

Helga Fernández Llamosas
David Sanz Mata
Unai Fernández Arévalo
M.ª Elena Alonso Fernandes
Pablo Iturbe Sanz

Microbiología Medioambiental

Nuestro trabajo se centra en la caracterización de las complejas redes metabólicas y de señalización que controlan en bacterias la degradación de compuestos aromáticos, la resistencia a metales y gases tóxicos, y la utilización de fuentes de energía alternativas y mecanismos de fijación de CO₂, con el objetivo de desarrollar tecnologías sostenibles para la bioconversión de contaminantes y/o residuos biológicos en productos de interés industrial.

Mediante la combinación de técnicas de biología molecular clásica con técnicas de biología de sistemas (ómicas, modelos basados en reconstrucciones metabólicas) estamos caracterizando distintos procesos bacterianos de interés medioambiental. Nuestro trabajo con la beta-Proteobacteria anaerobia facultativa *Azoarcus* sp. CIB ha desvelado nuevas rutas metabólicas aeróbicas y/o anaeróbicas implicadas en la degradación de compuestos aromáticos, así como nuevos sistemas reguladores y de transducción de señales que facilitan la resistencia al efecto tóxico de los contaminantes. Estos estudios han permitido el diseño, mediante ingeniería metabólica de sistemas, de cepas de *Azoarcus* sp. CIB optimizadas para la eliminación y/o bioconversión de compuestos aromáticos y metales pesados contaminantes en productos de valor añadido, tales como los bioplásticos (polihidroxibutirato, PHB) o nanopartículas metálicas, así como el desarrollo de biosensores del estado redox celular. La utilización de fuentes de energía y aceptores de electrones inorgánicos en procesos de respiración celular alternativos también son objeto de investigación.

Por medio de abordajes basados en biología sintética y de sistemas con *Pseudomonas putida* KT2440, una gamma-Proteobacteria

modelo en biotecnología medioambiental, estamos estudiando el potencial bacteriano para la degradación aeróbica de lignina, el polímero aromático más abundante de la naturaleza y uno de los principales excedentes industriales actualmente, y su revalorización hacia la producción de compuestos de interés en el sector de los biomateriales.

Otra línea de investigación se centra en la manipulación genética de *Ralstonia eutropha* H16, una beta-Proteobacteria ampliamente utilizada en la industria, para la eficiente bioconversión de gases tóxicos, e.g. CO, o de efecto invernadero, e.g. CO₂, generados en el reciclaje de biomasa, en compuestos de valor añadido como el PHB, dentro del nuevo concepto de economía circular.

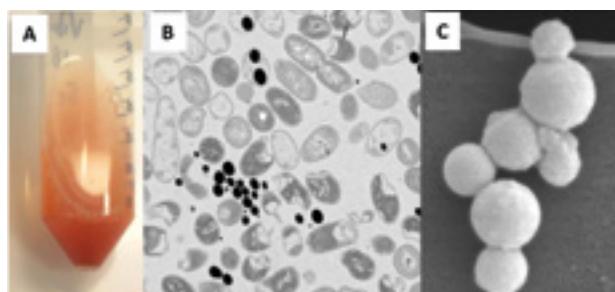


Figure 1

Production of selenium nanoparticles (SeNPs) by *Azoarcus* sp. CIB. A. Cell culture was grown in minimal medium supplemented with selenite. The red color is due to the reduction of selenite to elemental selenium. B. Bacterial cells observed by transmission electron microscopy; the SeNPs produced are visible as black granules. C. Purified SeNPs observed by scanning electron microscopy.

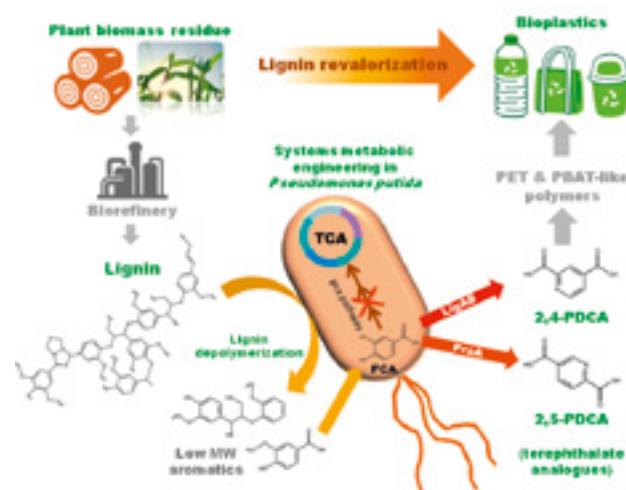


Figure 2

Strategy used for lignin revalorization. Lignin depolymerization generates monoaromatic compounds that are mineralized by *Pseudomonas putida*. Through systems metabolic engineering we have re-directed the metabolism of monoaromatic compounds towards the synthesis of pyridin dicarboxylic acids (2,4 and 2,5-PDCAs) that are used as terephthalate structural analogues for the synthesis of PBAT- and PET-like biopolymers.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Durante-Rodríguez G, Gómez-Álvarez H, Nogales J, Carmona M, Díaz E [2017] One-component systems that regulate the expression of degradation pathways for aromatic compounds. In: *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology Cellular Ecophysiology of Microbe Section* (Ed. T. Krell). *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. DOI 10.1007/978-3-319-20796-4_5-1.
- Martínez I, El-Said Mohamed M, Santos VE, García JL, García-Ochoa F, Díaz E [2017] Metabolic and process engineering for biodesulfurization in Gram-negative bacteria. *J Biotechnol* 262: 47-55.
- Nogales J, García JL, Díaz E [2017] Degradation of aromatic compounds in *Pseudomonas*: A systems biology view. In: *Aerobic utilization of hydrocarbons, oils and lipids* (Ed. F. Rojo). *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. DOI 10.1007/978-3-319-39782-5_32-1.
- Zamarro MT, Barragán MJL, Carmona M, García JL, Díaz E [2017] Engineering a bzd cassette for the anaerobic bioconversion of aromatic compounds. *Microb Biotechnol* 10:1418-1425.
- Fernández-Llamas H, Castro L, Blázquez ML, Díaz E, Carmona M [2017] Speeding up bioproduction of selenium nanoparticles by using *Vibrio natriegens* as microbial factory. *Sci Rep* 7:16046.
- Durante-Rodríguez G, Gómez-Álvarez H, Blázquez B, Fernández-Llamas H, Martín-Moldes Z, Sanz D, Nogales J, Carmona M, Díaz E [2018] Anaerobic pathways for the catabolism of aromatic compounds. In: *Lignin Valorization: Emerging approaches* (Ed. Gregg T. Beckham). Chapter 13: 333-390. The Royal Society of Chemistry Publishing.
- Blázquez B, Carmona M, Díaz E [2018] Transcriptional regulation of the peripheral pathway for the anaerobic catabolism of toluene and *m*-xylene in *Azoarcus* sp. CIB. *Front Microbiol* 9:506.
- Jacoby C, Eipper J, Warnke M, Tiedt O, Mergelsberg M, Stärk HJ, Daus B, Martín-Moldes Z, Zamarro MT, Díaz E, Boll M [2018] Four molybdenum-dependent steroid C25 hydroxylases: heterologous overproduction, role in steroid degradation, and application for 25-hydroxyvitamin D3 synthesis. *mBio* 9: e00694-18.

Financiación | Funding

- ENGICOIN. Project No. 760994 (H2020-NMBP-BIO-2017; European Union)
- BIO2014-59528-JIN (MINECO)
- S2013/ABI-2783 (Comunidad de Madrid)
- XVII CN Ciencias de la Vida y de la Materia (Fundación Ramón Areces)
- PCIN-2014-113 (MINECO)
- BIO2016-79736-R (MINECO)
- CSIC 2016 2 0E 093 (CSIC)

Environmental Microbiology

Our work is focused on the characterization of the complex metabolic and signaling networks that control in bacteria the degradation of aromatic compounds, the resistance to toxic metals and contaminant gases, and the utilization of alternative energy sources and CO₂ fixation mechanisms, with the aim to develop sustainable technologies for the bioconversion of contaminants and/or biowaste into products of industrial interest.

We are characterizing, through molecular biology and systems biology approaches (omics, global metabolic reconstructions), different bacterial processes of environmental relevance. Our work with the facultative anaerobic beta-Proteobacterium *Azoarcus* sp. CIB has revealed new metabolic aerobic and/or anaerobic pathways involved in the degradation of aromatic compounds, as well as novel regulation and signal transduction systems that facilitate resistance to the toxic effect of contaminants. These studies paved the way to systems metabolic engineering approaches to optimize

Azoarcus sp. CIB strains for removal and/or bioconversion of aromatic compounds and contaminant metals into added value products, such as bioplastics (polyhydroxybutyrate, PHB) or metal nanoparticles, and for the development of cellular redox biosensors. The use of inorganic energy sources and electron acceptors in alternative cellular respiration processes are also under study.

By using systems and synthetic biology approaches in *Pseudomonas putida* KT2440, a gamma-Proteobacterium used as model organism in environmental

biotechnology, we are studying the bacterial potential to degrade lignin, the most abundant aromatic polymer in nature and a major industrial residue, for its revalorization towards the synthesis of bulk chemicals.

Another research line is devoted to the genetic manipulation of *Ralstonia eutropha* H16, a beta-Proteobacterium widely used in industry, for the efficient bioconversion of toxic gases, e.g. CO, or greenhouse gases, e.g. CO₂, generated in biomass recycling, into compounds with added value such as PHB, within the new concept of circular economy.



Pedro García González

Investigador Científico
pgarcia@cib.csic.es

PhD, 1982 • Universidad Complutense de Madrid
Posdoctoral, 1985-1986 • Centre National de la Recherche Scientifique, Université Paul Sabatier, Toulouse (Francia)
Científico Titular, 1986
Investigador Científico, 2002 • CIB, CSIC

**Jesús Miguel Sanz Morales**

Científico Titular
jmsanz@cib.csic.es

**Otros miembros | Other members**

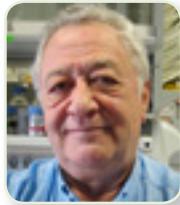
Mirian Domenech Lucas
Roberto Vázquez Fernández

Susana Ruiz García

Ernesto García López

Profesor de Investigación
e.garcia@cib.csic.es

PhD, 1974 • Universidad Complutense de Madrid
Posdoctoral, 1975-1976 • Centre d'Etude de l'Energie Nucleaire, Mol (Bélgica)
Científico Titular, 1979
Investigador Científico, 1986
Profesor de Investigación, 1990 • CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/host-parasite-interplay-pneumococcal-infection>

Interacciones Huésped-Parásito en Infecciones Neumocócicas

Neumococo es uno de los patógenos más relevantes, tanto por las enfermedades en las que está implicado como por sus elevados niveles de resistencia a antibióticos. La lucha contra esta bacteria y otras del tracto respiratorio constituye el eje central de las investigaciones del grupo, e implica la comprensión de la relación huésped-parásito, la asociación con otros patógenos para la formación de biofilms y el diseño de nuevos antimicrobianos.

La nasofaringe y los pulmones sanos están colonizados por diferentes microorganismos que forman biofilms mixtos. Hemos demostrado que la N-acetilcisteína es capaz de destruir con gran eficiencia las células tanto de neumococo como de *Haemophilus influenzae* en biofilms mixtos. Estudios adicionales han puesto de manifiesto que, en contra de lo que se creía, en ausencia de todas las enzimas autolíticas de pared conocidas en neumococo (*LytA*, *LytC* y *CbpD*), la matriz de los biofilms contiene DNA extracelular que permite una formación significativa de los mismos. Por otro lado, el creciente nivel de resistencia a los antibióticos tradicionales que presentan las bacterias patógenas está urgiendo al diseño de nuevas herramientas moleculares que conduzcan a terapias innovadoras. Una alternativa prometedora se basa en las endolisinas codificadas por fagos (también llamadas enzibioticos), enzimas modulares que rompen enlaces específicos del peptidoglicano de las bacterias susceptibles.

En nuestro laboratorio se ensayan nuevas endolisinas dirigidas contra patógenos respiratorios, obtenidas a partir de los correspondientes fagos o por construcción de quimeras fusionando diferentes dominios funcionales. Estas enzimas muestran una gran actividad bactericida tanto frente a cultivos planctónicos como a biofilms. Los resultados *in vitro* se validan en diferentes modelos de ratón o de pez cebra. Otro de los enfoques del laboratorio contempla el diseño, ingeniería y ensayo de nuevas moléculas dirigidas a proteínas de la superficie bacteriana aún no exploradas como dianas terapéuticas, como las proteínas de unión a colina (CBPs) de neumococo. Para ello, el grupo utiliza técnicas de modelado, estructura e ingeniería de proteínas, así como aproximaciones nanotecnológicas que incrementen la actividad de los compuestos seleccionados. Algunos de los resultados obtenidos tienen asimismo importantes implicaciones biotecnológicas que constituyen líneas adicionales de investigación.



Host-Parasite Interplay in Pneumococcal Infection

Pneumococcus is one of the most relevant pathogens because of the diseases it is involved in, as well as its high levels of antibiotic resistance. Fight against this bacterium, and others from the respiratory tract, is the main goal of our research, and this involves the understanding of the host-parasite relationship, the association with other pathogens to build biofilms and the design of novel antimicrobials.

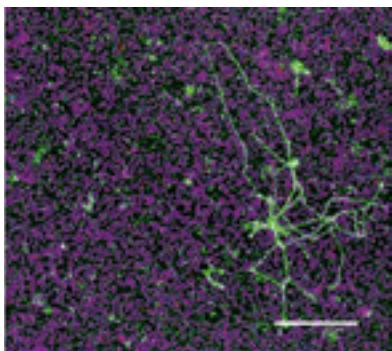


Figure 1

Evidence of the existence of extracellular DNA (eDNA) in pneumococcal biofilms using confocal laser scanning microscopy. A biofilm of *S. pneumoniae* R6 grown for 5 h at 34°C in C-Y medium was stained with a combination of SYTO 59 (red), 7-hydroxy-9H-[1,3-dichloro-9,9-dimethylacridin-2-one (DDAO; blue), and a-dsDNA, followed by Alexa Fluor-488 goat anti-mouse IgG (green). The image is a merge of the three channels. Scale bar = 25 μ m.

The nasopharynx and healthy lungs are colonized by different microorganisms that form mixed biofilms. We have shown that N-acetyl-cysteine is capable of killing with great efficiency the cells of both pneumococcus and *Haemophilus influenzae* growing in mixed biofilms. Additional studies have shown that, in contrast to what was previously thought, the absence of the known pneumococcal autolytic enzymes (LytA, LytC and CbpD) does not hinder the presence of extracellular DNA in the biofilm matrix. Under these conditions, biofilm development can

still take place. On the other hand, the increasing level of resistance to traditional antibiotics presented by pathogenic bacteria is urging the design of new molecular tools leading to innovative therapies. A promising alternative is based on phage-encoded endolysins (also called enzybiotics), modular enzymes that break specific peptidoglycan bonds of susceptible bacteria. In our laboratory, we test new endolysins directed against respiratory pathogens, either isolated from their phage origin or by construction of chimeras fusing different functional domains. These enzymes show a high bactericidal activity both against planktonic cultures and biofilms.

The in vitro results are validated in different mouse or zebrafish models. Another line of research involves the design, engineering and assay of novel molecules affecting polypeptides of the bacterial surface and barely explored as therapeutical targets so far, such as the pneumococcal choline-binding proteins (CBPs). To achieve this, the group makes use of protein modeling, structure and engineering techniques, as well as nanotechnological approaches that enhance the activity of the selected compounds. Some of our results possess valuable biotechnological implications that constitute additional research lines in the laboratory.

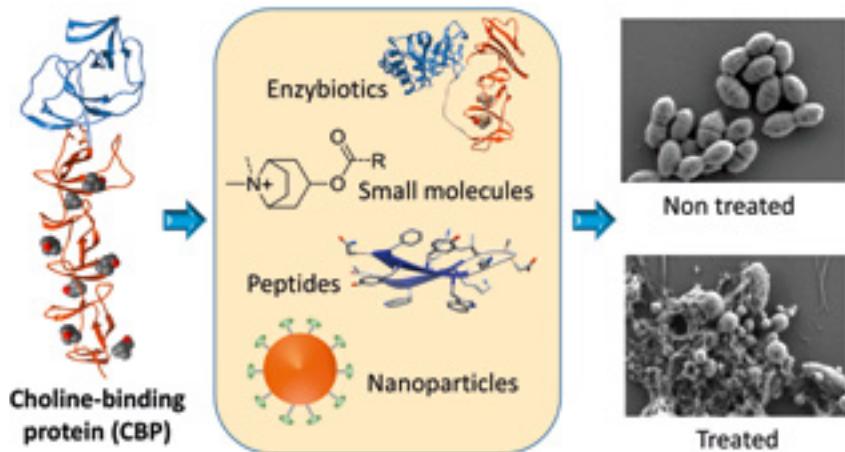


Figure 2

The choline-binding proteins as sources of peptides, polypeptides and small-molecule compounds with antimicrobial activity, both as such or displayed on multivalent nanoparticles.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Vázquez R, Domenech M, Iglesias-Bexiga M, Menéndez M, García P [2017] Csl2, a novel chimeric bacteriophage lysin to fight infections caused by *Streptococcus suis*, an emerging zoonotic pathogen. *Sci Rep* 7:16494.
- Domenech M, García E [2017] N-Acetyl-L-cysteine and cysteamine: new strategies against mixed biofilms of non-encapsulated *Streptococcus pneumoniae* and non-typeable *Haemophilus influenzae*. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e01992-16.
- Domenech M, García E [2017] Fluorescence imaging of *Streptococcus pneumoniae* with the *Helix pomatia* agglutinin (HPA) as a potential, rapid diagnostic tool. *Front Microbiol* 8:1333.
- Corsini B, Díez-Martínez R, Aguinagalde L, González-Camacho F, García-Fernández E, Letrado P, García P, Yuste J [2018] Chemotherapy with phage lysins reduces pneumococcal colonization of the respiratory tract. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e02212-17.
- Vázquez R, García E, García P [2018] Phage lysins for fighting bacterial respiratory infections: a new generation of antimicrobials. *Front Immunol* 9:2252.
- Letrado P, Corsini B, Díez-Martínez R, Bustamante N, Yuste JE, García P [2018] Bactericidal synergism between antibiotics and phage endolysin Cpl-711 to kill multidrug-resistant pneumococcus. *Fut Microbiol* 13:1215-1223.

- Domenech M, García E [2018] Autolysis-independent DNA release in *Streptococcus pneumoniae* in vitro biofilms. *Clin Infect Dis Open Access* 2:114.
- Zamora-Carreras H, Maestro B, Strandberg E, Ulrich A, Sanz JM, Jimenez MA [2018] Roles of amphiphaticity and hydrophobicity in the micelle-driven structural switch of a 14-mer peptide core from a choline-binding repeat. *Chem Eur J* 24:5825-5839.
- Bello-Gil D, Roig-Molina E, Fonseca J, Sarmiento-Fernandez MD, Ferrández M, Franco E, Mira E, Maestro B, Sanz JM [2018] An enzymatic system for decolorisation of wastewater dyes using immobilized CueO laccase-like multicopper oxidase on poly-3-hydroxybutyrate. *Microp Biotech* 11:881-892.
- Bello-Gil D, Maestro B, Fonseca J, Dinjaski N, Prieto MA, Sanz JM [2018] Poly-3-hydroxybutyrate functionalization with BioF-tagged recombinant proteins. *Appl Environ Microbiol* 84: e02595-17.

Financiación | Funding

- CIBER de Enfermedades Respiratorias
- SAF2017-88664-R (MEICOMP)
- BIO2016-79323-R (MINECO)

Pedro Castañera Domínguez

Profesor de Investigación
castan@cib.csic.es

M.Sc. Entomology, 1977 • University of London, UK
PhD Ingeniero Agrónomo, 1981 • Universidad Politécnica de Madrid
Profesor de Investigación, 1989 • CIB, CSIC
Visiting professor • Cornell University, Ithaca, USA (1992-1993)
Coordinador Científico Técnico del Área de Ciencias Agrarias, 1991-1992 • CSIC
Vocal Comisión de Ciencias Agrarias, 1993-2004 • CSIC
Vicedirector, 2002-2008 • CIB, CSIC



Félix Ortego Alonso

Investigador Científico
ortego@cib.csic.es

PhD Entomology, 1993 • University of Arizona, Tucson, USA
Postdoctoral, 1994-1997 • CIB, CSIC.
Científico Titular, 1997 e Investigador Científico, 2003 • CIB, CSIC
Vicedirector, 2008-2009, 2012-2013 • CIB, CSIC
Vocal Comisión de Ciencias Agrarias, 2008-2012 • CSIC



Pedro Hernández Crespo

Científico Titular
pedro@cib.csic.es

Gema M.ª Pérez Farinós

Científica Titular
gpfarinos@cib.csic.es



Otros miembros | Other members

Elena López Errasquín
Nuria Arranz de Pablo
Carolina Navas Jiménez
José Cristian Vidal Quist
Rubén Sancho Cohen
Miguel González Guzmán
Enric Ureña Sala
Miguel González Ximénez de Embún

Clara Benavent Celma
Beatriz Egüen Recuero
Carlos García Benítez
Ana Guillem Amat
Ana Martín Camargo
Guillermo Cabezas Torrero
Javier Castells Sierra
Andoni Jiménez Bravo

<http://cib.csic.es/es/departamentos/biotecnologia-microbiana-y-de-plantas/interaccion-planta-insecto>

Interacción Planta-Insecto

Nuestro objetivo es proporcionar el conocimiento y las herramientas necesarias para el manejo de artrópodos de interés agrícola y médico. La composición multidisciplinar del grupo (biología molecular, fisiología y medio ambiente) permite un abordaje holístico para la implementación de estrategias de Manejo Integrado de Plagas, un sistema de control clave para incrementar la seguridad alimentaria, la calidad ambiental y la salud pública.

Nuestras líneas de investigación son:

A) Seguimiento de la evolución de resistencia al maíz Bt. Desde 1998 estudiamos la evolución de resistencia al maíz Bt de dos plagas clave, *Sesamia nonagrioides* y *Ostrinia nubilalis*, y una secundaria, *Mythimna unipuncta*. Hemos modelizado la evolución de resistencia de *S. nonagrioides* y estamos analizando distintos parámetros biológicos relevantes en el desarrollo de resistencia para optimizar el modelo. Además, hemos detectado por primera vez en la UE un alelo de resistencia al maíz Bt en poblaciones de campo de esta especie.

B) Efectos de insecticidas y maíz Bt sobre los polinizadores silvestres. Estamos investigando cómo puede afectar el uso del maíz Bt y de distintos insecticidas, entre ellos los neonicotínicos, a los polinizadores presentes en cultivos, y cómo contribuyen dichos polinizadores al rendimiento de los mismos.

C) Resistencia a insecticidas en la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata*. Hemos identificado algunos de los mecanismos de resistencia y desarrollado herramientas moleculares de diagnóstico y modelos predictivos que facilitan la detección precoz y el manejo de la resistencia en poblaciones de campo.

D) Efecto de la sequía en la interacción planta-ácaro. Hemos demostrado que el daño ocasionado por ácaros fitófagos (*Tetranychus urticae*, *T. evansi* y *Aculops lycopersici*) en plantas de tomate es mayor en aquellas variedades que acumulan nutrientes (azúcares y aminoácidos libres) en respuesta a las condiciones de sequía y/o infestación por ácaro. Estamos analizando las bases moleculares, fisiológicas y metabólicas de estas interacciones.

E) Fisiología y biología molecular de ácaros causantes de alergia. Hemos desarrollado un sistema para la identificación molecular de especies de ácaros del polvo, estudiamos la expresión de alergenos en respuesta a los cambios en el entorno, y estamos desarrollando nuevos métodos para la estandarización de extractos alergénicos que se utilizan en inmunoterapia.



Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Ximénez-Embún MG, González-Guzmán M, Arbona V, Gómez-Cadenas A, Ortego F, Castañera P [2018] Plant-mediated effects of water deficit on the performance of *Tetranychus evansi* on tomato drought-adapted accessions. *Front Plant Sci* 9:1490.
- Farinós GP, Hernández-Crespo P, Ortego F, Castañera P [2018] Monitoring of *Sesamia nonagrioides* resistance to MON 810 maize in the European Union: lessons from a long-term harmonized plan. *Pest Manag Sci* 74:557-568
- Camargo AM, Andow DA, Castañera P, Farinós GP [2018] First detection of a *Sesamia nonagrioides* resistance allele to Bt maize in Europe. *Scientific Rep* 8:3977.
- Arias-Martín M, García M, Castañera P, Ortego F, Farinós GP [2018] Farm-scale evaluation of the impact of Cry1Ab Bt maize on canopy nontarget arthropods: a 3-year study. *Insect Science* 25:87-98.
- García-Ruiz E, Loureiro I, Farinós GP, Gómez P, Gutiérrez E, Sánchez FJ, Escorial MC, Ortego F, Chueca MC, Castañera P [2018] Weeds and ground-dwelling predators' response to two different weed management systems in glyphosate-tolerant cotton: a farm-scale study. *Plos One* 13: e0191408.
- Santamaría ME, Auger P, Martínez M, Migeon A, Castañera P, Díaz I, Navajas M, Ortego F [2018] Host plant use by two distinct lineages of the tomato red spider mite, *Tetranychus evansi*, differing in their distribution range. *J Pest Sci* 91:169-179.

Financiación | Funding

- AGL2016-76516-R (MINECO) (2017-2019)
- AGL2015-73235-JIN (MINECO) (2016-2018)
- AGL2015-64825-R (MINECO) (2016-2019)
- JPI-FACCE Era Net Plus Ref 618105 (EC) (2015-2017)
- AGL2013-42632-R (MINECO) (2014-2017)
- Contrato de Apoyo Tecnológico (FMC Corporation) (2015-2017)
- Contrato de Apoyo Tecnológico (Monsanto Europe SA/NV) (2012-2019)
- Contrato de Apoyo Tecnológico (ALK-Abelló) (2016-2019)

Insect-Plant Interaction

Our aim is to provide knowledge-based insights and novel tools for managing arthropods of agricultural and medical relevance. The multidisciplinary composition of the group (molecular biology, physiology and environmental sciences) allows a holistic approach for the implementation of Integrated Pest Management strategies, a key issue to increase food security, environmental quality and public health.

Our current research is focused on:

A) Resistance monitoring to Bt maize. Since 1998 we are studying the evolution of resistance to Bt maize of two key maize pests, *Sesamia nonagrioides* and *Ostrinia nubilalis*, and a secondary one, *Mythimna unipuncta*. We have modeled the resistance evolution of *S. nonagrioides* and we are analyzing different biological parameters relevant in the development of resistance to optimize the model. In addition, we have detected for the first time in the EU an allele of resistance to Bt maize in field populations of this species.

B) Effects of insecticides and Bt maize on wild pollinators. We are investigating

how the use of Bt maize and different insecticides, including neonicotinoids, can affect the pollinators present in crops, and how these pollinators contribute to yield.

C) Insecticide resistance in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. We have identified some of the resistance mechanisms and developed molecular diagnostic tools and predictive models to facilitate the early detection of resistance and the implementation of resistance management strategies in field populations.

D) Effect of drought on plant-mite interaction. Our studies revealed that the damage caused by phytophagous mites (*Tetranychus urticae*, *T. evansi*

and *Aculops lycopersici*) in tomato plants is higher for those varieties that accumulate nutrients (free sugars and aminoacids) in response to water-shortage conditions and/or mite infestation. We are analyzing the molecular, physiological and metabolic basis of these interactions.

E) Studies on the physiology and molecular biology of allergy producing mites. We have developed molecular tools for species identification of dust mites, we are studying allergen expression in mites in response to changes in the environment and we are developing new methods for the standardization of allergenic extracts used in immunotherapy.

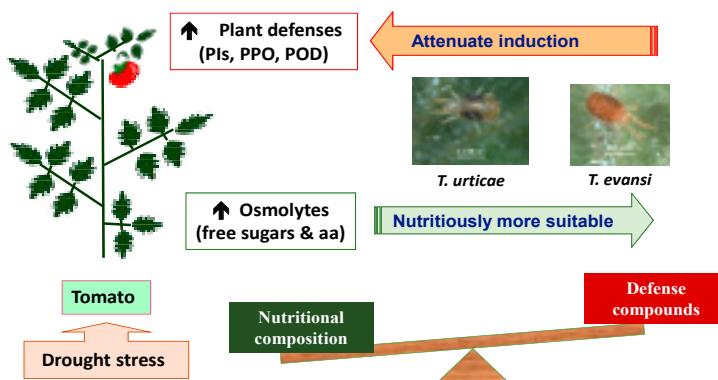


Figure 1

The performance of phytophagous mites on tomato plants under drought stress depends on:
 a) the accumulation of free sugars and amino acids used by the plant for osmotic adjustment;
 b) the capability of the mites to attenuate the induction of plant defenses.

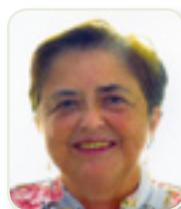


Figure 2

Xylocopa violacea (Hymenoptera: Anthophoridae) fully covered in sunflower pollen. Wild pollinators, such as this carpenter bee, are usually found in mass flowering crops.

Paloma López García

Investigadora Científica
plg@cib.csic.es



PhD, 1978

Postdoctoral 1978-1979 • Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Science, Varsovia, Poland

Fullbright fellow, 1981 • Brookhaven National Laboratory, Upton, USA

Research associated, 1983 • Brookhaven National Laboratory, Upton, USA

Científica Titular, 1985 • CIB

Jefa de Grupo, 1987 • CIB

Investigadora Científica, 1992 • CIB

Gloria del Solar Dongil

Investigadora Científica
gdelsolar@cib.csic.es



PhD, 1991 • Universidad Complutense de Madrid

Científica Titular, 2002 • CIB

Jefa de Grupo, 2003 • CIB

Investigadora Científica, 2009 • CIB

Otros miembros | Other members

Norhane Besrour Aouam
M.ª Luz Mohedano Bonillo

Adrián Pérez Ramos
José Ángel Ruiz-Masó



<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biotecnologia-microbiana-y-de-plantas/biología-molecular-de-bacterias-gram-positivas>

Biología Molecular de Bacterias Gram-positivas

Las bacterias Gram-positivas incluyen microorganismos patógenos, como algunas especies pertenecientes al género *Streptococcus*, y otros beneficiosos para el hombre, como las bacterias lácticas (BAL), algunas de las cuales se consideran probióticas. Nuestro grupo estudia diversos aspectos de su biología con impacto en la salud y en la nutrición, tales como su interacción con células eucarióticas, sus plásmidos y los metabolitos que producen.

