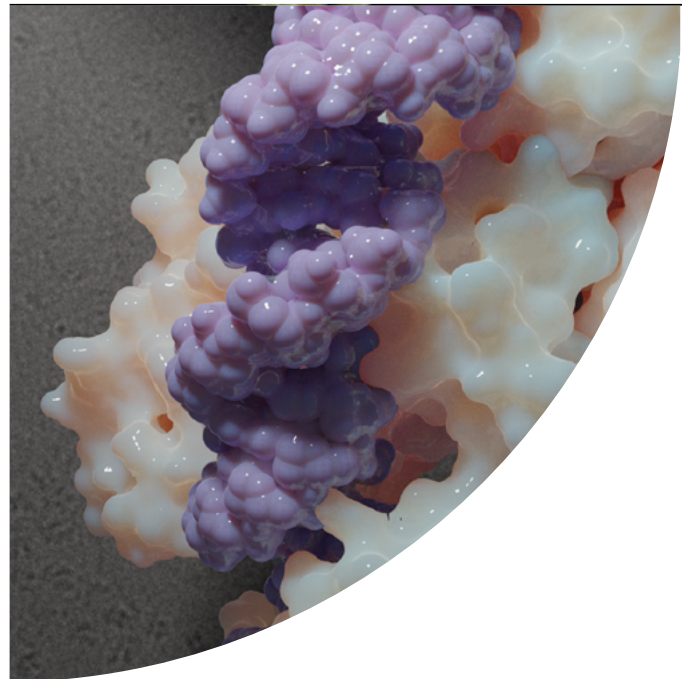
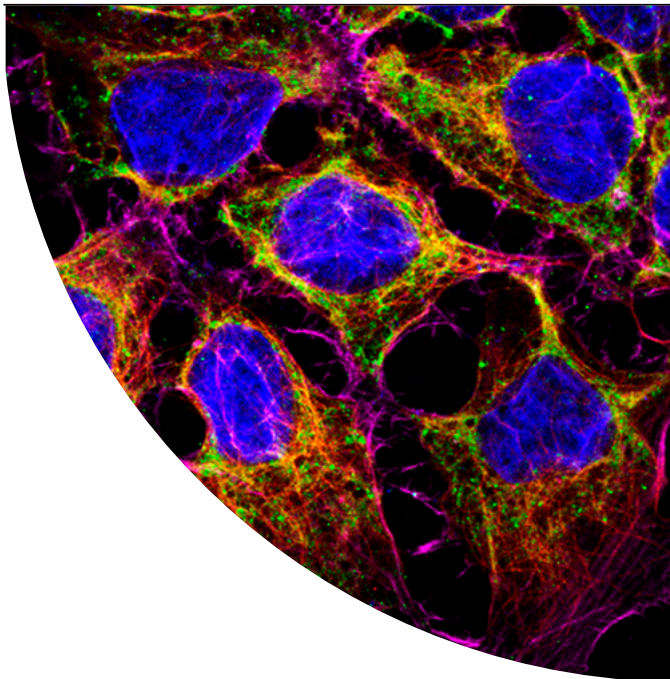
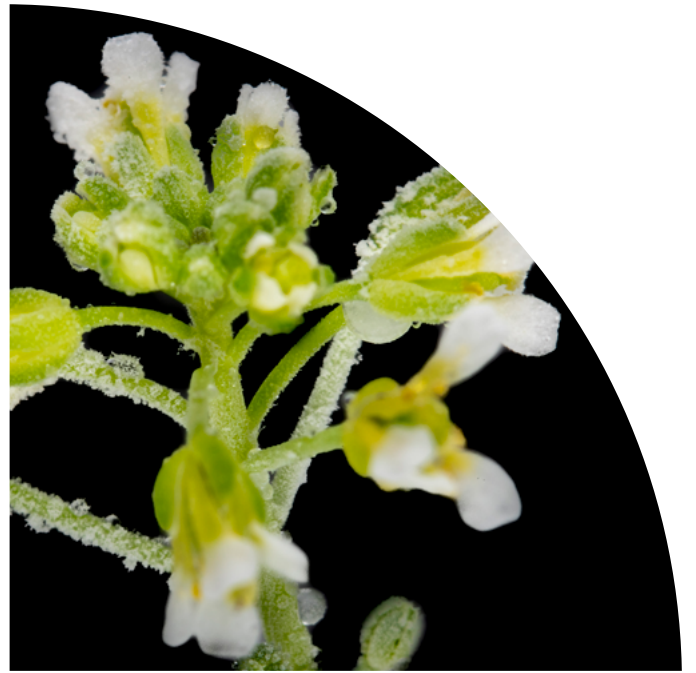
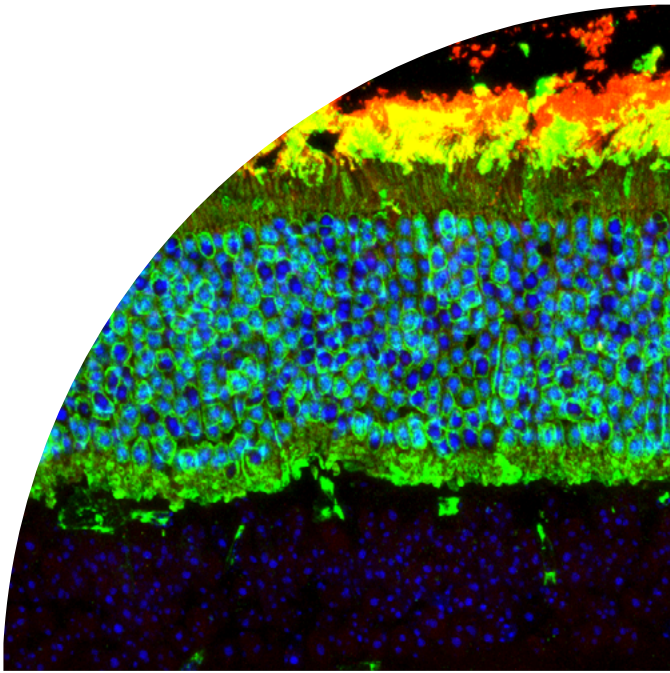


# CIB

Centro de  
Investigaciones  
Biológicas  
Margarita Salas

## Memoria Científica *Scientific Report* 2021-2023



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE CIENCIA, INNOVACIÓN  
Y UNIVERSIDADES



Biología para el bienestar global  
*Biology for global well-being*



# Memoria Científica

## *Scientific Report*

### 2021-2023



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE CIENCIA, INNOVACIÓN  
Y UNIVERSIDADES



**CSIC**

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS



Margarita Salas



**Memoria científica CIB Margarita Salas 2021-2023 /  
*Scientific Report 2021-2023***

**Coordinación de la edición | *Report Coordinators***

Carmen Gil Ayuso-Gontán, Rafael Catalá Rodríguez, Alicia G. Arroyo, Silvia Zorrilla López, Rosa María Lozano Puerto, Francisco Javier Sánchez Gómez, María del Carmen Fernández Alonso

**Fotografía científica | *Scientific Photography***

Investigadores/as de los grupos y servicios del CIB Margarita Salas | *Members of the CIB Margarita Salas*

Mónica Fontenla Lago (Servicio de Fotografía del CIB | *CIB Photography Unit*)

**Fotografía de personal | *Personnel Photography***

Mónica Fontenla Lago (Servicio de Fotografía del CIB | *CIB Photography Unit*)

**Diseño gráfico y maquetación | *Graphic design and layout***

Ondeuev

D.L.: M 10550-2017

# Índice / *Table of contents*

- 4** Memoria de la Dirección  
*Director's Report*
- 10** Biología Celular y Molecular  
*Cellular & Molecular Biology*
- 36** Biomedicina Molecular  
*Molecular Biomedicine*
- 72** Biología Estructural y Química  
*Structural and Chemical Biology*
- 104** Biotecnología Microbiana y de Plantas  
*Microbial and Plant Biotechnology*
- 132** Servicios Científicos  
*Scientific Facilities*
- 154** Servicios Generales  
*General Services*
- 162** Spin-offs
- 170** Actividades y Datos  
*Activities and Data*

# Carta del director



El Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB Margarita Salas), adscrito al Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), fue establecido en 1953 aglutinando grupos de investigación procedentes de distintos institutos y secciones. Esto le imprimió un marcado carácter multidisciplinar abierto a la exploración de nuevos campos, como la biología molecular, disciplina en cuya implantación en España jugaron un papel relevante investigadoras e investigadores del Centro, Margarita Salas entre ellas, quien inició su carrera en el Centro que hoy lleva su nombre en memoria de su legado.

El periodo contemplado en esta memoria (2021-2023) está marcado por la respuesta a la pandemia de la COVID-19 y su superación con el apoyo del Plan de Recuperación, Transformación y Resiliencia (PRTR). La solución de los problemas científico-tecnológicos a los que se enfrenta la sociedad actual, la pandemia entre ellos, requiere aportaciones conceptuales y metodológicas provenientes de diversos campos de investigación. La respuesta del personal del CIB Margarita Salas a la COVID-19 permitió adaptar muchas de nuestras líneas de investigación para desarrollar 19 proyectos COVID, incluyendo uno de vacuna, y dos ensayos clínicos de reposicionamiento de fármacos para el tratamiento de pacientes ambulatorios con COVID-19, estos últimos en colaboración con médicos de atención primaria y en los que el promotor ha sido el CSIC. Este esfuerzo se ha articulado en buena parte a través de la Plataforma Temática Interdisciplinaria (PTI) "Salud Global", una destacada iniciativa, la de las PTIs en su conjunto, para aprovechar el carácter multidisciplinar del CSIC. Todo ello nos debe permitir una mejor y más rápida respuesta en el futuro a emergencias sanitarias y de todo tipo.

Como se refleja en esta memoria, el CIB Margarita Salas también ha mantenido activa en todo momento la investigación del Centro en otras áreas, que ha sido reforzada de modo importante por los fondos del PRTR. Se ha iniciado la construcción, estando próxima su finalización, de dos plantas piloto de bioplásticos (PTI "Susplast") y biocombustibles (PTI "TransEner") dirigidas a resolver problemas de sostenibilidad, economía circular y transformación energética. Otras muchas líneas de nuestros programas de investigación sobre la estructura y organización de la materia viva y sus procesos, las bases de la enfermedad y el desarrollo de tratamientos experimentales, y el desarrollo de procesos biotecnológicos relacionados con el crecimiento

sostenible y la producción agrícola resiliente a los cambios ambientales también se han beneficiado, captando nuevos fondos de investigación y personal, lo que permitirá generar conocimiento y contribuir a la solución de los problemas de la sociedad. Así pues, se observa que, tras el parón del confinamiento y los muchos meses posteriores con medidas de contingencia para proteger la salud, mantenemos nuestro nivel de publicaciones. Los ingresos por proyectos nacionales, donde computan los fondos del PRTR, se han duplicado, manteniéndose los ingresos procedentes de proyectos internacionales y contratos de investigación. Por último, ya en 2023, hemos vuelto a las cifras de personal que teníamos antes de la pandemia, salvo en lo referente al personal del servicio técnico y de mantenimiento del equipamiento y el edificio, que se ha reducido debido a una política de externalización que no responde a la complejidad de los equipos requeridos para la labor investigadora. Queda también pendiente el refuerzo del personal de administración y gerencia para poder hacer frente al incremento de los procedimientos de gestión. Destacando el lado más positivo, hemos tenido en el periodo de la memoria ocho incorporaciones de personal científico en plantilla, así como otras cuatro pendientes de toma de posesión, lo que ha contribuido a reducir la edad media de nuestro colectivo investigador e iniciar la necesaria consolidación de la próxima generación de jefes y jefas de línea, que debemos seguir promoviendo para que alcance a todos los programas.

El personal del CIB Margarita Salas, que incluye investigadores en diversas etapas de sus carreras (desde estudiantes de doctorado hasta investigadores *Ad Honorem*), personal técnico de laboratorio y de servicios, y profesionales responsables de la administración y del mantenimiento del Centro, está comprometido con la "Biología para el Bienestar Global", nuestro lema que resume de manera inclusiva las líneas de investigación, nuestro potencial de abordaje multidisciplinar y, lo que es aún más importante, nuestro compromiso de contribuir, a través de la generación de conocimiento, y su divulgación y transferencia, a la resolución de los desafíos que enfrenta la sociedad.

# Letter from the Director



**T**he Margarita Salas Center for Biological Research (CIB Margarita Salas), attached to the Spanish National Research Council (CSIC), was established in 1953, bringing together research groups from different institutes and sections. This gave it a marked multidisciplinary character open to the exploration of new fields, such as molecular biology, a discipline in whose implementation in Spain played an important role, among them Margarita Salas, who began her career at the Center, which today bears her name in memory of her legacy.

The period covered in this report (2021-2023) is marked by the response to the COVID-19 pandemic and its overcoming with the support of the Recovery, Transformation, and Resilience Plan (PRTR). The solution to the scientific-technological problems facing today's society, the pandemic among them, requires conceptual and methodological contributions from various research fields. The response of the CIB Margarita Salas staff to COVID-19 allowed us to adapt many of our lines of research to develop 19 COVID projects, including one vaccine, and two clinical trials of drug repositioning for the treatment of outpatients with COVID-19, the latter in collaboration with primary care physicians and in which the promoter has been the CSIC. This effort has been articulated in large part through the Interdisciplinary Thematic Platform (ITP) "Global Health", an outstanding initiative, that of the ITPs as a whole, to take advantage of the multidisciplinary nature of the CSIC. All this should enable us to provide a better and faster response to future health emergencies and emergencies of all kinds.

As reflected in this report, the CIB Margarita Salas has also kept the Center's research in other areas active at all times, which PRTR funds have significantly strengthened. The construction of two pilot plants for bioplastics (ITP "Susplast") and biofuels (ITP "TransEner") aimed at solving problems of sustainability, circular economy, and energy transformation has been initiated and is nearing completion. Many other lines of our research programs on the structure and organization of living matter and its processes, the bases of disease and the development of experimental treatments, and the development of biotechnological processes related to sustainable growth and agricultural production resilient to environmental changes have also benefited, attracting new research funds and personnel, which will generate knowledge and contribute to the solution of society's problems. Thus, it can be seen that, after the shutdown of the confinement

## Equipo de dirección | Directive Team

(De izquierda a derecha | Left to right)

**Noemí Álvarez** (Secretaria de Dirección), **Carmen Gil** (Vicedirectora), **Pilar S. Testillano** (Directora), **Antonio Romero** (Vicedirector)

and the many subsequent months with contingency measures to protect health, we are maintaining our level of publications. Revenues from national projects, which include PRTR funds, have doubled, while revenues from international projects and research contracts have been maintained. Finally, in 2023, we have returned to the staff numbers we had before the pandemic, except for the technical service and equipment and building maintenance staff, which has been reduced due to an outsourcing policy that does not respond to the complexity of the equipment required for research work. The reinforcement of administration and management personnel is also pending to be able to cope with the increase in management procedures. On the more positive side, during the reported period, we have had eight new scientific personnel incorporations to staff, as well as another four pending to take up their posts, which has helped to reduce the average age of our research staff and to initiate the necessary consolidation of the next generation of PIs, which we must continue to promote so that it reaches all the programs.

The staff of the CIB Margarita Salas, which includes researchers at various stages of their careers (from PhD students to Ad Honorem researchers), laboratory and service technical staff, and professionals responsible for the administration and maintenance of the Center, is committed to "Biology for Global Well-being", our motto that summarizes inclusively the lines of research, our multidisciplinary approach potential and, even more importantly, our commitment to contribute, through the generation of knowledge, and its dissemination and transfer, to the resolution of the challenges facing society.

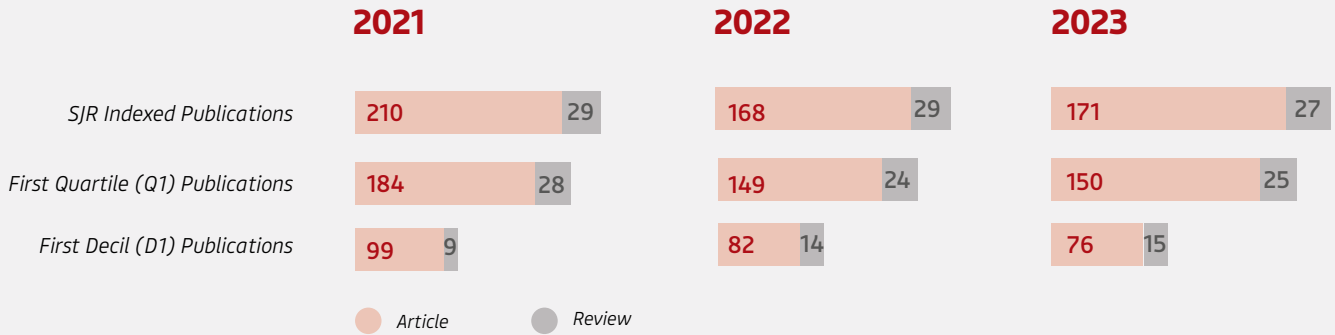
### Enrique J. de la Rosa

(Director from April 2019 to September 2023).