Durante el bienio 2015-2016, la investigación del grupo se ha centrado primordialmente en: (i) el estudio de la producción y funcionalidad de polisacáridos de las BAL, (ii) desarrollo y utilización de vectores plasmídicos basados en la expresión de la proteína fluorescente mCherry, para detectar tanto expresión génica, como la capacidad de colonización de las BAL y (iii) el plásmido promiscuo pMV158 como sistema modelo de replicación y control. (i) La caracterización y evaluación *in vitro* e *in vivo* de homopolisacáridos (HoPS, dextranos y β -glucanos) producidos por BAL aisladas de alimentos y bebidas indican que poseen actividad inmunomoduladora (Fig. 1) de interés para el desarrollo de alimentos y piensos funcionales. (ii) Los vectores plasmídicos desarrollados en nuestro laboratorio y comercializados por Solmeglas (Pozuelo de Alarcón, Madrid, España) nos han permitido detectar LAB probióticas productoras de HoPS en el tracto digestivo del pez zebra y caracterizar la regulación de la expresión de la dextransacarasa responsable de la síntesis de dextrano en *Lactobacillus* y de la producción de sorbitol en *Pediococcus*. (iii) El control de la replicación estable de pMV158 se ejerce por la acción sinérgica de dos elementos codificados por el plásmido: la

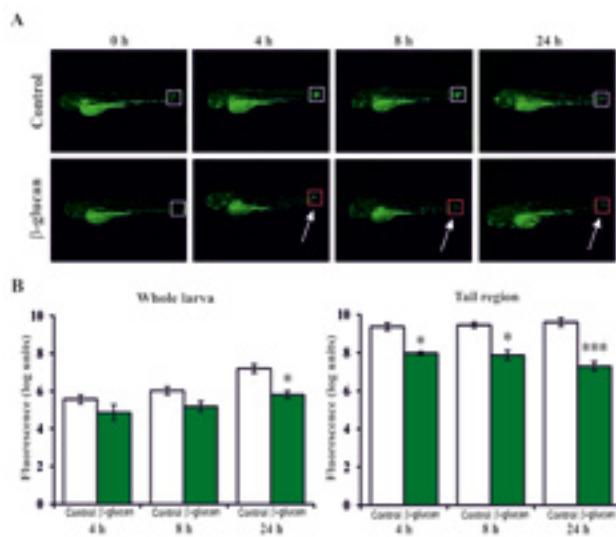


Figure 1

Anti-inflammatory effect of *P. parvulus* 2.6 β -glucan in an inflammation model of the Tg (mpx:GFP) zebrafish line. The inflammation was induced by cutting off the apical region of the tail. (A) Images of larvae treated and untreated with the β -glucan. Squares mark areas of inflammation, red with less migration of neutrophils than white. (B) The GFP fluorescence emitted by the neutrophils was quantified in the whole larvae and in their tails. * $P \leq 0.05$ and ** $P \leq 0.01$.

proteína CopG que reprime la transcripción del operón *copG-repB*, y el RNAII antisentido que inhibe la traducción del gen esencial *repB*. Hemos visto que el lazo regulador mediado por CopG tiene también un papel clave en el establecimiento del plásmido en un nuevo huésped. En ausencia de CopG hay una rápida repoblación de pMV158 hasta que se alcanza el número de copias característico, mientras que la repoblación del plásmido se anula cuando el represor está presente en la célula receptora, lo que conlleva la máxima tasa de pérdida plasmídica (Fig. 2). Así, el lazo regulador mediado por CopG representa un mecanismo de emergencia que permite la fuerte expresión de *repB* durante el establecimiento del plásmido, favoreciendo la promiscuidad de pMV158.



Molecular Biology of Gram-positive Bacteria

Gram-positive bacteria include pathogenic organisms, such as species belonging to the *Streptococcus* genus, but also other strains that are beneficial to human health, such as lactic acid bacteria (LAB) with probiotic properties. Our group studies several aspects of the biology of Gram-positive bacteria which impact on human health, such as their interaction with eukaryotic cells, their plasmids and their metabolites.

During 2017-2018, the main targets of the group were: (i) the study of the production and functionality of exopolysaccharides from LAB, (ii) the development and utilization of plasmid vectors based on the expression of the mCherry fluorescent protein for detection in LAB of gene expression and their colonization capability and (iii) the promiscuous pMV158 plasmid as a model system for replication and control. (i) The characterization as well as the in vitro and in vivo evaluation of homopolysaccharides (HoPS, dextrans and β -glucans) synthesized by LAB isolated from food and beverages indicated that they have immunomodulatory activity (Fig. 1) with potential for development of functional food and feed.

(ii) The plasmidic vectors developed in our laboratory and commercialized by Solmeglas (Pozuelo de Alarcón, Madrid, España) have allowed to detect HoPS-producing LAB in the digestive tract of the zebrafish and to characterize the regulation of expression of the dextranase responsible for the dextran synthesis in *Lactobacillus* as well as that of the production of sorbitol in *Pediococcus*. (iii) Control of the steady-state replication of pMV158 is exerted by the synergistic action of two plasmid-encoded elements, namely protein CopG that represses transcription of the copG-repB operon, and antisense RNAII that inhibits translation of the essential repB gene. We show that the CopG-mediated regulatory

loop also has a key role in the establishment of the plasmid in a new host. We find that in the absence of CopG pMV158 repopulates rapidly to reach the steady-state copy number, whereas plasmid repopulation is abolished when the repressor is present in the recipient cell, which results in maximal plasmid loss rate (Fig. 2). Thus, the CopG-mediated regulatory loop represents an emergency mechanism enabling strong expression of the repB gene during the plasmid establishment, which can benefit the pMV158 promiscuity.

Financiación | Funding

- AGL2015-71923-REDT (MINECO)
- AGL2015-65010-C3-1-R (MINECO)
- BIO2015-69085-REDC (MINECO)
- 917PTE0537 (CYTED)
- PCIN-2017-075 (MINECO)
- 201820E078 (CSIC)

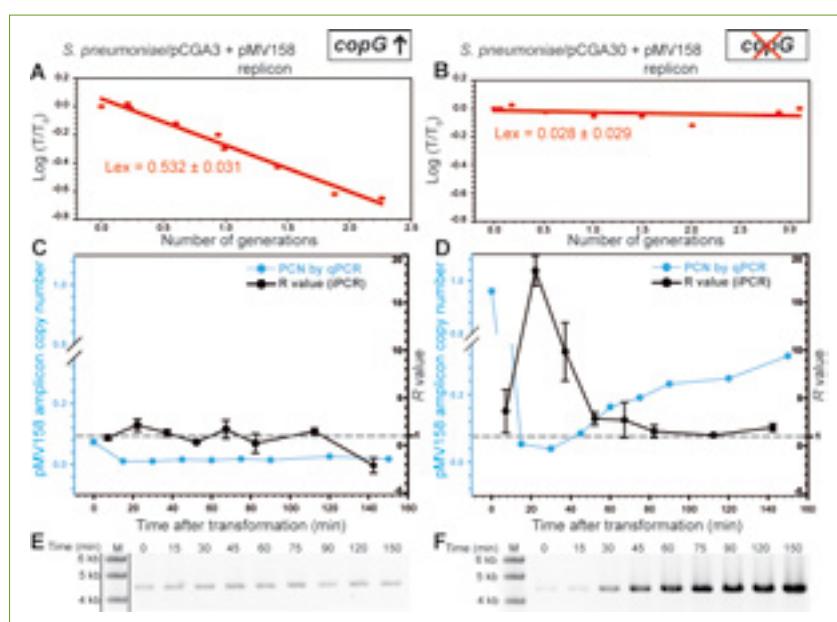


Figure 2

Effect of CopG on plasmid establishment. Experimental loss rate (L_{ex}) of pMV158 in pneumococcal transformants that either harbor (A) or lack (B) the copG gene. The graphs in (C) and (D) show the impact of CopG on the kinetics of pMV158 repopulation (R is the plasmid replication rate). Panels (E) and (F) show the *in vivo* amplification of the incoming plasmid DNA in the presence or absence of CopG, respectively.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Pérez-Ramos A, Mohedano ML, Pardo, MA, López P [2018] β -glucan-producing *Pediococcus parvulus* 2.6: test of probiotic and immunomodulatory properties in zebrafish models. *Front Microbiol* 9:1684.
- Zarour K, Prieto A, Pérez-Ramos A, Kihal M, López P [2018] Analysis of technological and probiotic properties of Algerian *Leuconostoc mesenteroides* strains isolated from dairy and non-dairy products. *J Funct Foods* 49:351-361.
- Llamas-Arriba MA, Pérez-Ramos A, Puertas AI, López P, Dueñas MT, Prieto A [2018] Characterization of *Pediococcus parvulus* CUPV141: a β -D-glucan- and heteropolysaccharide-producing bacterium. *Front Microbiol* 9:2041. doi: 10.3389/fmicb.2018.02041
- Hernández-Alcántara AM, Wacker C, Llamas MG, López P, Pérez-Chabala ML [2018] Probiotic properties and stress response of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked meat products. *LWT-Food Sci Technol* 91:249-257.
- Pérez-Ramos A, Werning ML, Prieto A, Russo P, Spano G, Mohedano ML, López P [2017] Characterization of the sorbitol utilization cluster of the probiotic *Pediococcus parvulus* 2.6: genetic, functional and complementation studies in heterologous hosts. *Front Microbiol* 8: 2393.
- Ruiz-Masó JA, Luengo LM, Moreno-Córdoba I, Díaz-Orejas R, del Solar G [2017] Successful establishment of plasmids R1 and pMV158 in a new host requires the relief of the transcriptional repression of their essential rep genes. *Front Microbiol* 8:2367.
- Nácher-Vázquez M, Ruiz-Masó JA, Mohedano ML, del Solar G, Aznar R, López P [2017] Dextransucrase expression is concomitant with that of replication and maintenance functions of the pMV1 plasmid in *Lactobacillus sakei* MN1. *Front Microbiol* 8:2281.
- Zarour K, Vieco N, Pérez-Ramos A, Nácher-Vázquez M, Mohedano ML, López P [2017] Food ingredients synthesised by lactic acid bacteria. *Handbook of Food Bioengineering* (Multi Volume SET I-XX), Volume V: Microbial production of ingredients and additives, AM Holban, AM Grumezescu Eds., Elsevier (Academic Press), USA. ISBN:9780128115206
- Zarour K, Llamas MG, Prieto A, Rúas-Madiedo P, Dueñas MT, Fernández de Palencia P, Aznar R, Kihal M, López P [2017] Rheology and bioactivity of high molecular weight dextrans synthesised by lactic acid bacteria. *Carbohydr Polym* 174:646-657.
- Nácher-Vázquez M, Iturria I, Zarour K, Mohedano ML, Aznar R, Pardo MA, López P [2017] Dextransucrase expression by *Lactobacillus sakei* MN1 coincides with reduced autoagglutination, biofilm formation and epithelial cell adhesion. *Carbohydr Polym* 168:22-31.

Tomás Canto Ceballos

Científico Titular
tomás.canto@cib.csic.es

PhD, 1994 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1995-1996 • Cornell University, USA
Tenured Research Scientist, 1997-2007 • the Scottish Crop Research Institute (currently the James Hutton Institute), Scotland, UK
Científico Titular, 2007 • CIB, CSIC



Francisco Tenllado Peralo

Científico Titular
tenllado@cib.csic.es

PhD, 1995 • Universidad Autónoma de Madrid
Postdoctoral, 1997-1999 • Universidad de Leiden, Países Bajos
Científico Titular, 2003 • CIB, CSIC



W <https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/molecular-plantvirusvector-interactions>

Otros miembros | Other members

Montserrat Llorente de Mingo
Francisco Javier del Toro Serna

Emmanuel Aguilar Parras

Interacciones Moleculares Planta/Virus/Vector

Las enfermedades virales en cultivos vegetales afectan seriamente a la producción de alimentos. La investigación de interacciones entre factores de la planta, virus y vector transmisor, así como de efectos de las infecciones virales en la relación de la planta con su medio ambiente es crucial para el diseño de estrategias biotecnológicas que garanticen la seguridad alimentaria. Nuestro grupo las estudia mediante aproximaciones genómicas, proteómicas y funcionales.

Nuestro grupo investiga interacciones entre factores de virus modelo de RNA y de plantas experimentales en infecciones compatibles, y sus implicaciones biológicas. Nuestra hipótesis de trabajo es que las alteraciones causadas por dichos virus en la homeostasis de la planta a través de las propiedades de sus proteínas y ácidos nucleicos son en gran medida responsables de

la patogenicidad de la infección viral. En particular estudiamos los determinantes de patogenicidad virales HCPo de potyvirus, 2b de cucumovirus y p25 de potexvirus, que interfieren procesos de la planta mediados por RNAs pequeños.

También estudiamos las respuestas de plantas infectadas a otros estreses, y efectos de parámetros ambientales en interacciones virus-planta, con respecto a fitness viral y a síntomas de infección. Descubrimientos recientes sugieren una probable conexión entre respuestas de plantas a virus y mayores tolerancias a otros estreses bióticos o abióticos. Las causas pueden radicar en que las plantas usan rutas de señalización de respuesta a diferentes estreses interconectadas, incluyendo a los virus, y es probable que ocurran cross-talks entre las mismas. Por ello, estudiamos cómo infecciones virales que conllevan un amplio reprogramado del metabolismo del huésped podrían ofrecer ventajas competitivas (como una mejor aclimatación metabólica de la planta infectada frente a estreses), y también si estas tolerancias podrían ser conferidas experimentalmente por infecciones sublímiales y menos patogénicas.

Para estos estudios sobre interacciones entre factores de virus y plantas y su relevancia funcional, y también para identificar genes y circuitos relacionados con la expresión de síntomas y tolerancias a estreses, utilizamos varias técnicas moleculares como son la secuenciación masiva, ensayos de función, estudios de interacciones en vivo y en vitro, transformación genética de plantas, y genética reversa basadas en el silenciamiento génico inducido por virus.

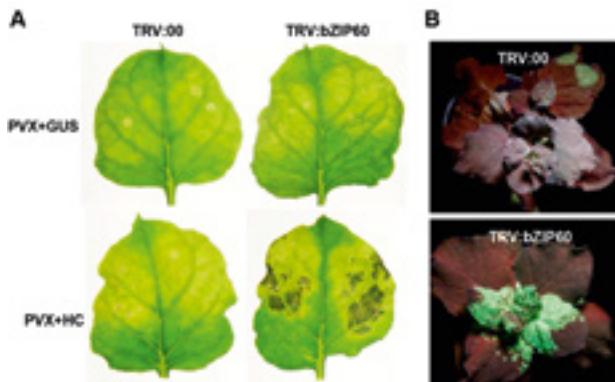


Figure 1

The unfolded protein response (UPR) ameliorates the necrosis produced by the infection with PVX-HC (A) and the systemic movement of the virus (B). *Nicotiana benthamiana* plants silenced for the bZIP60 transcription factor (TRV2:bZIP60) or control (TRV2:00) were infected with Potato virus X (PVX) in the presence of the potyviral factor HCPo or GUS as control. PVX harbors the reported gene GFP.



Molecular Plant/Virus/Vector Interactions

Virus diseases in crops seriously affect the yield and the quality of the food produced. Research on interactions between factors from the plant, virus and the transmission vector, as well as on effects of viral infections on the relation of the plant with its surrounding environment is crucial to the design of biotechnology strategies that will secure food production. Our group studies them by combining genomic, proteomic and molecular functional approaches.

Our group investigates molecular interactions in compatible infections between factors of model RNA viruses and experimental plants, and their functional significance. We work on the hypothesis that alterations caused by viruses on plant homeostasis through their proteins and nucleic acids are to a great extent responsible for viral pathogenicity. In particular we study viral pathogenicity determinants such as potyviral HCPro, the cucumoviral 2b protein, or the potexviral P25 protein, which interfere processes in the plant mediated by small RNAs.

We also study the responses of infected plants to other stresses, and effects of

environmental parameters on outcomes of plant-virus interactions with regard to viral fitness and infection symptoms. Recent findings suggest a probable connection between responses of plants to viral infections and their enhanced tolerances to other biotic or abiotic stresses. The causes may relate to the fact that plants use networks of interconnected signaling pathways to respond to various ambient stresses, including viruses, and cross-talks between different signaling responses may likely occur. We are thus testing how virus infections that lead to ample reprogramming of host metabolism could offer a competitive advantage, i. e., metabolic acclimation of the infected

plant against environmental stresses, and also whether increased tolerances to stresses could be achieved experimentally under environmental conditions that lead to subliminal, less pathogenic infections.

For these studies on interactions between plant and virus factors, on their functional relevance, and also to identify the genes and circuits involved in symptom expression and tolerances to stresses, we use a variety of molecular techniques including massive sequencing, functional assays, *in vivo* and *in vitro* functional interaction studies, plant genetic transformation and reverse genetic approaches based on virus-induced gene silencing.

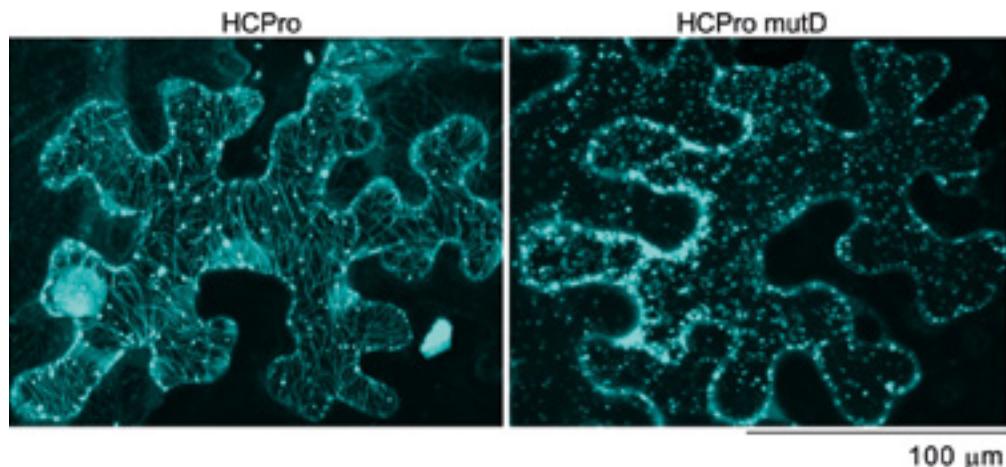


Figure 2

The abilities of HCPro to mediate potyvirus transmission by its insect vectors, and to relocate to the microtubule cytoskeleton under conditions of osmotic stress, correlate: BiFC-derived fluorescence in stressed epidermal cells from either native HCPro or from a non-aphid transmissible HCPro mutant D (left and right panel, respectively). Coating of the filamentous network is only visible in the left panel.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Aguilar E, del Toro F, Brosseau C, Moffett P, Canto T, and Tenllado F [2018] Cell death triggered by the P25 protein in Potato virus X-associated synergisms results from ER stress in *Nicotiana benthamiana*. *Mol Plant Pathol.* 20(2):194-210.
- del Toro F, Mencia E, Aguilar E, Tenllado F, Canto T [2018] HCPro-mediated transmission by aphids of purified virions does not require its silencing suppression function and correlates with its ability to coat cell microtubules in loss-of-function mutant studies. *Virology* 525:10-18.
- Vinutha T, Kumar G, Garg V, Canto T, Palukaitis P, Ramesh SV, Praveen S [2018] Tomato geminivirus encoded RNAi suppressor protein, AC4 interacts with host AGO4 and precludes viral DNA methylation. *Gene* 678:184-195.
- del Toro F, Rakhshandehroo F, Larruy B, Aguilar E, Tenllado F, Canto T [2017] Effects of simultaneously elevated temperature and CO₂ levels on *Nicotiana benthamiana* and its infection by different positive-sense RNA viruses are cumulative and virus type-specific. *Virology* 511:184-192.
- Aguilar E, del Toro F, Canto T, Tenllado F [2017] Identification of MAPKs as signal transduction components required for the cell death response during compatible infection by the synergistic pair Potato virus X-Potato virus Y. *Virology* 509:178-184.

- Aguilar E, Cutrona C, del Toro F, Vallarino JG, Osorio S, Pérez-Bueno ML, Baron M, Chung Bong-Nam, Canto T, Tenllado F [2017] Virulence determines beneficial trade-offs in the response of virus-infected plants to drought via induction of salicylic acid. *Plant Cell Environ* 40:2909-2930.
- Singha A, Permarb V, Jainb RK, Goswamia S, Kumara RR, Canto T, Palukaitis P, Praveen S [2017] Induction of cell Death by tospoviral protein NSs and the motif critical for cell death does not control RNA silencing suppression activity. *Virology* 508: 108-117
- Choi KS, del Toro FJ, Tenllado F, Canto T, Chung B-N [2017] A Model to Explain Temperature Dependent Systemic Infection of Potato Plants by Potato virus Y. *Plant Pathol J.* 33(2):206-211.
- del Toro FJ, Donaire I, Aguilar E, Chung B-N, Tenllado F, Canto T [2017] Potato virus Y HCPro suppression of antiviral silencing in *Nicotiana benthamiana* plants correlates with its ability to bind *in vivo* to 21- and 22-nucleotide small RNAs of viral sequence. *J Virol* 26:91(12).

Financiación | Funding

- BIO2016-75619-R (MINECO) 2017-2019
- COOPA20310 (I-COOP-CSIC) 2018-2019

Francisco Javier Medina Díaz

Investigador Científico
fjmedina@cib.csic.es



PhD Ciencias Biológicas, 1979 • Universidad Complutense de Madrid
Profesor Ayudante, 1974-1976 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1979-80 • Instituto de Biología Celular, CSIC
Científico Titular, 1981
Jefe de grupo, 1997
Investigador Científico, 2003 • CIB, CSIC

Otros miembros | Other members

Raúl Herranz Barranco
Malgorzata Ciska

Alicia Villacampa Calvo
Aránzazu Manzano Pérez



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/plant-cell-nucleolus-proliferation-microgravity>

Nucleolo, Proliferación Celular y Microgravedad en Plantas

La exploración espacial es uno de los grandes retos de la humanidad. Las plantas deben acompañar necesariamente al ser humano en estas empresas, proporcionando nutrientes y bienestar y capturando residuos. El ambiente espacial produce un importante stress abiótico al crecimiento de las plantas, cuyos mecanismos biológicos necesitamos conocer y contrarrestar para hacer posible el cultivo eficiente de plantas en el espacio y en otros planetas.

Conocer los efectos del ambiente espacial sobre el crecimiento de las plantas y promover su adaptación es nuestro principal objetivo. Para ello investigamos el tejido meristemático de la raíz, constituido por células totipotentes, altamente proliferantes, que proveen nuevas células para la diferenciación y el desarrollo a lo largo de la vida de la planta. Desde nuestros primeros experimentos en el espacio conocemos que la ausencia de gravedad induce un stress en estas células, desacoplando la proliferación y el crecimiento celular. De no ser contrarrestado, este stress pondría en riesgo la supervivencia de la planta. Nuestros estudios tienen lugar en dos escenarios principales: la Estación Espacial Internacional (ISS) donde realizamos experimentos de crecimiento de plantas en microgravedad real, y diferentes instalaciones terrestres de microgravedad simulada (Fig. 1). En la ISS hemos liderado el experimento "Seedling Growth", una colaboración de la NASA y la ESA, en el que se ha analizado el papel conjunto de la gravedad y la luz en el crecimiento de las plantas. Los resultados de expresión génica y localización cuantitativa de marcadores celulares funcionales muestran que la luz roja es capaz de compensar al menos parte de las alteraciones inducidas por la ausencia de gravedad. En el dispositivo "Random Positioning Machine", del Centro ESTEC de la ESA se ha puesto a punto una nueva tecnología de simulación de la gravedad parcial existente en la Luna y en Marte. Hemos encontrado que la gravedad de la Luna es comparable a la microgravedad en la producción de alteraciones celulares, mientras que la gravedad

de Marte es capaz de orientar el crecimiento de las plantas. Además, se han utilizado cultivos celulares en microgravedad simulada para investigar las alteraciones del ciclo celular. El ciclo celular se acelera como consecuencia de cambios en la expresión de genes reguladores que actúan en los dos principales puntos de chequeo del ciclo, en G2/M y en G1/S (Fig. 2).

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Kamal KY, van Loon JJWA, Medina FJ, Herranz R [2019] Differential transcriptional profile through cell cycle progression in *Arabidopsis* cultures under simulated microgravity. *Genomics*. doi: 10.1016/j.ygeno.2019.01.007
- Valbuena MA, Manzano A, Vandenberg JP, Pereda-Loth V, Carnero-Díaz E, Edelmann RE, Kiss JZ, Herranz R, Medina FJ [2018] The combined effects of real or simulated microgravity and red-light photoactivation on plant root meristematic cells. *Planta* 248:691-704.
- Manzano A, Herranz R, den Toom LA, te Slaa S, Borst G, Visser M, Medina FJ, van Loon JJWA [2018] Novel, Moon and Mars, partial gravity simulation paradigms and their effects on the balance between cell growth and cell proliferation during early plant development. *Npj Microgravity* 4:9.
- Kamal KY, Herranz R, van Loon JJWA, Medina FJ [2018] Simulated microgravity, Mars gravity, and 2g hypergravity affect cell cycle regulation, ribosome biogenesis, and epigenetics in *Arabidopsis* cell cultures. *Sci Rep* 8:6424.
- Kamal KY, Herranz R, Loon JJWA, Medina FJ [2018] Cell cycle acceleration and changes in essential nuclear functions induced by simulated microgravity in a synchronized *Arabidopsis* cell culture. *Plant Cell Environ* 0:1-15.
- Kamal KY, van Loon JJWA, Medina FJ, Herranz R [2017] Embedding *Arabidopsis* plant cell suspensions in low-melting agarose facilitates altered gravity studies. *Microgravity Sci Technol* 29:115-119.

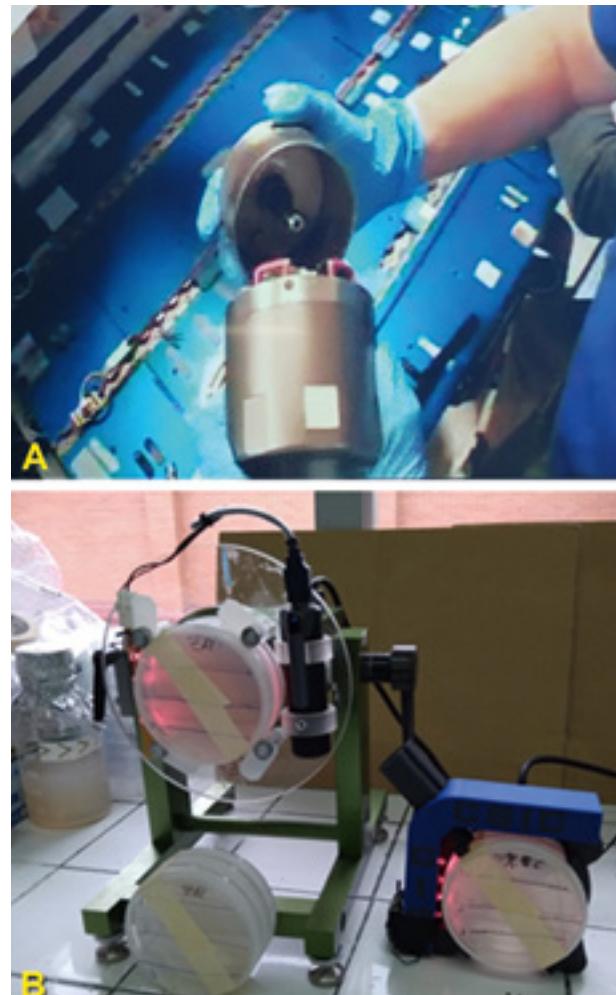
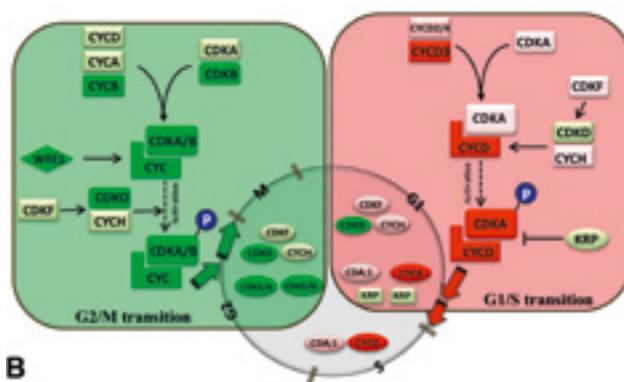
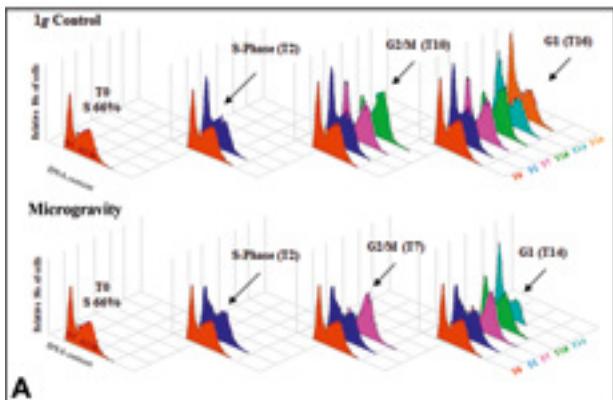


Figure 1

Experiments in real and simulated microgravity. A: Operations of the space experiment "Seedling Growth" in ISS. An astronaut manipulates the "FixBox" device for chemical fixation of samples, developed by the Spanish company Sener for this experiment. B: Setup of the ZGIP clinostat, awarded by United Nations to our laboratory to perform experiments in simulated microgravity.

**Figure 2**

Microgravity alters cell cycle regulation. A: Flow cytometry of synchronic cells. Cell cycle accelerates under microgravity due to shortening of G2/M phase and slight elongation of G1 phase. B: Expression of core cell cycle regulatory genes in checkpoints G2/M (upregulated-green) and G1/S (downregulated-red). *Plant Cell Environ* (2018).

Plant Cell Nucleolus, Proliferation and Microgravity

Space exploration is a great challenge for humankind. Plants must necessarily be companions of humans in these enterprises, providing nutrients and wellbeing and removing waste products. Space environment produces a noticeable abiotic stress for plant growth, whose biological mechanisms need to be known and counteracted in order to make possible the efficient culture of plants in space and in other planets.

Knowing the effects of the space environment on the growth of plants and promoting their adaptation is our major objective. We address this objective by investigating the meristematic tissue of the root, made up of totipotent, highly proliferating cells that provide new cells for differentiation and development throughout the life of the plant. From our first experiments in space, we know that the absence of gravity induces stress in these cells, decoupling cell proliferation and growth. If not counteracted, this stress would jeopardize the survival of the plant. Our studies take place in two main

scenarios: the International Space Station (ISS) where we perform plant growth experiments in real microgravity, and different simulated microgravity terrestrial installations (Fig. 1). In the ISS, we have led the experiment "Seedling Growth", a collaboration of NASA and ESA, which has analyzed the joint role of gravity and light in the growth of plants. The results of gene expression and quantitative localization of functional cellular markers show that red light is able to compensate at least part of the alterations induced by the absence of gravity. In the "Random Positioning Machine" device,

at ESA-ESTEC Center, a new simulation technology of partial gravity existing on the Moon and Mars has been developed. We have found that the gravity of the Moon is comparable to microgravity in the production of cellular alterations, while the gravity of Mars is able to orient the growth of plants. Furthermore, cell cultures in simulated microgravity have been used to investigate alterations of the cell cycle. The cell cycle accelerates as a consequence of changes in the expression of regulatory genes that act in the two main checkpoints of the cycle, in G2 / M and in G1 / S (Fig. 2).

Financiación | Funding

• Seedling Growth (ILSRA2009-0932/1177) European Space Agency (ESA) y National Aeronautics and Space Agency (NASA).

• ESP2015-64323-R (MINECO).
• ZGIP-UNOOSA (United Nations).



Julio Salinas Muñoz

Profesor de Investigación
salinas@cib.csic.es

PhD, 1983 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1983-1986 • Institut Jacques Monod, París, Francia
Investigador Científico, 1986-2006 • INIA
Visiting Scientist, 1989-1991 • The Rockefeller University, New York, USA
Profesor de investigación, 2006 • CIB, CSIC



Otros miembros | Other members

Maria Fernanda Ruiz Lorenzo
Rafael Catalá Rodríguez
Diego Gómez Martínez

Eduardo Tranque Montes
Cristian Carrasco López
Ema Olate Rodríguez



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/plant-molecular-biology-laboratory/>

Biología Molecular de Plantas

Las plantas tienen una extraordinaria capacidad para adaptarse al medioambiente. Conocer los mecanismos moleculares que controlan la relación de las plantas con su entorno es relevante tanto desde un punto de vista básico como aplicado. El trabajo en nuestro laboratorio tiene como objetivo elucidar esos mecanismos que, en última instancia, permitirán comprender cómo las plantas se desarrollan y reproducen, y mejorar la productividad y sostenibilidad de los cultivos.

En la naturaleza, las plantas viven en entornos en constante cambio que a menudo son desfavorables para su crecimiento y desarrollo. Las condiciones ambientales adversas, como la sequía, las temperaturas extremas o la salinidad en los suelos, constituyen factores limitantes para la distribución geográfica de las plantas y el rendimiento de los cultivos, y suponen una amenaza para la seguridad alimentaria. A lo largo del siglo, se espera que estas condiciones aumenten debido a cambios drásticos en el clima impulsados por el calentamiento global. Como consecuencia, los cultivos y los ecosistemas, se verán muy afectados.

Para sobrevivir a las condiciones de estrés ambiental a las que a menudo están expuestas, las plantas modifican su metabolismo y crecimiento mediante la reprogramación de la expresión génica. Aunque ya se han identificado y caracterizado muchos genes regulados por estrés abiótico, los mecanismos moleculares que subyacen a esas respuestas adaptativas aún no se conocen. Elucidar de estos mecanismos, además de tener una relevancia biológica importante, es fundamental para poder mejorar la tolerancia al estrés abiótico de los cultivos, para lograr una agricultura sostenible y para garantizar la seguridad alimentaria.

Nuestra línea de investigación tiene como objetivo identificar y caracterizar los mecanismos moleculares mediante los cuales las plantas toleran y se adaptan a situaciones de estrés abiótico. Utilizando *Arabidopsis* como sistema modelo y un enfoque experimental multidisciplinar, hemos identificado reguladores moleculares implicados a diferentes niveles (cromatina/epigenética, transcripcional, postranscripcional y actividad proteica) en la adaptación de las plantas a ambientes adversos. En la actualidad, nuestros esfuerzos están dirigidos a comprender su forma de acción y su papel en la respuesta de las plantas al

estrés abiótico. La conservación de los reguladores moleculares identificados en *Arabidopsis* en cultivos importantes, como el tomate, también está siendo objeto de estudio.



Figure 1

Arabidopsis flowers after being exposed to freezing temperature.



Plant Molecular Biology

Plants have an extraordinary capacity to adapt to their surroundings. Understanding the molecular mechanisms controlling the relationship of plants with their environment is significant from both basic and practical points of view. The work in our laboratory aims to elucidate those mechanisms that, ultimately, will allow to figure out how plants develop and reproduce, and to improve crop productivity and sustainability.

In nature, plants are living in constantly changing environments that are often unfavorable or stressful for growth and development. Adverse environmental conditions, including drought, extreme temperatures, and salinity, constitute major limiting factors for plant geographical distribution and productivity in agriculture, and threaten food security. These conditions are expected to increase along this century due to drastic changes in climate, much of which are driven by global warming. As a consequence, agriculture and the way our crops grow, as well as the way in which our ecosystems evolve will be greatly affected.

To survive the environmental stress conditions to which they are often

exposed, plants modify their metabolism and growth by reprogramming gene expression. Although many stress-regulated genes have already been identified and characterized, the molecular mechanisms underlying those adaptive responses still are not understood. Elucidating these mechanisms, in addition of being a fundamental biological question, is critical to improve stress tolerance in crops to achieve agricultural sustainability and food security for a growing world population.

Our research program is aimed to identify and characterize the molecular mechanisms of plant tolerance and adaptation to abiotic stresses. Using

Arabidopsis as a model system and a multidisciplinary experimental approach, including a combination of genetic, biochemical, cell biology, genomic and proteomic experimental strategies, we have identified molecular regulators involved at different levels (chromatin level/epigenetic, transcriptional, posttranscriptional, and protein activity) in plant adaptation to adverse environments. Current efforts are mainly dedicated to understand the way of action of these elements and their roles in abiotic stress responses. The conservation of the molecular regulators identified in Arabidopsis in important crops such as tomato is also being a subject of study.

LSM1-7 complex LSM2-8 complex

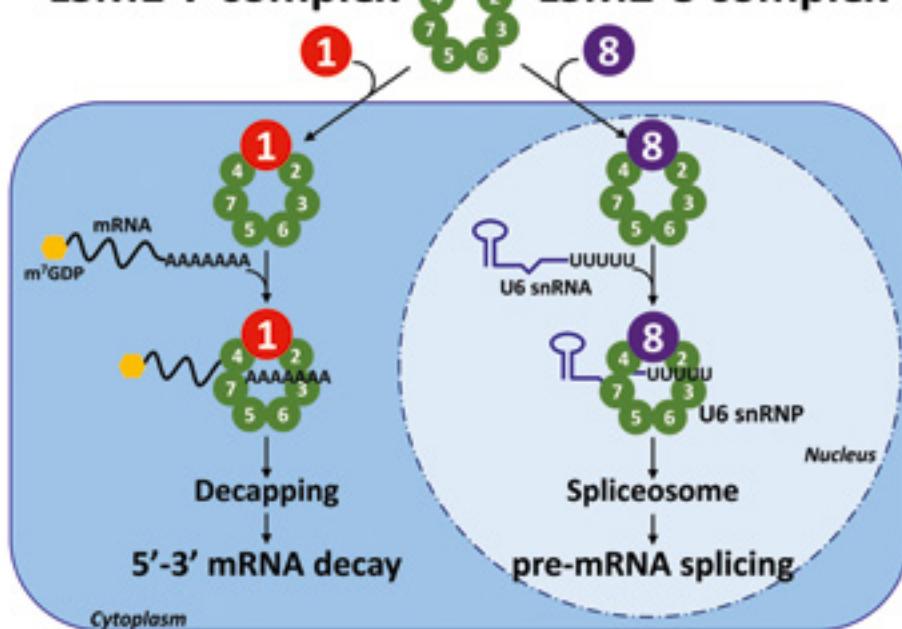


Figure 2

The Arabidopsis LSM complexes. The cytosolic LSM1-7 complex is a critical component of the decapping machinery and, therefore, plays an essential role in the 5'-3' mRNA decay pathway. The nuclear LSM2-8 complex is a core component of the spliceosome and, coherently, participates in the splicing reaction.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Barrero-Gil J, Salinas J [2017] CBFs at the crossroads of plant hormone signaling in cold stress response. *Mol Plant* 10: 542-544.
- Perea-Resa C, Rodríguez-Milla MA, Iniesto E, Rubio V, Salinas J [2017] Prefoldins negatively regulate cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* by promoting nuclear proteasome-mediated HY5 degradation. *Mol Plant* 10: 791-804.
- Carrasco-López C, Hernández-Verdeja T, Perea-Resa C, Abia D, Catalá R, Salinas J [2017] Environment-dependent regulation of spliceosome activity by the LSM2-8 complex in *Arabidopsis*. *Nucleic Acids Res* 45: 7416-7431.
- Egea I, Pineda B, Ortíz-Atienza A, Plasencia F, Drevensek S, García-Sogo B, Yuste-Lisbona FJ, Barrero-Gil J, Atarés A, Flores FB, Barneche F, Angosto T, Capel C, Salinas J, Vriezen W, Esch E, Bowler C, Bolarín MC, Moreno V, Lozano R [2018] The SCLB10 Calcineurin B-Like Protein Ensures Plant Growth under Salt Stress by Regulating Na⁺ and Ca²⁺ Homeostasis. *Plant Physiol* 176: 1676-1693.

- Costa-Broseta A, Perea-Resa C, Castillo MC, Ruiz MF, Salinas J, León J [2018] Nitric Oxide controls constitutive freezing tolerance in *Arabidopsis* by attenuating the levels of osmoprotectants, stress-related hormones and anthocyanins. *Sci Rep* 8: 9268.
- Catalá R, Salinas J [2018] Tailoring crop nutrition to fight weeds. *Proc Natl Acad Sci USA* 115: 7456-7458.
- Olate E, Jiménez-Gómez JJ, Holuigue L, Salinas J [2018] NPR1 mediates a novel regulatory pathway in cold acclimation by interacting with HSFA1 factors. *Nature Plants* 4: 811-823.
- Barrero-Gil J, Salinas J [2018] Gene Regulatory Networks Mediating Cold Acclimation: The CBF Pathway. In: Iwaya-Inoue M., Sakurai M., Uemura M. (eds) *Survival Strategies in Extreme Cold and Desiccation. Advances in Experimental Medicine and Biology*, vol 1081. pp: 3-22, Springer, Singapore.

Financiación | Funding

- BIO2016-79187-R (AEI/FEDER)

Pilar Sánchez Testillano

Investigadora Científica
testillano@cib.csic.es

PhD, 1991 • Universidad Complutense de Madrid.
CNRS, Villejuif, Francia y CSHL, NY, USA
Científica Titular, 1996
Investigadora Científica, 2008
Jefa de grupo, 2012 • CIB



María del Carmen Risueño Almeida

Profesora de Investigación,
Doctora vinculada *Ad Honorem*
risueno@cib.csic.es

PhD, 1967 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral • Universidad de Marseille-Luminy, CNRS/
INSERM, Villejuif, Francia, DKFZ, Heidelberg, Alemania
Científica Titular, 1968
Investigadora Científica, 1988
Profesora de Investigación, 2002
Doctora vinculada *Ad Honorem*, 2012
Académica de la Real Academia de Ciencias de Lisboa (Portugal), 2018



Otros miembros | Other members

Ivett Bárány
Elena Carneros García

Eduardo Berenguer Peinado
Yolanda Pérez Pérez

W <https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/pollen-biotechnology-crop-plants>

Biotecnología del Polen de Plantas Cultivadas

Analizamos los mecanismos que regulan la reprogramación celular a embriogénesis inducida por estrés en plantas, proceso biotecnológico clave para mejora, regeneración y selección de plantas de alta calidad/adaptadas para los sectores agroforestal e industrial. Nuestro objetivo es identificar nuevas rutas de intervención y modulación de factores determinantes con pequeños compuestos bioactivos, para así aumentar el rendimiento de la embriogénesis *in vitro* para programas de mejora agroforestal.

La extraordinaria plasticidad de las células de las plantas permite generar nuevos órganos y embriones a partir de casi todos los tejidos. Nosotros analizamos las bases celulares y moleculares de la reprogramación celular inducida por estrés, adquisición de totipotencia, e inicio y progresión de la embriogénesis, con el objetivo de identificar nuevas dianas y rutas de intervención para desarrollar nuevas estrategias biotecnológicas para mejorar su rendimiento, incluso en especies recalcitrantes. La **embriogénesis de microsporas inducida por estrés** es la vía mejor y más rápida para producir plantas haploides y doble-haploides, las cuales son una importante herramienta en los programas de mejora como fuente de nueva variabilidad genética fijada en plantas homocigotas en una sola generación, con el consiguiente ahorro de tiempo y costes. Estudiamos este proceso en especies cultivadas modelo, como colza y cebada, y analizamos la aplicabilidad de los resultados a otras especies de interés agronómico o forestal, como el alcornocal. Mediante un abordaje multidisciplinar e integrado empleando técnicas de identificación molecular *in situ*, microscopía avanzada óptica (confocal) y electrónica, de fisiología y biología celular y molecular, hemos determinado que la **autofagia** y varias proteasas de muerte celular son elementos cruciales en la respuesta celular al estrés, mientras que en la regulación de la reprogramación celular y totipotencia intervienen **hormonas** (auxinas y citoquininas) y **modificaciones epigenéticas** (metilación del DNA, acetilación y metilación de histonas). La **remodelación de la pared celular**, operada por pectin metilesterasas y proteínas de arabinogalacta-

nos (AGPs), también está implicada en el desarrollo del embrión. Investigamos los efectos de **pequeñas moléculas moduladoras** de autofagia, proteasas, marcas epigenéticas y otras enzimas, para reducir la muerte celular y mejorar el rendimiento de la embriogénesis en especies cultivadas, hallazgos que están propiciando el desarrollo de nuevos abordajes biotecnológicos para mejorar la producción de embriones *in vitro* en programas de mejora.

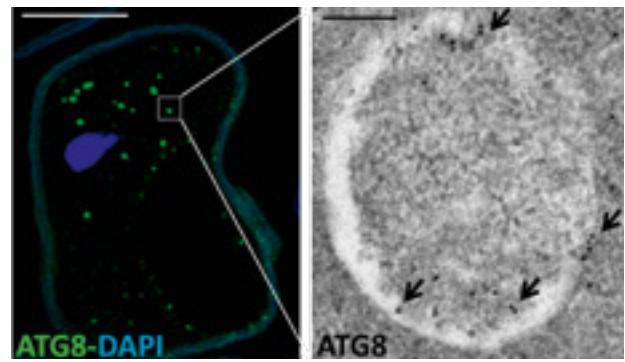


Figure 1

Autophagy activation in stress-induced microspore embryogenesis. Barley microspores after the stress treatment. Left: Detection of autophagosomes by ATG8 immunolocalization in confocal microscopy (ATG8: green, DAPI, nucleus: blue). Right: Ultrastructure of an early autophagosome and ATG8 immunogold labelling, transmission electron microscopy. Bars: 20 µm (left) and 2nm (right).



Pollen Biotechnology of Crop Plants

We investigate the regulatory mechanisms of stress-induced plant cell reprogramming to embryogenesis, key biotechnological process for improvement, regeneration and selection of high quality/adapted plants for agroforestry and industrial sectors. Our aim is to identify new intervention pathways to modulate determinant factors by small bioactive compounds to improve in vitro embryogenesis yield for crop/forestry breeding.

The extraordinary plasticity of plant cells permits them to generate new organs and embryos from almost all tissues. We analyze the cell and molecular bases of induction of cell reprogramming by stress, totipotency acquisition, embryogenesis initiation and progression, with the aim to identify new targets and strategies to improve yield, even in recalcitrant species. Specifically, **stress-induced microspore embryogenesis** is the fastest way to produce haploid and doubled-haploid (DHs) plants, which are important tools in breeding programs as a source of new genetic variability fixed in homozygous

plants in only one generation, therefore saving time and costs. We study the model crop species of rapeseed and barley, and analyse the applicability of results to other species of agronomic or forestry interest, like cork oak. Through a multidisciplinary and integrated approach using techniques of *in situ* molecular identification, advanced light (confocal) and electron microscopy, physiology, and cell and molecular biology, we have determined that **autophagy** and several **cell-death proteases** are crucial players in the plant cell response to stress, while cell reprogramming and totipotency are regulated by **hormones** (auxins,

cytokinins) and **epigenetic modifications** (DNA methylation, histone acetylation and methylation). Cell wall remodelling, operated by pectin methylesterases and arabinogalactan proteins (AGPs), is also involved and necessary for embryo development. We also investigate the effects of **small compounds, modulators** of autophagy, proteases, epigenetic marks, and other enzymes, to reduce cell death and improve embryogenesis yield in several crops; recent findings are opening up the development of new biotechnological approaches for improving in vitro embryo production in breeding programs.



Figure 2

Microspore-derived embryos (left) and plantlets (right) of cork oak, developed in vitro through stress-induced microspore embryogenesis in anther cultures.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Corredoira E, Cano V, Bárány I, Solís MT, Rodríguez H, Vieitez AM, Risueño MC, Testillano PS. [2017] Initiation of leaf somatic embryogenesis involves high pectin esterification, auxin accumulation and DNA demethylation in *Quercus alba*. *J. Plant Physiol.* 213: 42-54.
- Berenguer E, Bárány I, Solís MT, Pérez-Pérez Y, Risueño MC, Testillano PS [2017] Inhibition of histone H3K9 methylation by BIX-01294 promotes stress-induced microspore totipotency and enhances embryogenesis initiation. *Front. Plant Sci.* 8: 1161.
- Bárány I, Berenguer E, Solís MT, Pérez-Pérez Y, Santamaría ME, Crespo JL, Risueño MC, Diaz I, Testillano PS [2018] Autophagy is activated and involved in cell death with participation of cathepsins during stress-induced microspore embryogenesis in barley. *J. Exp. Bot.* 69: 1387-1402.
- Avin-Wittenberg T, Baluška F, Bozhkov PV, Elander PH, Fernie AR, Galili G, Hassan A, Hofius D, Isono E, Le Bars R, Masclaux-Daubresse C, Minina EA, Peled-Zehavi H, Sánchez-Coll N, Sandalio LM, Satiat-Jeunemaitre B, Sirkó A, Testillano PS, Batoko H [2018] Autophagy-related approaches for improving nutrient use efficiency and crop yield protection. *J. Exp. Bot.* 69: 1335-1353.
- Cortés-Eslava J, Gómez-Arroyo S, Risueño MC, Testillano PS [2018] The effects of organophosphorus insecticides and heavy metals on DNA damage and programmed cell death in two plant models. *Environ. Pollution* 240: 77-86.
- Pérez-Pastrana J, Islas-Flores I, Bárány I, Álvarez-López D, Canto-Flicka A, Canto-Canché B, Peña-Yama L, Muñoz-Ramírez L, Avilés-Viñas S, Testillano PS*, Santana-Buzzi N* [2018] Development of the ovule and seed of Habanero chili pepper (*Capsicum chinense* Jacq.): Anatomical characterization and immunocytochemical patterns of pectin methyl-esterification. *J. Plant Physiol.* 230: 1-12.
- Pérez-Pérez Y, Carneros E, Berenguer E, Solís MT, Bárány I, Pintos B, Gómez-Garay A, Risueño MC, Testillano PS [2018] Pectin de-methylesterification and AGP increase promote cell wall remodeling and are required during somatic embryogenesis of *Quercus suber*. *Front. Plant Sci.* 9, 1915.
- Testillano PS [2018] Stress-induced microspore embryogenesis in crop plants: cell totipotency acquisition and embryo development. In: *Progress in Botany*, Vol. 80. Canovas FM, Lütge U, Matyssek R, Pretzsch H (Eds.). Springer, Berlin, Heidelberg. Published on line 30 Sept. 2018. DOI: 10.1007/124_2018_24
- Pérez-Pérez Y, Bárány I, Berenguer E, Carneros E, Risueño MC, Testillano PS (2018) Modulation of autophagy and protease activities by small bioactive compounds to reduce cell death and improve stress-induced microspore embryogenesis initiation in rapeseed and barley. *Plant Signal. Behav.* Published on line 22 Dec. 2018. doi: 10.1080/15592324.2018.1559577
- Testillano PS (2018) Microspore embryogenesis: targeting the determinant factors of stress-induced cell reprogramming for crop improvement. *J. Exp. Bot.* DOI: 10.1093/jxb/ery464. Invited Review in Special Issue "Advances in Plant Reproduction: From Gametes to Seeds".

Premios | Awards

- Pilar S. Testillano: Presidenta de la Asociación de Palinólogos de Lengua Española, APLE (desde Sept. 2017) / President of the Spanish Society of Palynology, APLE (from Sept. 2017)

Financiación | Funding

- AGL2017-82447-R (MINECO, 2018-2020)
- AGL2014-52028-R (MINECO, 2015-2018)
- BFU2015-71869-REDT (MINECO, 2016-2017)
- COST Action CA15138, TRANSAUTOPHAGY (EU. 2015-2019)
- Contract 20171981 (Alcalíber I+D+i, 2017-2019)

María Auxiliadora Prieto Jiménez

Investigadora Científica
auxi@cib.csic.es

PhD Pharmacy 1995 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 1996-1998 • EMBO Postdoctoral Fellow. Institut für Biotechnologie, ETH, Zürich, Switzerland
Científica Titular, 2005-2016
Jefa de grupo, 2012
Investigadora Científica, 2017 • CIB, CSIC



Otros miembros | Other members

Ryan Kniewel
María Virginia Rivero Buceta
Manuel Santiago Godoy
Alberto Rodríguez Martín
Erika González Álvarez
Silvia Alfonso Loeches
Ana María Hernández Arriaga

Cristina Herencias Rodríguez
Maria-Tsampika Manoli
Alba Arévalo Lalanne
Natalia Hernández Herreros
Aránzazu Mato Aguirre
Natalia Tarazona
Irene Verdú

 <https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/polymer-biotechnology>

Biología de Polímeros

Nuestro interés se centra en la producción y funcionalización de bioplásticos y biomateriales basados en biopolímeros bacterianos, obtenidos a partir de gases (syngas, CO₂) y residuos municipales e industriales. Utilizamos herramientas de ingeniería metabólica, biología sintética y las nuevas tecnologías ómicas. Nuestros estudios se aplican para el diseño de bioprocessos sostenibles y su escalado a nivel industrial.

La preocupación generada por la contaminación ambiental debido a la utilización masiva de plásticos ha provocado gran interés en la búsqueda de materiales alternativos, que sean producidos y degradados a partir de procesos sostenibles. Nuestro grupo tiene como objetivo la producción, caracterización y funcionalización de polímeros de base biológica producidos a partir de gases (gas de síntesis y CO₂) y residuos industriales y urbanos (p. ej. ácidos orgánicos volátiles procedentes de diges-

tión anaerobia de residuos). La mayoría de nuestros proyectos se centran en la producción de poliésteres bacterianos, o polihidroxialcanoatos (PHA), y celulosa bacteriana (BC). Estos biopolímeros son biodegradables y se generan a partir de microorganismos naturalmente productores como *Pseudomonas putida* (PHAs), *Cupriavidus necator* (PHAs), *Rodospirillum rubrum* (PHAs), *Komagataeibacter medellinensis* (BC), o mediante microorganismos mejorados genéticamente para el proceso. Estamos interesados en i) el diseño de procesos de producción basados en la mejora genética de los microorganismos productores; ii) la funcionalización de estos biopolímeros con nuevas propiedades (p. ej. antimicrobianas) y susceptibles de modificación química tras su biosíntesis; y iii) el diseño de nuevos sistemas de procesamiento de la biomasa bacteriana para la extracción de bioproductos intracelulares en la industria. Para ello, estudiamos las rutas metabólicas y sus redes reguladoras en las bacterias productoras, y su impacto en la fisiología de otros microorganismos de su entorno, incluyendo bacterias depredadoras como *Bdellovibrio bacteriovorus*. Para la liberación de los bioproductos al medio extracelular, utilizamos diferentes agentes líticos que también son producidos y caracterizados en nuestro laboratorio. Por último, trabajamos en la identificación y caracterización de enzimas para la síntesis y degradación de biomateriales, así como para la producción de intermediarios monoméricos o building blocks.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Mató A, Tarazona NA, Hidalgo A, Cruz A, Jiménez M, Pérez-Gil J, Prieto MA [2019] Interfacial activity of phasin Phaf from *Pseudomonas putida* KT2440 at hydrophobic-hydrophilic biointerfaces. *Langmuir*. DOI: 10.1021/acs.langmuir.8b03036.
- García C, Prieto MA [2018] Bacterial cellulose as a potential bioleather substitute for the footwear industry. *Microb Biotechnol*. doi. org/10.1111/1751-7915.13306.
- Castro-Mayorga JL, Freitas L, Reis MAM, Prieto MA, Lagaron JM [2018] Biosynthesis of silver nanoparticles and polyhydroxybutyrate nanocomposites of interest in antimicrobial applications. *Int J Biol Macromol* 108:426-435.
- Bello-Gil D, Maestra B, Fonseca J, Dinjaski N, Prieto MA, Sanz JM [2018] Poly-3-hydroxybutyrate

- functionalization with BioF-tagged recombinant proteins. *J Appl Environ Microbiol* 84 (4). pii: e02595-17.
- Wierckx N, Narancic T, Eberlein C, Wei R, Drzyzga O, Magnin A, Ballerstedt H, Kenny S, Pollet E, Avérous L, O Connor K, Zimmermann W, Heipieper H, Prieto A, Jiménez J, Blank L [2018] Plastic Biodegradation: Challenges and Opportunities. DOI: 10.1007/978-3-319-44535-9_23-1.
- Revelles O, Benoso D, Menéndez JA, Arenillas A, García JL, Prieto MA [2017] Syngas obtained by microwave pyrolysis of household wastes as feedstock for polyhydroxyalkanoate production in *Rodospirillum rubrum*. *Microb Biotechnol* 10(6):1412-1417.

- Godoy MS, Mongili B, Fino D, Prieto MA [2017] About how to capture and exploit the CO₂ surplus that nature, per se, is not capable of fixing. *Microb Biotechnol* 10(5):1216-1225.
- Urbina L, Hernández-Arriaga AM, Eceiza A, Gabilondo N, Corcuera MA, Prieto MA, Retegui A [2017] By-products of the cider production: an alternative source of nutrients to produce bacterial cellulose. *Cellulose* 24(5):2071-2082.
- Kniewel R, Revelles Lopez O, Prieto MA [2017] Biogenesis of Medium-Chain-Length Polyhydroxyalkanoates. In: Geiger O. (eds) Biogenesis of Fatty Acids, Lipids and Membranes. Handbook of Hydrocarbons and Lipid. Microbiology. Springer, Cham. eBook Packages. Biomedical and Life Sciences. DOI:10.1007/978-3-319-43676-0_29-1. ISBN:978-3-319-43676-0



Patentes | Patents

- Castro Mayorga J.L., Lagarón Cabello J.M., Fabra Rovira M.J., Prieto Jiménez M.A., Sánchez Moragas G. [2016]. Procedimiento para la obtención de biopolímeros antimicrobianos que comprenden polihidroxialcanoatos y nanopartículas metálicas. P201630829.

Financiación | Funding

- P4SB-633962 (EU-H2020-LEIT-BIO-2014-1). 31/03/2019
- BIO2014-61515-EXP (MINECO). 31/12/2017
- CELBICON-679050 (EU- H2020-ISIB-2015-2). 31/08/2019
- REFUCOAT-745791 (H2020-EU.3.2.6.- (BBI-JTI). 31/05/2020
- AFTERLIFE-745737 (H2020-EU.3.2.6.). 31/08/2021
- ENGICOIN-760994 (H2020-NMBP-BIO-2017). 31/12/2021
- TECMABIO-BIO2017-83448-R (MINECO). 31/12/2020
- NanoBIOSOMA - CAM-P2013/MIT2807. 30/09/2018

Polymer Biotechnology

The group aims focus on the production and functionalization of bioplastics and biomaterials, based on bacterial biopolymers, produced from gases (syngas, CO₂) and municipal and industrial wastes. We apply tools of metabolic engineering, synthetic biology and new omics technologies. Our studies are the basis for the design of sustainable bioprocesses for scaling up at industrial level.

The environmental pollution problem caused by the massive use of plastics has originated a great interest in searching for alternative materials suitable to be produced and degraded through sustainable processes. Our group aims at the production, characterization and functionalization of bio-based polymers produced from gases (synthesis gas and CO₂) and industrial and urban wastes (e.g. volatile organic acids from waste anaerobic digestion). Most of our projects focus on the production of biopolymers such as bacterial polyesters or polyhydroxyalkanoates (PHA), and bacterial cellulose (BC). These biopolymers are biodegradable and

are generated from natural-producing microorganisms such as *Pseudomonas putida* (PHAs), *Cupriavidus necator* (PHAs), *Rodospirillum rubrum* (PHAs), *Komagataeibacter medellinensis* (BC), or by microorganisms genetically optimized for the process. We are interested in i) the design of production processes based on the genetic improvement of the producing microorganisms; ii) the functionalization of these biopolymers with new properties (e.g. antimicrobial) and susceptible to chemical modification after their biosynthesis; and iii) the design of new bacterial biomass processing systems for the extraction of intracellular bioproducts in industry. To do this, we studied the

metabolic pathways and their regulatory networks in the producing bacteria, and their impact on the physiology of other microorganisms in their environment, including predatory bacteria such as *Bdellovibrio bacteriovorus*. For the release of bioproducts to the extracellular medium, we use different lytic agents that are also produced and characterized in our laboratory. Finally, we are working on the identification and characterization of enzymes for the synthesis and biodegradation of bio-based polymers, as well as the production of building blocks as monomers for polymer synthesis.