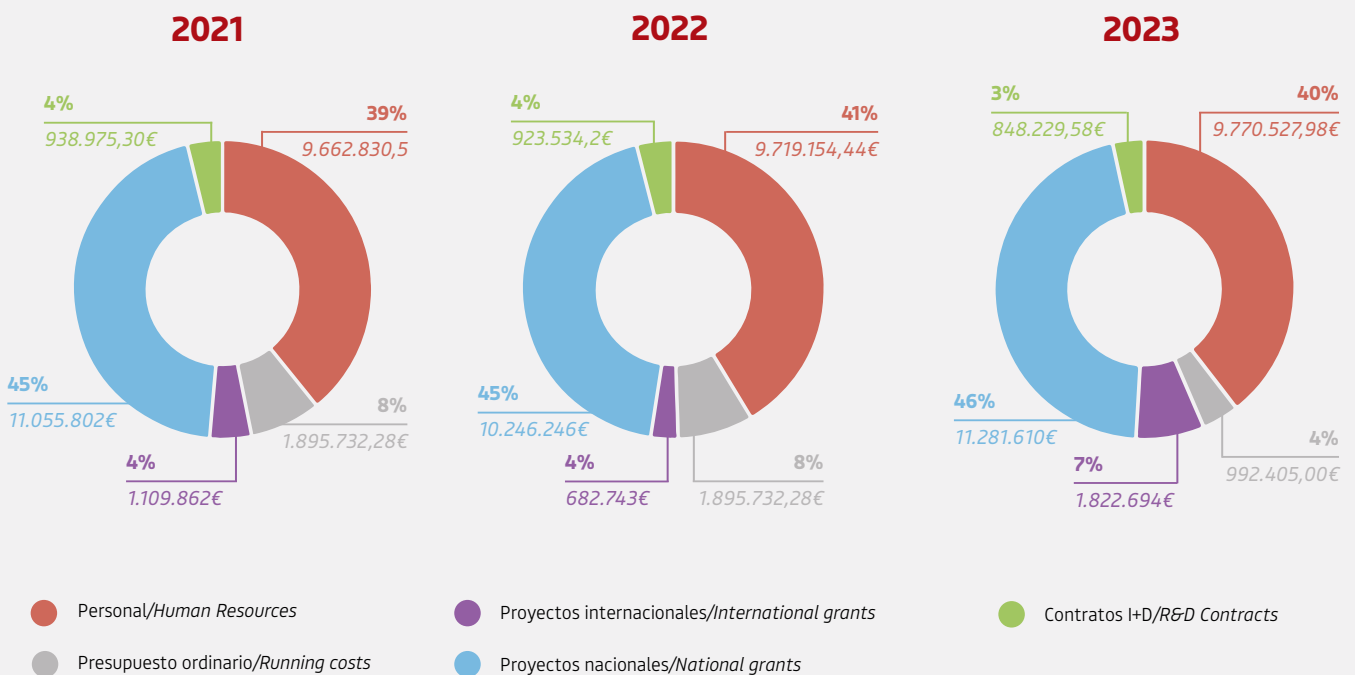
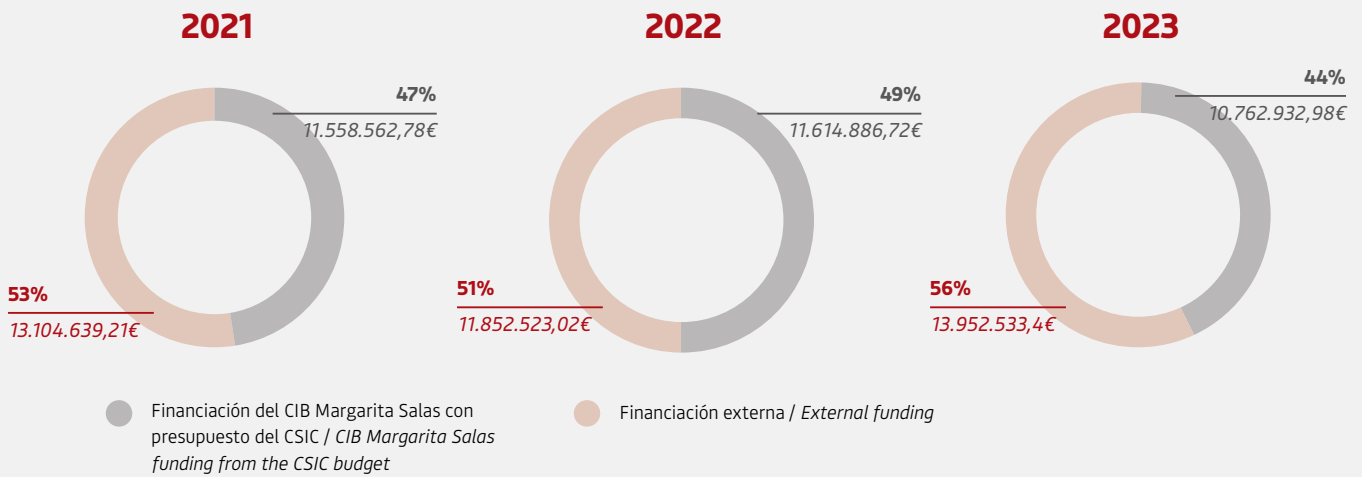
### Pilar S. Testillano

(Director from October 2023. Deputy Director from April 2019 to September 2023).

## Producción Científica 2021-2023 | Scientific Production 2021-2023



## Presupuesto 2021-2023 | Budget 2021-2023





## Comité Científico Interno | Internal Scientific Committee

UNTIL OCTOBER 2023

### Director

Enrique J. de la Rosa

### Vice-Directors

María Colmenares (until August 2021)  
 Patricia Boya (from November 2021 to July 2022)  
 Pilar S. Testillano  
 Francisco Javier Cañada

### Heads of Department

Patricia Boya (until November 2021)  
 / Eduardo Espeso (from December 2021)  
 Alicia García Arroyo  
 Germán Rivas  
 Félix Ortego

### Appointed by Director

Santiago Rodríguez de Córdoba  
 Carlos Fernández-Tornero  
 Auxiliadora Prieto

## Comité Científico Interno | Internal Scientific Committee

FROM NOVEMBER 2023

### Director

Pilar S. Testillano

### Vice-Directors

Carmen Gil  
 Antonio Romero

### Heads of Department

Eduardo Espeso  
 Estela Area  
 Cristina Vega  
 Susana Camarero

### Appointed by Director

Eduardo Oliver  
 Eduardo Díaz  
 Germán Rivas  
 Rafael Catalá

## Comité Científico Externo | 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

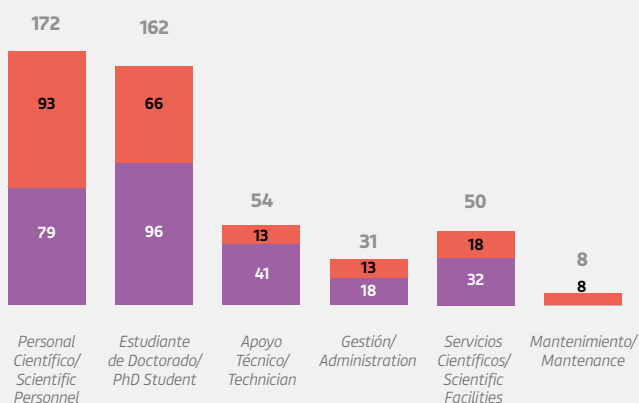
### Prof. Óscar Llorca

Structural Biology Program - Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Madrid, Spain

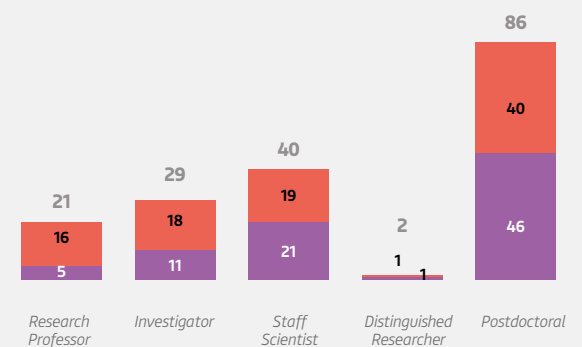
## Personal | Staff

● Mujeres | Women   ● Hombres | Men

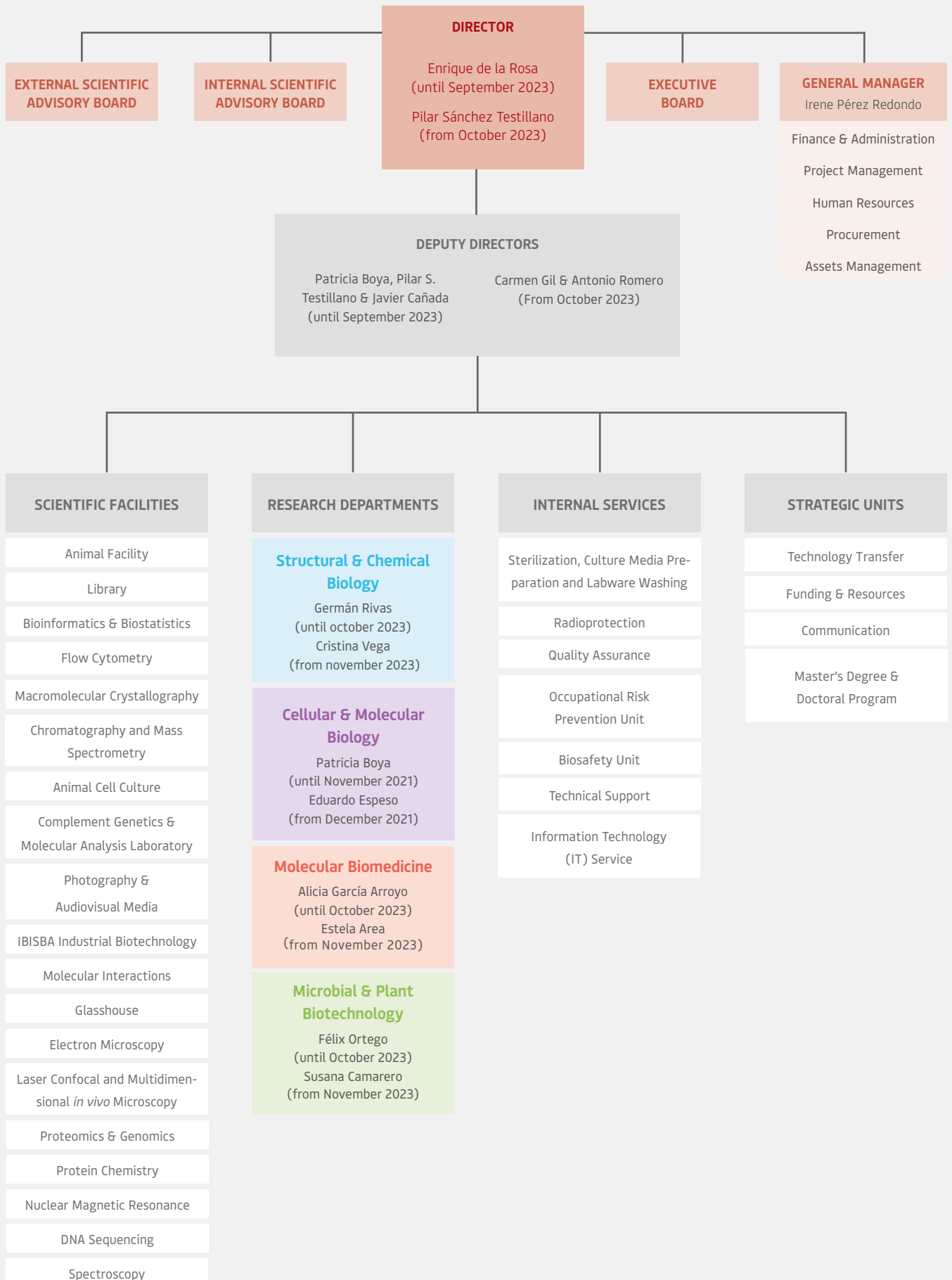
### Personal en el CIB | CIB Staff



### Personal científico | Scientific Personnel



## Estructura CIB Margarita Salas | CIB Margarita Salas Structure





# Biología Celular y Molecular

## Cellular and Molecular Biology

- 12 **Daniel Bachiller Pérez**  
Terapias Avanzadas  
*Advanced Therapies*
- 14 **Eduardo Antonio Espeso Fernández**  
**Miguel Ángel Peñalva Soto**  
Biología Celular de *Aspergillus*  
*Aspergillus Cell Biology*
- 16 **Patricia Boya**  
Laboratorio de Autofagia  
*Autophagy Lab*
- 18 **Alicia Bravo García**  
**Manuel Espinosa Padrón**  
Expresión Génica y Transferencia Genética en Bacterias  
*Bacterial Gene Expression and Gene Transfer*
- 20 **Rosa María Lozano Puerto**  
Reconocimiento Célula-Biomaterial  
*Cell-Biomaterial Recognition*
- 22 **José Luis Barbero Esteban**  
Dinámica Cromosómica en Meiosis  
*Chromosomal Dynamics in Meiosis*
- 24 **Rodrigo Bermejo Moreno**  
**Arturo Calzada García**  
Replicación del ADN e Integridad del Genoma  
*DNA Replication and Genome Integrity*
- 26 **Miguel Ángel Vidal Caballero**  
El sistema Polycomb de Regulación Epigenética  
*Epigenetic control by the Polycomb group of genes*
- 28 **José Luis Rodríguez Fernández**  
Funciones de los receptores quimiotácticos y la sinapsis inmune en las células dendríticas  
*Functions of chemotactic receptors and the immune synapse in dendritic cells*
- 30 **Asier Echarri Aguirre**  
Mecanobiología de los orgánulos  
*Mechanobiology of organelles*
- 32 **Pablo Hernández Valenzuela**  
**Dora Beatriz Krimer Smunis**  
Biología molecular de los cromosomas  
*Molecular biology of the chromosomes*
- 34 **Ángel Luis Corbí López**  
**María Colmenares Brunet**  
**Miguel Ángel Vega Palacios**  
Biología de las Células Mieloides  
*Myeloid Cell Biology*

# Overview

El Departamento de Biología Celular y Molecular reúne laboratorios con intereses científicos que abarcan procesos fundamentales para la organización y función celulares. Por lo tanto, nuestro departamento tiene como misión la comprensión de los mecanismos celulares que sostienen la base de la vida, la célula. Nuestros grupos centran sus líneas de trabajo hacia la genómica, estudiando la disposición, replicación y estabilidad de genomas, la epigenética y la transferencia génica, en el ámbito de la dinámica celular estudiando el tráfico intracelular, la división, diferenciación y evolución celulares, así como el reciclaje intracelular mediante la autofagia y también abordando la interacción de las células con el medio ambiente. Estos estudios se complementan con enfoques *bottom-up*, como la exploración de interacciones entre células y biomateriales, la sinapsis inmunológica, las funciones efectoras de los macrófagos o la capacidad infectiva de ciertos patógenos. Los sistemas modelo abarcan los diferentes reinos filogenéticos, desde organismos unicelulares como bacterias y hongos levaduriformes o filamentosos, hasta células de mamífero y modelos animales para estudiar estos procesos. De acuerdo con la naturaleza multidisciplinar que hace distintivo al CIB Margarita Salas, nuestras temáticas y aproximaciones experimentales abarcan las diferentes áreas de investigación en biología y utilizan las tecnologías más avanzadas en los ámbitos de la microscopía óptica y electrónica hasta la genómica funcional, con valiosas contribuciones desde la biología molecular, la biofísica y la biología sintética.

*The Department of Cellular and Molecular Biology brings together laboratories with scientific interests focused on the fundamental processes of cellular organization and function. The main mission of our department is to understand the cellular mechanisms that underpin the foundation of life, the cell. Our groups focus their research on genomics, studying genomes' arrangement, replication and stability, epigenetics, and gene transfer. In the area of cellular dynamics, we study intracellular trafficking, cell division, differentiation, cellular evolution, and intracellular recycling by autophagy, as well as the interaction of cells with the environment. These studies are complemented by bottom-up approaches, such as studying cell-biomaterial interactions, immunological synapses, effector functions of macrophages, or the infectivity of certain pathogens. Model systems include different phylogenetic kingdoms, ranging from unicellular organisms such as bacteria and yeast-like or filamentous fungi to mammalian cells and animal models for studying these processes. In line with the multidisciplinary character of the CIB Margarita Salas, our objectives and experimental approaches cover different areas of biological research, using the most advanced technologies from optical and electron microscopy to functional genomics, with valuable contributions from molecular biology, biophysics, and synthetic biology.*

**Patricia Boya, Head of the Department until November 2021**

**Eduardo A. Espeso, Head of the Department from December 2021**

**Daniel Bachiller Pérez**

Científico Titular  
d.b@csic.es



**PhD, 1988**, Universidad Complutense de Madrid  
**Postdoctoral, 1989**, CBM, CSIC  
**Postdoctoral, 1990-1994**, EMBL, Heidelberg, Alemania  
**Científico asociado, 1995-1999**, Howard Hughes Medical Institute, University of California Los Ángeles, USA  
**Profesor asistente, 1999-2005**, UCLA School of Medicine, Los Ángeles, USA  
**Profesor visitante, 2005-2009**, UCLA School of Medicine, Los Ángeles, USA  
**Director del Programa de Medicina Regenerativa de la Fundación Caubet-CIMERA, 2005-2006**, Mallorca  
**Científico titular, 2007-2020**, IMEDEA, CSIC  
**Jefe de grupo, 2020**, CIB, CSIC.

**Otros miembros / Other members**

José María Martín  
 Arantazu Manzano  
 Serhii Goncharov  
 Laura Tabuenca



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

## Terapias Avanzadas

**Nuestro grupo está desarrollando nuevas herramientas moleculares para garantizar la seguridad de los trasplantes de tejidos diferenciados *in vitro*, los sistemas de reparación genómica de mutaciones hereditarias y el diseño de terapias celulares para cualquier enfermedad que pueda abordarse modificando el genoma de células vivas. En concreto, actualmente estamos realizando proyectos sobre la enfermedad de Alzheimer y la inmunoterapia del cáncer.**

Sistemas multiórgano-en-chip para el estudio de enfermedades humanas.

Estamos desarrollando organoides cerebrales e intestinales a partir de células madre pluripotentes inducidas (iPSCs) obtenidas de pacientes con diferentes enfermedades neurodegenerativas, como mucopolisacaridosis A y B, y Alzheimer. En la fase inicial, los organoides se producen en cultivos convencionales. El siguiente paso consiste en adaptar los organoides al crecimiento en chips microfluídicos. Posteriormente, los chips se ensamblan en unidades multiorgánicas que reproducen *in vitro* las interacciones fisiológicas y moleculares que se dan en el cuerpo humano.

Nuestro objetivo final es estudiar en tiempo real el inicio y la progresión de las enfermedades neurodegenerativas. Además, la plataforma servirá para evaluar la toxicidad y el potencial terapéutico de drogas y fármacos sobre el cerebro. Esta línea de investigación representa un importante paso hacia un futuro en el que los sistemas *in vitro* humano-en-chip sustituyan a los animales en la elaboración de perfiles toxicológicos y la evaluación de la seguridad química.

Inmunoterapia

Nuestros proyectos de inmunoterapia se basan en un novedoso sistema de administración de genes o plataforma de carga (DP) patentado por nuestro grupo. El objetivo es desarrollar una nueva generación de

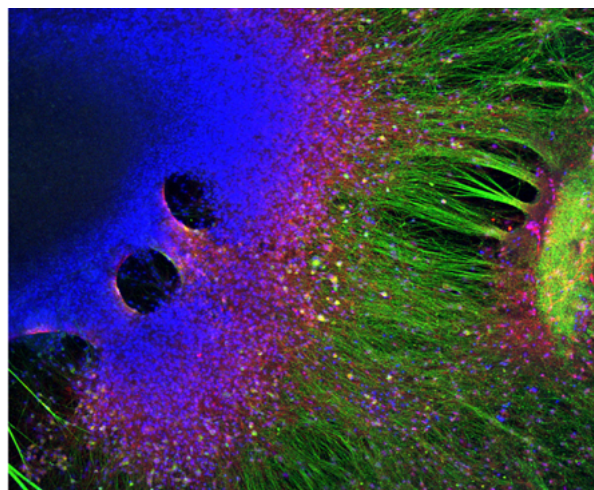
terapias para diferentes enfermedades: cáncer, infecciones fúngicas, infecciones bacterianas resistentes a los antibióticos, etc. La transferencia de genes (anticuerpos, citoquinas, inhibidores de puntos de control, receptores quiméricos de antígenos (CAR), etc.) destinados a dotar a las células de nuevas capacidades terapéuticas la realizamos en células iPS inmunocompatibles portadoras de la DP en un sitio seguro del genoma (GSH). A continuación, las células iPS ya equipadas se diferencian *in vitro* en linfocitos NK y macrófagos. Las células inmunocompatibles resultantes se utilizarán en trasplantes alogénicos a los pacientes que los necesiten.

Patentes / Patents

- Daniel Bachiller, 29 Septiembre 2021, "Double and inducible suicide gene construct and its use in gene therapy", EP3884055
- Daniel Bachiller, 15 Junio 2021, "Method for the introduction of genetic information in cells by site-specific integration system", United States Application Number: 17/414,292

**Figure 1**

*Confocal imaging of nerve connections between human brain organoids. (José María Martín, Advanced Therapies Group).*



# Advanced Therapies

Our group is developing new molecular tools to guarantee the safety of *in vitro* differentiated tissue transplants, the implementation of genomic repair systems for hereditary mutations, and the design of cellular therapies for any disease that could be tackled by modifying the genome of living cells. In particular, we are currently running projects on Alzheimer's disease and Cancer Immunotherapy.

## *Multi-organ-on-a-chip systems for the study of human diseases.*

We are developing brain and intestinal organoids from induced pluripotent stem cells (iPSCs) obtained from patients with neurodegenerative diseases, such as mucopolysaccharidosis A and B, and Alzheimer's. In the initial phase, the organoids are produced in conventional cultures. The next step is to adapt the organoids to grow in microfluidic chips. After that, chips with different types of organoids are assembled into functional multi-organ units that reproduce *in vitro* the physiological and molecular interactions that occur in the human body.

Our ultimate goal is to study neurodegenerative disease onset and progression in real time. Additionally, the platform will serve as a valuable system for screening the toxicity and therapeutic potential of chemicals and drugs that affect the brain. This line of research represents a significant step towards a future where *in vitro* human-on-a-chip systems have replaced animals in toxicological profiling and chemical safety assessment.

## Figure 2

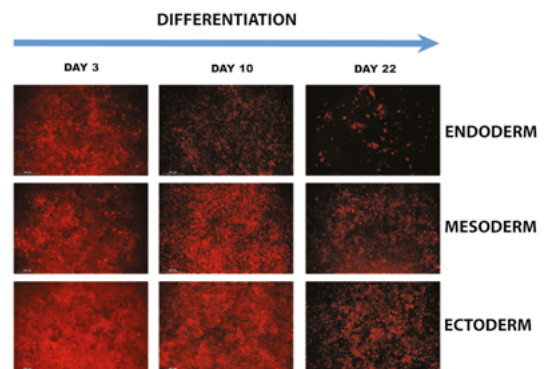
The figure illustrates the maintenance of mCherry expression throughout the differentiation process of human iPSC cells. Four copies of mCherry have been installed on a docking platform (DP) located at a Genomic Safe Harbour (GSH) site.

## *Immunotherapy*

Our immunotherapy projects rely on a novel gene delivery system, a docking platform (DP), patented by our group. The goal is to develop a new generation of therapies for different diseases: solid and liquid tumors, fungal infections, antibiotic-resistant bacterial infections, etc. The transfer of genes (antibodies, cytokines, checkpoint inhibitors, Chimeric Antigen Receptors (CARs), etc.) aimed at endowing cells with new therapeutic capacities is performed on immunocompatible iPSC cells carrying the DP at a Genomic Safe Harbour (GSH) site of the genome. Fully equipped iPSC cells are then differentiated *in vitro* into NK lymphocytes and macrophages. The resulting immunocompatible cells will be used in allogeneic transplants for all patients who need them.

## Financiación / Funding

- CA21151 (COST)
- OC-2020-1-24729 (COST)
- CPP2021-008350 (MICINN)
- PI21/00393 (ISCIII)
- UCRAN20059 (CSIC)
- Y2020/NMT-63122 (CAM)
- INTER200005 (AECID/CSIC)
- PRD2018/87 (GOIB)
- EIN2020-112365 (MICINN)
- PI18/00334 (ISCIII)



## Eduardo Antonio Espeso Fernández

Investigador Científico  
eespeso@cib.csic.es



**PhD, 1989**, Universidad Complutense de Madrid  
**Postdoctoral, 1997-1999**, Imperial College London EMBO-Postdoctoral Fellow  
**Contratado Ramón y Cajal, 2001-2004**, CIB, CSIC  
**Científico Titular y jefe de grupo, 2004**, CIB, CSIC  
**Investigador Científico, 2023**, CIB, CSIC  
**Secretario Grupo Especializado de Hongos Filamentosos y Levaduras (SEM), 2004-2008**.  
 Vocal desde 2020  
**Jefe de Departamento de Biología Celular y Molecular**, desde diciembre de 2021

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

## 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 Genetique et Microbiologie, Universidad de Paris, Orsay  
**Científico Titular y jefe de grupo, 1987**, CIB, CSIC  
**Profesor de Investigación, 2001**, CIB, CSIC  
**Visiting Scientist, 2005-2006**, MRC Laboratory of Molecular Biology, Cambridge (UK)  
**Elegido miembro de EMBO, 2000**

### Otros miembros / Other members

Mario Pinar Sala	Marisa Delgado Álvarez
Ignacio Bravo Plaza	Sara Abib Ait Bakadir
Silvia Rodríguez Pires	Sergio Fandiño González
Francisco Borja Cuevas Fernández	Paula Polonio García
Irene Picazo Domínguez	Laura Guerra Fernández de Velasco
Juan Fernández Carrillo	

# Biología Celular de *Aspergillus*

*Aspergillus nidulans* es un modelo genético apropiado para estudiar excitosis 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.

Hacia una comprensión global de las membranas intracelulares en la célula fúngica: Estudiamos problemas de tráfico intracelular difíciles de resolver en células cultivadas, pero abordables con relativa facilidad en un eucariota genéticamente manejable como *Aspergillus*, en el que la delección de genes o el etiquetado endógeno dura menos de dos semanas, y que es ideal para la microscopía en vivo, ya que las hifas tienen una tendencia natural a adherirse al fondo de las cámaras de cultivo para microscopios invertidos. Las hifas crecen exclusivamente por extensión apical a 1  $\mu\text{m}/\text{min}$ , lo que significa que la vía secretora debe suministrar eficientemente membrana y precursores de la pared celular al ápice en crecimiento. Además de que los extremos + de los microtúbulos y los cables de actina se dirigen hacia el ápice, se acumulan vesículas secretoras bajo la membrana plasmática apical a la espera de fusionarse con esta última, como ocurre en la citomatrix de la zona activa de los botones presinápticos. La polarización de las enzimas biosintéticas de la pared celular está mediada por el reciclaje endocítico, lo que contribuye a que el sistema endolisosomal sea esencial para la vida. La fisiología de la vía endocítica está íntimamente ligada a la sensibilidad a cationes, lo que nos proporciona pruebas funcionales sencillas de la función endolisosomal. Investigamos cómo las kinesinas y la dineína mueven los endosomas, cómo éstas y la miosina-5 cooperan para transportar vesículas secretoras a la punta de la hifa, cómo las GTPasas Rab reclutan motores a las vesículas exo/endocíticas y cómo funcionan los GEF que activan los RAB exo y endocíticos. En el sistema endosomal investigamos las vías que lo conectan con el Golgi y las mitocondrias, centrándonos en el complejo del retrómero. Por último, nos interesa la red mitocondrial, la mitofagia y su relación con el sistema endosomal y el RE en el contexto de la enfermedad de Parkinson.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Bravo-Plaza, I.; Tagua, V. G.; Arst, H. N.; Alonso, A.; Pinar, M.; Monterroso, B.; Galindo, A.; Peñalva, M. A. The Uso1 globular head interacts with SNAREs to maintain viability even in the absence of the coiled-coil domain. *eLife* **2023**, 12:e85079, doi:10.7554/eLife.85079.
- Agirrezabala, Z.; Guruceaga, X.; Martín-Vicente, A.; Otamendi, A.; Fagoaga, A.; Fortwendel, J. R.; Espeso, E. A.; Etxebeste, O. Identification and functional characterization of the putative members of the CTDK-1 kinase complex as regulators of growth and development in *Aspergillus nidulans* and *Aspergillus fumigatus*. *mBio* **2023**, e0245223, doi:10.1128/mbio.02452-23.
- Chevalier, L.; Pinar, M.; Le Borgne, R.; Durieu, C.; Penalva, M. A.; Boudaoud, A.; Minc, N. Cell wall dynamics stabilize tip growth in a filamentous fungus. *PLoS Biol.* **2023**, 21:e3001981, doi:10.1371/journal.pbio.3001981.
- Qiu, R.; Zhang, J.; McDaniel, D.; Peñalva, M. A.; Xiang, X. Live-Cell Imaging of Dynein-Mediated Cargo Transport in *Aspergillus nidulans*. *Methods Mol Biol.* **2023**, 2623, 3-23, doi:10.1007/978-1-0716-2958-1\_1.
- Pandit, S. S.; Zheng, J.; Yin, Y.; Lorber, S.; Puel, O.; Dhingra, S.; Espeso, E. A.; Calvo, A. M. Homeobox transcription factor HbxA influences expression of over one thousand genes in the model fungus *Aspergillus nidulans*. *PLoS One.* **2023**, 18:e0286271, doi:10.1371/journal.pone.0286271.
- Astacio, J. D.; Espeso, E. A.; Melgarejo, P.; De Cal, A. Monilinia fructicola Response to White Light. *J Fungi* **2023**, 9(10), 988, doi:10.3390/jof9100988.
- Villarino, M.; Rodríguez-Pires, S.; Requena, E.; Melgarejo, P.; De Cal, A.; Espeso, E. A. A Secondary Metabolism Pathway Involved in the Production of a Putative Toxin Is Expressed at Early Stage of *Monilinia laxa* Infection. *Front Plant Sci* **2022**, 13, 818483, doi:10.3389/fpls.2022.818483.
- Pinar, M.; Alonso, A.; de Los Ríos, V.; Bravo-Plaza, I.; de la Gandara, Á.; Galindo, A.; Arias-Palomo, E.; Peñalva, M. Á. The type V myosin-containing complex HUM is a RAB11 effector powering movement of secretory vesicles. *iScience* **2022**, 25(7), 104514. doi:10.1016/j.isci.2022.104514.
- Rodríguez-Pires, S.; Espeso, E. A.; Rasiukeviciute, N.; Melgarejo, P.; De Cal, A. Light-Photoreceptors and Proteins Related to *Monilinia laxa* Photoresponses. *J Fungi* **2021**, 7(1), 32, doi:10.3390/jof7010032.
- Pinar, M.; Peñalva, M. The fungal RABOME: RAB GTPases acting in the endocytic and exocytic pathways of *Aspergillus nidulans* (with excursions to other filamentous fungi). *Mol Microbiol* **2021**, 116, 53-70, doi:10.1111/mmi.14716.

### Financiación / Funding

- RTI2018-093344-B-100 (MCIU/AEI/FEDER/UE)
- S2017/BMD-3691 INGENMICS (Comunidad de Madrid)
- RTI2018-094263-B-100 (MCIU/AEI/FEDER/UE)
- PID2021-1242780B-I00 (MCIU/AEI/FEDER/UE)
- TED2021-129607B-I00 (MCIU/AEI/FEDER/UE)

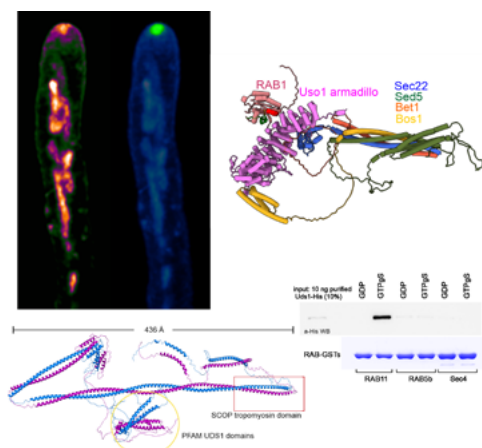


# Aspergillus Cell Biology

*Aspergillus nidulans* hyphae resemble polarized cells such as neurons in that intracellular transport is mediated by the cooperation of microtubules and actin. Our goal is to understand the secretory pathway and its connections with endosomes and the ER/mitochondrial network. These basic studies are important for protein production using fungal factories and might provide targets for therapeutic or phytosanitary intervention.