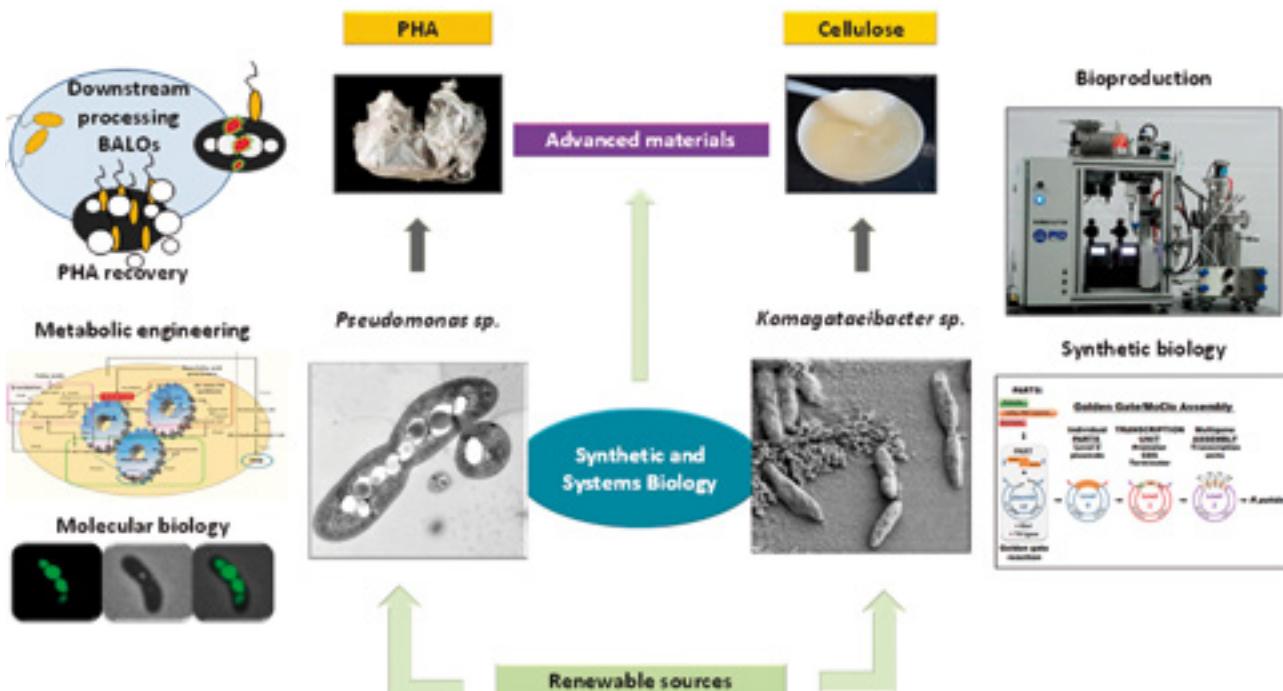


Figure 1

Research lines of the polymer biotechnology group. From renewable sources, our group focuses on the production of bio-based polymers derived from polyhydroxyalkanoates (PHA) and nanocellulose. We are interested in the optimization of natural producers like *Pseudomonas putida* and *Komagataeibacter medellinensis* and the design of new downstream systems using predatory bacteria. Activities and master techniques included in our projects are shown in the figure.

César Llave

Investigador Científico
cesarllave@cib.csic.es

PhD, 1999 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 2000-2004 • Institute of Biological Chemistry (Washington State University, USA)
Center for Gene Research and Biotechnology (Oregon State University, USA)

Científico Titular, 2004

Jefe de Grupo, 2012

Investigador Científico, 2015 • CIB



Otros miembros | Other members

Montserrat Llorente de Mingo
Irene Guzmán Benito

Laura Diezma Navas



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/stress-and-gene-regulation>

Regulación Génica y Estrés

Las infecciones virales implican cambios sustanciales en la célula huésped. Estos cambios son una manifestación de cómo la planta acomoda su metabolismo para restringir la infección y contrarrestar sus efectos adversos. Además ilustran la manera en que la inmunidad innata basal hace frente a la proliferación del virus. En nuestro grupo estudiamos los mecanismos de regulación que modulan las respuestas de un huésped frente a la infección viral.

Comprender los mecanismos moleculares que determinan las relaciones de compatibilidad y defensa entre los virus y las plantas constituyen áreas de especial interés en la biología vegetal y la fitopatología. Con esta idea en mente, nuestra investigación pone el foco en la interacción cruzada entre el silenciamiento por RNA y la inmunidad innata durante las infecciones virales en las plantas (Fig. 1). En las relaciones susceptibles en las que plantas y virus co-evolucionan, la interacciones entre el silenciamiento génico, la inmunidad de la planta y el virus están en un equilibrio óptimo de tal manera que la infección se logra sin causar daño al huésped. Sin embargo, los virus pueden causar enfermedades graves si este equilibrio sutil entre la multiplicación del virus y la integridad del hospedador se rompe. En el curso de nuestra investigación hemos elucidado los mecanismos de regulación transcripcional y post-transcripcional dependientes de silenciamiento por RNA del represor inmune BIR1. En ausencia de

patógenos, BIR1 bloquea la función del co-receptor BAK1 y previene así la activación espontánea de las defensas de la planta. Esta función es esencial pues la inducción constitutiva de la respuesta inmune se asocia con muerte celular y pérdida de eficacia biológica. Nuestro trabajo ha permitido determinar la función antiviral de BIR1, y demostrar que la regulación de BIR1 durante la infección es crítica para mantener sus niveles de expresión dentro de un umbral funcional óptimo más allá del cual se activa una respuesta autoinmune que compromete la integridad de la planta (Fig. 2).

Dado que una agricultura sostenible debe sustentarse en estrategias de protección basadas en el conocimiento de las interacciones entre las plantas y los organismos que las infectan, trabajamos para que nuestros resultados proporcionen una base sobre la cual construir nuevas vías de protección de cultivos que eviten el uso de productos tóxicos para el entorno.

RNA silencing-based mechanisms controlling plant immunity during virus infections

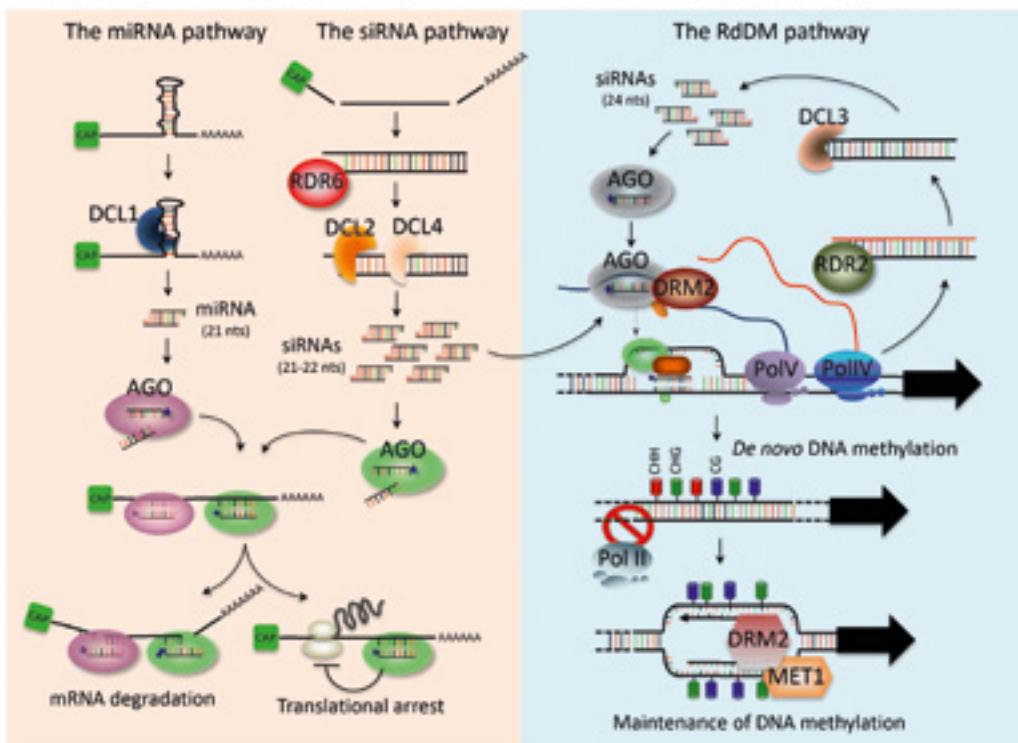


Figure 1

RNA silencing-based mechanisms controlling plant immunity at transcriptional and post-transcriptional levels. Transcriptional regulation uses RdDM for siRNA-dependent *de novo* DNA cytosine methylation and siRNA-independent maintenance of methylation during DNA replication. Post-transcriptional regulation uses miRNA- or siRNA for mRNA degradation and translational arrest during viral infections.

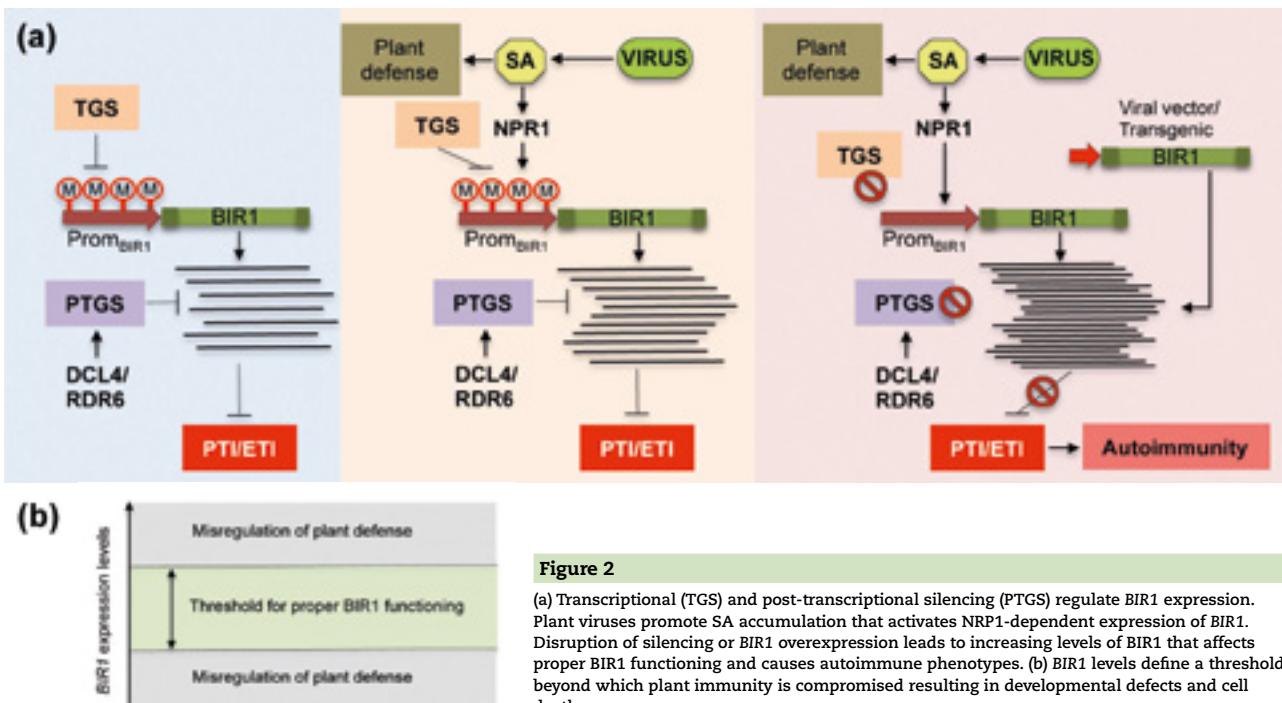


Figure 2

(a) Transcriptional (TGS) and post-transcriptional silencing (PTGS) regulate BIR1 expression. Plant viruses promote SA accumulation that activates NRP1-dependent expression of BIR1. Disruption of silencing or BIR1 overexpression leads to increasing levels of BIR1 that affects proper BIR1 functioning and causes autoimmune phenotypes. (b) BIR1 levels define a threshold beyond which plant immunity is compromised resulting in developmental defects and cell death.

Gene Regulation and Stress

A compatible virus infection causes significant changes in the host physiology. These alterations are a primarily manifestation of how the cell accommodates its metabolism to counteract the adverse effects caused by the virus. Also, they illustrate how plants impose plant innate immunity responses to halt viral proliferation. In our group, we try to understand the underlying mechanisms regulating virus-induced responses in plants.

Understanding the molecular mechanisms that determine virus:host compatibility and disease is a major driving force for biologists and plant pathologists. Bearing this idea in mind, over the years our research interest has put the focus on the antiviral and regulatory effects of RNA silencing during viral infections (Fig. 1). More recently, extensive attention is being given to elucidating the crosstalk between RNA silencing and plant innate immunity and how it influences the outcome of the infection. Thus, while normal, coevolved interactions of viruses with the host RNA silencing and plant immunity are optimally balanced such that infection is achieved without causing damage to the host, viruses may cause dangerous outbreaks and disease if this subtle equilibrium between virus multiplication and host integrity is disturbed. In our research, we study BIR1 regulation and function. BIR1 is a negative regulator of basal immunity and cell death, whose function is critical to understand how plants avoid constitutive activation of defense. We demonstrate that *Arabidopsis* BIR1 controls antiviral responses mediated by the immune co-receptors BAK1, and that the BIR1 promoter is transcriptionally activated during viral infections in a SA-dependent manner. DNA methylation and post-transcriptional silencing are both

required repressing BIR1 expression upon viral induction. Such a regulation is critical to define a threshold expression for proper BIR1 function beyond which an autoimmune response may occur. BIR1 overexpression causes severe developmental defects, cell death and premature death that correlate with the constitutive activation of plant immune responses (Fig. 2).

Since future sustainable agriculture should rely on knowledge-based approaches that make use of an in-depth understanding of plant:virus interactions, our results are expected to contribute to the development of sustained crop production that uses improved plant cultivars avoiding treatments with environmentally toxic chemicals.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Llave C [2016] Dynamic cross-talk between host primary metabolism and viruses during infections in plants. *Curr Opin Virol* 19: 50-55.
- Fernández-Calvino L, Guzmán-Benito I, Toro FJ, Donaire L, Castro-Sanz A, Ruiz-Ferrer V, Llave C [2016] Activation of senescence-associated, dark-inducible genes during infection contributes to modulate susceptibility to plant viruses. *Mol Plant Pathol* 17: 3-15.
- Fernández-Calvino L, Martínez-Priego L, Szabo EZ, Guzmán-Benito I, González I, Canto T, Lakatos L, Llave C [2016] Tobacco rattle virus 16K silencing suppressor binds AGO4 proteins and inhibits formation of RNA silencing complexes. *J Gen Virol* 97: 246-257.

Financiación | Funding

- Ref. BIO2015-70752-R (MINECO)



Natalia Rodríguez-Muela

Investigadora Juan de la Cierva-Incorporación
nrodriguezmuela@cib.csic.es



PhD, 2011 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 2012-2017 • Harvard University, Harvard Stem Cell Institute (Cambridge, USA)
Investigadora Juan de la Cierva, 2017 • CSIC-CIB (Madrid, Spain)

<https://www.cib.csic.es/es/departamentos/biologia-celular-y-molecular/funciones-de-la-autofagia-en-la-fisiopatologia-de-los>

Neurobiología Molecular

En la mayoría de las enfermedades neurodegenerativas ciertos subgrupos neuronales degeneran rápidamente mientras que otros, portando las mismas mutaciones, sometidos a un estrés teóricamente análogo y mostrando propiedades funcionales comparables, no se ven afectados. Las “motor neuron diseases” son un grupo de trastornos en los que las motoneuronas de la médula espinal y/o la corteza motora son el tipo de célula primaria afectada donde también se puede observar esta característica desconcertante. Usando una variedad de enfoques que van desde técnicas de biología celular e imagen *en vivo* hasta edición del genoma y genómica de células individuales, y utilizando hiPSC junto con modelos animales transgénicos, investigamos los mecanismos moleculares que subyacen a dicha muerte neuronal selectiva.

Molecular Neurobiology

In most neurodegenerative diseases certain neuronal subgroups degenerate fast while others, carrying the same mutations, subjected to theoretically analogous stress and displaying comparable functional properties, remain unaffected. Motor neuron diseases are a group of disorders in which motor neurons of the spinal cord and/or the motor cortex are the primary cell type affected where this perplexing feature can also be observed. Using a variety of approaches ranging from cellular biology techniques and live imaging to genome editing and single cell genomics, and utilizing hiPSC together with transgenic animal models, we investigate the molecular mechanisms underlying such selective neuronal death.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Rodríguez-Muela N*, Parkhitko A, Grass T, Gibbs R, Norabuena E, Perrimon N, Singh R, Rubin LL* [2018] Blocking p62/SQSTM1-dependent SMN degradation ameliorates the Spinal Muscular Atrophy disease phenotype. *J Clin Invest* 128(7):3008-3023.
- Boya P*, Codogno P, Rodríguez-Muela N* [2018] Autophagy in stem cells: repair, remodeling, and metabolic reprogramming. *Development* 145(4) pii: dev146506.
- Rodríguez-Muela N, Litterman NKK, Norabuena EM, Mull JL, Galazo MJ, Sun C, Ng SY, Makhortova NR, White A, Lynes MM, Chung WK, Davidow LS, Macklis JD, Rubin LL* [2017] Single-Cell Analysis of SMN Reveals Its Broader Role in Neuromuscular Disease. *Cell Rep* 18(6):1484-1498.
- Tripathi P, Rodriguez-Muela N, Klim JR, de Boer AS, Agrawal S, Sandoe J, Lopes CS, Oglari KS, Williams LA, Shear M, Rubin LL, Eggan K, Zhou Q [2017] Reactive Astrocytes Promote ALS-like Degeneration and Intracellular Protein Aggregation in Human Motor Neurons by Disrupting Autophagy through TGF-β1. *Stem Cell Reports* 9(2):667-680.
- Ng SY, Soh BS, Rodriguez-Muela N, Hendrickson DG, Price F, Rinn JL, Rubin LL [2015]. Genome-wide RNA-Seq of Human Motor Neurons Implicates Selective ER Stress Activation in Spinal Muscular Atrophy. *Cell Stem Cell* 17(5):569-84.

Financiación | Funding

- ERC-2018-STG-LS5-802182
- MDA376743 (Muscular Dystrophy Association)
- IJCI-2015-23519 (MINECO)

Jorge Barriuso Maicas

Joven Investigador / Junior PI
jbarriuso@cib.csic.es



PhD, 2006 • Universidad San Pablo CEU
Postdoctoral, 2007-2008 • University of Calgary, Canada
Postdoctoral, 2009-2011 • Centro Nacional de Biotecnología (CNB, CSIC)
Postdoctoral JAE-DOC, 2012-2014 • Centro de Investigaciones Biológicas (CIB, CSIC)
Contracted Scientist, 2015-2016 • CIB, CSIC
Junior PI, 2017 - present • CIB, CSIC

<https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/biotechnology-lignocellulosic-biomass#sec3>

Biotecnología de Comunicación entre Microorganismos

Nuestra investigación se centra en el entendimiento de los mecanismos de comunicación célula a célula en microorganismos. Los mecanismos de *quorum sensing*, coordinan en poblaciones de hongos y bacterias procesos como la patogenicidad, la formación de biofilms, cambios fisiológicos y morfológicos, o la producción de enzimas y metabolitos. En nuestro grupo estudiamos estos mecanismos utilizando aproximaciones de la biología sintética y de sistemas con el fin de entender sus implicaciones eco-fisiológicas y evolutivas, así como para utilizar estos mecanismos con fines biotecnológicos.

Biotechnology of Microbe-Microbe Interactions

Our scientific interest focuses on the understanding of the cell-to-cell communication mechanisms in microorganisms. These quorum sensing mechanisms coordinate a multitude of processes in fungal and bacterial populations such as pathogenicity, the formation of biofilms, physiological and morphological changes, or the production of enzymes and metabolites. In our group we study these mechanisms using systems and synthetic biology approaches in order to find out their eco-physiological and evolutionary implications, as well as to use these mechanisms for biotechnological purposes. In the current projects, we study the cell-to-cell communication in wood saprophytic fungi and in environmental bacteria.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Barriuso J, Hogan DA, Keshavarz T, Martínez MJ [2018] Role of quorum sensing and chemical communication in fungal biotechnology and pathogenesis. *FEMS Microbiol Rev* 42(5):627-638.
- Barriuso J, Martínez MJ [2018] In Silico Analysis of the Quorum Sensing Metagenome in Environmental Biofilm Samples. *Front Microbiol* 9:1243.
- Mtibaâ R, Barriuso J, de Eugenio L, Aranda E, Belbahri L, Nasri M, Martínez MJ, Mechichi T [2018] Purification and characterization of a fungal laccase from the ascomycete *Thielavia* sp. and its role in the decolorization of a recalcitrant dye. *Int J Biol Macromol* 120:1744-1751.
- Méndez-Líter JA, Gil-Muñoz J, Nieto-Domínguez M, Barriuso J, de Eugenio LI, Martínez MJ [2017] A novel, highly efficient β-glucosidase with a cellulose-binding domain: characterization and properties of native and recombinant proteins. *Biotechnol Biofuels* 10(1):256.
- de Eugenio LI, Méndez-Líter JA, Nieto-Domínguez M, Alonso L, Gil-Muñoz J, Barriuso J, Prieto A, Martínez MJ [2017] Differential beta-glucosidase expression as a function of carbon source availability in *Talaromyces amestolkiae*: a genomic and proteomic approach. *Biotechnol Biofuels* 10(1):161.
- Barriuso J, Martínez MJ [2017] Evolutionary history of versatile-lipases from Agaricales through reconstruction of ancestral structures. *BMC Genomics* 18(1):12.

Financiación | Funding

- BIO2015-73697-JIN (MINECO)
- JGI-CSP New Investigator 504782 (DOE-JGI, USA)

Jesús A. Carballo

Investigador Ramón y Cajal
j.carballo@cib.csic.es



PhD, 2003 • Universidad Autónoma de Madrid, CIB
Postdoctoral, 2004-2008 • National Institute for Medical Research, MRC (London, UK)
Investigator Scientist, 2009-2012 • NIMR - The Francis Crick Institute (London, UK)
Research Fellow, 2012-2015 • Genome Damage & Stability Centre, University of Sussex (Brighton, UK)
Investigador Ramón y Cajal, 2015-present • CIB, CSIC



<http://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/molecular-biology-chromosomes>

Recombinación Homóloga del ADN y su Regulación en Meiosis

Un problema fundamental en biomedicina es entender cómo defectos en la gametogénesis conducen a trastornos como infertilidad, síndrome de Down o cáncer. Uno de los eventos que definen la gametogénesis es la meiosis. Durante la meiosis, la recombinación homóloga del ADN permite reducir el número de cromosomas a la mitad generándose gametos haploides. Nuestro grupo estudia la regulación de la recombinación homóloga y los mecanismos de control por los cuales las células reparan su ADN sin introducir mutaciones o aneuploidías.

Meiotic Homologous Recombination and Genome Stability

A fundamental problem in biomedicine is to understand how defects during gametogenesis cause disorders like infertility, Down syndrome or cancer. A defining event in gametogenesis is meiosis. During meiosis, cells halve their chromosome number through a process requiring homologous recombination in order to produce haploid gametes. We are interested in the regulation of homologous recombination during meiosis and the mechanisms required by the cells to repair their DNA without introducing mutations or aneuploidies.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Carballo JA, Johnson AL, Sedgwick SG, Cha RS [2008] Phosphorylation of the axial element protein Hop1 by Mec1/Tel1 ensures meiotic interhomolog recombination. *Cell* 132(5):758-770.
- Carballo JA, Panizza S, Serrentino ME, Johnson AL, Geymonat M, Borde V, Klein F, Cha RS [2013] Budding yeast ATM/ATR control meiotic double-strand break (DSB) levels by down-regulating Rec114, an essential component of the DSB-machinery. *PLOS Genetics* 9(6):e1003545.
- Newham L, Jordan PW, Carballo JA, Newcombe S, Hoffmann E [2013] Ipl1/Aurora kinase suppresses S-CDK-driven spindle formation during prophase I to ensure chromosome integrity during meiosis. *PLOS One* 8(12):e83982.
- Penedos A, Johnson AL, Strong E, Goldman AS, Carballo JA, Cha RS [2015] Essential and Checkpoint Functions of Budding Yeast ATM and ATR during Meiotic Prophase Are Facilitated by Differential Phosphorylation of a Meiotic Adaptor Protein, Hop1. *PLOS One* 10(7):e0134297.

Financiación | Funding

- RYC-2013-13950 (MINECO)
- BFU2015-64361-P (MINECO)

María A. Oliva Blanco

Investigadora Ramón y Cajal
mariann@cib.csic.es



PhD, 2005 • Universidad Complutense de Madrid
Postdoctoral, 2005-2009 • MRC-Laboratory of Molecular Biology (Cambridge, UK)
Postdoctoral, 2009-2012 • CSIC-Centro de Investigaciones Biológicas (Madrid, Spain)
Investigadora Ramón y Cajal, 2012-present • CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/microtubule-stabilizing-agents>

Mecanismos de Activación y Regulación de Proteínas de la Familia de Tubulina

Nuestra actividad científica se centra en entender las bases moleculares del ensamblaje dinámico de las proteínas de la familia de tubulina. Aplicamos una aproximación holística incluyendo estudios estructurales (cristalografía, microscopía electrónica, SAXS), bioquímicos y de biología molecular en los modelos de estudio: TubZ (plasmidos y virus), FtsZ (bacterias) y tubulina (eucariotas). Pretendemos sentar las bases experimentales en la búsqueda de nuevos fármacos y/o dianas farmacológicas que contribuyan al desarrollo de agentes bloqueantes de la diseminación de sistemas de virulencia, antibacterianos y anticancerígenos.

Activation and Regulation Mechanisms of Tubulin-Like Proteins

Our research activity focuses on the molecular basis of the dynamic assembly of tubulin-like proteins. We use a holistic approach including structural studies (crystallography, electron microscopy and SAXS), biochemistry and molecular biology techniques on protein model systems TubZ (plasmids and viruses), FtsZ (bacteria) and tubulin (eukaryotic cells). We hope to seed the search of new chemotherapeutic agents and/or new target sites aiming to block the spreading of virulence factors, new antibiotics and anti-tumoral.

Publicaciones Seleccionadas | Selected Publications

- Martín-García B, Martín-González A, Carrasco C, Hernández-Ariaga AM, Ruiz-Quera R, Díaz-Orejas R, Aicart-Ramos C, Moreno-Herrero F, Oliva MA [2018] The TubR-centromere complex adopts a doublé-ring segrosome structure in type III partition systems. *Nucl Acid Res* 46(11):5704-5716.
- Huecas S, Ramírez-Aportela E, Vergoños A, Núñez-Ramírez R, Llorca O, Díaz JF, Juan-Rodríguez D, Oliva MA, Castellen P, Andreu JM [2017] Self-organization of FtsZ polymers in solution reveals spacer role of the disordered C-terminal tail. *Biophys J* 113 (8):1831-1844.
- Wagstaff M, Tsim M, Oliva MA, García-Sánchez A, Kureosaote-Cizine D, Andreu JM, Löwe J [2017] A polymerization associated structural switch in FtsZ that enables treadmilling of model filaments. *mBio* 8(3):e00254-17.
- Fuentes-Pérez ME, Núñez-Ramírez R, Martín-González A, Juan-Rodríguez D, Llorca O, Moreno-Herrero F, Oliva MA [2017] TubZ filament assembly dynamics requires the flexible C-terminal tail. *Sci Rep* 7:43342.
- Artola M, Ruiz-Ávila LB, Ramírez-Aportela E, Araujo-Bazán L, Vázquez-Villa H, Martín-Fontech M, Oliva MA, Martín-Galiano AJ, Chacón P, Andreu JM, Huecas S [2017] The structural assembly switch of cell division protein FtsZ probed with fluorescent allosteric inhibitors. *Chem Sci* 8(2):1525-1534.

Financiación | Funding

- RYC-2011-07900 (Ministerio de Ciencia e Innovación)
- BFU2013-47014-P (MINECO, cofinanciado con fondos FEDER)

Servicios Científicos

Scientific Facilities



Servicios Científicos
Scientific Facilities

- [122] **Animalario |**
Animal Facility
- [123] **Biblioteca y Documentación |**
Library and Documentation
- [124] **Bioinformática y Bioestadística |**
Bioinformatics and Biostatistics
- [125] **Citometría de Flujo |**
Flow Cytometry
- [126] **Cromatografía de Gases |**
Gas Chromatography
- [127] **Cultivo de Células Animales |**
Animal Cell Culture
- [128] **Diagnóstico Genético Molecular de Complemento |**
Complement Genetics and Molecular Analysis Laboratory
- [129] **Esterilización, Cocina de Medios y Limpieza de Material |**
Sterilization, Culture Media Preparation and Labware Washing
- [129] **Invernadero |**
Glasshouse
- [130] **Interacciones Moleculares |**
Molecular Interactions
- [131] **Microscopía Electrónica |**
Electron Microscopy
- [132] **Microscopía Láser Confocal y Multidimensional *in vivo* |**
*Confocal Laser and Multidimensional Microscopy *in vivo**
- [133] **Protección Radiológica |**
Radiation Safety
- [134] **Proteómica y Genómica |**
Proteomics and Genomics
- [135] **Química de Proteínas |**
Protein Chemistry
- [136] **Resonancia Magnética Nuclear |**
Nuclear Magnetic Resonance

Responsables Técnicos | Head Technician

Tomás Fontela Casado

Pablo González Jara

Veterinaria Designada | Official Veterinarian

Angélica Horrillo Ledesma

Responsable Científico | Head Scientist

Jesús del Mazo Martínez

Otros miembros | Other members

Esther Sánchez Jiménez

Daniel del Olmo Fernández

Andrés Rodríguez Moreno

Carlos Escobar Caballero

María Herrera Hernández

Francisco Casado Robledillo

Marta Cereceda Díaz

Arantxa Manso Torres

Carolina Navas Jiménez

María Tijero Martín



<https://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/animalario>



Animalario

Una parte importante del trabajo científico que se realiza en el Centro de Investigaciones Biológicas y que contribuye a la mejora de la vida de las personas y de los animales es la utilización de modelos animales de experimentación. El Animalario del CIB está destinado a la producción y mantenimiento de cepas y líneas genéticamente modificadas de ratón que se utilizan con fines experimentales. Estos animales sirven como modelo para su uso en investigaciones enfocadas a ampliar conocimientos sobre procesos biológicos básicos y el estudio de enfermedades que afectan a distintos sistemas, nervioso, inmunitario,

urogenital, a diversos tipos de cáncer y a enfermedades raras menos conocidas, entre otros.