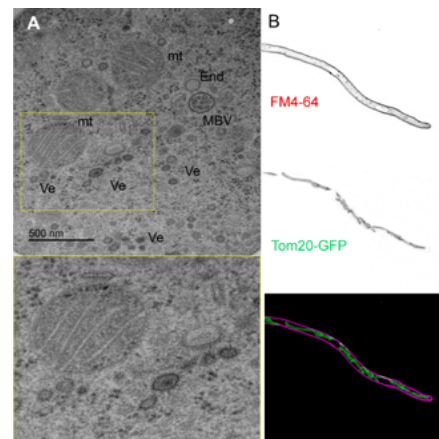
Towards a global understanding of intracellular membranes in the fungal cell: We address general problems of intracellular trafficking difficult to tackle in cultured cells but that can be approached with relative ease in a genetically tractable eukaryote such as *Aspergillus*, in which gene deletions or endogenous gene tagging can be accomplished in less than two weeks; another experimental advantage of *Aspergillus* is its amenability to live microscopy, as hyphae have a natural tendency to adhere to the bottom of culture chambers used for inverted microscopes. *Aspergillus* hyphae grow exclusively by apical extension at 1  $\mu\text{m}/\text{min}$ , meaning that the secretory pathway needs to deliver membrane and cell wall materials to the growing apex very efficiently. Besides the

fact that the plus ends of the microtubules and the barbed ends of actin filaments are focused towards the apex, fresh loads of secretory vesicles accumulate underneath the apical plasma membrane awaiting fusion with the latter, resembling the cytomatrix at the active zone of presynaptic buttons. Polarization of cell wall biosynthetic enzymes is mediated by endocytic recycling, which is likely to contribute to the fact that the endolysosomal system is essential for life. In addition, the physiology of the endocytic pathway is intimately linked to the sensitivity to cations, providing us with simple functional tests of endolysosomal function. We investigate how Kinesins and dynein power the motility of endosomes, how these and myosin-5 cooperate to deliver vesicles to the hyphal tip, how motors are recruited to exo/endocytic vesicles by Rab GTPases, and the nature of the GEFs activating exo- and endocytic RABs. In the endosomal system, we investigate the pathways connecting it with the Golgi and the mitochondria, with a focus on the retromer complex. Lastly, we are interested in the mitochondrial network, mitophagy, and its relation with the endosomal system and the ER in the context of Parkinson's disease.



**Figure 1**

Top, hyphal tip cell; firework LUT: FM4-64 labels vesicles at the tip (and mitochondria). Green LUT, apical localization of myosin-5. Top right, the USO1 armadillo repeat facilitates ER/Golgi SNARE zippering (Bravo-Plaza et al. 2023, *ELife*; doi: 10.7554/eLife.85079). Bottom, AlphaFold of the UDS1 dimer. UDS1 is an effector of RAB11 (Pinar et al. 2022, *iScience* doi:10.1016/j.isci.2022.104514).



**Figure 2**

Panel A, Electron microscopy image of the cytoplasm of a hypha showing the high content of vesicles (Ve) and mitochondria (in cross-section, mt). Bottom, magnification of framed region. MVB, multivesicular body; End, endosome. Panel B, Fluorescence microscopy image, FM4-64 staining of the plasma membrane (top), visualization of mitochondria with TOM20 (center), composite image (bottom).



**Patricia Boya**

Investigadora científica

pboya@cib.csic.es

patricia.boya@unifr.ch (actual)



PhD, 2000, Universidad de Navarra

Marie Curie Fellow, 2001-2004, CNRS, París, Francia

Postdoctoral, 2005, University of Cambridge, UK

Contrato Ramón y Cajal, 2005-2009, CIB, CSIC

Científica titular, 2009, CIB, CSIC

Jefe de grupo, 2011, CIB, CSIC

Investigadora Científica, 2016, CIB, CSIC

En excedencia desde 1.8.2022

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

## Laboratorio de Autofagia

*Nuestro laboratorio utiliza modelos celulares y animales para comprender las funciones fisiológicas de la autofagia y sus implicaciones en diferentes situaciones patológicas. También buscamos fármacos que modulen estos procesos con vistas a descubrir nuevos tratamientos para las enfermedades humanas.*

Estamos interesados en comprender el papel que desempeñan los lisosomas y la autofagia en el envejecimiento fisiológico. Hemos demostrado que en la retina de animales envejecidos hay una disminución de la capacidad de las células para inducir la autofagia y que esto se correlaciona con la pérdida de visión nocturna y la muerte de los fotorreceptores. Hemos demostrado que este fenotipo es muy similar al observado en la retina de animales deficientes en autofagia y que también se observa durante el envejecimiento en humanos.

También queremos entender cómo la eliminación selectiva de orgánulos a través de la autofagia, como la mitofagia y la pexofagia, afecta a la fisiología de las células y cómo se regulan estos procesos selectivos *in vitro*, *in vivo* y en modelos animales de enfermedades neurodegenerativas. Hemos demostrado que la mitofagia regula la reprogramación metabólica durante la neurogénesis y que los animales deficientes en mitofagia presentan alteraciones en la diferenciación neuronal. También hemos explorado la relevancia de la degradación selectiva de las mitocondrias, por mitofagia, en el envejecimiento fisiológico en ratones. Nuestros datos muestran que, al contrario de lo que ocurre con la autofagia no selectiva, los niveles de mitofagia permanecen estables o aumentan sistémicamente en animales viejos. Esta regulación al alza del control de calidad de las mitocondrias sucede al mismo tiempo que el aumento de la respuesta al interferón de tipo I en la retina, uno de los órganos con mayores niveles de mitofagia durante el envejecimiento. Nuestros datos demuestran que esta respuesta inmune innata es provocada por la liberación de ADN mitocondrial al citosol, lo que a su vez resulta en la activación de las vías cGAS/STING. Por último, hemos demostrado que el tratamiento con el inductor de mitofagia Urolitina A puede mejorar la neuroinflamación y, en última instancia, aliviar los fenotipos de deterioro cognitivo asociados al envejecimiento

**Otros miembros / Other members**

Raquel Gómez Sintés

Beatriz Villarejo Zori

Elena Sierra Filardi

Patricia Velasco Jurado

Sandra Alonso Gil

Petra Teresak

Juan Zapata Muñoz

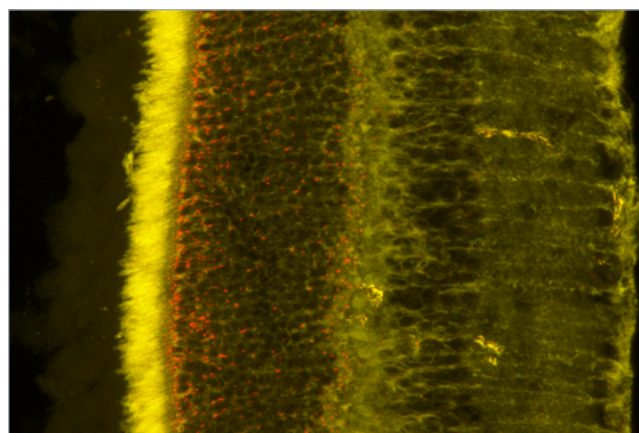
Juan Ignacio Jiménez Loygorri

Belén Merás

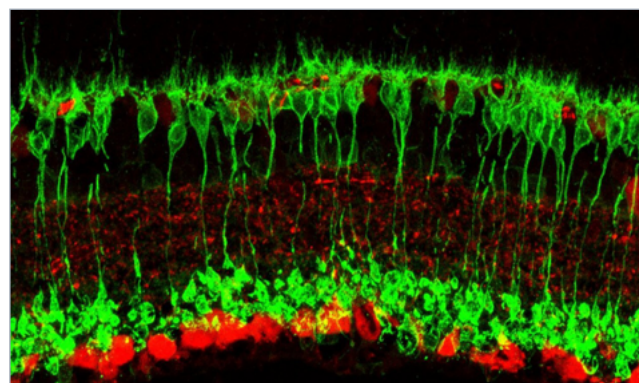
Rocío Benítez Fernández

Álvaro Viedma Poyatos

Andrea Cerdá

**Figure 2**

*Visualization of the mitophagy process with the MitoQC reporter animal. The red dots are mitochondria within a lysosome where the GFP is quenched in the acidic environment*

**Figure 1**

*Mouse retina section where bipolar cells are labelled in green and the ganglion and amacrine cells are labelled in red.*

**Financiación / Funding**

- PID2021-126864NB-I00 2022-2024 (MICINN)
- PGC2018-098557-B-I00 2019-2021 (MICINN)
- Proyectos de Neurociencia 2018 (Fundación Tatiana Pérez de Guzmán el Bueno, 2019-2022)
- Comunidad de Madrid 2017/BMD-3813 (CAM, 2018-2022)
- H2020-MSCA-ITN-2017 (MSCA-ITN-ETN 765912, UE, 2017- 2021)
- Life Biosciences, Boston, USA 2019-2022

# Autophagy Lab

**Our lab uses cellular and animal models to understand the physiological roles of autophagy and its implications during disease. We also seek to identify new therapies that target autophagy pathways by screening for new autophagy-modulating drugs to discover new treatments for human diseases.**

We are interested in understanding how lysosomes and autophagy affect physiological aging. We have shown that in the aged retina there is a decrease in the cells' ability to induce autophagy and that this correlates with night vision loss and the death of light-sensitive cells, the photoreceptors. We have shown that this phenotype is very similar to that observed in the retina of autophagy-deficient animals and is also observed during retinal aging in humans.

We also want to understand how the selective removal of organelles via autophagy, such as mitophagy and pexophagy, impacts our cells' physiology and how these selective processes are regulated in vitro, in vivo, and in animal models of neurodegenerative diseases. We have shown that mitophagy regulates metabolic reprogramming during neurogenesis and mitophagy-deficient animals display alterations in neuronal differentiation. We have also explored the relevance of selective autophagic degradation of mitochondria, by mitophagy, in physiological aging in mice. Our data show that contrary to what happens with bulk autophagy, mitophagy levels consistently remain stable or increase systemically in old animals. This upregulation of mitochondria quality control is concomitant with an increase in the response to type I interferon in the retina, one of the organs with the higher mitophagy levels during aging. We have found that this innate immune response is elicited by the release of mitochondrial DNA into the cytosol, which in turn results in the activation of cGAS/STING pathways. Lastly, our results show that treatment with the mitophagy inducer Urolithin A can ameliorate neuroinflammation, ultimately alleviating the cognitive decline phenotypes associated with aging.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Jiménez-Loygorri, J. I.; Villarejo-Zori, B.; Viedma-Poyatos, A.; Zapata-Muñoz, J.; Benítez-Fernández, R.; Frutos-Lisón, M. D.; Tomás-Barberán, F. A.; Espín J. C.; Area-Gómez, E.; Gomez-Duran, A.; Boya, P. Mitophagy curtails cytosolic mtDNA-dependent activation of cGAS/STING inflammation during aging. *Nat Commun* 2024, 15, 308, doi.org/10.1038/s41467-024-45044-1.
- Boya, P.; Kaarniranta, K.; Handa, J. T.; Sinha, D. Lysosomes in retinal health and disease. *Trends Neurosci* 2023, 46(12), 1067-1082, doi:10.1016/j.tins.2023.09.006.
- Jiménez-Loygorri, J. I.; Benítez-Fernández, R.; Viedma-Poyatos, A.; Zapata-Muñoz, J.; Villarejo-Zori, B.; Gómez-Sintes, R.; Boya P. I. Mitophagy in the retina: Viewing mitochondrial homeostasis through a new lens. *Prog Retin Eye Res* 2023, 96, 101205, doi:10.1016/j.preteyeres.2023.101205.
- Beccari, S.; Sierra-Torre, V.; Valero, J.; Pereira-Iglesias, M.; García-Zaballa, M.; Soria, F. N.; De Las Heras-García, L.; Carretero-Guillen, A.; Capetillo-Zarate, E.; Domercq, M.; Huguet, P. R.; Ramonet, D.; Osman, A.; Han, W.; Domínguez, C.; Faust, T. E.; Touzani, O.; Pampliega, O.; Boya, P.; Schafer, D.; Mariño, G.; Canet-Soulas, E.; Blomgren, K.; Plaza-Zabala, A.; Sierra, A. Microglial phagocytosis dysfunction in stroke is driven by energy depletion and induction of autophagy. *Autophagy* 2023, 19(7), 1952-1981, doi: 10.1080/15548627.2023.2165313
- Arbaizar-Rovirosa, M.; Gallizioli, M.; Lozano, J. J.; Sidorova, J.; Pedragosa, J.; Figueroa, S.; Chaparro-Cabanillas, N.; Boya, P.; Graupera, M.; Claret, M.; Urra, X.; Planas, A. M. Transcriptomics and translomics identify a robust inflammatory gene signature in brain endothelial cells after ischemic stroke. *J Neuroinflammation* 2023, 20(1), 207, doi: 10.1186/s12974-023-02888-6.
- Wilhelm, L. P.; Zapata-Muñoz, J.; Villarejo-Zori, B.; Pellegrin, S.; Freire, C. M.; Toye, A. M.; Boya, P.; Ganley, I. G. BNIP3L/NIX regulates both mitophagy and pexophagy. *EMBO J* 2022, 41(24), e111115, doi: 10.15252/embj.2022111115.
- Ramirez-Pardo, I.; Villarejo-Zori, B.; Jiménez-Loygorri, J. I.; Sierra-Filardi, E.; Alonso-Gil, S.; Mariño, G.; de la Villa, P.; Fitze, P. S.; Fuentes, J. M.; García-Escudero, R.; Ferrington D. A.; Gómez-Sintes, R.; Boya, P. Ambra1 haploinsufficiency in CD1 mice results in metabolic alterations and exacerbates age-associated retinal degeneration. *Autophagy* 2022, 19, 784-804, doi: 10.1080/15548627.2022.2103307.
- Figueiredo-Pereira, C.; Villarejo-Zori, B.; Cipriano, P. C.; Tavares, L.; Ramirez-Pardo, I.; Boya, P.; Vieira, H. L. A. Carbon Monoxide stimulates both mitophagy and mitochondrial biogenesis to mediate protection against oxidative stress in astrocytes. *Mol Neurobiol* 2023, 60(2), 851-863, doi: 10.1007/s12035-022-03108-7.
- Gómez-Sintes, R.; Xin, Q.; Jiménez-Loygorri, J. I.; McCabe M.; Díaz, A.; Garner, T. P.; Cotto-Rios, X. M.; Wu, Y.; Dong, S.; Reynolds, C. A.; Patel, B.; de la Villa, P.; Macian, F.; Boya, P.; Gavathiotis, E.; Cuervo, A. M.. Targeting retinoic acid receptor alpha-corepressor interaction activates chaperone-mediated autophagy and protects against retinal degeneration. *Nat Commun* 2022, 13(1), 4220, doi: 10.1038/s41467-022-31869-1.
- Orhon, I.; Rocchi, C.; Villarejo-Zori, B.; Serrano-Martínez, P.; Baanstra, M.; Brouwer, U.; Boya, P.; Coppes, R.; Reggiori, F. Autophagy induction during stem cell activation plays a key role in salivary gland self-renewal. *Autophagy* 2022, 18(2), 293-308, doi: 10.1080/15548627.2021.1924036.



**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

**Otros miembros / Other members**

Ana Moreno Blanco

**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 Proyecto CONSOLIDER INTERMODS, 2008-2015  
Coordinador Red Española REDEEX, 2009-2011  
Presidente International Society of Plasmid Biology, 2012-2014  
Coeditor en *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2017  
Coeditor en *Frontiers in Microbiology*, 2018  
Coeditor en *Frontiers in Molecular Biosciences*, 2019-2020



<https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/bacterial-gene-expression-and-gene-transfer>

## Expresión Génica y Transferencia Genética en Bacterias

**Trabajamos en regulación global de la expresión génica y en transferencia genética horizontal mediada por plásmidos. Ambos procesos son claves en la colonización bacteriana de nuevos nichos. Nuestra investigación tiene como objetivo comprender el comportamiento oportunista de *Streptococcus pneumoniae* y *Enterococcus faecalis*, dos bacterias comensales que pueden volverse patógenas por su capacidad para colonizar nuevos nichos del huésped humano**