El personal del servicio de animalario presta su apoyo científico-técnico tanto a grupos del CIB como a grupos externos (mediante acuerdos de colaboración) en la realización de los procedimientos experimentales con animales. Estas labores comprenden desde el asesoramiento en el diseño experimental de los procedimientos que se llevan a cabo con los animales hasta la inoculación y administración de drogas, la realización de cirugías y necropsias o la congelación y revitali-

zación de embriones de ratón (ver listado de prestaciones del servicio). El personal del servicio está en constante formación y tiene entre sus objetivos prioritarios el de alcanzar los más altos estándares de bienestar animal para aportar su contribución a una ciencia de calidad.



We work continuously on the improvement of animal welfare.

Animal Facility

An important part of the scientific work that is carried out in the Center for Biological Research to contribute to the improvement of the lives of people and animals involves the use of animals as model systems. The CIB Animal Facility is intended for the production and maintenance of different strains and lines of genetically modified mice that are used in scientific research focused on basic biological processes and on the study of diseases that affect different body systems (i.e., nervous, immune, urogenital), as well as in various types of cancer and rare diseases, among others.

Staff at the Animal Facility provides scientific and technical support to groups from the CIB and also to external groups (through collaboration agreements) in the realization of their required experimental procedures with animals. These tasks range from advice on the experimental design of the procedures to be carried out

with the animals, to the inoculation and administration of drugs, the performing of surgeries and necropsies on animals, or the freezing and revitalization of mouse embryos (please see the complete list of benefits of the service). Personnel of the service operate under continuous training and their priorities are to achieve the highest standard of animal welfare possible and to contribute to a science of quality.



Preparing mouse embryos for cryopreservation.

Responsable Técnico | Head Technician

Olvido Partearroyo Lacaba

Responsable Científico | Head Scientist

Pedro García González

Otros miembros | Other membersMilagros Rodríguez Bueno
Miguel Soto Estébanez<http://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/biblioteca>

Biblioteca y Documentación

Esta Biblioteca es una referencia en Biología y Biomedicina en España por la calidad y extensión de su fondo bibliográfico actual e histórico (11.800 libros y 1.338 revistas, de ellas 15 con suscripción activa). Forma parte de la Red de Bibliotecas del CSIC. Su actividad prioritaria es el apoyo a la investigación en el CIB.

Servicios:

- Gestión de la colección impresa y electrónica, contribuyendo al Catálogo Bibliográfico.CSIC.
- Préstamo personal e interbibliotecario.
- Gestión y depósito de la producción científica del CIB en el Repositorio Institucional en acceso abierto, Digital.CSIC.
- Gestión bibliométrica con BD bibliográficas y GesBib/CSIC.
- Reprografía y encuadernación.
- Preservación y restauración de fondos.
- Sala de lectura (33 puestos, wi-fi).

Otras actividades:

- Legado Dr. Marañón: consulta, reproducción y préstamo para investigación y exposiciones. Divulgación de este fondo con exposiciones y artículos (ver imagen).
- Visitas externas en la Semana de la Ciencia, Ciencia en el barrio/CSIC y privadas.
- Exposiciones Día del Libro.
- Taller formativo impartido en Master-CIB (cursos 2017-2018 y 2018-2019).



Exposición de algunos libros de la biblioteca médica del Dr. Gregorio Marañón

Library and Documentation

CIB Library and Documentation Service is a reference in the area of Biology and Biomedicine in Spain for the quality and extension of its funds (11800 books, 1338 journals, 15 subscriptions at present). It belongs to the CSIC Libraries Network. Its activity is mainly focused on supporting the research in the CIB.

Services:

- Management of the printed and e-collection, contributing to CSIC-Bibliographic-OPAC.
- Personal and interlibrary loan.
- Management and deposit of the scientific production of the CIB in the Digital.CSIC Institutional Repository.
- Bibliometric management with bibliographic BD and GesBib / CSIC.
- Reading room (33 seats, wi-fi).
- Reprography and binding.
- Preservation and restoration of funds.

Other activities:

- Legacy of Dr. Marañón: consultation, reproduction and loan for research and exhibitions. Outreach of this fund with exhibitions and articles (see image).
- External visits in the Week of Science, Science in the neighborhood / CSIC and private.
- Book Day exhibitions.
- Training workshop at Master-CIB (2017 and 2018).

Responsable Técnico | Head Technician

Mario García de Lacoba

Responsable Científico | Head Scientist

Fernando Díaz Pereira

Otros miembros | Other members

Ruth Matesanz Rodríguez

Guillermo Padilla Alonso



<http://www.cib.csic.es/bioinformatics>



Bioinformática y Bioestadística

El Servicio de Bioinformática y Bioestadística da apoyo científico-técnico a los grupos de investigación con necesidades de análisis en las siguientes áreas:

A. Análisis de datos de secuenciación de nueva generación (NGS o high-throughput sequencing technologies) en cualquiera de sus modalidades experimentales:

- Análisis de la expresión génica, RNAs no codificantes y pequeños RNAs a partir de secuencias NGS (RNA-Seq).
- Identificación de sitios de unión de proteínas asociadas a DNA por inmunoprecipitación de cromatina (ChIP-Seq).

- Identificación de SNPs e indels en el genoma completo o en regiones de interés (DNA-Seq).
- Ensamblaje de pequeños genomas a partir de secuencias de nueva generación y provenientes de muestras mixtas (metagenómica).

B. Análisis de secuencias y predicción de estructura:

- Análisis de secuencias biológicas.
- Análisis de datos de microarray y enriquecimiento en estudios de genómica funcional.
- Modelado de estructuras de proteínas y ácidos nucleicos.
- Extracción de información funcional y evolutiva (inferencia filogenética) de secuencias de proteínas y genes.

C. Bioestadística:

- Planteamiento del diseño experimental óptimo. Definición los conceptos básicos del experimento (unidad experimental, muestras, réplicas, fuentes de variación, etc.).
- Ayuda en la interpretación de resultados basándose en los análisis estadísticos empleados: apoyo teórico en la discriminación de “información útil” proporcionada por los programas informáticos. Software estadístico preferente: R en entorno GNU/Linux y SAS/STAT® en entorno Windows.

D. Soporte a los usuarios en el acceso a los recursos de computación científica: cluster citron (CIB), cluster Trueno (CSIC), GRID-CSIC.

Bioinformatics and Biostatistics

The Bioinformatics and Biostatistics Service is organized into four main Areas, giving scientific and technical support to research groups:

A. NGS data analysis (or high-throughput sequencing technologies), in any of its applications:

- Analysis of gene expression data, non-coding RNAs and small RNAs generated using NGS (RNA-Seq).
- Genome-wide identification of protein binding sites by chromatin immunoprecipitation (ChIP-Seq).
- Identification of SNPs and indels genome-wide or in regions of interest (DNA-Seq).
- Small genomes assembly from NGS data and complex microbial samples (Metagenomics).

- Protein and nucleic acid structure and functional predictions.
- Reconstructing and analysing phylogenetic relationships from biological sequences.

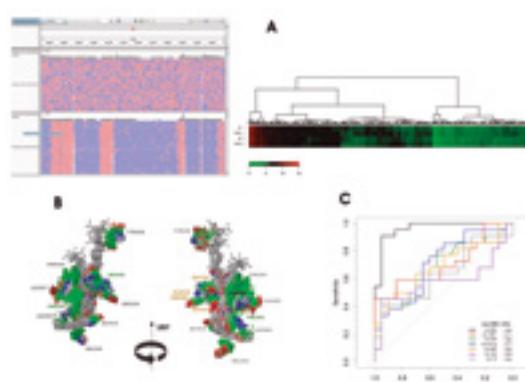
C. Biostatistics:

- We recommend the experimental design that fits the purpose of the experiment, by setting the basic concepts of the experiment (experimental unit, samples, replication, sources of variation, etc.).

- According to the statistical analysis used, we help to interpret the results: theoretical support discriminating “useful information” from software outputs.

Preferred statistical software: R or SAS/STAT® packages for either linux or Windows computing platforms.

D. User support to access the scientific computational resources: Accessing the citron (CIB) and Trueno (CSIC) cluster facilities and GRID-CSIC.



Some results from three of the facility's main expertise areas. Panel A: (Left) Mapped reads of unstranded (top) and strand-specific (bottom) RNA-seq libraries for a prokaryote transcriptome displayed by IGV. (Right) Gene expression profiles (heatmap) from RNA-Seq data of four different Leishmania mutants. Panel B: Overlapped frames of a MD simulation for a model of a ligand (in gray)-enzyme (in green) complex. Panel C: ROC curves for a predictive model from a logistic regression analysis.

Responsable Científico | Head Scientist

Pedro Lastres Varo

<http://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/flow-cytometry>

Citometría de Flujo

El Servicio de Citometría de Flujo está concebido como instrumento de apoyo a los grupos de investigación que necesitan utilizar esta técnica.

Este objetivo se realiza mediante tres tipos de prestaciones:

1. Diseño experimental de los ensayos de análisis y separación celular.
2. Formación de usuarios en el manejo de los equipos de análisis.
3. Análisis de resultados.

El servicio está equipado actualmente con dos analizadores, modelos EPIC XL y FC500 y un "cell sorter" modelo FACS Vantage, además de medios para el manejo de muestras y el análisis de resultados (microscopio de epifluorescencia,

de contraste de fases, campana de flujo laminar, software de análisis, etc.). Las aplicaciones más frecuentes que se llevan a cabo son:

- Inmunofenotipaje celular.
- Estudios de viabilidad celular.
- Análisis del potencial de membrana mitocondrial.
- Análisis del ciclo celular.
- Señalización celular.
- Detección de especies reactivas del oxígeno (ROS).
- Estudios de pH intracelular y flujos de Ca^{2+} .
- Separación celular en las aplicaciones descritas anteriormente.

Flow Cytometry

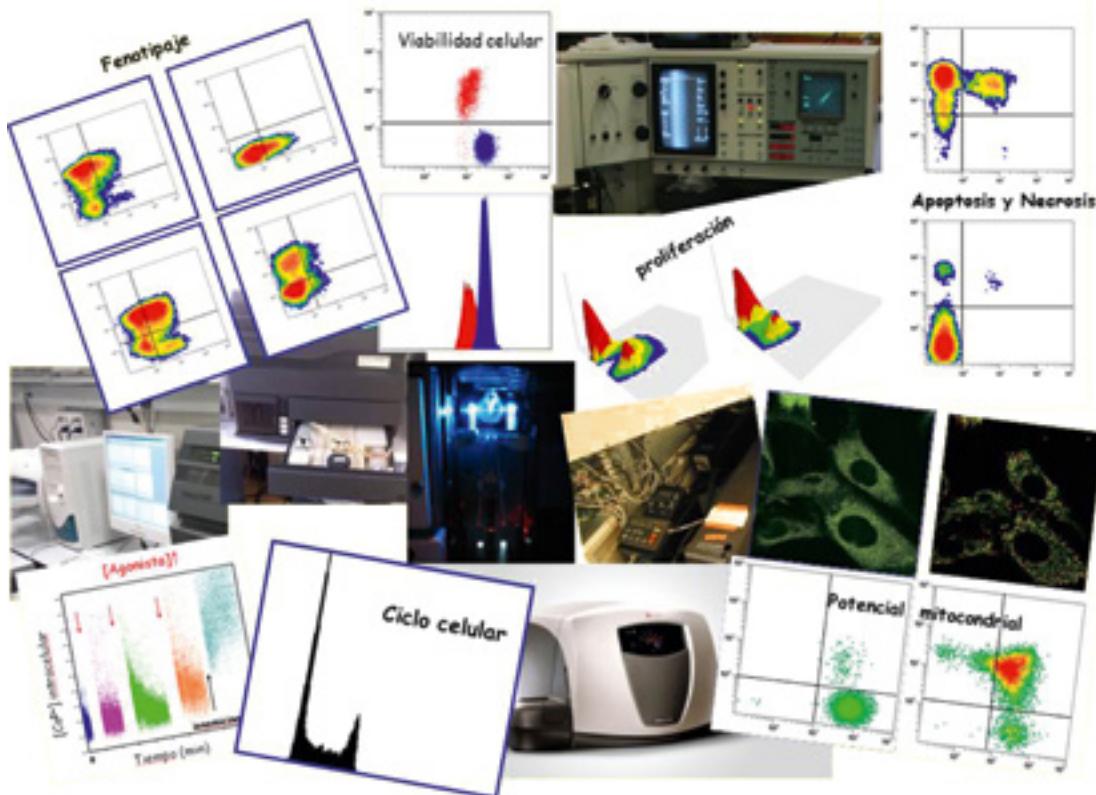
Flow Cytometry Service is focused on giving support to the research groups employing this technique in their research.

In order to achieve this objective we work in the Facility at three different levels:

1. Experimental design of analytic assays and cell sorting experiments.
2. Users training for management of analytical cytometer-
3. Data analyses.

At this moment the service is equipped with two analysers, EPICS XL and FC500 and a FACS Vantage cell sorter, as well as complementary facilities for samples and results management (epifluorescence and phase contrast microscopes, tissue culture hood, analytical software, etc). The most frequent applications carried out are:

- Cellular immunophenotyping.
- Cell viability studies.
- Analysis of mitochondrial membrane potential.
- Cell cycle analysis.
- Cellular signalling.
- Detection of reactive oxygen species (ROS).
- Monitoring of intracellular pH and Ca^{2+} fluxes.
- Cell sorting in the applications described above.



Responsable Técnico | Head Technician

Leonor Rodríguez Sánchez

Responsable Científico | Head Scientist

Alicia María Prieto Orzanco

Otros miembros | Other members

Mercedes Sánchez Carmona



[http://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/
cromatografia-de-gases](http://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/cromatografia-de-gases)



Cromatografía de Gases

El Servicio de Cromatografía atiende a usuarios internos y externos interesados en la separación, identificación y cuantificación de compuestos orgánicos en mezclas complejas. Se trata de ofrecer al investigador un apoyo integral para estos análisis, lo que incluye el asesoramiento sobre la manipulación y preparación de muestras, puesta a punto de nuevos

métodos y soporte para la interpretación de los resultados.

Equipos:

- Cromatógrafo de gases 7890A (Agilent) con inyector split/splitless y automuestreador para 150 viales, automuestreador de espacio de cabeza para

12 viales 7697A (Agilent) y detectores FID y TCD.

- Cromatógrafo de gases 7890A con detector de masas MSD 5975C (Agilent), inyector split/splitless, ionización por impacto electrónico y automuestreador para 150 viales.
- Sample Prep WorkBench 7696A (Agilent).

Gas Chromatography

The Gas Chromatography facility fulfils the needs of CIB and external users for the separation, identification and quantification of volatile analytes. We try to give total support to researchers to carry on these analyses, from sample handling to interpretation of the results, even setting up new protocols on users demand.

Our facility is equipped with:

- Gas chromatograph 7890A (Agilent) equipped with a Flame Ionization Detector, Thermal Conductivity Detector, split/splitless injector with autosampler (150 vials) and Headspace Sampler (12 vials) 7697A (Agilent).

- Gas chromatography-mass spectrometry system (GC-MS) 7890A-5975C (Agilent) split/splitless injector, electron impact ionization and autosampler (150 vials).
- Sample Prep WorkBench 7696A (Agilent).



Responsable Técnico | Head TechnicianM.^a Carmen Doñoro Vázquez**Responsable Científico | Head Scientist**Isabel Barasoain Blasco (hasta junio 2018)
Teresa Suárez González (desde junio 2018)**Otros miembros | Other members**

Victor Barba Cedillo

Zahira Corrales del Villar

<http://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/animal-cell-culture>

Cultivo de Células Animales

Las dependencias generales del Servicio de Cultivo de Células están ubicadas en la planta sótano, sala S-29. Para el cultivo de microorganismos existen dos laboratorios específicos en la tercera planta. Las tres instalaciones son laboratorios de nivel dos de contención biológica.

La sala S-29 tiene una zona de esclusa con acceso controlado desde la que se entra al laboratorio general de cultivo de células animales. En él, los usuarios tienen a su disposición los equipos básicos necesarios para el cultivo celular: cabinas de flujo laminar, incubadores de CO₂, centrífugas, microscopios, baños, etc.

Funciones:

- Supervisión de las instalaciones, de Cultivos Celulares del CIB.
- Detección/eliminación de micoplasmas.
- Selección de Suero Fetal Bovino para la reserva general del CIB.
- Otros (consultar posibilidades en el Servicio).
- Caracterización Bioenergética de Líneas Celulares. El CIB dispone del equipo "Extracellular Flux Analyzer XF24-3" (Agilent-Seahorse). Desde el Servicio se ofrece el acceso al equipo y la realización de experimentos en condiciones estándar.

Para consultar disponibilidad del Servicio contactar con:
ccelulas@cib.csic.es/ extensión 4396.



Animal Cell Culture

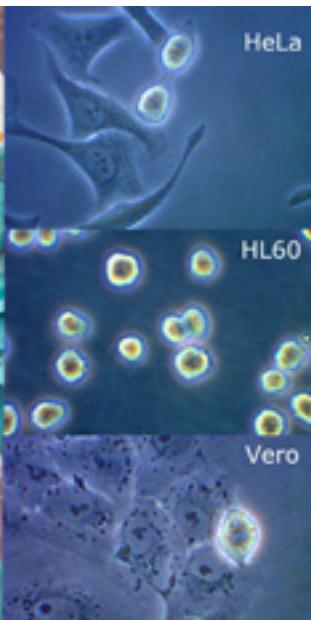
The Cell Culture Facility is located in the basement floor, room S-29. There are also two microorganism culture facilities located in the third floor. All of them are laboratories with level two of biological containment.

Room S-29 has an air lock area with controlled access previous to the general laboratory of culture of animal cells. All users have at their disposal the basic equipment needed for cell culture: laminar flow cabinets, CO₂ incubators, centrifuges, microscopes, baths etc.

Functions:

- Supervision of the Cell Culture Facilities of the CIB.
- Mycoplasma detection/elimination.
- Selection of a Fetal Bovine Serum batch for general use in the CIB.
- Others (consult possibilities in the Service).
- Bioenergetic Characterization of Cell Lines. The CIB has an "Extracellular Flux Analyzer XF24-3" (Agilent-Seahorse). The Service offers access to the equipment and the execution of experiments under standard conditions.

To check availability in the Service:
ccelulas@cib.csic.es/ extension 4396.



Responsable Técnico | Head Technician

Asunción Díaz Carrasco

Responsable Científico | Head Scientist

Santiago Rodríguez de Córdoba

Otros miembros | Other members

Maria Ángeles Martos García



<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/complement-genetics-and-molecular-analysis-laboratory>



Diagnóstico Genético Molecular de Complemento

El Laboratorio de Diagnóstico Genético Molecular de Complemento (D-COM) es un laboratorio internacional de referencia en fisiopatología del complemento y un valor estratégico dentro del Sistema Nacional de Salud. D-COM realiza estudios genéticos y moleculares completos del sistema de complemento solicitado por médicos de instituciones públicas o privadas, dentro y fuera de España. Estos estudios incluyen la selección de todos los genes del complemento mediante secuenciación masiva paralela de ADN (NGS) y secuenciación de ADN de Sanger, el estudio de las variaciones en el número de copias

(CNV), mediante MLPA, la determinación de los niveles de proteínas del complemento en plasma y la identificación de autoanticuerpos contra algunas proteínas del complemento. El propósito de estos estudios es la identificación de factores genéticos o adquiridos que causan enfermedades raras, como el Síndrome Hemolítico Urémico atípico, la Glomerulopatía C3 y la Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, o trastornos comunes, como la nefropatía por IgA o la Degeneración Macular Asociada a la Edad. Estos estudios son necesarios para implementar una medicina personalizada en estos

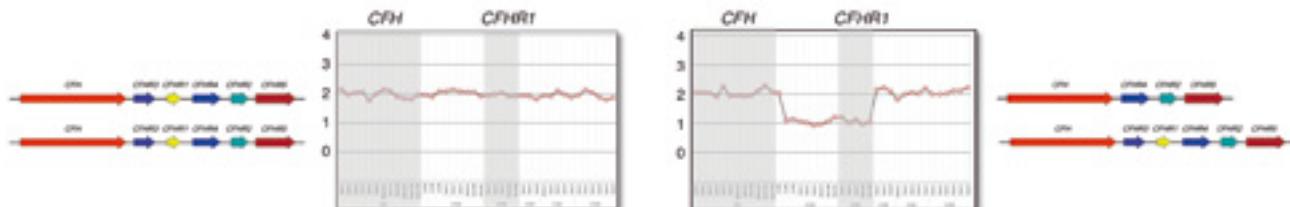
pacientes. Los datos generados en los estudios realizados son interpretados por el personal del Servicio, emitiendo un informe dirigido a los médicos responsables de los pacientes donde se describen los hallazgos obtenidos y emite una valoración del caso ayudando a los médicos a anticipar las consecuencias que tienen en la evolución de la enfermedad y la respuesta de los pacientes a los posibles tratamientos con inhibidores del complemento. El ámbito de la actividad de servicio se encuentra en el entorno de especialidades médicas tales como nefrología, oftalmología y hematología.

Complement Genetics and Molecular Analysis Laboratory

The Complement Genetics and Molecular Analysis Laboratory (D-COM) is an international reference laboratory in the physiopathology of complement and a strategic value within the Spanish National Health System. D-COM performs complete genetic and molecular studies of the complement system requested by physicians from public or private institutions, inside and outside of Spain. These studies include the screening of all the genes of the complement by massive parallel DNA sequencing (NGS) and Sanger DNA sequencing, the study of variations

in the number of copies (CNVs), by means of MLPA, the determination of levels of complement proteins in plasma and the identification of autoantibodies against some complement proteins. The purpose of these studies is the identification of genetic or acquired factors that cause rare diseases, such as the Atypical Hemolytic Uremic Syndrome, C3-Glomerulopathy and Paroxysmal Nocturnal Hemoglobinuria, or common disorders, such as IgA Nephropathy or Age-Related Macular Degeneration. These studies are necessary to implement a personalized medicine

in these patients. The data generated in the studies performed are interpreted by the staff of the Service, issuing a report addressed to the physicians responsible for the patients. This report describes the findings obtained and discuss them helping the physicians to anticipate the consequences they have on the evolution of the disease and the response of the patients to possible treatments with complement inhibitors. The scope of the service activity is in the environment of medical specialties such as nephrology, ophthalmology and hematology.



Common RCA gene cluster rearrangements. Each panel corresponds to the excel graphical representation of the merged "final ratio" columns from the experiments using commercial probes (P236) and custom probes (P200) of the same DNA sample. Duplicated probes and probes that include common polymorphisms were excluded. The right panel is a control sample. The left panel is the MLPA results of DNA sample carrying the CFHR3-CFHR1 deletion in heterozygosity.

Responsable Técnico | Head TechnicianM.^a Rosa Díaz López**Responsable Científico | Head Scientist**

Eduardo Díaz Fernández

Otros miembros | Other members

Cesar Carroza Utrero

Beatriz Fraile Fernández

Sara Fuentes Romero

Lillian Gállego Menacho (desde enero 2018)

Felicidad Lara Martínez (hasta junio 2017)

Laura López Burgos (desde junio 2018)

Carmen Menacho Madreda (hasta junio 2017)

Antonio Moreno Calle

Lorenzo Montero Vera (hasta febrero 2017)

Laura Rubio Majano (hasta octubre 2017)

<http://www.cib.csic.es/es/servicio.php?iddepartamento=23>

Esterilización, Cocina de Medios y Limpieza de Material

El Servicio de Esterilización del CIB es el encargado de esterilizar, mediante calor seco (160°C / 230°C) o húmedo (120°C/110°C), el material de trabajo o de desecho (residuos biológicos o de otro tipo), de los distintos grupos de investigación. Para ello dispone de dos hornos (Memmert), dos autoclaves 490L y dos autoclaves 165L (Matachana).

El servicio de Cocina de Medios está asociado al servicio de esterilización y cuenta con todo el equipamiento necesario para la preparación y almacenamiento de medios de cultivo, tampones y soluciones estériles, incluyendo soluciones libres de RNAsas para el trabajo con RNA.

El personal de Limpieza de Material, se encarga de la recogida, limpieza y reposición del material a los diferentes grupos de investigación. Asimismo, realiza la recogida de los residuos biológicos de los laboratorios y su traslado al Servicio de Esterilización.

Sterilization, Culture Media Preparation and Labware Washing

The Sterilization Service of the CIB is devoted to sterilize, through dry (160°C/230°C) or wet heat (120°C/110°C), the working material and wastes (biological residues, etc.) of the different research groups. The Sterilization Service has two ovens (Memmert), two autoclaves 490L and two autoclaves 165L (Matachana).

The Culture Media Preparation Service is associated to the Sterilization Service and it has all the necessary equipment for preparation and storage of culture media, buffers and sterile solutions, including RNase-Free solutions for working with RNA.

The personnel of the Labware Washing Service are responsible for collecting, cleaning and delivering the laboratory material to the different research groups. They perform also the collection of biological waste from laboratories and its transfer to the Sterilization Service.

Responsable Técnico | Head Technician

Luis Guaita Beneit

Responsable Científico | Head Scientist

Tomás Canto Ceballos

<http://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/invernadero>

Invernadero

El invernadero del CIB Consta de ocho cubículos para el mantenimiento de plantas, además de un área común en su entrada de trabajo y de control. Dos cubículos están autorizados para trabajar con material transgénico y nivel de confinamiento Tipo 1 (Notificación A/ES/05/I-11 Ministerio de Medio Ambiente de fecha 06-03-2006). Todos los cubículos están dotados de iluminación de apoyo. Las condiciones de temperatura de cada cubículo se pueden programar de manera independiente, y dentro de cada cubículo, la iluminación de apoyo de cada bancada puede así mismo programarse de manera independiente.

Glasshouse

The glasshouse at CIB consists of eight independent cubicles for the maintenance of plants, in addition to a common working and control area at its entrance. Two of the cubicles are authorised for working with transgenic material at biosafety containment level 1 (resolution A/ES/05/I-11 from the former Spanish Ministry of the Environment, dated 06-03-2006). All cubicles are fitted with support lighting. Temperature settings can be programmed independently in each cubicle, and inside the cubicle, support lighting can be independently programmed for each bench.



Responsable Técnico | Head Technician

Juan Román Luque Ortega

Responsable Científico | Head Scientist

Carlos Alfonso Botello

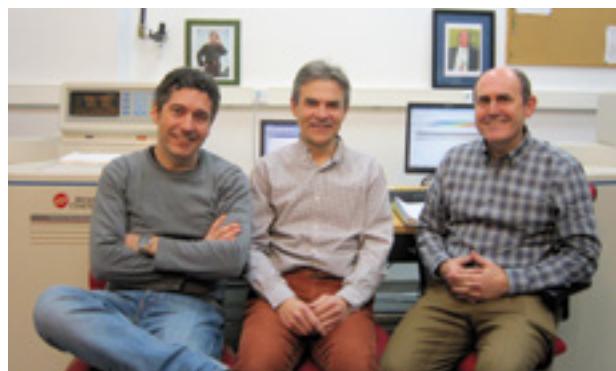
Otros miembros | Other members

Jorge Martínez Guijarro (hasta octubre 2018)

Óscar M. Nuero García (desde diciembre 2018)



<https://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/interacciones-moleculares>



Interacciones Moleculares

Nuestro laboratorio está especializado en la caracterización biofísica cuantitativa de interacciones macromoleculares reversibles en disolución. Para ello contamos con dos ultracentrífugas analíticas XLA y XLI (Beckman-Coulter Inc.), equipos de dispersión de luz dinámica DynaPro MS/X (Protein Solutions) y estática multiángulo DAWN-EOS (Wyatt Technology) y un interferómetro de biocapa BLItz (Pall).

La ultracentrifugación analítica permite la detección y cuantificación de especies macromoleculares y el análisis cuantitativo (estequiometría, reversibilidad y afinidad) de interacciones del tipo proteína-proteína, ADN-proteína y receptor-ligando. Los métodos de dispersión de luz aportan información complementaria (tamaño y masa), permitiendo caracterizar las interacciones reversibles, su evolución con el tiempo y en el equilibrio. La interferometría de biocapa proporciona información sobre afinidades de unión y cinética de asociación y disociación, pudiendo estudiar las interacciones incluso en lisados heterogéneos y a concentraciones nanomolares.

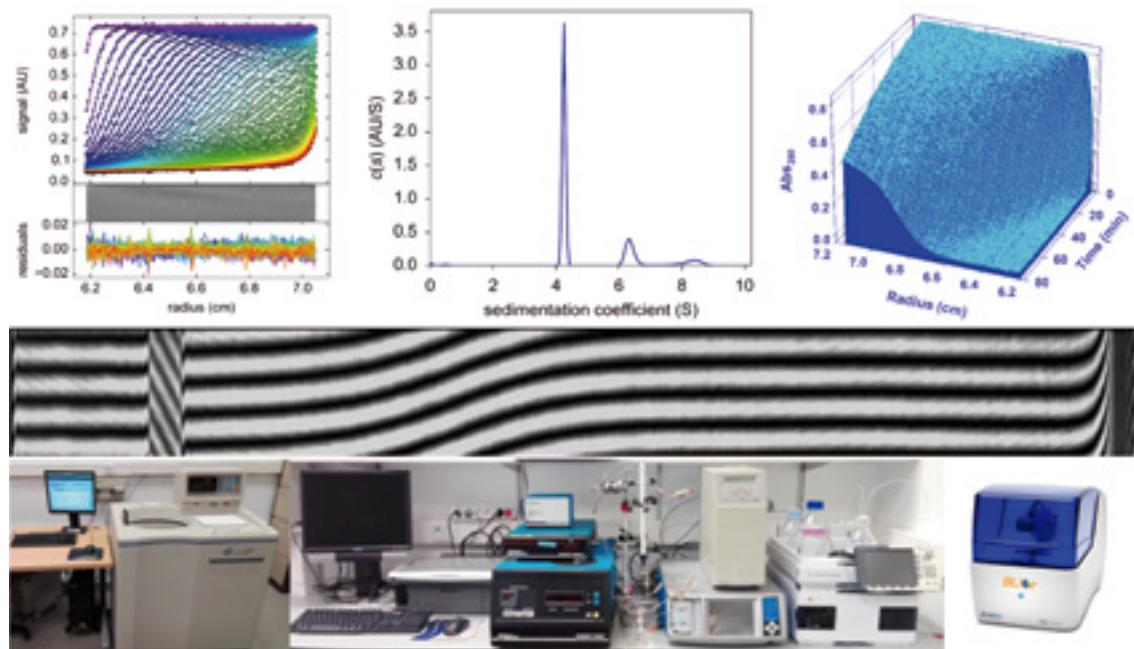
El laboratorio cuenta desde 2009 con la certificación ISO9001.