Muchas especies bacterianas colonizan nichos particulares del huésped humano sin causar daño (bacterias comensales). Exhiben comensalismo las dos bacterias Gram-positivas con las que trabajamos, *S. pneumoniae* y *E. faecalis*. Suelen colonizar la nasofaringe y el tracto gastrointestinal, respectivamente. Desde estos nichos, envían 'células exploradoras' para intentar colonizar otros nichos, donde suelen ser eliminadas por el sistema inmunológico. Sin embargo, en individuos con inmunidad inmadura (niños menores de 5 años) o debilitada (ancianos) ambas bacterias pueden lograr establecerse en tejidos/órganos distintos de sus nichos habituales (comportamiento oportunista), causando enfermedades graves o mortales. Nuestro objetivo a largo plazo es comprender cómo estos patógenos oportunistas se adaptan a sus nuevos nichos. Esta adaptación conlleva cambios en la expresión de múltiples genes bacterianos (el 'nichoma'), lo que depende del control mediado por factores de transcripción. Nuestra investigación se centra en (i) la identificación de proteínas capaces de actuar como reguladores transcripcionales específicos o globales en respuesta a señales ambientales concretas, (ii) el estudio de sus genes diana, y (iii) la caracterización de su mecanismo de regulación transcripcional. Hemos identificado reguladores implicados en la adherencia bacteriana a las células/tejidos del huésped y reguladores de rutas metabólicas. Ambos tipos de reguladores son clave en la colonización de nuevos nichos. Además, estudiamos relaxasas conjugativas implicadas en la transferencia horizontal de moléculas de plásmidos. Hemos actualizado la información disponible sobre las relaxasas de la familia MOB<sub>v</sub>, las cuales contribuyen a la propagación de resistencias a antibióticos entre bacterias. Finalmente, para integrar nuestra experiencia en un

escenario más general, hemos definido y elaborado un concepto global de interacción entre los mundos humano y bacteriano bajo el principio general de *One Earth*.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Moreno-Blanco, A.; Pluta, R.; Espinosa, M.; Ruiz-Cruz, S.; Bravo, A. Promoter DNA recognition by the *Enterococcus faecalis* global regulator MafR. *Front Mol Biosci* **2023**, *10*, 1294974, doi:10.3389/fmolb.2023.1294974.
- Bravo, A.; Moreno-Blanco, A.; Espinosa, M. The equilibrium between the human and the bacterial worlds. *Int J Mol Sci* **2023**, *24*, 15047, doi:10.3390/ijms242015047.
- Chan, W. T.; Garcillán-Barcia, M. P.; Yeo, C. C.; Espinosa, M. Type II bacterial toxin-antitoxins: hypotheses, facts, and the newfound plethora of the PezAT system. *FEMS Microbiol Rev* **2023**, *47*, 1-21, doi:10.1093/femsre/fuad052.
- Garcillán-Barcia, M. P.; Pluta, R.; Lorenzo-Díaz, F.; Bravo, A.; Espinosa, M. The facts and family secrets of plasmids that replicate via the rolling-circle mechanism. *Microbiol Mol Biol Rev* **2022**, *86*, e00222-20, doi:10.1128/MMBR.00222-20.
- Moreno-Blanco, A.; Solano-Collado, V.; Ortuno-Camuñas, A.; Espinosa, M.; Ruiz-Cruz, S.; Bravo, A. PclR is a transcriptional activator of the gene that encodes the pneumococcal collagen-like protein PclA. *Sci Rep* **2022**, *12*, 11827, doi:10.1038/s41598-022-15758-7.
- Schleif, R.; Espinosa, M. Where to from here? *Front Mol Biosci* **2022**, *9*, 848444, doi:10.3389/fmolb.2022.848444.
- Yeo, C. C.; Espinosa, M.; Venkova, T. Editorial: Prokaryotic Communications, Volume II: From Macromolecular Interdomain to Intercellular Talks (Recognition) and Beyond. *Front Mol Biosci* **2022**, *9*, 910673, doi:10.3389/fmolb.2022.910673.
- Solano-Collado, V.; Ruiz-Cruz, S.; Lorenzo-Díaz, F.; Pluta, R.; Espinosa, M.; Bravo, A. Recognition of streptococcal promoters by the pneumococcal SigA protein. *Front Mol Biosci* **2021**, *8*, 666504, doi:10.3389/fmolb.2021.666504.
- Moreno-Córdoba, I.; Chan, W. T.; Nieto, C.; Espinosa, M. Interactions of the *Streptococcus pneumoniae* toxin-antitoxin RelBE proteins with their target DNA. *Microorganisms* **2021**, *9*, 851, doi:10.3390/microorganisms9040851.
- Yeo, C. C.; Espinosa, M.; Venkova, T. eds. Prokaryotic Communications: From Macromolecular Interdomain to Intercellular Talks (Recognition) and Beyond. *Lausanne: Frontiers Media SA*. **2021**, eBook, doi:10.3389/978-2-88966-850-2.

**Financiación / Funding**

- PID2019-104553RB-C21, 2020-2023 (MICINN)

# Bacterial Gene Expression and Gene Transfer

**We work on global regulation of gene expression and plasmid-mediated horizontal gene transfer. Both processes have important consequences on the ability of bacteria to colonize novel niches. Our research aims to understand the opportunistic behaviour of *Streptococcus pneumoniae* and *Enterococcus faecalis*. These two human commensal bacteria can become pathogenic due to their ability to colonize new niches of the human host.**

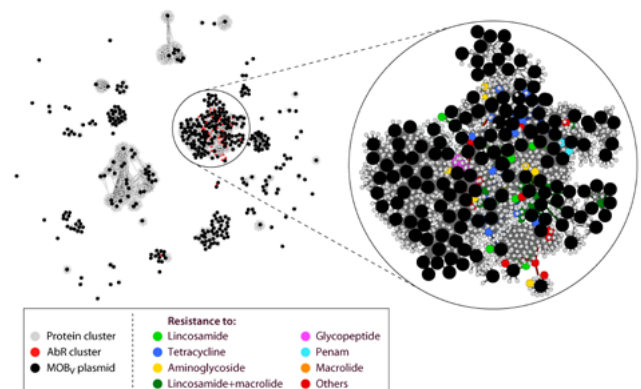
Many bacterial species colonize particular niches of the human host causing no harm (commensal bacteria). Commensalism is exhibited by the two Gram-positive bacteria we work with, *S. pneumoniae* and *E. faecalis*. They usually colonize the nasopharynx and the gastrointestinal tract, respectively. From these niches, 'explorer cells' are sent to attempt the colonization of other tracts, where they are usually eliminated by the immune system. However, individuals with immature (children below 5) or weakened (elders) immunity can be targets of these two bacteria that can succeed in their migration to tissues/organs other than their habitual niches (opportunistic behaviour), causing serious or deadly diseases. Our long-term aim is to understand

how these opportunistic pathogens adapt to their new niches of the human host. Such adaptation appears to be achieved by changes in the expression of multiple bacterial genes (the 'nichome'), which depends on the control mediated by transcription factors. Our research focuses on (i) the identification of proteins able to act as specific or global transcriptional regulators in response to specific environmental signals, (ii) the study of their target genes, and (iii) the characterization of their mechanism of transcriptional regulation. We have identified regulators involved in bacterial adherence to host cells/tissues and regulators involved in metabolic pathways. Both types of regulators play key roles in the colonization of new niches. We also studied conjugative relaxases involved in the horizontal transfer of plasmid molecules. We have updated the information available on conjugative relaxases of the MOB<sub>γ</sub> family, which contribute to the spreading of antibiotic resistance among bacteria. Finally, to integrate our expertise into a more general scenario, we have defined and elaborated a global concept of interaction between the human and the bacterial worlds under the One Earth general principle.



**Figure 1**

We have shown that PclR is a transcriptional activator of the gene that encodes the pneumococcal collagen-like protein PclA. PclA mediates pneumococcal adhesion to human cells. The *pclA* and *pclR* genes are not present in all strains of *S. pneumoniae*. Moreno-Blanco et al. (2022) *Sci. Rep.* 12: 11827.



**Figure 2**

The AccNET approach was used to inspect the distribution of antibiotic resistances among the MOB<sub>γ</sub> family of plasmids. Clusters of antimicrobial resistance proteins (red, left panel) were selected using BLASTp and CARD (Comprehensive Antibiotic Resistance Database). The group containing most antibiotic resistance clusters is zoomed at the right (colour indicates the type of antibiotic). Garcillán-Barcia et al. (2022) 86: e00222-20.



**Rosa María Lozano Puerto**Científico Titular  
rlozano@cib.csic.es

PhD, 1990, Universidad Autónoma de Madrid  
 Postdoctoral, 1991-1993, University of California Berkeley, USA  
 Investigador Contratado, 1993-2001, CIB, CSIC  
 Científico Titular, 2001, CIB, CSIC  
 Jefe de Grupo, 2008, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Noelia Ropero de Torres  
 Luna Sánchez López



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

## Reconocimiento Célula-Biomaterial

El laboratorio 'Reconocimiento Célula-Biomaterial' investiga la interacción entre las células y los materiales metálicos para reparación ósea. Los biomateriales en estudio incluyen aleaciones de cobalto-cromo y aleaciones metálicas biodegradables de base magnesio o hierro. En el caso del CoCr se pretende aumentar la lubricación y durabilidad mediante modificaciones superficiales, analizando el efecto del desgaste sobre la respuesta celular.

El envejecimiento de la población, junto al aumento de prácticas deportivas de riesgo y de accidentes de tráfico hacen que la necesidad de prótesis osteoarticulares vaya en aumento. En el caso de la sustitución de la articulación de cadera se proponen las combinaciones Metal-Metal que contienen aleaciones de cobalto-cromo (CoCr) con tasas de desgaste bajas y buen comportamiento frente a la corrosión. Sin embargo, estas aleaciones metálicas una vez implantadas se desgastan y liberan partículas e iones metálicos. Con el propósito de disminuir el desgaste y aumentar la durabilidad del implante, hemos modificado la superficie de aleaciones de CoCr mediante recubrimientos, basándonos en las siguientes evidencias: (1) la presencia de capas gráficas lubricantes sobre superficies desgastadas de prótesis retiradas; (2) el carácter lubricante atribuido a los compuestos de grafeno y (3) el efecto beneficioso del ácido hialurónico sobre la fricción y el desgaste de las articulaciones. Estos hechos, junto a nuestro interés por mejorar la lubricidad y así aumentar la durabilidad del material implantado, justifican la modificación del CoCr mediante recubrimientos superficiales de base grafeno (óxido de grafeno reducido electroquímicamente, ErGO) y ácido hialurónico (HA).

Los resultados obtenidos muestran que el ErGOHA, depositado sobre el metal mediante adsorción física, mejora la biocompatibilidad del material y la respuesta inflamatoria de los macrófagos. Además, el recubrimiento aumenta la humectabilidad de la superficie del material favoreciendo la adhesión celular de los osteoblastos. Incluso en condiciones de desgaste, las superficies de CoCr modificadas con ErGOHA muestran un potencial inmunomodulador, promoviendo a su vez los procesos de mineralización en osteoblastos, necesarios para la reparación ósea. Estos resultados permiten proponer la adsorción física de ErGOHA sobre CoCr como un tratamiento superficial recomendado para aplicaciones articulares óseas.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Chico, B.; Pérez-Maceda, B. T.; San José, S.; Escudero, M. L.; García-Alonso, M. C.; Lozano, R. M. Corrosion behaviour and J774A.1 macrophage response to hyaluronic acid functionalization of electrochemically reduced graphene oxide on biomedical grade CoCr. *Metals* 2021, 11, 1078-1092, doi:10.3390/met11071078
- Aguado-Henche, S.; Escudero, M. L.; García-Alonso, M. C.; Lozano-Puerto, R. M.; Clemente de Arriba, C. Biological responses in the blood and organs of rats to intraperitoneal inoculation of graphene and graphene oxide. *Materials* 2022, 15, 2898-2911, doi:10.3390/ma15082898.
- Chico, B.; Pérez-Maceda, B. T.; San-José, S.; Escudero, M. L.; García-Alonso, M. C.; Lozano, R. M. Wettability, corrosion resistance, and osteoblast response to reduced graphene oxide on CoCr functionalized with hyaluronic acid. *Materials* 2022, 15, 2693-2707, doi:10.3390/ma15072693.
- Sánchez-López, L.; Chico, B.; Llorente, I.; Escudero, M. L.; Lozano, R. M.; García-Alonso, M. C. Covalent immobilization of graphene oxide on biomedical grade CoCr alloy by an improved multilayer system assembly via Silane/GO bonding. *Materials Chemistry and Physics* 2022, 287, 126296-126305, doi:10.1016/j.matchemphys.2022.126296.
- García-Alonso, M. C.; Chico, B.; Lozano, R. M.; Escudero, M. L. Tribocorrosion behavior of graphene-based solid lubricants biofunctionalized with hyaluronic acid on CoCr surfaces. *Tribology International* 2023, 183, 108420-108427, doi:10.1016/j.triboint.2023.108420.
- Sánchez-López, L.; Ropero de Torres, N.; Chico, B.; Fagali, N. S.; de los Ríos, V.; Escudero, M. L.; García-Alonso, M. C.; Lozano, R. M. Effect of wear-corrosion of reduced graphene oxide functionalized with hyaluronic acid on inflammatory and proteomic response of J774A.1 macrophages. *Metals* 2023, 13, 598-626, doi:10.3390/met13030598.
- Benito-Santiago, S. E.; Onofre-Bustamante, E.; Lozano-Puerto, R. M. Synthesis and characterization of CeO<sub>2</sub> coatings on the AZ31 alloy for corrosion protection and in vitro biocompatibility of MC3T3-E1 pre-osteoblasts. *Metals* 2023, 13, 653-669, doi:10.3390/met13040653
- Sánchez-López, L.; Chico, B.; Escudero, M. L.; Lozano, R. M.; García-Alonso, M. C. Barrier graphene oxide on a CoCr alloy via silane/GO covalent bonding and its electrochemical behavior in a simulated synovial fluid electrolyte. *Metals* 2023, 13, 1331-1347, doi:10.3390/met13081331.
- Estrada, R. G.; Multigner, M.; Fagali, N.; Lozano, R. M.; Muñoz, M.; Cifuentes, S. C.; Torres, B.; Lieblisch, M. Metastable FeMg particles for controlling degradation rate, mechanical properties, and biocompatibility of Poly(L-lactic) acid (PLLA) for orthopedic applications. *Heliyon* 2023, 9(12), e22552, doi:10.1016/j.heliyon.2023.e22552

**Financiación / Funding**

- RTI2018-101506-B-C33, 2019-2022 (MICIU)
- COOPA20479 (CSIC)

# Cell-Biomaterial Recognition

The 'Cell-Biomaterial Recognition Lab' explores the interactions between cells and biomaterials with applications for bone tissue repair. The biomaterials under study comprise metallic materials, such as cobalt-chromium alloys and biodegradable magnesium-based and iron-based alloys. To improve the lubricity and durability of CoCr alloys, new surfaces are developed and the effect of wear on cell behavior is analyzed.

The aging of the population, together with the increase in high-risk sports practices and traffic accidents, are increasing the need for osteoarticular prostheses. In the case of hip joint replacement, Metal-Metal combinations containing cobalt-chromium alloys (CoCr) with low wear rates and good corrosion behavior are proposed. However, these metal alloys once implanted suffer wear and release metal particles and metallic ions. To reduce wear and increase implant durability, we have modified the surface of CoCr alloys with coatings based on the following evidence: (1) the presence of lubricating graphitic layers on worn surfaces of removed prostheses; (2) the lubricating character attributed to graphene compounds

and (3) the beneficial effect of hyaluronic acid on joint friction and wear. These facts, together with our interest in improving lubricity and thus increasing the durability of the implanted material, justify the modification of CoCr using graphene-based surface coatings (electrochemically reduced graphene oxide, ErGO) and hyaluronic acid (HA).

The results obtained show that ErGOHA, deposited on the metal by physical adsorption, improves the biocompatibility of the material and the inflammatory response of macrophages. In addition, the coating increases the wettability of the material surface by favoring osteoblast cell adhesion. Even under wear conditions, ErGOHA-modified CoCr surfaces show immunomodulatory potential, in turn promoting osteoblast mineralization processes necessary for bone repair. These results allow us to propose the physical adsorption of ErGOHA on CoCr as a recommended surface treatment for bone joint applications.

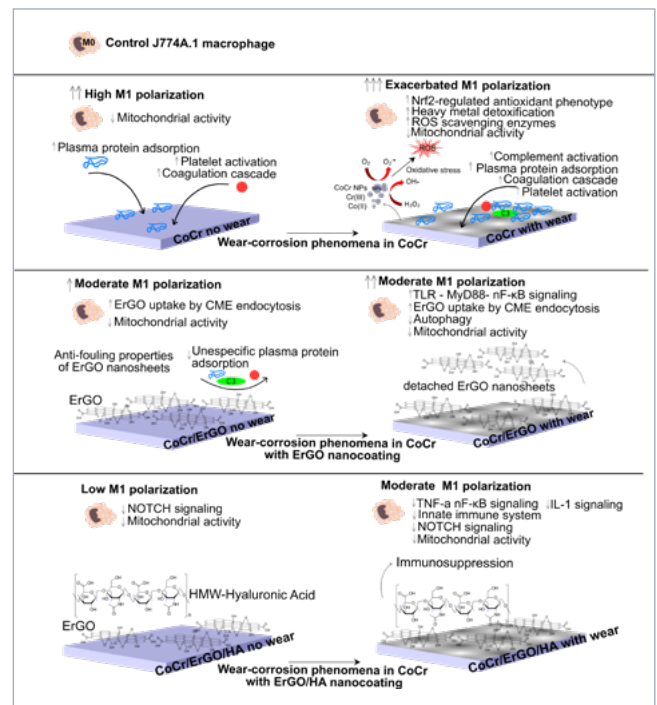


Figure 1

Macrophage response to CoCr and ErGO and ErGOHA surface modifications on CoCr. The macrophage-surface interactions for each intact material and after wear-corrosion processes are represented. Proteomic analysis of macrophages incubated with the different surfaces reveals differences in the macrophage polarization spectrum. (Sánchez-López, L. et al. *Metals* 2023, 13, 598-626, doi:10.3390/met13030598. Creative Commons)



**José Luis Barbero Esteban**

Investigador Científico

jlbarbero@cib.csic.es



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



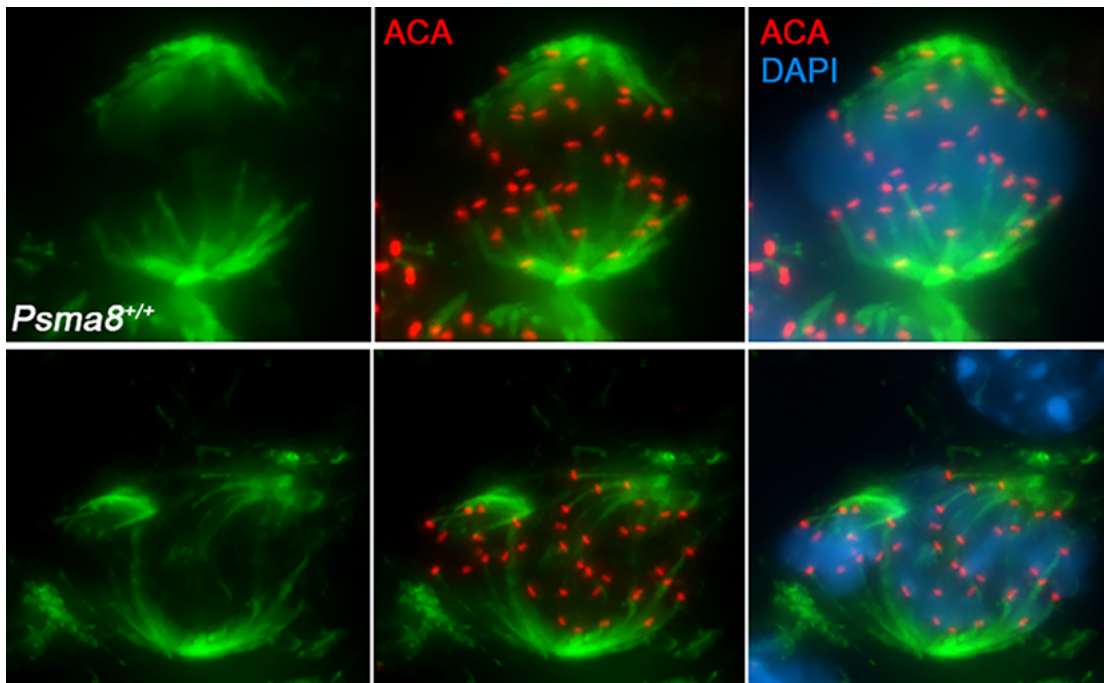
<https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/chromosomal-dynamics-meiosis>

## 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 A. M. 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 grupo del Dr. Félix Ortego (CIB Margarita Salas) se han obtenido anticuerpos contra la subunidad  $\alpha 6$  del nAChR en el cerebro de *Ceratitis capitata* resistente a spinosad.



**Figure 1**

Double immunolabeling of metaphase I cells with tubulin (green) and ACA (red) showing normal (*Psm8*<sup>+/+</sup>) and abnormal spindles (*Psm8*<sup>-/-</sup>). From Gómez-H, L. et al. 2019, PLOS Genetics, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008316>.



# Chromosomal Dynamics in Meiosis

*The cohesin complex and the control of the dynamics of said complex in chromatin are essential for correct chromosome segregation. Errors in these mechanisms lead to cell death, pathologies such as Down syndrome, tumor formation, infertility, and other cohesinopathies.*

*In collaboration with the group of A. M. 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.*

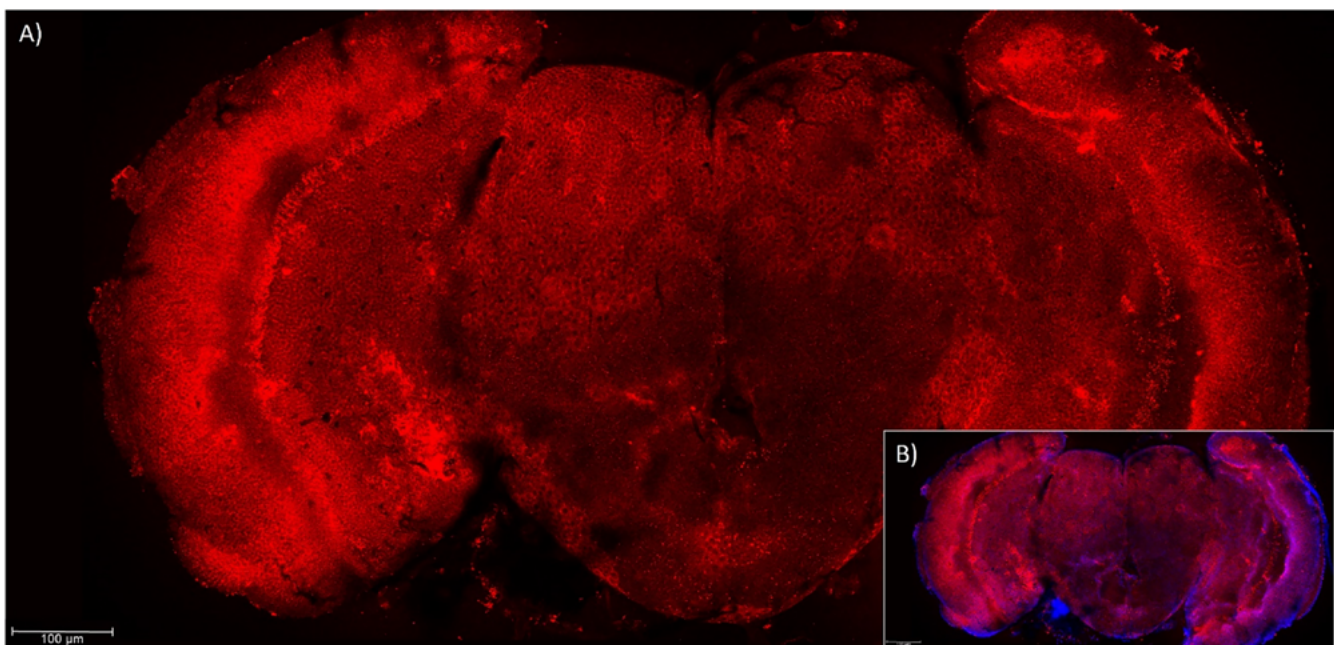
*In collaboration with the group of Dr. Félix Ortego (CIB Margarita Salas) antibodies have been obtained against the  $\alpha 6$  subunit of the nAChR in the brain of *Ceratitis capitata* resistant to *Spinosad*.*

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Guillem-Amat, A.; Casas-Tintó, S.; López-Errasquín, E.; García-Ricote, I.; Barbero, J. L.; Sánchez, L.; Ortego, F. Immunodetection of truncated forms of the  $\alpha 6$  subunit of the nAChR in the brain of spinosad resistant *ceratitis capitata* phenotypes. *Insects* 2023, 14, 857. doi:10.3390/insects14110857

## Financiación / Funding

- PID 2020-120326RB-100 (MICINN)



**Figure 2**

*Location of Cα6 (red) and the genetic material (blue, DAPI) in the brain of a wild-type individual of *Ceratitis capitata*, belonging to C strain. Both images belong to the same picture showing only Cα6 (A) or both Cα6 and DAPI simultaneously (B). Samples were analyzed by confocal microscopy (10×). From Guillem-Amat, A. et al. 2023, *Insects*, doi:10.3390/insects14110857*

**Rodrigo Bermejo Moreno**

Investigador Científico  
rodrigo.bermejo@csic.es



**MD, 2000**, Universidad Autónoma de Madrid (UAM)  
**PhD, 2003**, Universidad Autónoma de Madrid (UAM)  
**Postdoctoral, 2003-2008**, FIRC Institute of Molecular Oncology, Milan  
**Jefe de Unidad de Investigación, 2008-2011**, FIRC Institute of Molecular Oncology, Milan  
**Investigador Ramón y Cajal, 2011**, IBFG, CSIC-USAL  
**Científico Titular, 2014**, IBFG, CSIC-USAL  
**Jefe de grupo, 2011-2015**, IBFG, CSIC-USAL  
**Jefe de grupo, 2015**, CIB, CSIC  
**Investigador Científico, 2023**, CIB, CSIC



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

**Arturo Calzada García**

Científico Titular  
arturo.calzada@csic.es



**PhD, 1998**, Universidad de Salamanca  
**Postdoctoral, 1999-2003**, Centro de Investigación del Cáncer, Salamanca; Paterson Institute for Cancer Research, MRC, Manchester, UK  
**Investigador Miguel Servet, 2003-2008**, Centro de Investigación del Cáncer, Salamanca  
**Científico Titular, 2008**  
**Jefe de grupo, 2008-2018**, CNB, CSIC-UAM  
**Científico titular, 2019**, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Marta García Flores	Janis Banderas
Mohammed Al Mamun	Mónica Uceda
Esther Cabañas Morafraila	Laura de Marcos Maeso
Juan Carlos Martínez Cañas	Miguel Curto
Dolores Jurado Santiago	Esther Solano
Ana González Herrero	Samuel Vives
Marta Velasco Díez	

## 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 genómica, IA y genética molecular.

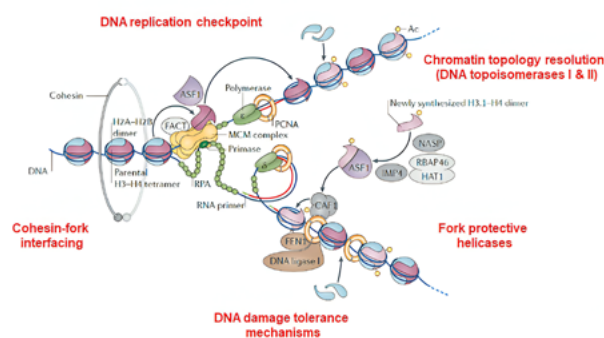
La replicación puede ser peligrosa al tener lugar en estructuras especializadas, las horquillas de replicación, intrínsecamente frágiles y propensas a sufrir recombinación anómala. La progresión de las horquillas puede quedar atascada debido a inhibición de la síntesis de ADN o interferencia con procesos 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 y está relacionada con síndromes de desarrollo.

Las líneas de investigación del grupo se centran en los mecanismos moleculares que coordinan la replicación con otros procesos metabólicos del ADN y los que protegen la integridad de horquillas cuando afrontan distintos obstáculos (Figura 1). Estamos estudiando (i) como las quinasas del *checkpoint* del ADN previenen la formación de lesiones cuando las horquillas se atascan, (ii) como helicasas del ADN especializadas gestionan las cadenas nacientes para proteger la integridad de horquillas de replicación, (iii) la coordinación de la progresión de horquillas con el establecimiento de la cohesión entre cromátidas hermanas, (iv) nuevas funciones de las topoisomerasas de ADN en la resolución de estrés topológico en el contexto de la cromatina durante la replicación (determinante para la citotoxicidad como agentes quimioterapéuticos de los que son diana), así como (v) la acción diferencial de los mecanismos de tolerancia al daño en el ADN para prevenir el bloqueo de horquillas que encuentran lesiones en el molde. Para el desarrollo de

estas líneas combinamos metodología genómica (*eSPAN*), que permite analizar la asociación diferencial de factores a las cadenas nacientes del ADN (Figura 2), con la generación de modelos de interacción de proteínas mediante *AlphaFold Multimer*.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Pellicanò, G.; Al Mamun, M.; Jurado-Santiago, D.; Villa-Hernández, S.; Yin, X.; Giannatasio, M.; Lanz, M.C.; Smolka, M. B.; Yeeles, J.; Shirahige, K.; García-Díaz, M.; Bermejo, R. Checkpoint-mediated DNA polymerase  $\epsilon$  exonuclease activity curbing counteracts resection-driven fork collapse. *Mol Cell* **2021**, 81(13), 2778-2792.e4. doi: 10.1016/j.molcel.2021.04.006.
- Tejera-Nevaldo, P.; Serrano, E.; González-Herrero, A.; Bermejo, R.; Rodríguez-González, A. Analysis of the Confidence in the Prediction of the Protein Folding by Artificial Intelligence. Practical Applications of Computational Biology and Bioinformatics, 17th International Conference (PACBB 2023), *Lecture Notes in Networks and Systems* **2023**, 743, 84-93, doi:10.1007/978-3-031-38079-2\_9.



**Figure 1**

Replication impact on genome integrity. DNA synthesis occurs at replication forks, which unwind parental chromatin generating two nascent duplexes. DNA replication is coupled to key processes (e.g., the transmission of epigenetic information and sister chromatid cohesion), and different mechanisms stabilize replication structures in the presence of damage, torsional stress or replication blocks.

**Financiación / Funding**

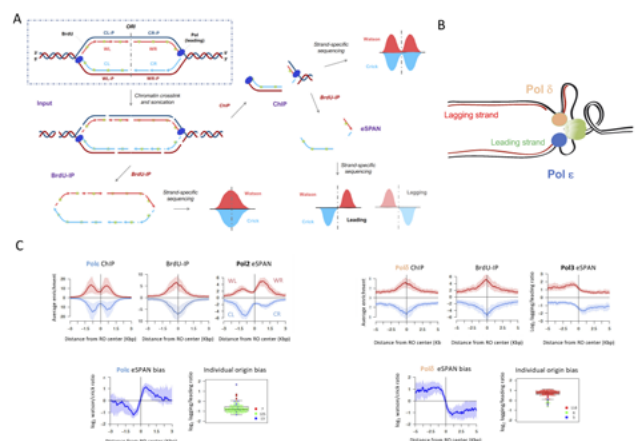
- PID2020-116003GB-I00 (MICINN)
- SA103P20 (JCyL)

# DNA Replication and Genome Integrity

**DNA replication is a fascinating process allowing organisms to grow and propagate by making 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 advanced genomics, AI, and molecular genetics.**

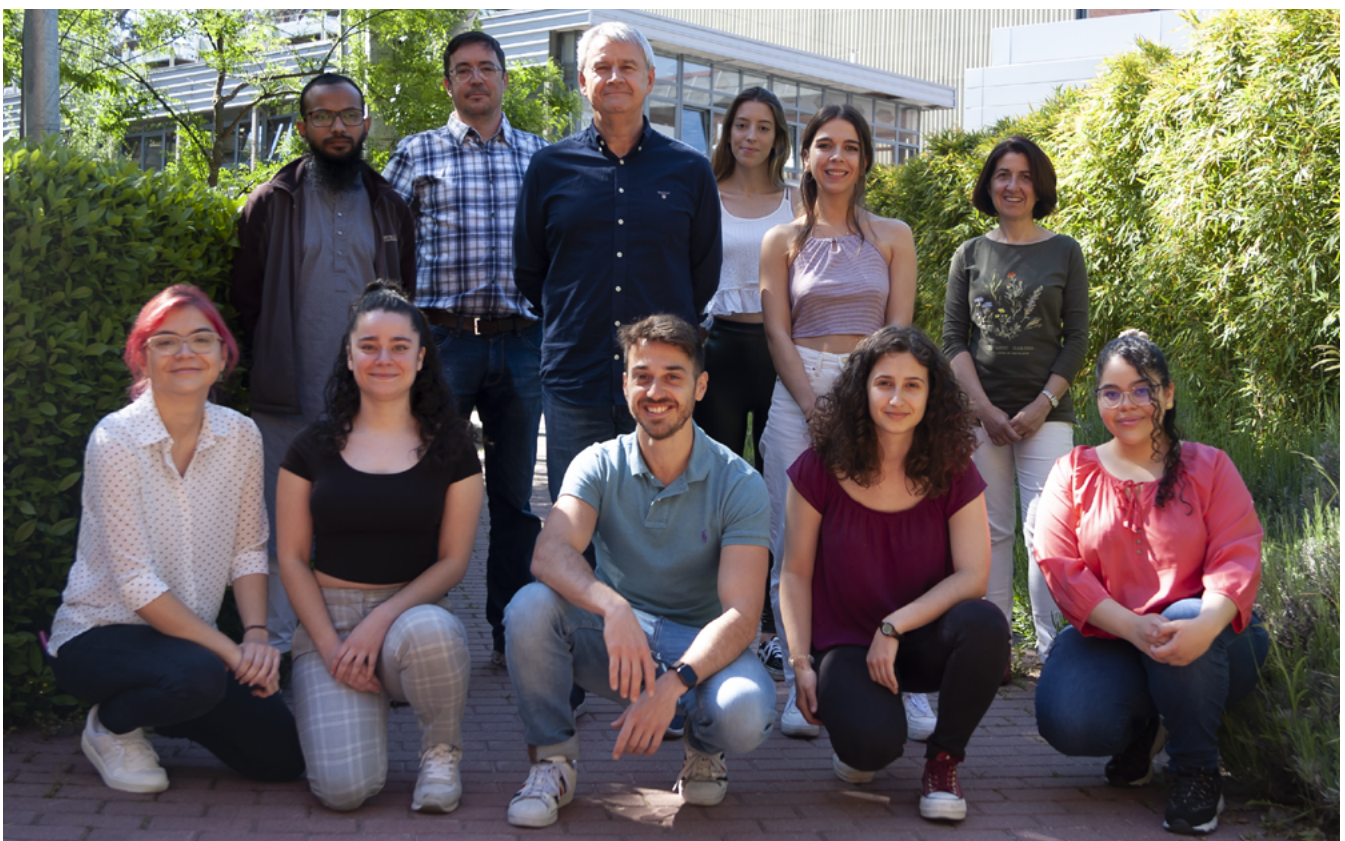
DNA replication has a dark side for the cell, as it is carried out in specialized structures (replication forks) that are intrinsically fragile and prone to engage in unscheduled recombination events. Replication fork progression can stall when DNA synthesis is inhibited or when forks interfere with 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 defective cellular response to DNA damage, gives rise to mutations and chromosomal rearrangements, hallmarks of malignant transformation, and is linked to developmental disorders.