Molecular Interactions

Our group is specialized in the quantitative biophysical characterization of reversible macromolecular interactions in solution. With this aim, our facility operates two XLA and XLI analytical ultracentrifuges (Beckman-Coulter Inc.), dynamic (DynaPro MS/X, Protein Solutions) and static multiangle (DAWN-EOS, Wyatt Technology) light scattering devices and a BLItz bilayer interferometer (Pall).

Analytical ultracentrifugation is a powerful method for the detection and quantification of macromolecular species, and the quantitative analysis (stoichiometry, reversibility and affinity) of interactions such as protein-protein, DNA-protein and receptor-ligand. Light scattering methods provide complementary information (size and mass) for the characterization of reversible interactions evolving with time and at equilibrium. Bilayer interferometry provides direct binding affinities and rates of association and dissociation of macromolecules, at nanomolar concentration and even in heterogeneous crude lysates.

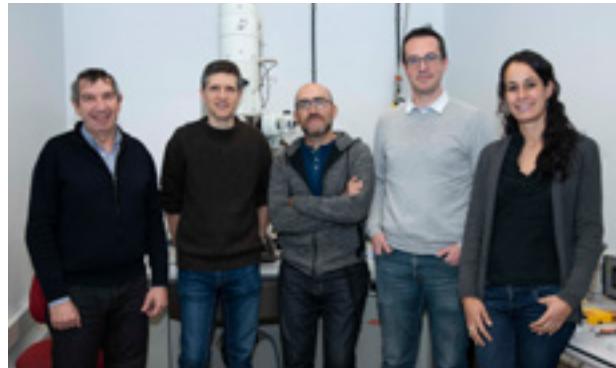
Since 2009, the facility has been certified according to ISO9001 standards.



Study of protein association state by sedimentation velocity and Facility instrumentation. Upper part: raw data and fitting, species distribution $c(s)$ and spatio-temporal data representation; Central part: Raleigh interference fringe pattern; Lower part: XLI analytical ultracentrifuge, dynamic and static multiangle light scattering SEC-MALS-QELS and bilayer interferometer.

Responsable Técnico | Head Technician

José Fernando Escolar Antúnez

Responsable Científico | Head ScientistCarlos Fernández Tornero (hasta noviembre 2018)
Ernesto Arias Palomo (desde diciembre 2018)**Otros miembros | Other members**Begoña Pou Alonso
Rafael Núñez Ramírez<http://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/electron-microscopy>

Microscopía Electrónica

El Servicio de Microscopía Electrónica (SME) proporciona apoyo científico-técnico para el análisis estructural de muestras biológicas. El SME está equipado con un microscopio electrónico de transmisión (TEM) JEOL JEM-1230 de 120kV, una

cámara digital CMOS TemCam-F416 TVIPS, un equipo de vitrificación FEI Vitrobot™, un equipo Glow Discharge Quorum GloQube de doble cámara, así como el equipamiento necesario para el procesamiento y análisis de muestras

por técnicas convencionales y criomicroscopía.

El SME procesa todo tipo de muestras biológicas para su preparación por ultramicrotomía y su estudio ultraestructural. También permite el análisis de complejos macromoleculares y nanopartículas por tinción negativa y criomicroscopía electrónica.

El SME forma parte del Servicio de Criomicroscopía Electrónica (CryoEM), plataforma que pertenece tanto al Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) como al Centro de Investigaciones Biológicas. Este Servicio se focaliza en la preparación de muestras y toma de datos de alta resolución por criomicroscopía electrónica. Entre otro equipamiento adecuado para CryoEM, el servicio cuenta con un TEM TALOS Arctica 200kV, equipado con un autoloader y un detector directo de electrones Falcon III, especialmente diseñado para la toma automatizada de gran cantidad de datos de alta resolución.



Production of bioplastics (PHA) by bacterial fermentation (sample provided by M.ª Auxiliadora Prieto).

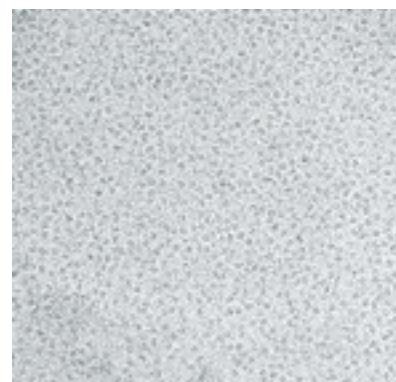
Electron Microscopy

The electron Microscopy Facility (EMF) provides scientific and technical support for structural analysis of biological samples. The EMF is equipped with a 120kV JEM-1230 JEOL transmission electron microscope, a CMOS TemCam-F416 TVIPS digital camera, a Vitrobot™ FEI cryo plunge, a Glow Discharge Quorum GloQube, as well as all the equipment required the processing and analysis of conventional and cryo-microscopy samples.

The EMF handles any kind of biological samples for ultramicrotomy sectioning and ultrastructural analysis. Furthermore, the

EMF performs the analysis of nanoparticles and macromolecular complexes by negative stain and cryo-microscopy.

The EMF belongs to the Cryo.electron Microscopy (Cryo-EM) Service, a joint effort with the Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC), which is focused on sample preparation and image collection for Cryo-EM. The facility hosts, among other equipment, a 200kV FEI Talos Arctica equipped with an autoloader and with a Falcon III direct electron detector, which is specially suited for the collection of large high-resolution datasets.



Cryo-EM image of the *E. coli* replicative helicase: loader complex (sample provided by Ernesto Arias).

Responsable Técnico | Head Technician

M.^a Teresa Seisdedos Domínguez

Responsable Científico | Head Scientist

Miguel Ángel Peñalva Soto

Otros miembros | Other members

M.^a Gema Elvira Serrano



<https://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/microscopia-laser-confocal-y-multidimensional-vivo>



Microscopía Confocal y Multidimensional *in vivo*

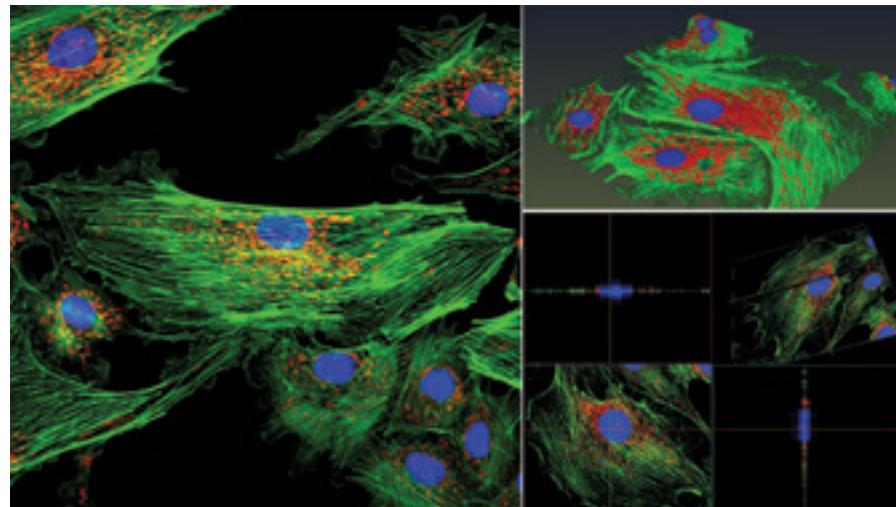
Equipamiento del Servicio:

- Microscopio Laser Confocal espectral (CLSM) Leica TCS SP5 equipado con 8 líneas de láser, AOTF, AOBS y platina motorizada que permite adquisición en multiposicionamiento y generación de imágenes compuestas.
- CLSM Leica TCS SP2 equipado con 7 líneas de láser y sistemas AOTF y AOBS.
- Sistema multidimensional de microscopía avanzada de fluorescencia de alta velocidad para observación *in vivo* Leica AF6000 LX. Equipado con microscopio invertido DMI6000B con cámara de cultivo termostatizada, control de CO₂ y dos cámaras: Orca-Flash 4.0 LT Digital CMOS, equipada con un divisor de haz (W-View Gemini) y con un tandem de filtros para GFP y mCherry que posibilita la adquisición simultánea de ambas señales, y una CCD Hamamatsu 9100-O2. Adquisición de imágenes multidimensionales en X, Y, Z, t, multiposicionamiento y generación de imágenes compuestas. FRET y estudios ratiométricos de calcio *in vivo* y otros estudios dinámicos. Software de adquisición y análisis Metamorph. Unidad independiente de análisis de imagen y sistema de almacenamiento de datos centralizado, accesible desde la Intranet.
- Cámara CCD Leica DFC350 FX sobre MO Zeiss Axioplan.
- Estereomicroscopio de fluorescencia Leica MZ16 FA con cámara en color Leica DFC490.

Confocal and *in vivo* Multidimensional Microscopy Facility

Equipment available in the facility:

- Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM) LEICA TCS SP5 fitted with eight excitation lines, AOTF and AOBS System. Scanning stage for motorized stage applications.
- Leica CLSM TCS SP2 with 7 laser lines and AOTF and AOBS systems.
- Widefield Multidimensional Microscopy System Leica AF6000 LX for live cell imaging (epifluorescence and transmitted light). It consists of an inverted Leica DMI6000B microscope and an incubation chamber equipped with CO₂ and temperature controls. System equipped with two cameras: Orca-Flash 4.0 LT Digital CMOS camera, this one fitted with an image splitting optics (W-VIEW GEMINI), which provides one pair of dual wavelength (GFP/mCherry) images separated by a dichroic mirror onto a single camera and CCD Hamamatsu 9100-O2. The hardware is controlled with Metamorph software (Molecular Dynamics) as well as by resident LAS software. It is well suited for 5D multidimensional acquisition experiments (5D: X, Y, Z, t, multiple channel), and for the generation of composite overview images, FRET analysis, ratiometric calcium determinations *in vivo* and other dynamic studies. The facility also hosts an independent image workstation that is also equipped with Metamorph software for image analysis and data output. The facility is equipped with a high capacity storage system for digital images, which is password-accessible from any other workstation connected to the CIB intranet.
- Leica CCD camera DFC350 FX on a LM Zeiss Axioplan.
- Stereo Microscope Leica MZ16 FA with color camera Leica DFC490.



Bovine pulmonary artery endothelial cells (BPAE) cells stained with a combination of fluorescent dyes. Mitochondria were labeled with red-fluorescent MitoTracker® Red CMXRos, F-actin was stained using green-fluorescent Alexa Fluor® 488 phalloidin, and blue-fluorescent DAPI was used to label the nuclei. Image corresponds to a maximum projection of Z-Stack acquired with a 63X oil immersion objective in a Leica SP5 confocal microscope. The panel shows a 3D view and orthogonal views of a detail.

Responsable Técnico | Head Technician**Marta Cebrián Echarri****Responsable Científico | Head Scientist****Luisa M.^a Botella Cubells****Otros miembros | Other members**

Zahira Corrales del Villar

<https://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-internos/proteccion-radiologica>

Protección Radiológica

Su función principal es asegurar la manipulación y uso de las radiaciones ionizantes en condiciones de seguridad. Para ello el SPR controla la formación del personal usuario, las medidas de protección radiológica en zonas autorizadas, los compuestos radiactivos no encapsulados en el CIB (entrada, utilización y gestión de residuos), los aparatos generadores de radiaciones ionizantes y su uso, y el cumplimiento de las normas exigidas por el Consejo de Seguridad Nuclear (CSN). Igualmente asesora al perso-

nal del CIB en todo lo concerniente a las radiaciones ionizantes.

La instalación radiactiva consta de una cámara caliente para el trabajo con fuentes no encapsuladas con zonas para emisores β y γ , cultivos celulares, electroforesis, incubadores para hibridaciones con sondas radiativas, contadores de centelleo, etc...; laboratorios autorizados para la manipulación de cantidades limitadas de compuestos marcados radiactivamente y dos apa-

tos productores de radiaciones ionizantes: equipo de RX y difractor de Rayos X. El CIB posee autorización para trabajar con los siguientes radioisótopos: ^{14}C , ^{3}H , ^{33}P , ^{45}Ca , ^{35}S , ^{32}P , ^{125}I , ^{51}Cr , ^{86}Rb y sales de uranilo.

El Manual de Protección Radiológica del CIB (MPR) recoge todas las normas de utilización del material/aparatos productores de radiaciones ionizantes en el Centro. La gestión del SPR es evaluada anualmente por el CSN.

Radiation Safety

The principal function of RS is to assure the manipulation and use of the ionizing radiations in safety conditions. In this way, the RS controls the training of new users in radiological protection protocols, radiation protection measures in authorized areas, the non-encapsulated radioisotopes in CIB (entry, manipulation and waste management), the use of X-ray equipments and the implementation of

the regulations of the Spanish Nuclear Council (CSN).

The radioactive facility consists of a central hot room for working with non-encapsulated isotopes and with specific areas to manipulation of β and γ emitters, cellular cultures, electrophoresis, hybridization incubators, scintillation counters, etc..., authorized areas in

ordinary laboratories to use limited activities of radioactive isotopes, and X-Ray and diffractometer X-Ray equipments. CIB is authorized to perform techniques with ^{14}C , ^{3}H , ^{33}P , ^{45}Ca , ^{35}S , ^{32}P , ^{125}I , ^{51}Cr , ^{86}Rb and ^{235}U -labeled radiochemicals.

There is a comprehensive Radiological Protection Guide for users of the CIB. Once a year the CSN supervises the RS management.



Central hot room: specific areas to manipulation of β and γ emitters.

Responsable Técnico | Head Technician

Francisco García Tabares

Responsable Científico | Head Scientist

José Ignacio Casal Álvarez

Otros miembros | Other members

Vivian de los Ríos Benítez

Tamar San Hipólito Marín



<https://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/proteomica-y-genomica>



Proteómica y Genómica

El Servicio de Proteómica y Genómica ofrece las siguientes prestaciones: En el área de Genómica: i) determinación de calidad de muestras de RNA y/o DNA (sistema Experion [BIO-RAD]); ii) PCR cuantitativa (iQ5, BIO-RAD; LightCycler96, Roche). En Proteómica: i) geles bidimensionales; ii) determinación de la masa molecular de péptidos y proteínas; iii) identificación de proteínas por huella peptídica, ambas por espectrometría de masas MALDI-TOF-TOF (Autoflex III, Bruker); iv) identificación de proteínas en proteomas complejos; identificación de modificaciones post-traduccionales y proteómica cuantitativa diferencial (SILAC, iTRAQ, "label-free") mediante cromatografía líquida acoplada al especlómetro de masas LTQ Velos Orbitrap (Thermo); v) experimentos de proteómica cuantitativa dirigida de proteínas y péptidos (SIM y PRM) en el especlómetro Q-Exactive (Thermo). La unidad es miembro de la plataforma Proteored (Instituto de Salud Carlos III).

Desde 2012 el laboratorio está certificado conforme a la norma ISO9001 con el código ER-0286/2009 Certificación AENOR en ISO9001.



Proteomics and Genomics

The Genomics and Proteomics Facility at the CIB offers the following services: In Genomics: i) determination of RNA and DNA sample quality (Experion system, Bio-Rad); ii) Quantitative PCR (iQ5, Bio-Rad; LightCycler 96, Roche). In Proteomics: i) two-dimensional gels, ii) molecular mass determination in peptides and proteins; iii) protein identification by peptide mass fingerprinting, both using MALDI-TOF-TOF (Autoflex III, Bruker) mass spectrometry; iv) protein identification in complex proteomes, post-translational modification analysis and differential quantitative proteomics (SILAC, iTRAQ, label-free)

by liquid chromatography coupled to an LTQ Velos-Orbitrap (Thermo) mass spectrometer; v) protein identification in complex proteomes as well as targeted quantitative proteomics experiments of proteins and peptides (SIM and PRM) in a Q-Exactive spectrometer (Thermo). The facility belongs to the proteomic platform "Proteored" from the Carlos III Health Institute. Since 2012 the laboratory is certified according to ISO9001 with ER-0286/2009 AENOR ISO9001 Certification code.

Responsable Técnico | Head Technician

José Javier Varela Espinosa

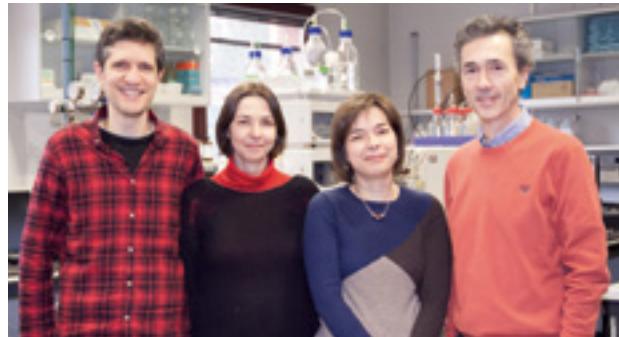
Responsable Científico | Head Scientist

Carlos Fernández Tornero

Otros miembros | Other members

Emilia Aporta Sosa

Cristina Quevedo Sierra

<http://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-cientificos/quimica-de-proteinas>

Química de Proteínas

El servicio de Química de Proteínas tiene como función principal prestar apoyo científico-técnico en trabajos de purificación, cuantificación, identificación o caracterización de proteínas, así como en el diseño, síntesis y purificación de péptidos y oligonucleótidos a todos los laboratorios de investigación, tanto de carácter público como privado, que solicitan nuestros servicios. Para ello cuenta con el siguiente equipamiento:

- Dos secuenciadores de proteínas (Applied Biosystems, Procise 494). Permiten establecer la secuencia amino terminal de péptidos y proteínas mediante degradación secuencial de Edman.
- Sintetizador de péptidos (AAPPtec, Focus XC). Trabaja con química Fmoc y puede realizar hasta 6 síntesis simultáneamente en un rango de escalas variable entre 0.05-5 mmoles.
- Sintetizador de oligonucleótidos (Applied Biosystems 3400).
- Analizador de aminoácidos (Biochrom 30). Permite determinar cuantitativa-

mente la composición de aminoácidos de hidrolizados de péptidos y proteínas.

- Cromatógrafo de líquidos. Equipos de alta presión HPLC (0-25 MPa): ÄKTA basic (Amersham Pharmacia Biotech) y Agilent serie 1200 preparativo.
- LC-MS. HPLC (Surveyor Plus) acoplado a un espectrómetro de masas de trampa de iones (Thermo Scientific).

Durante el periodo 2017-18 el Servicio ha colaborado con el gabinete de formación del CSIC con la impartición del curso "Iniciación a las técnicas de purificación y caracterización de proteínas".

Durante el año 2018 el Servicio ha iniciado la puesta en marcha de una nueva prestación dedicada a la expresión y purificación de proteínas de interés general.

Desde marzo de 2011 el laboratorio posee la certificación conforme a la norma ISO9001 con el código ER-0286/2009.



Protein Chemistry

The core Protein Chemistry Facility is a state-of-the-art laboratory designed to aid researchers in the separation, quantization, identification and characterization of proteins from any biological sample using the following equipment:

- Two protein sequencers (Applied Biosystems, Procise 494). It can identify the amino terminal sequence of peptides and proteins by means of Edman's sequential degradation.
- Peptide synthesizer (AAPPtec, Focus XC). It works with Fmoc chemistry and it can synthesize from one to six peptides at a time in a scale range of 0.05-5 mmol.
- Oligonucleotide synthesizer (Applied Biosystems 3400).
- Amino acid analyzer (Biochrom 30). It determines quantitatively the amino acid composition of peptide and protein hydrolysates.
- Liquid chromatography. High pressure (0-25 MPa) equipment HPLC: ÄKTA Basic (Amersham Pharmacia Biotech) and Agilent 1200 preparative system.
- LC-MS. Surveyor plus HPLC system coupled to an LXQ linear ion trap mass spectrometer (Thermo Scientific).

In the years 2017-18 we collaborated with the training department of the CSIC in the course "Introduction to protein purification and characterization methods".

In 2018 the facility has implemented a Protein Expression and Purification service for frequently used proteins.

Since 2011 this Facility is certified according to ISO9001 with ER-0286/2009 AENOR Certification code.

Responsable Técnico | Head Technician

Eva Calviño Vanegas

Responsable Científico | Head Scientist

Francisco Javier Cañada Vicinay



<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/nuclear-magnetic-resonance>



Resonancia Magnética Nuclear

El Servicio de Resonancia Magnética Nuclear proporciona a sus usuarios la posibilidad de realizar experimentos mediante esta técnica espectroscópica no destructiva, así como el apoyo en la interpretación de los resultados. Aplicable a sustancias con núcleos de spin nuclear distinto de cero (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , etc.), puede utilizarse en la investigación en química, biología, biomedicina y ciencia de materiales, así como para control de calidad de productos de investigación y/o comerciales.

Comprende un versátil conjunto de técnicas dirigidas a elucidación estructural, determinación conformacional de ligandos, caracterización estructural de biomoléculas (proteínas, ácidos nucleicos, carbohidratos, etc.), estudio de procesos de reconocimiento molecular entre las mismas, y análisis de equilibrios químicos y cinéticas de reacción, entre otros.

Nuclear Magnetic Resonance

The Nuclear Magnetic Resonance Service provides its users with the possibility of conducting experiments using this non-destructive spectroscopic technique, as well as supporting them with the interpretation of the results. Applicable to substances with nuclei of nuclear spin other than zero (^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , ^{31}P , etc.), can be used for research in chemistry, biology, biomedicine and material science, as well as for quality control of research and/or commercial products.

It includes a versatile set of techniques aimed at structural elucidation, conformational determination of ligands, structural characterization of biomolecules (proteins, nucleic acids, carbohydrates, etc.), study of molecular recognition processes among them, and analysis of chemical equilibria and kinetics of reaction, among others.



Technical Equipment of the NMR Service. From left to right: AV 500 MHz, AV III 600MHz, with Sample Case for 24 samples, and AV 600MHz with cryoprobe.

Servicios Generales

General Services

cib

[138] **Gerencia |**
Management

[139] **Servicios Técnicos |**
Technical Services

[140] **Unidad de Transferencia de Conocimiento |**
Knowledge Transfer Unit

[140] **Unidad de Calidad |**
Quality Assurance Unit



Gerencia | General Management

La Gerencia de los Centros e Institutos del CSIC, a través de su titular, es la encargada de la gestión de los recursos públicos destinados a la investigación científica y técnica. En el Centro de Investigaciones Biológicas la Gerencia está integrada actualmente por las siguientes Unidades departamentales:

- Gestión económico-administrativa.
- Gestión de proyectos.
- Gestión de personal.
- Gestión de compras.
- Gestión patrimonial.
- Apoyo a la Prevención de Riesgos Laborales.

Cada una de estas Unidades está compuesta por un responsable y personal de apoyo que actúan bajo la supervisión del gerente y, en última instancia, del Director del Centro. Asimismo, dependen de Gerencia el Servicio de Porteros-Recepcionistas, el Servicio de Limpieza, y el Servicio de cafetería-comedor del Campus.

The CSIC Centres and Institutions' Management, through its General Manager, oversees the public resources dedicated to the scientific and technical research. In the Biomedical Research Centre the Management includes the following Departmental Units:

- Finance & Administration.
- Project Management.
- Human Resources.
- Procurement.
- Assets Management.
- Workplace Hazard Prevention Support.

Each one of these Units includes a Responsible and support personnel that work under the supervision of the General Manager and ultimately under the Centre Director. The Caretaker/ Receptionists, Cleaning service and the Canteen Staff also report to the General Manager.

Personal de Gerencia | Management Team

Gerente | General Manager

Pérez Redondo, Irene

Gestión Económico-Administrativa | Finance & Administration

González Baena, Juan Carlos (Responsable)

Anades Besnard, Julia	Fernández García, Margarita
Castro Castro, José Luis	Gutiérrez García, Rosa María
Garabito Seco, María Jesús	Lafita Togores, M.ª Victoria
De la Flor Hernández, Javier	Melgarejo Moreno, Valena
Esteban Espinosa, Santiago	Rodríguez de Santos, José Francisco

Gestión de Personal | Human Resources

Rodríguez-Palancas Corrales, María del Carmen (Responsable)	Rubio Alcalde, Raúl
Esteban de Antonio, Luis María	
Fernández Núñez, Lorenzo	

Gestión de Proyectos | Project Management

Varón Crespo, Isabel (Responsable)

Barrio Villa, Isabel	Díaz Martín, Jesús D.
Castro Vidal, Begoña	Gómez Pulido, José Luis

Gestión de Compras | Procurement

Muñoz Sauquillo, M.ª Dolores (Responsable)

Ballesteros Villamayor, Elisa	Mateos Moya, Dolores
Calvo Saavedra, Julia	Ramos Jiménez, M.ª Teresa
Carrasco Alarcón, M.ª Jesús	Serrano Coronado, Francisco
Chimeno Llorat, Domingo	

Gestión Patrimonial | Assets Management

Hernández Paradelo, M.ª José

Apoyo a la Prevención de Riesgos Laborales | Workplace Hazard Prevention Support

Páez Abril, Eduardo

Recepción | Reception

Arellano Herrero, José Javier

Servicios Técnicos | Technical Services

La Unidad de Servicios Técnicos e Infraestructuras está formada por un equipo multidisciplinar cuyas funciones competen al desarrollo y buen funcionamiento de las instalaciones y equipos, así como el soporte especializado a los distintos grupos de investigación y servicios del Centro de Investigaciones Biológicas, asumiendo también tareas relacionadas con el mantenimiento de algunas infraestructuras del campus del CSIC en la Ciudad Universitaria de Madrid (comunicaciones informáticas y central de control de accesos).

La Unidad de Servicios es responsable administrativo, y en algunos casos del control de uso y soporte a usuarios finales, de los equipos de uso general no asignados a otros servicios.

La coordinación y gestión administrativa se realiza a través de la Jefatura y Administración de Servicios Técnicos e Infraestructuras (JF-AD).

Los servicios que integran la Unidad de Servicios Técnicos e Infraestructuras son:

The Technical Services and Infrastructure Unit, consists of a multidisciplinary team whose functions are directed towards the development and satisfactory operation of the facilities and equipment. This Unit also offers specialized support to the different research groups and services of the Centro de Investigaciones Biológicas in matters that are within its scope, also undertaking tasks related to the maintenance of some infrastructures of the CSIC campus in the University Complutense of Madrid (computer science communications, access control Centre).

The Unit has administrative responsibility and in some cases supervises equipment use, as well as giving support to end users of general equipment not assigned to other services.

Coordination and management is carried out in conjunction with the Head Office and Administration of the Technical Services and Infrastructures unit (JF-AD).

The services that integrate the Technical Services and Infrastructure Unit are the following:

- Diseño y Mecánica (DM) | Design and Mechanics
- Fotografía (F) | Photography
- Electrónica e Instrumentación (EI) | Electronics and Instrumentation
- Informática (INF) | IT Service
- Mantenimiento e Instalaciones (MI) | Maintenance and Facilities

Unidad de Servicios Técnicos e Infraestructuras | Technical Services and Infrastructure Unit

Personal del Servicio | Staff

Alejandro Ayuda Pascual	(DM)	Antonio Pérez Pardo	(MI)	Marin Pop	(MI)
Angel Arranz Bombín	(MI)	Carlos Aguado Camacho	(Head EI-INF)	Miguel Ángel Muñoz Díaz	(JF-AD)
Angel Guerrero Rivero	(MI)	Juan Miguel Tijero Paramo	(EI)	Pablo Jalón Rico	(F)
Antonio Manuel J. García Álvarez	(Head)	Julio Martín Santos	(EI)	Ramón M. Toro Monsalve	(INF)
Antonio Frias Moreno	(MI)	José Ignacio Martínez García	(Head MI)		



Servicios prestados | Services

- Gestión técnica de concursos públicos | *Technical management of public tenders*
- Gestión de las comunicaciones telefónicas | *Management of telephone communications*
- Control técnico de empresas externas que realicen trabajos en el CIB | *Technical supervision of external companies that do work in the CIB*
- Asesoramiento técnico | *Provision of technical advice*
- Soporte de software a usuarios | *Support to microcomputing software users*
- Soporte a usuarios de hardware y software de red | *Support to hardware and software network users*
- Soporte a usuarios de correo electrónico | *Support to e-mail users*
- Gestión de servidores | *Server management*
- Soporte de salas multimedia y salón de actos | *Servicing multimedia lecture rooms and conference hall*
- Tratamiento digital de imagen | *Image digitalization*
- Realización de tomas fotográficas | *Provision of photography services*
- Reparación, limpieza y calibración de pipetas automáticas | *Repair, cleaning and calibration of automatic pipettes*
- Realización de posters | *Preparation of scientific posters*
- Mantenimiento de máquinas reveladoras | *Maintenance of automated film developers*
- Adecuación de laboratorios | *Refurbishment of laboratories*
- Mantenimiento preventivo y correctivo de sistemas autónomos de climatización e invernadero | *Preventive and corrective maintenance of air conditioning systems and of the greenhouse*
- Mantenimiento de obra civil | *Maintenance works of the premises*
- Diseño y realización de prototipos, actualización de equipos | *Designing and making of equipment prototypes, updating of equipment*
- Mecanizado de piezas | *Manufacture of equipment pieces*
- Mantenimiento y reparación de hardware de equipos informáticos | *Maintenance and repair of computer hardware*
- Revisión de equipos de rayos X | *Periodic checking x-ray equipments*
- Mantenimiento preventivo y correctivo de sistemas autónomos de climatización e invernadero | *Preventive and corrective maintenance of air conditioning systems and of the greenhouse*
- Mantenimiento de instalaciones de fluidos | *Maintenance of installations for fluids*
- Jardinería | *Gardening*
- Reparación de equipamiento básico de laboratorio | *Repair of basic laboratory equipment*
- Mantenimiento de cuadros eléctricos | *Maintenance of electrical switchboards*
- Administración de comunicaciones y electrónica de red | *Administration of communications and network electronics*
- Reparación y calibrado de equipamiento especializado de laboratorio | *Repair and calibration of specialized laboratory equipment*
- Mantenimiento preventivo y correctivo del sistema de vigilancia y control de accesos | *Preventive and corrective maintenance of the surveillance systems for control of access to the premises*



Responsable de la Unidad | Head Unit

Alejandra García Alonso (hasta 31/12/2018)
Marta García del Barrio (desde 1/03/2019)



<http://www.cib.csic.es/ip-portfolio>



Responsable Técnico | Head Technician

María José Hernández Paradelo

Responsable Científico | Head Scientist

Germán Rivas Caballero



<https://www.cib.csic.es/es/servicios/servicios-internos/unidad-de-calidad>

Unidad de Transferencia de Conocimiento

La Unidad de Transferencia del Conocimiento del CIB, integrada en la Vicepresidencia Adjunta de Transferencia de Conocimiento (VATC) del CSIC, tiene como principal objetivos promover, coordinar, impulsar y gestionar las relaciones entre los investigadores del CIB y otros organismos públicos de investigación, fundaciones públicas o privadas y empresas, tanto nacionales como internacionales, para fomentar la innovación y apoyar la transferencia de conocimientos y resultados a las empresas.