Our research interest is focused on understanding the molecular mechanisms that coordinate DNA replication with other chromosome metabolic processes and those that protect the integrity of the fork facing different obstacles (Figure 1). We study (i) how replication checkpoint kinases counteract DNA lesion formation at stalled forks, (ii) how specialized DNA helicases handle nascent strands to protect replication fork integrity, (iii) the coordination between fork progression and sister chromatid cohesion establishment, (iv) novel functions of DNA topoisomerases in topological stress resolution at replicating chromatin (important for the cytotoxicity of anticancer agents that target these enzymes), and (v) the differential activity of DNA damage tolerance (DDT) mechanisms that prevent the blocking of forks that engage lesions on the template. We combine the eSPAN genomic methodology that, through the amplification of single-strand DNA genomic libraries, allows a detailed analysis of the differential binding to leading or lagging nascent DNA or key factors mediating these mechanisms (Figure 2), with protein interaction predictive models generated through Alphafold Multimer.



**Figure 2**

eSPAN determines nascent strand biases. (A) ChIP, BrdU-labelling of nascent strands, and ssDNA library amplification allow for determining preferential protein association to nascent DNA chains. (B) Leading and lagging strand synthesis by DNA polymerase  $\epsilon$  and  $\delta$ . (C) Averaged ChIP, BrdU-IP, strand biases, and individual origin biases in eSPAN experiments targeting Pole and Pol $\delta$  catalytic subunits.



**Miguel Ángel Vidal Caballero**

Investigador Científico

mvidal@cib.csic.es



PhD, 1984, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 1985-1989, National Institute for Medical Research, MRC, London, UK

Científico Titular, 1991, CIB, CSIC

Jefe de Grupo, 1991, CIB, CSIC

Investigador científico, 2008, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Natalia Giner Laguarda


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

## El sistema Polycomb de Regulación Epigenética

**RING1A y RING1B son subunidades del núcleo de todos los complejos represores Polycomb tipo 1 (PRC1), un módulo con actividad monoubiquitina ligasa que modifica la histona H2A. Este y otros mecanismos hacen de los parálogos RING1 elementos críticos en la funcionalidad de complejos PRC1. Nosotros estamos abordando un análisis sistemático de sus actividades en control transcripcional de progenitores hematopoyéticos mieloides normales y transformados.**

Los complejos PRC1 actúan reprimiendo vías de diferenciación en el programa temporal de desarrollo. Igualmente, en la regeneración de tejidos en el adulto que producen células maduras a partir de otras con mayor potencial de desarrollo. Así, las células sanguíneas derivan de células madre y progenitores de la médula ósea. Alteraciones en los equilibrios entre autorrenovación y diferenciación hematopoyéticas son características de los cánceres de la sangre. Comprender el funcionamiento de complejos multiproteicos, como los de reguladores de cromatina PRC1, resulta complicado por redundancia, diversidad bioquímica, relaciones epistáticas y fenómenos de adaptación. A pesar de esto, las aproximaciones de pérdida de función, son herramientas de uso común. En el compartimento hematopoyético, el producto de *Ring1B* actúa restringiendo, primero, y facilitando, después, la expansión de precursores de células diferenciadas. La inactivación concurrente de *Ring1B* y de su parólogo *Ring1A* resulta en anemia aplásica y muerte, mostrando una función esencial, mecanísticamente compleja. En el proceso de transformación leucémica mieloides, *Ring1A* parece dispensable mientras que *Ring1B* es haploinsuficiente.

Para investigar funciones transcripcionales de las proteínas RING1 en la transformación leucémica hemos generado poblaciones de progenitores expandidas *ex vivo*, como modelo de células no transformadas, para comparar con un tipo transformado, una línea establecida leucémica (AML). Variantes salvajes y deficientes en productos RING1 de los dos tipos de modelos se usan en estudios transcriptómicos y de estructura de cromatina dirigidos a la definición de potenciadores (enhancers). Los resultados sugieren que las proteínas RING1 actúan

de un modo más amplio que lo aceptado en el control de expresión de genes y en el uso de toda clase de enhancers. Está por determinar si estas funciones están relacionadas con la presencia de RING1B en un subgrupo de enhancers activos y super-enhancers.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Araujo-Abad, S.; Fuentes-Baile, M.; Rizzuti B.; Bazán, F. J.; Villamarín-Ortiz, A.; Saceda, M.; Fernández, E.; Vidal, M.; Abian, O.; Velázquez-Campoy A.; Romero, C. de J.; Neira, J. L. The intrinsically disordered, epigenetic factor RYBP binds to the citrullinating enzyme PADI4 in cancer cells. *Int J Biol Macromol* **2023**, 246, 125632, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125632.
- Maezawa, S.; Yukawa, M.; Hasegawa, K.; Sugiyama, R.; Hu, M.; Sakashita, A.; Vidal, M.; Koseki, H.; Barski, A.; DeFalco, T.; Namekawa, S. PRC1 suppresses a female gene regulatory network to ensure testicular differentiation. *Cell Death Differ* **2023**, 14(8), 501, doi: 10.1038/s41419-023-05996-6
- Hu, M.; Yeh, Y-H; Munakata, Y.; Abe, H.; Sakashita, A.; Maezawa, S.; Vidal, M.; Koseki, H.; Hunter, N.; Schultz, R.; Namekawa, S. PRC1-mediated epigenetic programming is required to generate the ovarian reserve. *Nature Commun* **2022**, 13(1), 4510, doi: 10.1038/s41467-022-31759-6.

**Financiación / Funding**

- H2020-MSCA-ITN-2018 (UE 813091)



# Epigenetic control by the Polycomb group of genes

**RING1A and RING1B are the components of the ubiquitylation module of Polycomb Repressive Complexes of type 1 (PRC1) that direct the modification of histone H2Aub. This is but one of the mechanisms by which RING1 paralogs are essential for the functionality of PRC1 complexes. Currently, we are focused on their transcriptional activities in non-transformed and transformed (leukemic) hematopoietic progenitors.**

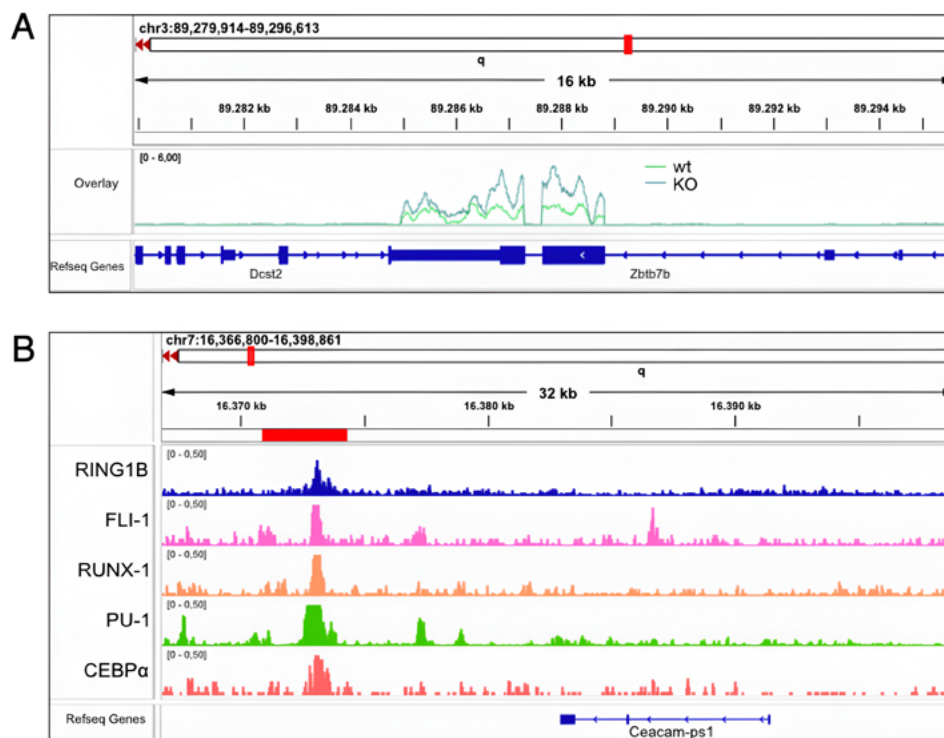
PRC1 complexes are best known for their functions as developmental regulators that act, in general, as repressors of unscheduled differentiation events. In adult stages, they play similar roles in tissue renewal, where mature differentiated cells are generated from primitive cells with higher developmental potential. In the adult hematopoietic compartment, blood cells originate from hematopoietic stem and progenitor cells in the bone marrow. Unbalancing self-renewal

and differentiation, as a consequence of mutations in primitive cells, is the hallmark of blood cancers. Insight into functions of multiprotein complexes, as chromatin regulators like PRC1, is complicated by redundancy, cell-type specific biochemical diversity, epistatic relationships, and adaptation processes. Loss-of-function approaches, a common tool used in organismal studies, show inappreciable roles for Ring1A, while Ring1B acts by restricting and promoting the expansion of different hematopoietic compartments. Combined inactivation of the two paralogs leads to bone marrow aplasia and lethality. In the process of leukemic transformation, Ring1A appears dispensable, whereas Ring1B is haploinsufficient.

To investigate transcriptional functions of RING1 proteins in leukemic transformation, we have generated ex-vivo expanded populations of progenitors, as a model of non-transformed cells, to compare with a transformed, leukemic (AML) established cell line. Wild type and RING1-depleted variants were derived for both cell models, gene expression profiles were characterized and chromatin structure was analyzed towards the definition of enhancers. The results support wider roles than anticipated for RING1 proteins in gene control and in the deployment of all classes of enhancers, in both non-transformed and transformed cells. These functions may be related, at least in part, to the presence of RING1B on subsets of enhancers and super-enhancers.

**Figure 1**

Example of transcription and enhancer of non-transformed progenitors: target dampened by RING1 proteins as seen from RNA-Seq signals (A) and co-occupancy of an active enhancer by RING1B and the indicated transcription factors (B) as seen in the Integrative Genomics Viewer (IGV).



**José Luis Rodríguez Fernández**Investigador Científico  
rodrifer@cib.csic.es

MSc, 1989

PhD, 1993, The Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel

Postdoctoral, 1994-1997, Imperial Cancer Research Fund., Londres, UK

Contrato de Reincorporación, 1997-2001, Universidad Complutense de Madrid

Contratado FIS, 2001-2003, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid

Programa Ramón y Cajal, 2003-2006, CIB, CSIC

Científico titular, 2006, CIB, CSIC

Investigador Científico, 2010, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Sofía Pérez Ramos


<https://cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/functions-chemotactic-receptors-and-immunological-synapse>

## Funciones de los receptores quimiotácticos y la sinapsis inmune en las células dendríticas

El objetivo del grupo es investigar los mecanismos moleculares usados por el receptor de quimioquinas CCR7 y la sinapsis inmune (SI) para controlar las funciones de las células dendríticas (CDs). Las líneas de investigación principales son: (1) Composición de los módulos de señalización regulados por CCR7 que gobiernan las actividades de las CDs, (2) Papel de las actividades metabólicas controladas por CCR7 en las CDs y (3) Cambios funcionales inducidos en la CDs tras la formación de la SI.

Las células dendríticas (CDs) controlan en los ganglios linfáticos (GLs) la activación de los linfocitos T (LT), un proceso clave en la respuesta inmune adaptativa. Las CDs migran a los GLs guiadas por el receptor de quimioquinas CCR7. Publicaciones de varios laboratorios, incluido el nuestro, han mostrado que CCR7, aparte de la quimiotaxis, regula otras funciones celulares de las CDs, como su supervivencia, citoarquitectura, endocitosis, glicolisis y fosforilación oxidativa. CCR7 usa módulos de señalización con un alto grado de independencia y con funciones muy selectivas para regular las funciones de las CDs. Durante el proceso de activación de los LTs, la zona de contacto estrecho entre una de estas células y una CD se denominada sinapsis inmune (SI). La SI incluye estructuras moleculares tanto en el LT como en la CD que aquí denominamos SI-LT y SI-CD, respectivamente. La mayoría de los

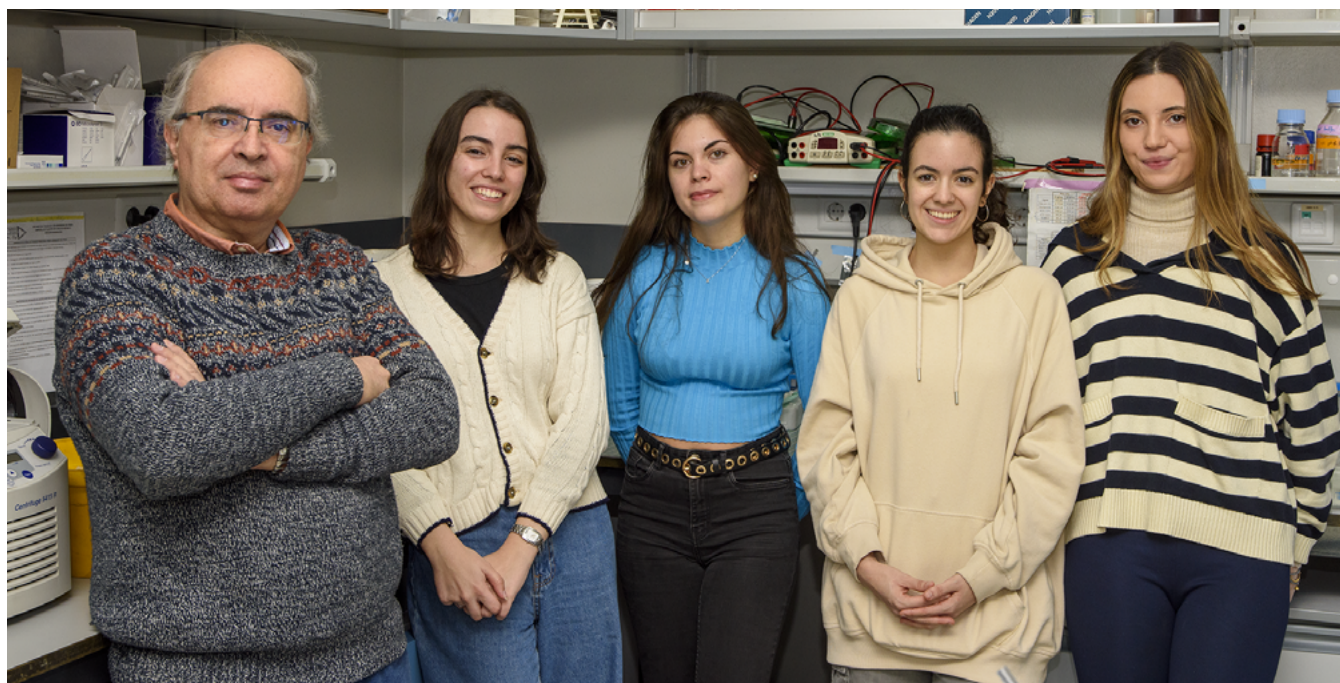
estudios acerca de la SI se han centrado en la SI-LT y la información disponible sobre la SI-CD es relativamente escasa. Trabajos previos indican que la SI-CD controla, entre otras funciones, la supervivencia y la autofagia en las CDs, aunque los mecanismos involucrados se conocen sólo parcialmente. Considerando el importante papel de las CDs en la respuesta inmune adaptativa, la información que se pueda obtener acerca de los mecanismos que usa CCR7 y la SI-CD para regular las funciones efectoras de las CDs puede ser útil para desarrollar futuras estrategias para modular la respuesta inmune adaptativa, tanto en condiciones normales como patológicas.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Rodríguez-Fernández, J. L.; Criado-García O. The Actin Cytoskeleton at the Immunological Synapse of Dendritic Cells. *Front Cell Dev Biol* 2021, 9, 679500. doi: 10.3389/fcell.2021.679500
- Rodríguez-Fernández, J. L.; Criado-García O. A meta-analysis indicates that the regulation of cell motility is a non-intrinsic function of chemoattractant receptors that is governed independently of directional sensing. *Front Immunol* 2022, 13, 1001086. doi: 10.3389/fimmu.2022.1001086

**Financiación / Funding**

- PID2020-114147RB-I00 (MICINN)



# Functions of chemotactic receptors and the immune synapse in dendritic cells

The group's main goal is to study the molecular mechanism whereby the chemokine receptor CCR7 and the immune synapse (IS) control the functions of dendritic cells (DCs). The main research lines are (1) Molecular components of the signaling modules regulated by CCR7 that govern the activities of DCs, (2) the role of CCR7-induced metabolic activities in DCs and (3) biochemical and functional changes that are induced in the DCs after they form IS.