Sus principales servicios o actividades son:

- Gestión, negociación y tramitación de Contratos (Apoyo Tecnológico e I+D), Acuerdos de Cesión de Material Biológico, Acuerdos de Confidencialidad, etc.
- Colaboración en la vigilancia tecnológica, estudios de patentabilidad y redacción de patentes.
- Asesoramiento en las relaciones entre investigadores y empresas para solventar las necesidades tecnológicas de éstas a través de la cooperación con grupos de investigación del CIB.
- Transferencia de tecnología y comercialización de las ofertas tecnológicas, los resultados de los investigadores del CIB, protegidos por patentes u otros modelos de protección, están disponibles para las empresas mediante la licencia de los mismos.

Knowledge Transfer Unit

CIB Knowledge Transfer Unit, as a part of the Deputy Vice-Presidency for Knowledge Transfer (VATC) of CSIC, has the aim to promote, coordinate and manage the relationships between researchers of CIB and other public research organizations, public and private foundations and corporations, both domestic and international, as well as to promote innovation and support the transfer of knowledge and results to companies.

Main services or activities are:

- Management, contract negotiation and processing (Technology Support and R & D), Biological Material Transfer, Confidentiality Agreements, etc.
- Collaboration in technology surveillance, and patentability studies, and patent drafting.
- Adviser in the relationship between researchers and companies, to solve companies' technological needs through cooperation with research groups from CIB.
- Technology transfer and commercialization of technology offers. The results of the CIB researchers, protected by patents or other intellectual property protection modes, are available for exploitation under patent license agreements.

Unidad de Calidad

La Unidad de Calidad del CIB se creó en 2009 para coordinar y mantener la mejora continua de los Servicios Científico-Técnicos del CIB de acuerdo a la Norma UNE-EN ISO 9001:2008. El alcance de la certificación abarca las siguientes técnicas:

- Determinación del tamaño, forma, estado de asociación y grado de homogeneidad de proteínas y otras macromoléculas (biológicas) mediante ultracentrifugación analítica.
- Apoyo al usuario en la ejecución de experimentos de dispersión de luz dinámica.
- Síntesis de oligonucleótidos.
- Análisis automático de aminoácidos mediante derivatización post-columna con ninhidrina.
- Secuenciación automática de proteínas mediante degradación química de Edman.
- Determinación de la masa molecular por espectrometría de masas.
- Asistencia técnica en la adquisición de imágenes de microscopía confocal.

Quality Assurance Unit

The Quality Assurance Unit of the CIB was created in 2009 to coordinate and promote the continuous improvement of the Technical Units and Scientific facilities at the CIB, according to the UNE-EN ISO 9001:2008 standards. Currently the certification includes the following techniques:

- Determination of the size, shape, state association and degree of homogeneity of proteins and other (biological) macromolecules by analytical ultracentrifugation.
- Support to users in dynamic light scattering.
- Oligonucleotide synthesis.
- Automatic amino acid analysis.
- Automatic protein sequencing.
- Determination of molecular mass by mass spectrometry.
- Technical assistance in the acquisition of confocal microscopy images.

Spin-offs



Secugen S.L. es una empresa especializada en tecnologías de secuenciación y análisis de ADN que ofrece servicios que van desde la secuenciación Sanger hasta el diagnóstico genético en humanos, pasando por la identificación de microsatélites, la identificación varietal de vegetales, la identificación microbiana o el desarrollo de proyectos a medida.

En actividad desde el año 2006, y nacida como "spin-off" del Servicio de Secuenciación de ADN del CIB-CSIC, Secugen es hoy una referencia en el campo de la secuenciación y análisis de ADN y en el diagnóstico genético. Sus más de 400 centros clientes en el área de secuenciación se benefician de la mejora continua en los procesos y de la atención directa que prestan sus técnicos. En el área de diagnóstico molecular colabora con alrededor de un centenar de hospitales y tiene como clientes a varias compañías farmacéuticas.

Secugen, reconocida como PYME Innovadora por el ministerio de Economía y Competitividad, está certificada como empresa que desarrolla I+D. Cuenta con un departamento de I+D que desarrolla proyectos que le permiten introducir en el mercado pruebas genéticas útiles e innovadoras.

Como compromiso de calidad Secugen cuenta con la certificación ISO 9001:2015 y está autorizado por la Comunidad de Madrid como centro de "Diagnóstico analítico con unidad de genética".

Secugen S.L. is a company specialized in sequencing and analysis of DNA that offers services ranging from Sanger sequencing to genetic diagnostics in humans, through the identification of microsatellites, varietal identification of plants, microbial identification or custom tailored projects.

In business since 2006, Secugen was born as a "spin-off" of the DNA Sequencing Service of the CIB-CSIC, nowadays it is a reference in the industry of DNA sequencing and genetic diagnostics. Secugen has over 400 different centres in the area of DNA sequencing. These customers benefit from the continuous improvement in processes and from the direct contact with Secugen's staff. In the area of molecular diagnostics Secugen collaborates with around one hundred hospitals, and has as clients several pharmaceutical companies.

Secugen is recognized as innovative SME by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness, and is also certified as a company that develops R&D. Secugen's R&D department develops projects that allow it to put on to the market useful and innovative genetic tests.

As a commitment to quality, Secugen is certified to ISO 900:2015 and it is also authorized by the Community of Madrid as "Diagnostic Genetic Analytical Unit".

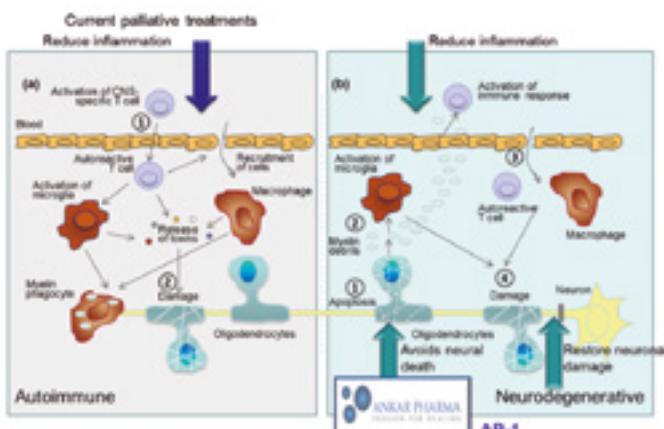
Spin-offs



Equipo Fundador | Founder Team

Ana Martínez (Investigador | Scientist)
 Carmen Gil (Investigador | Scientist)
 Michael de José (Presidente ejecutivo | Executive president)

Ankar Pharma es una compañía spin-off del CSIC que nació en 2014 con la idea de ayudar a poner en el mercado medicamentos que disminuyan el sufrimiento de los pacientes. Su primer proyecto busca completar el desarrollo preclínico regulatorio de AP-1, fármaco innovador para el tratamiento por vía oral de la esclerosis múltiple, con propiedades neuroprotectoras, antiinflamatorias y remielinizantes. AP-1 cuenta con una sólida protección industrial (patente concedida en la Unión Europea, Estados Unidos y Australia). En el año 2018 se ha iniciado el desarrollo preclínico de AP-1.



AP-1 therapeutic benefits for Multiple Sclerosis therapy.

Ankar Pharma is a spin-off of CSIC founded in 2014 to accelerate the pathway from drug discovery to drug market sales, aiming at obtaining successful preclinical trials of drugs for neurodegenerative diseases and sell to pharmaceutical companies the rights to develop the drug into the clinical stages and market development. The first project is based on the development of an innovative candidate for the treatment of multiple sclerosis named AP-1. In 2016, patent protection of AP-1 has been granted in European Union, United States and Australia. During 2018 the preclinical development of AP-1 has been started.



Equipo Fundador | Founder Team

M. Cristina Vega (Investigadora | Scientist)
 Santiago Rodríguez de Córdoba (Investigador | Scientist)
 Francisco J. Fernández (Director Ejecutivo | Executive Director)

Abvance es una spin-off del CSIC fundada en 2016 que se especializa en el desarrollo de sofisticadas medicinas innovadoras basadas en anticuerpos dirigidos contra proteínas y complejos multiproteicos del sistema del complemento cuya desregulación está firmemente establecida como la causa de patologías humanas. Con este fin, Abvance explota una combinación única de conocimientos y capacidades en los campos de expresión e ingeniería de proteínas, sistema inmune y complemento, producción de anticuerpos monoclonales y de un solo dominio y su caracterización y explotación como herramientas terapéuticas y biotecnológicas.



Abvance is a spin-off of CSIC founded in 2016 which develops sophisticated, next generation antibody drugs that selectively target key proteins and protein complexes of the complement system whose dysregulation has been firmly established as the root cause of human diseases. To this end, Abvance is taking advantage of its unique combination of skill sets in the fields of protein expression and engineering, complement and immune system, monoclonal antibody and single-domain antibody production, characterisation and exploitation as therapeutic and biotechnological tools.

Actividades y Datos

Activities *and Data*

cib

[144] **Outreach**

[145] **Formación |**
Training

[146] **Tesis Doctorales |**
PhD Thesis

[148] **Trabajos Fin de Máster (TFM)
y Fin de Grado (TFG)**
Master's Thesis and Final Degree Projects

[150] **Visitantes Extranjeros**
Foreign Visitors

[151] **Cambios de Personal |**
Changes in CIB Staff

[151] **Women in Science (2018)**

[152] **Directorio de Investigadores |**
Directory of Staff Scientists

[154] **Localización CIB |**
CIB Location

[154] **Otros Teléfonos del Centro |**
Other CIB Telephone Numbers

Outreach

The CIB is organizing on an annual basis seminar series inviting prestigious speakers on cutting edge biological topics. During the last biennium speakers included:

- **Francisco Mojica,**
Universidad de Alicante, Alicante (Spain)
- **Víctor de Lorenzo,**
Centro Nacional de Biotecnología, Madrid (Spain)
- **Paul Williams,**
University of Nottingham, Nottingham (UK)
- **Richard J Youle,**
National Institutes of Health (NIH), Bethesda (USA)
- **Carlos Gancedo,**
Instituto de Investigaciones Biomédicas, Madrid (Spain)
- **Rafael Delgado,**
Hospital 12 de Octubre, Madrid (Spain)
- **Susana Marcos,**
Instituto de Óptica, Madrid (Spain)
- **Joe Yeeles,**
MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge (UK)
- **Jacco van Rheenen,**
Hubrecht Institute, Utrecht (Nederland)
- **Aarti Jagannath,**
University of Oxford, Oxford (UK)
- **Thomas Blundell,**
University of Cambridge, Cambridge (UK)
- **Harald Stenmark,**
Oslo University Hospital, Oslo (Noruega)
- **Paola Bovolenta,**
Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Madrid (Spain)

A whole range of activities to reach out the general public is being organised on a continuous basis. Some of these events during the last biennium include:

- Science Week ("SEMANA DE LA CIENCIA"), a yearly promotional activity organised by the Community of Madrid. CIB is participating in this event through scientific presentations, publicity booths, and informal visits of high-school students to our research Center with hands-on demonstrations (Biotechnology of spirulina, the use of microbial enzymes on vegetable waste, growing plants in space, chemistry of molecules of life in 3D, birth of a medicine: synthesis of paracetamol). We regularly host throughout the year guided visits of secondary schools to our centre in an effort to immerse youngsters with our biological sciences.



Prof. Francisco Mojica during his seminar (2017)

- The institute is hosting a range of formal activities such as the celebrations of the Foundation Francisco Cobos annual awards or the Spanish Royal Society for Chemistry awards.
- CIB staff is organising several cycles of gatherings in local pubs to discuss biological science topics, such as "Jam Science", Ciencia en Pangea" and Ciencia con Tres Encantos.
- The CIB is proactively participating in a variety of events, promoting women in science, giving talks and taking part in a variety of initiatives, like mentoring or gender-discussion in social media (<https://www.muyinteresante.es/ciencia/fotos/cientificas-espanolas-que-deberias-conocer/flora-de-pablo-medicina>).
- There is a continuous obligation for scientists to keep contact with society, explaining what their research is about. In this context CIB scientists have been editing several dissemination books, such as "Cómo se fabrica un medicamento" (How medicines are fabricated) (Editorial CSIC-Los libros de la Catarata): María del Carmen Fernández & Nuria Campillo that attracted considerable media attention.
- Art & CIB. On May 9th the permanent exhibition of the ceramic mural *Everything I know about Biology* was inaugurated in the main hall at Centro de Investigaciones Biológicas. The mural was built by Kenneth Moser, student at the Workshop of muralism of the Escuela Municipal de Cerámica de la Moncloa.



Ceramic mural "Everything I know about Biology" by Kenneth Moser, inaugurated on May 9th 2018, in the CIB entrance hall

Formación | Training

Training of stakeholders is one of our pillars towards scientific excellence. Over time the CIB has been developing continued efforts to develop Masters and other specialised training courses on advanced biology topics. A brief summary:



1. Master in Molecular and Cellular Integrative Biology (MCIB)

Mcib (Master in Molecular and Cellular Integrative Biology) is a 90 ECTS research school co-organized by the Spanish Research Council (CSIC) and the International University Menéndez Pelayo (UIMP) to provide advanced training in molecular and cellular life sciences to graduate students in a cutting-edge scientific environment. (<https://www.master-mcib.com>)

Next to scientific seminars, Mcib is also organizing a range of specific workshops on specific science related topics that are open to the public, such as:

- First steps towards entrepreneurship,
- Social responsibility (ethics) in science
- Basic principles of bio-statistics
- Scientific writing, presentation, bibliographic databases

2. Training courses for CSIC staff

Every year the CIB staff engages in a variety of specialized courses that are open to all CSIC personnel. Some of the topics that have been lectured during the last two years are:

- Initiation to techniques for protein purification and characterisation (Javier Varela y María Jesús Martínez)
- Introduction to Flow Cytometry (Pedro Lastres)
- Confocal and *in vivo* Multidimensional Microscopy: Basics and applications (Pilar Sánchez Testillano)

3. Training for High School teachers and health professionals

In collaboration with the governmental authorities of the Community of Madrid and the CSIC, the CIB has been organising a course for professionals that are involved in biology related topics: "Scientific controversies and cutting edge research in Biomedicine and Biotechnology", organized by Enrique J. de la Rosa (CIB).

4. The CIB has managed the participation of the bioscience research in the Doctorate Programme of Science and Technology, organized under the agreement signed by the International University Menéndez Pelayo and the CSIC.

This Programme is intended to be an important tool for training of researchers according to the criteria of scientific and technical excellence and adaptation to the needs of the society. The CIB proposal included three main areas of research:

- Structural and Molecular Biology
- Cellular and Molecular Basis of the Physiopathology
- Biotechnology

The scientific staff engaged in this Bioscience Research programme is formed by 15 scientists and supported by 11 research projects.



The faces of Mcib (2017): students, teachers, directors and collaborators

Tesis Doctorales

PhD Thesis

Biología Celular y Molecular | Cellular and Molecular Biology

- **Miguel Hernández González**
Tráfico a través del aparato de Golgi y extensión apical en Aspergillus nidulans
Universidad Complutense de Madrid, febrero 2018
Director: **Miguel Ángel Peñalva Soto**
- **Sara Villa Hernández**
The Bul2/Rsp5 ubiquitin ligase complex promotes cohesin-mediated fork-restart
Universidad de Salamanca, febrero 2017
Director: **Rodrigo Bermejo**
- **Prakhar Bisht**
Mechanisms preserving genome integrity at sites of replication-transcription interference
Universidad de Salamanca, marzo 2017
Director: **Rodrigo Bermejo**
- **Grazia Pellicanò**
Contribution of DNA polymerase epsilon to replication forks collapse
Universidad Autónoma de Madrid, diciembre 2018
Director: **Rodrigo Bermejo**
- **Fabio Nicolini**
Polycomb RING1B in neural stem cells proliferation
Universidad Autónoma de Madrid, junio 2017
Directores: **Miguel Ángel Vidal Caballero y Carmela Calés Bourdet**
- **Katarzyna Klaudia Starowicz**
Polycomb RING1B complexes in hematopoietic cells
Universidad Autónoma de Madrid, septiembre 2017
Directores: **Miguel Ángel Vidal Caballero y Carmela Calés Bourdet**
- **Carolina Gómez Moreira**
El receptor de quininas CCR7 induce ubiquitinación de proteínas en el núcleo de las células dendríticas
Universidad Complutense de Madrid, julio 2018
Director: **José Luis Rodríguez-Fernández**
- **Vanesa Fernández Calleja**
Análisis de la expresión génica diferencial de células eritroleucémicas resistentes a la diferenciación: relevancia de las proteínas del citoesqueleto de actina
Universidad Complutense de Madrid, marzo 2017
Directora: **Dora Beatriz Krimer Smunis**
- **Alicia Castán García**
Topología del DNA durante la replicación
Universidad Complutense de Madrid, junio 2017
Director: **Jorge Bernardo Schwartzman Binder**
- **Marta Riera Borrull**
Assessment of pathophysiological mechanisms in obesity-related diseases through metabolomics, transcriptomics and mouse models of disease
Universidad Rovira i Virgili, mayo 2017
Directores: **Angel L. Corbí y Jorge Joven**
- **Ana Serrano Puebla**
Lysosomal dependent cell death: molecular players and implications in disease
Universidad Complutense de Madrid, marzo 2018
Directora: **Patricia Boya**
- **Laura Molina García**
Desarrollo de nuevas herramientas para la detección e inhibición de la amiloidosis causada por el prionoide RepA-WH1 en Escherichia coli y caracterización de su toxicidad
UCM, junio 2015
Director: **Rafael Giraldo Suárez**

Biomedicina Molecular | Molecular Biomedicine

- **Ana de la Encarnación Salmerón**
Demencia frontotemporal lobar asociada al déficit de progranulina: búsqueda de nuevas dianas terapéuticas y modelos experimentales para su desarrollo preclínico
Universidad Complutense de Madrid, julio 2017
Directora: **Ángeles Martín Requero**
- **Marta Díaz Martínez**
Papel de Src quininas en invasión y de microRNAs en resistencia a quimioterapia en células de melanoma
Universidad Complutense de Madrid, junio 2017
Director: **Joaquín Teixidó Calvo**
- **Rófi Villar Vázquez**
Diagnóstico y pronóstico del cáncer colorrectal mediante la cuantificación de autoanticuerpos en suero de pacientes
Universidad Complutense de Madrid, mayo 2017
Directores: **José Ignacio Casal Álvarez y Rodrigo Barderas Manchado**
- **Beatriz Escudero Paniagua**
Nuevas dianas diagnósticas y terapéuticas en cáncer colorrectal utilizando diferentes estrategias proteómicas
Universidad Complutense de Madrid, octubre 2017
Director: **José Ignacio Casal Álvarez**
- **Sergio Esteban Iglesias**
Nuevos mecanismos de regulación de la angiogénesis por brote capilar e intususcepción: papel de las oscilaciones de calcio y de la proteasa MT1-MMP
Universidad Autónoma de Madrid, diciembre 2018
Directora: **Alicia G. Arroyo**
- **Polyxeni Gkontra**
Image analysis and modelling of the infarcted heart response at the microvascular level
Universidad Politécnica de Madrid, septiembre 2018.
Mención Doctorado internacional
Directores: **Alicia G. Arroyo y Andrés Santos Lleó**
- **Magdalena M. Źak**
Development of lentiviral-based strategies to modulate angiogenesis during post-infarction heart remodelling
Universidad Autónoma de Madrid, marzo 2018
Directora: **Alicia G. Arroyo**
- **Jesús Gómez Escudero**
PKM2 regula la angiogénesis mediante la producción de ATP de forma local en células endoteliales
Universidad de Salamanca, septiembre 2017.
Mención Doctorado internacional
Directora: **Alicia G. Arroyo**
- **Eunate Gallardo Vara**
Endoglin soluble: Mecanismo de generación y función en células endoteliales y su efecto en el remodelado vascular
Universidad Complutense de Madrid, junio 2017
Director: **Carmelo Bernabeu Quirante**
- **Luis Gamella Pozuelo**
Papel de endoglin soluble en los síntomas de la preeclampsia. Estudio en modelos animales
Universidad de Salamanca, febrero 2018
Directores: **Carmelo Bernabeu Quirante, José M. López Novoa y Miguel Pericacho Bustos**
- **Ana Nogués Pevidal**
Determinación de la Endoglin y VEGF como marcadores de angiogénesis y diseminación en el cáncer colorrectal
Universidad Autónoma de Madrid. Hospital la Paz, mayo 2017
Directoras: **Isabel Prieto y Luisa-María Botella**

Biología Estructural y Química | Structural and Chemical Biology

- **Marta Acebrón**
Fragment Based Ligand Discovery on Focal Adhesion Kinase
Universidad Autónoma de Madrid, septiembre 2018
Director: Daniel Lietha
- **Alessandra Lacetera**
Computational studies of carbohydrate-protein interactions
Universidad Complutense de Madrid, junio 2017
Directora: Sonsoles Martín Santamaría
- **Lucía Pérez Regidor**
Computational studies of Toll-like receptor 4
Universidad Complutense de Madrid, octubre 2017
Directora: Sonsoles Martín Santamaría
- **Jean-Marc Billod**
TLR4 modulation: molecular recognition studies and drug design by molecular modelling
Universidad Complutense de Madrid, mayo 2018
Directora: Sonsoles Martín Santamaría
- **Javier Rodríguez Salarichs**
Desarrollo y validación experimental de un método para la obtención de estructuras de complejos ligando/receptor basado en Resonancia Magnética Nuclear
Universidad Autónoma de Madrid, septiembre 2017
Directores: José Fernando Díaz Pereira
- **Javier Sastre Martínez**
Reconocimiento molecular basado en técnicas de RMN
Universidad Complutense de Madrid, diciembre 2017
Directores: Francisco Javier Cañada y Jesús Jiménez Barbero
- **Juan Manuel González Morena**
Estudio de la haptenuzación de proteínas por antibióticos betalactámicos
Universidad de Alcalá de Henares, mayo 2018
Directores: M.^a Dolores Pérez-Sala Gozalo y Francisco Javier Sánchez Gómez
- **Miguel López Estepa**
Estudio estructural y funcional del sistema de tráfico de azufre CSD (Cysteine Sulfinate Desulfinase) y de las proteínas que interacciona
Universidad Complutense de Madrid, mayo 2017
Directora: M.^a Cristina Vega Fernández
- **Javier Querol García**
Ánálisis estructural de la proteína GAPDH de bacterias patógenas Gram-positivas y su función como factor de inmunoevasión
Universidad Complutense de Madrid, mayo 2017
Directores: M.^a Cristina Vega Fernández y Francisco J. Fernández
- **Andrea Flores Ibarra**
Structural characterization of Galectin-3 and Galectin-Related Protein by X-ray crystallography
Universidad Autónoma de Madrid, octubre 2017
Director: Antonio Romero Garrido
- **Jaime Alegrio Louro**
Cryo-EM structures of free monomeric and Rrn3-bound RNA polymerase I unveil the structural changes in the transition from inactive dimers to the activated state
Universidad Autónoma de Madrid, septiembre 2017
Director: Carlos Fernández Tornero
- **Marta Sobrinos Sanguino**
Organización bioquímica de FtsZ en sistemas mínimos de membrana y entornos citomiméticos aglomerados
Universidad Complutense de Madrid, junio 2018
Directores: Germán Rivas Caballero y Silvia Zorrilla López
- **Ana Raso Alonso**
Organización bioquímica del proto-anillo de división bacteriano: impacto del sistema MinCDE de selección del sitio de división
Universidad Complutense de Madrid, julio 2018
Director: Germán Rivas Caballero
- **Carlos Roca Magadán**
Estrategias computacionales en el desarrollo de neurofármacos: Una tecnología de éxito
Universidad Complutense de Madrid, octubre 2018
Directoras: Nuria Campillo y Ana Martínez
- **Josefa Zaldívar Díez de Bonilla**
LRRK2 inhibitors as effective drugs for the treatment of neurodegenerative diseases
San Pablo/CEU, diciembre 2018
Directoras: Ana Martínez y Carmen Gil
- **Albert Vergoñós Tomás**
Doctor en Biología
Universidad Autónoma de Madrid, junio 2017
Directora: Sonia Huecas Gayo

Biotecnología Microbiana y de Plantas | Microbial and Plant Biotechnology

- **Ana Isabel Vicente Martín**
Evolución dirigida de lasasas fúngicas termoestabilidad y síntesis de colorantes heteropoliméricos
Universidad Complutense de Madrid, marzo 2017
Directores: Miguel Alcalde y Susana Camarero
- **Juan R. Carro Aramburu**
Nuevas oxidorreductasas GMC de basidiomicetos ligninolíticos: Screening genómico, mecanismo catalítico y potencial biotecnológico
Universidad Complutense de Madrid, mayo 2017
Directores: Ángel T. Martínez y Patricia Ferreira
- **Manuel J. Nieto Domínguez**
Estudio de xilanases fúngicas para el aprovechamiento de la biomasa lignocelulósica
Universidad Complutense de Madrid, junio 2017
Directoras: M.^a Jesús Martínez y Laura de Eugenio
- **Lorena Fernández Cabezón**
Biotransformación bacteriana de esteroideos
Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Químicas, junio 2017
Directores: José Luis García y Beatriz Galán
- **Ignacio Plaza Gordo**
*Efecto de *Arthrosphaera platensis* sobre el comportamiento y flora intestinal de *Oreochromis niloticus**
Universidad Politécnica de Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, noviembre 2018
Directores: Morris Villarroel y José Luis García
- **Helga Fernández Llamas**
*Adaptación de *Azoarcus* sp. CIB a diferentes condiciones ambientales*
Universidad Autónoma de Madrid, junio 2018
Directores: Manuel Carmona Pérez y Eduardo Díaz Fernández
- **Ana Martín Camargo**
Uso sostenible del maíz Bt: optimización del manejo de la resistencia en nocturoides plaga
Universidad Complutense de Madrid, octubre 2018
Directores: Pedro Castañera Domínguez y Gema Pérez Farinós
- **Miguel González Ximénez de Embún**
Drought-stressed tomato plants trigger bottom-up effects on key mite pests
Politécnica de Madrid, marzo 2017
Directores: Pedro Castañera Domínguez y Félix Ortego Alonso
- **Lorena Bordanaba Ruiseco**
Caracterización de las actividades de RepB y su implicación en el proceso replicativo del plásmido promiscuo pMV158
Universidad Complutense de Madrid, septiembre 2017
Directores: Gloria del Solar Dongil y José Ángel Ruiz Masó
- **Kenza Zarour**
*Etude de la diversité phénotypique, génotypique et aptitudes technologiques des souches de *Leuconostoc* isolées localement*
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Universidad de Oran, Argelia, enero 2018
Directores: Mebrouk Kihal y Paloma López
- **Emmanuel Aguilar Parras**
Identificación de factores de virulencia determinantes de necrosis en infecciones compatibles planta-virus y su papel en la respuesta a estreses abióticos asociados al cambio climático
Universidad Complutense de Madrid, junio 2017
Director: Francisco Tenllado Peralo
- **Cristian Carrasco López**
*Regulación diferencial del metabolismo de mRNAs por los complejos LSM en la tolerancia a estreses abióticos en *Arabidopsis thaliana**
Universidad Complutense de Madrid, julio 2017
Directores: Julio Salinas y Rafael Catalá
- **Ema Yolanda Olate Rodríguez**
Molecular and functional characterization of NPR1 in plant responses to abiotic stress conditions
U. Pontificia Universidad Católica de Chile, diciembre 2017
Directores: Julio Salinas y Loreto Holguie
- **Sergio Salgado Briegas**
*Construcción de una librería genética con GoldenGate-Modular Cloning para la modificación de polihidroxialcanoatos en *Pseudomonas putida* KT2440 (Master Tesis)*
Universidad Complutense de Madrid, julio 2018
Directora: M.^a Auxiliadora Prieto

Trabajos Fin de Máster (TFM) y Fin de Grado (TFG)

Master's Thesis and Final Degree Projects

Biología Celular y Molecular | Cellular and Molecular Biology

TFM

- Almodóvar Olivares, Sergio
Responsable: Vidal Caballero, Miguel Ángel
- Aranda Pardos, Irene
Responsable: Rodríguez Fernández, José Luis
- Arias Sarda, Cristina
Responsable: Hernández Valenzuela, Pablo
- Deniz Henríquez, Cristina
Responsable: Giraldo Suárez, Rafael
- Esteso Moya, Cristina
Responsable: Hernández Valenzuela, Pablo
- Gil Plaza, Alba
Responsable: Hernández Valenzuela, Pablo
- Hernández Martínez, Iván
Responsable: Carballo, Jesús Antonio
- Jiménez Holguín, Javier
Responsable: Giraldo Suárez, Rafael
- Lucero López, Leticia
Responsable: Giraldo Suárez, Rafael
- Luengo Cerrón, Luis Miguel
Responsable: Schwartzman Binder, J. Bernardo

- Martín López, Patricia
Responsable: Corbí López, Ángel L.
- Merino Salomón, Adrián
Responsable: Rivas Caballero, Germán
- Moscoso Romero, Esteban
Responsable: Peñalva Soto, Miguel Ángel
- Ortuno Camuñas, Alejandro
Responsable: Bravo García, Alicia
- Paramio Lorente, Ana
Responsable: Schwartzman Binder, J. Bernardo
- Perruca Parrado, Carlos
Responsable: Rodríguez Fernández, José Luis
- Pita Pérez, Caridad
Responsable: Schwartzman Binder, J. Bernardo
- Ramírez Pardo, Ignacio
Responsable: Boya, Patricia
- Ramón Landreau, Morgan
Responsable: Rodríguez Fernández, José Luis
- Sanvicente García, Adrián
Responsable: Rodríguez Fernández, José Luis

- Segales Rovira, Paula
Responsable: Giraldo Suárez, Rafael
- Sierra Cruz, Marta
Responsable: Colmenares Brunet, María Isabel
- Strouhalova, Katerina
Responsable: Carballo, Jesús A.
- Tejero Ojeda, María del Mar
Responsable: Giraldo Suárez, Rafael
- Tomico Cuenca, Irene
Responsable: Espeso Fernández, Eduardo

TFG

- Bermejo Delgado, Carmen Teresa
Responsable: Carballo, Jesús Antonio
- Casado de Mata, Sara
Responsable: Rodríguez Fernández, José Luis
- El Ouazizi el Kahia, Laila
Responsable: Rodríguez Fernández, José Luis

Biomedicina Molecular | Molecular Biomedicine

TFM

- Burdiel Herencia, Miranda
Responsable: Casal Álvarez, José Ignacio
- Cuervo Iturrioz, Natalia
Responsable: García Sanz, José Alberto
- Escobar Verduga, Horacio
Responsable: Sánchez-Puelles González-Carvajal, Jose María
- Fernández Sánchez, Isabel
Responsable: De la Rosa Cano, Enrique J.
- García Fernández, Patricia Laura
Responsable: De la Rosa Cano, Enrique J.
- Molina Ruiz, Natalia
Responsable: Botella Cubells, Luisa M.^a
- Palacios Ibáñez, Patricia
Responsable: Botella Cubells, Luisa M.^a
- Posa Podean, Diana
Responsable: Martín Requero, M.^a Ángeles
- Sampedro Vallina, Nestor
Responsable: Suárez González, M.^a Teresa
- Sánchez Vencells, Anna
Responsable: Teixidó Calvo, Joaquín
- Uceda Castro, Rebeca
Responsable: García Pardo, M.^a Ángeles

TFG

- Barrio Alonso, Celia
Responsable: Teixidó Calvo, Joaquín
- Bescos Villa, Gonzalo
Responsable: Botella Cubells, Luisa María
- Carrasco Fernández, Cristina
Responsable: Botella Cubells, Luisa María
- Cerro Pardo, Isabel
Responsable: García Pardo, M.^a Ángeles
- Clares Villa, Laura
Responsable: García Sanz, José Alberto
- Corzo Martínez, María
Responsable: García Sanz, José Alberto
- Delgado Álvarez, Marisa
Responsable: García Sanz, José Alberto
- Gaetano Gil, Andrea
Responsable: Rodríguez de Córdoba, Santiago

- García Peña, Pablo
Responsable: Martín Requero, M.^a Ángeles
- Laxalde Fernández, Diego
Responsable: Casal Álvarez, José Ignacio
- Palacios Ibáñez, Patricia
Responsable: Botella Cubells, Luisa M.^a
- Pérez Sánchez, Cristina
Responsable: García Pardo, M.^a Ángeles
- Piñera Segura, Natalia
Responsable: Martín Requero, M.^a Ángeles
- Ruiz López, Marcos
Responsable: Martín Requero, M.^a Ángeles
- Tosat Bitrian, Carlota
Responsable: Casal Álvarez, José Ignacio
- Vaquero Morales, Paloma
Responsable: Teixidó Calvo, Joaquín

Biología Estructural y Química | Structural and Chemical Biology**TFM**

- **Alfaro Sierra, María**
Responsable: Vega Fernández, M.^a Cristina
- **Baldomino Botas, Sara**
Responsable: Pérez Fernández, Ruth
- **Benítez Colomo, Marta**
Responsable: Vega Fernández, M.^a Cristina
- **Benítez Fernández, Rocío**
Responsable: Martínez Gil, Ana
- **Canal Martín, Andrea**
Responsable: Pérez Fernández, Ruth
- **Chaves Balbontín, Belén**
Responsable: Cañada Vicinay, Francisco Javier
- **Crespo Barranco, Sergio**
Responsable: Rivas López, Luis Ignacio
- **Crisman Vigil, Enrique**
Responsable: Martín Santamaría, Sonsoles
- **De Miguel Jiménez, Adrián**
Responsable: Gil Ayuso-Gontan, Carmen
- **Del Teso Rodríguez, Javier**
Responsable: Gil Ayuso-Gontan, Carmen
- **Díaz García, Bernardo**
Responsable: Cañada Vicinay, Francisco Javier
- **Estañ Aparicio, Nestor**
Responsable: Campillo Martín, Nuria
- **Fonseca Crespo, Alba**
Responsable: Gil Ayuso-Gontan, Carmen
- **García Díaz, Juan Carlos**
Responsable: Vega Fernández, M.^a Cristina

- **Gómez Pozo, Adrián Miguel**
Responsable: Campillo Martín, Nuria E.
- **Guzmán Lorite, Miriam**
Responsable: Vega Fernández, M.^a Cristina
- **Jiménez García, Beatriz**
Responsable: Rial Zueco, Eduardo
- **Lastra Romero, Alejandro**
Responsable: Rial Zueco, Eduardo
- **López García, Antonio**
Responsable: Martínez Gil, Ana
- **López García, Antonio**
Responsable: Martínez Gil, Ana
- **Navarrete Muñoz, María de los Ángeles**
Responsable: Campillo Martín, Nuria E.
- **Navarro Carrasco, Elena**
Responsable: Pérez-Sala Gozalo, M.^a Dolores
- **Novoa Rodríguez Luis Manuel**
Responsable: Gil Ayuso-Gontan, Carmen
- **Parto Hernández, Carlos**
Responsable: Fernández Tornero, Carlos
- **Pereda Hernández, Amaia**
Responsable: Cañada Vicinay, Francisco Javier
- **Sánchez Barron, Gara**
Responsable: Vega Fernández, M.^a Cristina
- **Tosat Bitrian, Carlota**
Responsable: Martínez Gil, Ana
- **Tremps Fuster, Blanca**
Responsable: Martínez Gil, Ana

TFG

- **Casa Rodríguez, Nuria**
Responsable: Rial Zueco, Eduardo
- **De la Gandara Fernández, Álvaro**
Responsable: Fernández Tornero, Carlos
- **Fernández Martín, Begoña**
Responsable: Rivas López, Luis Ignacio
- **Fernández Garzón, María José**
Responsable: Martínez Gil, Ana
- **Fernández-Caballero Palomeque, Lidia**
Responsable: Rial Zueco, Eduardo
- **Pitarch Jiménez, Borja**
Responsable: Alfonso Botello, Carlos
- **Ras Carmona, Álvaro**
Responsable: Fernández Tornero, Carlos
- **Vivanco Maroto, Santiaga María**
Responsable: Oliva Blanco, María Ángela

Biotecnología Microbiana y de Plantas | Microbial and Plant Biotechnology**TFM**

- **Alonso Fernandes, María Elena**
Responsable: Díaz Fernández, Eduardo
- **Arévalo Rey, Sonia**
Responsable: Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- **Barata García, Sergio**
Responsable: Del Solar Dongil, Gloria
- **Blanco Parte, Francisco Germán**
Responsable: Prieto Jiménez, M.^a Auxiliadora
- **Castillo López, María**
Responsable: García López, José Luís
- **Couvielles Pérez, Eva**
Responsable: Canto Ceballos, Tomás R.
- **Cubas Cano, Enrique**
Responsable: Prieto Jiménez, M.^a Auxiliadora
- **De la Fuente Cantalapiedra, Íñigo**
Responsable: Camarero Fernández, Susana
- **García de la Morena, Diego**
Responsable: Del Solar Dongil, Gloria
- **González Ramírez, Andrés Manuel**
Responsable: Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- **Hernández Delgado, Juan Gerardo**
Responsable: Juan Nogales Enrique
- **Hernández Recio, Sara**
Responsable: López García, Paloma
- **Iturbe Sanz, Pablo**
Responsable: Díaz Fernández, Eduardo

- **Jiménez Jiménez, Carlos**
Responsable: Sánchez Testillano, Pilar
- **Martínez Fernández, Jose Alberto**
Responsable: Martínez Hernández, M.^a Jesús
- **Moldovan, María Doina**
Responsable: Martínez Hernández, M.^a Jesús
- **Olmedo Gádara, Miguel Ángel**
Responsable: Díaz Fernández, Eduardo
- **Peces Pérez, Rosa María**
Responsable: Martínez Hernández, M.^a Jesús
- **Pérez Saavedra, Julia**
Responsable: Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- **Plasencia Plasencia, Nicolás**
Responsable: Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- **Rodríguez Escribano, David**
Responsable: Camarero Fernández, Susana
- **Rodríguez Alonso, Guillermo**
Responsable: Díaz Fernández, Eduardo
- **Rosa Núñez, Elena**
Responsable: Salinas Muñoz, Julio
- **Salgado Briegas, Sergio**
Responsable: Prieto Jiménez, M.^a Auxiliadora
- **Sánchez Ruiz, María Isabel**
Responsable: Ruiz Dueñas, Francisco Javier

TFG

- **Alfaya Muñoz, Eva**
Responsable: Llave Correas, César
- **Beltrán Nogal, Alejandro**
Responsable: Salinas Muñoz, Julio
- **Blanco Parte, Francisco Germán**
Responsable: Prieto Jiménez, M.^a Auxiliadora
- **Echavarri Muñoz, Alberto**
Responsable: González Guzmán, Miguel
- **Jorge Pulido, Mario**
Responsable: Camarero Fernández, Susana
- **Laloux Bauer, Marcos**
Responsable: Ruiz Dueñas, Francisco Javier
- **Lombán Guzmán, María**
Responsable: Barriuso Maicas, Jorge
- **Martín Sánchez, Marcos**
Responsable: González Guzmán, Miguel
- **Medina Garrues, María**
Responsable: Martínez Hernández, M.^a Jesús
- **Mencía de la Rica, Eva**
Responsable: Canto Ceballos, Tomás R
- **Moreno Llanos, Marina**
Responsable: Tenillado Peralo, Francisco
- **Sánchez Sánchez, Inés**
Responsable: Salinas Muñoz, Julio
- **Sánchez Sabater, Daniel**
Responsable: Martínez Hernández, M.^a Jesús

Visitantes Extranjeros*

Foreign Visitors**

Biología Celular y Molecular | Cellular and Molecular Biology

- **Andrs, Martin**
País: **República Checa**
IP Laboratorio: **Bermejo Moreno, Rodrigo**
- **Andrzejewska, Angelika**
País: **Polonia**
IP Laboratorio: **Bermejo Moreno, Rodrigo**
- **Forika, Edith**
País: **Austria**
IP Laboratorio: **Bermejo Moreno, Rodrigo**
- **Fratti, Camila**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Bermejo Moreno, Rodrigo**
- **Loayza, Francisco Javier**
País: **EE.UU.**
IP Laboratorio: **Larraga Rodríguez de Vera, Vicente**
- **Oresti, Gerardo Martín**
País: **Argentina**
IP Laboratorio: **Del Mazo Martínez, Jesús**
- **Patiño Martínez, Eduardo**
País: **México**
IP Laboratorio: **Corbí López, Ángel L.**
- **Ramon Landreu, Morgan**
País: **Francia**
IP Laboratorio: **Rodríguez Fernández, José Luis**
- **Staszak, Klaudia**
País: **Polonia**
IP Laboratorio: **Bermejo Moreno, Rodrigo**

Biomedicina Molecular | Molecular Biomedicine

- **Alexaki, Diamanto**
País: **Grecia**
IP Laboratorio: **García Sanz, José Alberto**
- **Bennici, Giorgia**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **García Sanz, José Alberto**
- **Chiapparino, Elisa**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Bernabeu Quirante, Carmelo**
- **Fernández Coto, Diana Lashidua**
País: **México**
IP Laboratorio: **Casal Álvarez, José Ignacio**
- **March, Molly Anna**
País: **Reino Unido**
IP Laboratorio: **García Sanz, José Alberto**
- **Nagaraj, Siranjeevi**
País: **India**
IP Laboratorio: **Martín Requero, Ángeles**
- **Vaca Altamirano, Gabriela**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Martín Requero, Ángeles**
- **Van Delf, Thÿs**
País: **Holanda**
IP Laboratorio: **Mollinedo García, Faustino**
- **Ziegler, Kevin**
País: **Alemania**
IP Laboratorio: **Botella Cubells, Luisa M.***

Biología Estructural y Química | Structural and Chemical Biology

- **Agrisa, Nadia Dwanda Luhur**
País: **Indonesia**
IP Laboratorio: **Rivas López, Luis Ignacio**
- **Barrau, Clara**
País: **Francia**
IP Laboratorio: **Martín Santamaría, Sonsoles**
- **Brangbour, Clotilde**
País: **Francia**
IP Laboratorio: **Vega Fernández, Cristina**
- **Cabral Rico, Ania**
País: **Cuba**
IP Laboratorio: **Rivas Caballero, Germán**
- **Cheng, Grace**
País: **EE.UU.**
IP Laboratorio: **Oliva Blanco, María Ángela**
- **Coliva, Giulia**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Pérez-Sala Gozalo, M.ª Dolores**
- **De Blasio, Rossella**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Gil Ayuso-Gontan, Carmen**
- **Eleuteri, Pietro**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Díaz Pereira, José Fernando**
- **Flores Ibarra, Andrea**
País: **México**
IP Laboratorio: **Romero Garrido, Antonio**
- **Forgione, Rosa Ester**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Martín Santamaría, Sonsoles**
- **Goossens, Kenneth**
País: **Bélgica**
IP Laboratorio: **Díaz Pereira, José Fernando**
- **Juarez Saldivar, Alfredo**
País: **México**
IP Laboratorio: **Campillo Martín, Nuria E.**
- **Lamberigts, Thomas**
País: **Bélgica**
IP Laboratorio: **Díaz Pereira, José Fernando**
- **Metternich, Justus**
País: **Alemania**
IP Laboratorio: **Gil Ayuso-Gontan, Carmen**
- **Nesi, Ginevra**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Vega Fernández, Cristina**
- **Pedersoli Mantoani, Susimaire**
País: **Brasil**
IP Laboratorio: **Cañada Vicinay, Francisco Javier**
- **Pellerin, Lea**
País: **Francia**
IP Laboratorio: **Martínez Gil, Ana**
- **Upogui Zapata, Yulieth**
País: **Colombia**
IP Laboratorio: **Rivas López, Luis Ignacio**

Biotecnología Microbiana y de Plantas | Microbial and Plant Biotechnology

- **Avellaneda Avendaño, Hernán**
País: **Colombia**
IP Laboratorio: **Díaz Fernández, Eduardo**
- **Azzouz, Zahra**
País: **Argelia**
IP Laboratorio: **Martínez Hernández, M.ª Jesús**
- **Bagheri, Sara**
País: **Irán**
IP Laboratorio: **Sánchez Testillano, Pilar**
- **Besrour, Norhane**
País: **Túnez**
IP Laboratorio: **López García, Paloma**
- **Gambino, Simona**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **López García, Paloma**
- **Gulino, Davide**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **García López, José Luís**
- **Hahn Schneider, Willian Daniel**
País: **Brasil**
IP Laboratorio: **Martínez Hernández, M.ª Jesús**
- **Hernández Alcántara, Annel Magdalena**
País: **México**
IP Laboratorio: **López García, Paloma**
- **Hou, Weina**
País: **China**
IP Laboratorio: **Tenllado Peralo, Francisco**
- **Kropatsch, Katrin Gabriele**
País: **Austria**
IP Laboratorio: **Martínez Hernández, M.ª Jesús**
- **Lopes Telmo, Matilde**
País: **Portugal**
IP Laboratorio: **Sánchez Testillano, Pilar**
- **Olate Rodríguez, Ema Yolanda**
País: **Chile**
IP Laboratorio: **Salinas Muñoz, Julio**
- **Oliveira da Silva, Ana Isabel**
País: **Portugal**
IP Laboratorio: **Medina Díaz, F. Javier**
- **Pacheco Camus, Nicolás**
País: **Chile**
IP Laboratorio: **Prieto Jiménez, M.ª Auxiliadora**
- **Pérez Pastrana, Jacobo**
País: **México**
IP Laboratorio: **Sánchez Testillano, Pilar**
- **Romero Marulanda, Jefferson**
País: **Colombia**
IP Laboratorio: **Martínez Ferrer, Ángel T.**
- **Sandoval Oliveros, María Rosa**
País: **México**
IP Laboratorio: **García López, José Luis**
- **Shukla, Rhythm**
País: **India**
IP Laboratorio: **López García, Paloma**
- **Smiri, Marwa**
País: **Túnez**
IP Laboratorio: **Espeso Fernández, Eduardo A.**
- **Sora, Ludovico**
País: **Italia**
IP Laboratorio: **Medina Díaz, F. Javier**
- **Tiso, Till**
País: **Alemania**
IP Laboratorio: **Prieto Jiménez, M.ª Auxiliadora**
- **Zaghetto de Almeida, Paula**
País: **Brasil**
IP Laboratorio: **García López, José Luis**

* Visitantes Extranjeros (estancia mínima de dos meses; incluye estudiantes de programa ERASMUS)

** Foreign visitors (minimum stay two months; includes students of ERASMUS program)

Cambios de Personal | Changes in CIB Staff

Incorporaciones | Recruitments

Pajares Tarancón, María de los Ángeles
Personal Científico | 13/1/17

Carmona Pérez, Manuel
Personal Científico | 28/2/17

Ruiz Dueñas, Francisco Javier
Personal Científico | 1/3/17

Rodríguez de Santos, José Francisco
Personal Administrativo | 1/5/17

Esteban Espinosa, Santiago
Personal Administrativo | 11/8/17

García Arroyo, Alicia
Personal Científico | 1/12/17

Sanz Morales, Jesús Miguel
Personal Científico | 8/1/18

Calzada García, José Arturo
Personal Científico | 27/3/18

Arias Palomo, Ernesto
Personal Científico | 16/7/18

Montoya González, María
Personal Científico | 1/10/18

Lietha, Daniel
Personal Científico | 1/10/18

Esteban de Antonio, Luis María
Personal Administrativo | 1/10/18

Chimeno Llorat, Domingo
Personal Administrativo | 1/10/18

Hortigüela Mecerreyres, Rafael
Personal Técnico | 30/11/18

Nuero García, Óscar Mariano
Personal Técnico | 17/12/18

Reoyo Hernández, Elena
Personal Técnico | 4/12/17

Larraga Rodríguez de Vera, Vicente E.
Personal Científico | 19/2/18

Barasoain Blasco, Isabel
Personal Científico | 26/5/18

Castañera Domínguez, Pedro
Personal Científico | 30/9/18

Ramos Jiménez, María Teresa
Personal Administrativo | 1/12/18

Schvartzman Blinder, Jorge Bernardo
Personal Científico | 14/12/18

Moreno Díaz de la Espina, Susana
Personal Científico | 31/12/18

Jubilaciones | Retirements

Aller Tresguerres, Patricio
Personal Científico | 12/3/17

Angulo Zapatero, José Manuel
Personal Técnico | 18/5/17

Lara Martínez, Felicidad
Personal Técnico | 29/6/17

Moreno Calle, Manuel
Personal Técnico | 1/7/17

Cabañas Olivares, José
Personal Técnico | 1/9/17

Traslados | Transfers

Calvo Saavedra, Julia
Personal Administrativo |
Ministerio de Justicia | 1/6/17

Fernández de Palencia Delgado, Pilar
Personal Científico | ICTAN-CSIC | 21/6/17

Zamarro Molina, María Teresa
Personal Técnico | Agencia Estatal de
Investigación | 30/6/17

Llorca Blanco, Óscar
Personal Científico | CNIO | 9/7/17

Torreira Ontiveira, Eva María
Personal Técnico | CNB-CSIC | 25/7/17

Lafita Togores, María Victoria
Personal Administrativo | Instituto de
Biología Integrativa de Valencia-UV-CSIC |
31/5/18

Bermejo Arruego, Luis
Personal Administrativo |
Ministerio de Justicia | 1/8/18

Martínez Guijarro, Jorge
Personal Técnico | ISCIII | 16/10/18

Giraldo Suárez, Rafael
Personal Científico | CNB-CSIC | 31/12/18

Defunciones | Passed away

Montero Vera, Lorenzo
Personal Técnico | 1/2/17

Pérez Macea, Blanca Teresa
Personal Científico | 15/9/18

Women in Science (2018): 55% of CIB staff is female



The CIB is proactively participating in a variety of events, promoting women in science, giving talks and taking part in a variety of initiatives, like mentoring or gender-discussion in social media (<https://www.muyinteresante.es/ciencia/fotos/cientificas-espanolas-que-deberias-conocer/flora-de-pablo-medicina>).

Directorio CIB | CIB Directory

	Apellidos, Nombre Last Name, Name	Página Page	Correo electrónico E-mail	Ext.	Nº Lab Lab No.
A	Alfonso Botello, Carlos	84	carlosa@cib.csic.es	4338	B08
	Andreu Morales, José Manuel	88	j.m.andreu@cib.csic.es	4381	308
	Arias Palomo, Ernesto	90	earias@cib.csic.es	4446	B47
B	Barbero Esteban, José Luis	16	jlbarbero@cib.csic.es	4317	170.4*
	Barriuso Maicas, Jorge	118	jbarriuso@cib.csic.es	4450	170.3*
	Bermejo Moreno, Rodrigo	18	rodrigo.bermejo@csic.es	4411	203
	Bernabeu Quirante, Carmelo	60	bernabeu.c@cib.csic.es	4246	108
	Botella Cubells, Luisa María	60	cibluisa@cib.csic.es	4312	109
	Boya, Patricia	32	pboya@cib.csic.es	4369	147
C	Bravo García, Alicia	12	abravo@cib.csic.es	4418	304
	Calzada García, José Arturo	18	arturo.calzada@cib.csic.es	4307	204
	Camarero Fernández, Susana	94	susanacam@cib.csic.es	4307	200
	Campillo Martín, Nuria Eugenia	86	nuria.campillo@csic.es	4370	B04
	Canto Ceballos, Tomás	106	tomas.canto@cib.csic.es	4223	209
	Cañada Vicinay, Francisco Javier	74	jcanada@cib.csic.es	4374	B00
	Carballo , Jesús A.	119	j.carballo@cib.csic.es	4241	104
	Carmona Pérez, Manuel	98	mcarmona@cib.csic.es	4262	342
	Casal Álvarez, José Ignacio	46	icasal@cib.csic.es	4363	243
	Colmenares Brunet, María Isabel	30	maria.colmenares@cib.csic.es	4242	145
D	Corbí López, Ángel Luis	30	acorbi@cib.csic.es	4376	145
	De la Rosa Cano, Enrique J.	38	ejdelrosa@cib.csic.es	4375	172*
	De Pablo Davila, María Flora	38	fdepablo@cib.csic.es	4362	100
	del Mazo Martínez, Jesús	26	jdelmazo@cib.csic.es	4324	140
	del Solar Dongil, Gloria	104	gdelsolar@cib.csic.es	4413	305
	Díaz Fernández, Eduardo	98	ediaz@cib.csic.es	4426	342
E	Díaz Pereira, José Fernando	72	fer@cib.csic.es	4269	309
	Espeso Fernández, Eduardo Antonio	10	eespeso@cib.csic.es	4227	247
F	Espinosa Padrón, Manuel	12	mespinosa@cib.csic.es	4209	370.2*
	Fernández Tornero, Carlos	82	cftornero@cib.csic.es	4327	B03
G	García Arroyo, Alicia	50	agarroyo@cib.csic.es	4309	302
	García González, Pedro Aurelio	100	pgarcia@cib.csic.es	4428	341
	García López, Ernesto Ángel	100	e.garcia@cib.csic.es	4424	340
	García López, José Luis	96	jlgarcia@cib.csic.es	4427	344
	García Luque, Isabel	102	igarcia@cib.csic.es	4410	270.1*
	García Pardo, María de los Ángeles	56	agarciapardo@cib.csic.es	4430	142
	García Sanz, José Alberto	40	jasanz@cib.csic.es	4431	144
	Gil Ayuso-Gontán, Carmen	86	carmen.gil@csic.es	4336	B06
	Giménez Abián, Juan Francisco	34	gimenezjf@cib.csic.es	4323	309
	González Manchón, Consuelo	38	cgmanchon@cib.csic.es	4441	174
H	Hernández Crespo, Pedro	102	pedro@cib.csic.es	4393	240
	Hernández Sánchez, Catalina	38	chernandez@cib.csic.es	4335	101
	Hernández Valenzuela, Pablo	28	p.hernandez@cib.csic.es	4240	104
J	Jiménez Sarmiento, María Mercedes	84	enoe@cib.csic.es	4355	170.1*
	Krimer Smunis, Dora Beatriz	28	dbkrimer@cib.csic.es	4238	103
K	Larraga Rodríguez de Vera, Vicente E.	24	vlarraga@cib.csic.es	4207	349
	Lastres Varo, Pedro	125	plastres@cib.csic.es	4295	277



Para llamadas directas marque
For direct calls, dial

(34) 918 373 112

y después el número de extensión de 4 dígitos
followed by the 4 digit extension number

	Apellidos, Nombre Last Name, Name	Página Page	Correo electrónico E-mail	Ext.	Nº Lab Lab No.
L	Lietha, Daniel	67	daniel.lietha@cib.csic.es	4213	345
	Llave Correas, César	116	cesarllave@cib.csic.es	4259	207
	López García, Paloma	104	plg@cib.csic.es	4202	306
M	Lozano Puerto, Rosa María	14	rlozano@cib.csic.es	4208	307
	Martín Requero, María Angeles	42	amrequero@cib.csic.es	4222	242
	Martín Santamaría, Sonssoles	68	smsantamaría@cib.csic.es	4389	B01
	Martínez Ferrer, Ángel Tomás	94	atmartinez@cib.csic.es	4407	248
	Martínez Gil, Ana	86	ana.martinez@csic.es	4437	B05
O	Martínez Hernández, María Jesús	94	mjmartinez@cib.csic.es	4440	249
	Medina Díaz, Francisco Javier	108	fjmedina@cib.csic.es	4261	205
	Mollinedo García, Faustino	48	fmollin@cib.csic.es	4248	148
	Montoya González, María	62	maria.montoya@cib.csic.es	4300	244
	Oliva Blanco, María Ángela	119	mariann@cib.csic.es	4323	309
P	Ortego Alonso, Félix	102	ortego@cib.csic.es	4267	202
	Pajares Tarancón, María de los Ángeles	76	mapajares@cib.csic.es	4351	B07
	Palomo Ruiz, María del Valle	66	vpalomo@cib.csic.es	4276	183
	Peñalva Soto, Miguel Ángel	10	penalva@cib.csic.es	4358	246
	Pérez Farinós, Gema María	102	gpfarinos@cib.csic.es	4306	201
R	Pérez Fernández, Ruth	86	ruth.perez@csic.es	4370	B04
	Pérez-Sala Gozalo, Dolores	76	dperezsala@cib.csic.es	4212	B07
	Prieto Jiménez, María Auxiliadora	114	auxi@cib.csic.es	4228	343
	Prieto Orzanco, Alicia María	94	aliprieto@cib.csic.es	4204	245
	Rial Zueco, Eduardo	70	rial@cib.csic.es	4236	301
S	Rivas Caballero, Germán	84	grivas@cib.csic.es	4304	B09
	Rivas López, Luis Ignacio	70	luis.rivas@cib.csic.es	4234	300
	Rodríguez de Córdoba, Santiago	52	srdecordoba@cib.csic.es	4432	143
	Rodríguez Fernández, José Luis	22	rodrifer@cib.csic.es	4302	303
	Rodríguez Muela, Natalia	118	nrodriguez@cib.csic.es	4450	147
T	Rojo Hernández, José María	58	jmrojo@cib.csic.es	4217	146
	Romero Garrido, Antonio	80	romero@cib.csic.es	4244	B02
	Ruiz Dueñas, Francisco Javier	94	fjruiz@cib.csic.es	4253	200
	Salinas Muñoz, Julio	110	salinas@cib.csic.es	4303	241
	Sánchez Ayuso, Matilde	42	msayuso@cib.csic.es	4272	171*
V	Sánchez Rodríguez, Lucas	16	lsanchez@cib.csic.es	4322	272*
	Sánchez Testillano, Pilar	112	testillano@cib.csic.es	4366	208
	Sánchez-Puelles González-Carvajal, José María	54	jmspuelles@cib.csic.es	4404	270.4*
	Sanz Morales, Jesús Miguel	100	jmsanz@cib.csic.es	4421	340
	Schvartzman Blinder, Jorge Bernardo	28	schvartzman@cib.csic.es	4232	102
Z	Suárez González, M.ª Teresa Margarita	38	teresa@cib.csic.es	4398	105
	Teixidó Calvo, Joaquín	44	joaquin@cib.csic.es	4392	141
	Tenllado Peralo, Francisco	106	tenllado@cib.csic.es	4379	206
V	Vega Fernández, María Cristina	78	cvega@cib.csic.es	4270	107
	Vega Palacios, Miguel Ángel	30	mavega@cib.csic.es	4386	149
	Vidal Caballero, Miguel Ángel	20	mvidal@cib.csic.es	4382	106
Z	Zorrilla López, Silvia	84	silvia@cib.csic.es	4408	B09

Localización CIB | CIB Location



CIB Centro de Investigaciones Biológicas
Ramiro de Maeztu, 9
28040 Madrid - SPAIN

Ciudad Universitaria | University Campus
Metro: Línea 6 Estación Vicente Aleixandre (salida Gregorio del Amo) |
Underground: Line 6 Vicente Aleixandre Station (exit Gregorio del Amo)
EMT Madrid | Bus Lines: 132- F, C1 y C2

Otros Teléfonos del Centro | Other CIB Telephone Numbers

Departamento Department	Contacto Contact	Teléfono Telephone	Despacho Office No.
Biblioteca	Olvido Partearroyo Lacaba	4299	S21
Compras y Almacén	M.ª Dolores Muñoz Sauquillo	4342 Directo: 91 535 0627	B46
Dirección	Ana Chao Vázquez (Secretaría)	4250 Directo: 91 535 4486	173
Gerencia	Irene Pérez Redondo	4254 Directo: 91 535 2194	B43
Gestión Económica	Juan Carlos González Baena	4282 Directo: 91 535 0519	B42
Gestión de Personal	Carmen Rodríguez-Palancas Corrales	4420	B43
Gestión de Proyectos	Isabel Varón Crespo	4314	175
Servicio Técnico	Miguel Ángel Muñoz Díaz (Secretario)	4286	S28
Emergencias		4444	



Para llamadas directas marque
For direct calls, dial

(34) 918 373 112

y después el número de extensión de 4 dígitos
followed by the 4 digit extension number



memoria científica
scientific report
2017-2018



Centro de
Investigaciones
Biológicas



MINISTERIO
DE CIENCIA, INNOVACIÓN
Y UNIVERSIDADES

CIB - Centro de Investigaciones Biológicas
Ramiro de Maeztu, 9 - 28040 Madrid - SPAIN
www.cib.csic.es - Tel: (+34) 91 837 3112