Dendritic cells (DCs) control in the lymph nodes (LNs) the activation of T cells (TCs), a key process during the adaptive immune response. The DCs migrate to LNs guided by the chemokine receptor CCR7. Publications from several laboratories show that CCR7, in addition to chemotaxis, regulates other functions in DCs, such as their survival, cytoarchitecture, endocytosis, glycolysis, and oxidative phosphorylation. CCR7 uses highly independent and functionally biased signaling modules to regulate DC functions. During TC activation, the contact zone between these cells and the DCs is called "immune synapse" (IS). The TC and DC sides of the IS include specific molecular structures, which we call IS-TC and IS-DC, respectively. Most studies about the IS have focused on the IS-TC, and the information available on the IS-DC is sparse. Previous work indicates that the IS-DC controls survival and autophagy in DCs, although the mechanisms involved are only partially known. Given the crucial importance of the DCs in the adaptive immune response, the information that could be obtained on the molecular mechanisms used by CCR7 and the IS-DC to regulate the effector functions of DCs could be useful to develop experimental strategies to modulate the adaptive immune response under normal or pathological conditions.

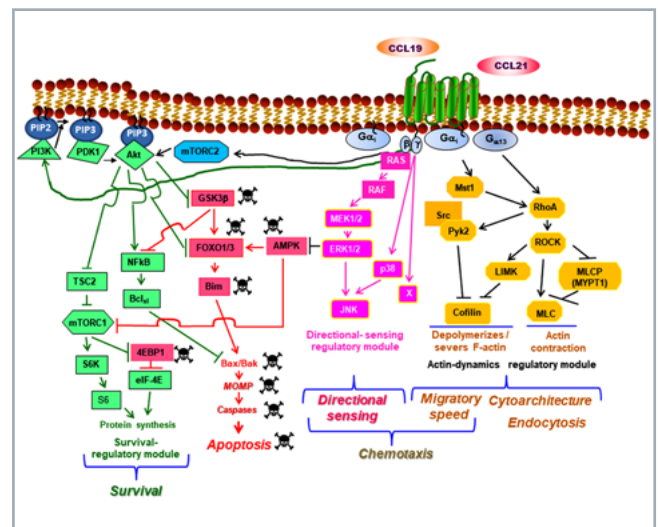
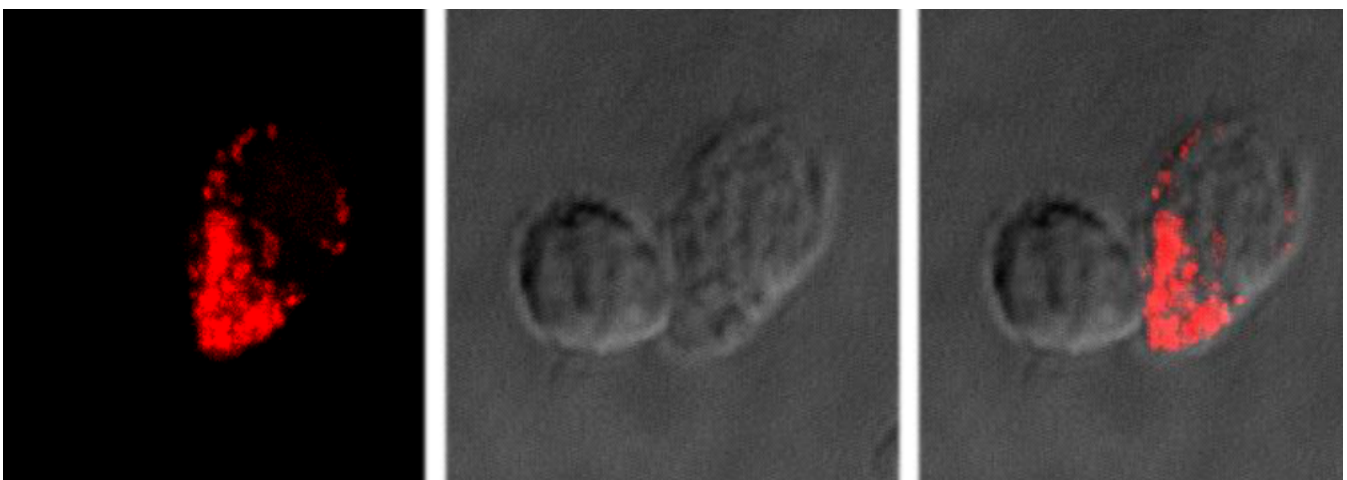


Figure 1

The chemokine receptor CCR7 controls in human dendritic cells three highly independent and functionally specialized signaling modules that govern survival, directionality, and actin-mediated cellular functions.

Figure 2

Fluorescence microscopy image showing a dendritic cell loaded with the mitochondrial marker Mitotracker (red) that forms an antigen-specific immune synapse with a T cell. Nomarski optics is also shown.



**Asier Echarri Aguirre**

Científico Titular

asier.echarri@cib.csic.es



PhD, 1997, Universidad Autónoma de Madrid  
 Postdoctoral, 1997-2004, Duke University, NC, USA  
 Ramón y Cajal, 2005-2009, CNIC, Madrid

**W** <https://www.cib.csic.es/research/cellular-and-molecular-biology/mechanobiology-organelles>

Científico Titular, 2009 (en excedencia hasta el 2022)  
 Investigador postdoctoral III, 2010-2022, CNIC, Madrid  
 Jefe de grupo, 2022, CIB, CSIC

## Mecanobiología de los orgánulos

**Nuestro laboratorio estudia cómo las señales mecánicas regulan la célula, centrándonos en la mecanobiología de los orgánulos. Alteraciones en las rutas de mecanotransducción en los orgánulos están asociadas a patologías como el cáncer y el envejecimiento acelerado. Comprender estos procesos a nivel molecular y celular es fundamental para desarrollar herramientas que reviertan estas condiciones patológicas.**

Actividades diarias, como correr, comer, oír e incluso el tacto, están mediadas por moléculas mecanosensibles. Estas moléculas pueden detectar señales mecánicas y convertirlas en cambios bioquímicos que ayudan a definir las funciones celulares. Aunque estas vías de mecanotransducción funcionan dentro de numerosos orgánulos celulares, los mecanismos moleculares exactos que permiten a los orgánulos percibir, interpretar y adaptarse a las señales mecánicas aún no se comprenden bien. Las mutaciones en las vías de mecanotransducción a menudo están asociadas con diversas patologías humanas, como el cáncer, las enfermedades cardiovasculares y el envejecimiento prematuro. Por lo tanto, comprender estas rutas es necesario para desarrollar estrategias dirigidas al diagnóstico molecular, prevención y tratamiento de estas enfermedades.

Para comprender cómo los orgánulos celulares perciben, interpretan y responden a las señales mecánicas, empleamos diversas metodologías, que incluyen cribados dirigidos, análisis bioinformáticos, el *mechanoBioID* y proteómica cuantitativa. Los cribados dirigidos nos han permitido definir cómo la membrana plasmática y el citoesqueleto de

actina se adaptan al estrés mecánico. Asimismo, a través de la proteómica cuantitativa, hemos descubierto una ruta que regula la importación de proteínas al núcleo en respuesta al estrés mecánico.

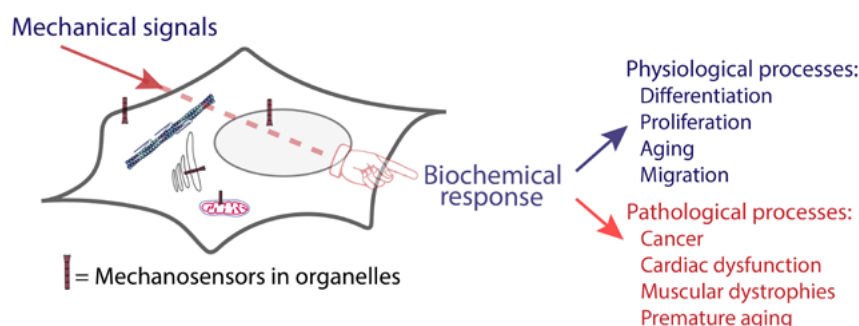
Recientemente, hemos desarrollado un enfoque bioinformático para identificar rutas de mecanotransducción en los orgánulos celulares. Al combinar este método con las metodologías mencionadas anteriormente, podemos identificar nuevas moléculas cruciales para la mecano-adaptación de la envuelta nuclear, las mitocondrias, el retículo endoplásmico o los nucléolos, entre otros. Nuestro objetivo es caracterizar nuevas vías de mecanotransducción en los orgánulos celulares y evaluar su importancia en procesos clave que regulan el envejecimiento celular, la transformación celular o la mecánica celular.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Lolo, F. N.; Walani, N.; Seemann, E.; Zalvidea, D.; Pavón, D. M.; Cojoc, G.; Zamai, M.; Viaris de Lesegno, C.; Martínez de Benito, F.; Sánchez-Álvarez, M.; Uriarte, J. J.; Echarri, A.; Jiménez-Carretero, D.; Escolano, J. C.; Sánchez, S. A.; Caiolfa, V. R.; Navajas, D.; Trepát, X.; Guck, J.; Lamaze, C.; Roca-Cusachs, P.; Kessels, M. M.; Qualmann, B.; Arroyo, M.; del Pozo, M. A. Novel Caveolin1-dolines constitute a distinct and rapid mechanoadaptation system. *Nature Cell Biol* **2023**, 25 (1), 120-133, doi:10.1038/s41556-022-01034-3.
- Echarri, A. A multisensory network drives nuclear mechanoadaptation. *Biomolecules* **2022**, 12(3), 404, doi:10.3390/biom12030404.
- García-García, M.; Sánchez-Perales, S.; Jarabo, P.; Calvo, E.; Huyton, T.; Fu, L.; Ng, S. C.; Sotodosos-Alonso, L.; Vázquez, J.; Casas-Tintó, S.; Görlich, D.; Echarri, A.\*; Del Pozo, M. A. Mechanical control of nuclear import by Importin-7 is regulated by its dominant cargo YAP. *Nature Commun* **2022**, 13(1), 1174, doi:10.1038/s41467-022-28693-y.

### Figure 1

Mechanical signals sensed by cells are transformed into biochemical actions that control multiple physio-pathological processes. Our laboratory is interested in understanding the molecular and cellular mechanisms that allow cell organelles to adapt to the different types of mechanical stress in the context of human disease.





# Mechanobiology of organelles

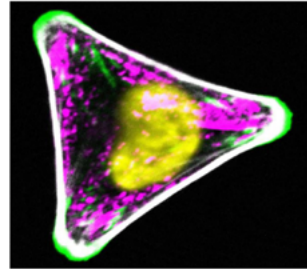
**Our laboratory is interested in understanding how mechanical signals regulate cells, specifically focusing on organelle mechanobiology. Disruptions in mechanotransduction pathways within cellular organelles are responsible for various human pathologies, such as cancer or accelerated aging. Hence, understanding these processes at a molecular and cellular level is essential to provide tools for reversing these pathological processes.**

Many of our daily activities, including walking, running, eating, digestion, hearing, and even touching, are facilitated by molecular processes involving mechanosensitive molecules. These molecules, which play a pivotal role in mechanotransduction pathways, can detect mechanical signals and convert them into biochemical changes that contribute to defining cell functions. While these mechanotransduction pathways operate within numerous cell organelles, the precise molecular mechanisms enabling organelles to perceive, interpret, and adapt to mechanical signals remain poorly understood. Mutations in mechanotransduction pathways are frequently implicated in various human pathologies, such as cancer, cardiovascular diseases, and premature aging. Therefore, understanding these pathways is crucial for developing strategies aimed at molecular diagnosis, prevention, and treatment of these conditions.

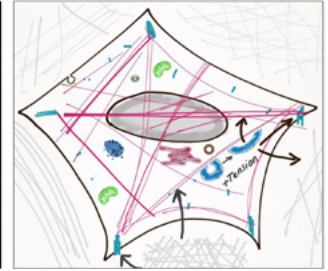
To comprehend how cell organelles sense, interpret, and respond to mechanical signals, we employ various methodologies, including targeted screenings, bioinformatic analyses, mechanoBiOD, and quantitative proteomics. Targeted screenings have allowed us to define how the plasma membrane and the actin cytoskeleton adapt to mechanical stress. Likewise, through quantitative proteomics, we have uncovered a pathway regulating nuclear import in response to mechanical stress. Recently, we developed a bioinformatic approach to identify

mechanotransduction pathways across cell organelles. By combining this method with the aforementioned approaches, we can identify new molecules crucial for mechanoadapting the nuclear envelope, mitochondria, the endoplasmic reticulum, or nucleoli, among others. Our aim is to characterize new mechanotransduction pathways in cell organelles and assess their significance in key processes governing cellular aging, cell transformation, or cell mechanics.

## Cellular plasticity to the physical environment



## Cell organelles respond to mechanical stress



**Figure 2**

Cells have a great capacity to adapt to their environment. The cell's adaptation to various types of physical environments and mechanical forces is possible due to the plasticity of its organelles, which contain molecular mechanisms, still poorly studied, that enable them to sense mechanical forces and the external physical environment.

## Financiación / Funding

- PID2022-142634NB-I00 (MICIU, 2023-2026)



**Pablo Hernández Valenzuela**

Investigador Científico  
p.hernandez@cib.csic.es



PhD, 1984, Universidad Autónoma de Madrid  
Postdoctoral, 1986-1987, Brookhaven National Laboratory, New York, USA  
Postdoctoral, 1988-1989, CIB, CSIC  
Científico Titular, 1990, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 2007, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Jesús A. Carballo  
Alicia Rodríguez Bernabé

**Dora Beatriz Krimer Smunis**

Científico Titular  
dbkrimer@cib.csic.es



PhD, 1979, Universidad Autónoma de Madrid  
Postdoctoral, 1980-1982, Brookhaven National Laboratory, New York, USA  
Associate Research, 1987-1990, Albert Einstein College of Medicine, New York, USA  
Visiting Scientist, 2010, Mount Sinai School of Medicine, New York, USA  
Científica Titular, 1986, CIB, CSIC  
Investigadora *Ad honorem*, 2021, CIB, CSIC



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

## Biología molecular de los cromosomas

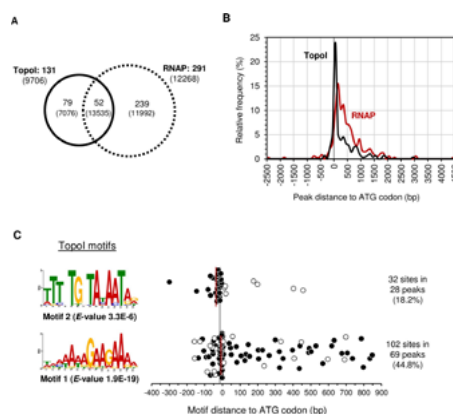
Utilizamos diferentes enfoques experimentales para estudiar el papel que juega la topología del ADN en procesos celulares básicos como la transcripción, replicación y segregación, y cómo el estrés torsional que varios de estos procesos imponen al ADN se resuelve mediante la acción de las DNA topoisomerasas, lo que permite su correcta progresión.

Una línea de trabajo es el estudio del papel que juegan las ADN topoisomerasas en la transcripción. Mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR) y ChIP-Seq, hemos encontrado que la RNA polimerasa (RNAP) y la topoisomerasa Topo I de *S. pneumoniae* interactúan físicamente entre sí *in vitro* y, además, *in vivo* muestran un alto nivel de colocalización a lo largo de todo el genoma, principalmente en promotores de genes altamente transcritos y genes en los que transcripción y replicación están enfrentadas. Proponemos que la Topo I juega un doble papel en la transcripción: colaborar en la formación y estabilidad del complejo RNAP-ADN y relajar el estrés torsional impuesto por la RNAP en el ADN durante la transcripción. El efecto de la sobreexpresión de Topo I wt y de mutantes obtenidos por mutagénesis dirigida, confirmó el importante papel que juega la Topo I en la transcripción global y su idoneidad como diana de antibióticos, siendo diana del nuevo antibiótico seconeolitsina.

Por otra parte, estudiamos el papel de las topoisomerasas durante la replicación del ADN. Examinamos la capacidad de las ADN topoisomerasas de tipo II para relajar *in vitro* el superenrollamiento en la región no replicada, necesario para el desarrollo normal de la replicación, y para resolver pre-encadenados en la región replicada dentro de moléculas parcialmente replicadas, requerida para la segregación una vez concluida la replicación. Los resultados obtenidos revelaron las funciones preferentes de estas ADN topoisomerasas y la existencia de alguna redundancia en su actividad *in vitro*. En cuanto a la Topo IV de *E. coli*, a pesar de que esta topoisomerasa de tipo II tiene una menor procesividad para resolver los cruces positivos de pre-encadenados y encadenados completamente replicados, esta actividad es de hecho su función principal *in vivo*. Esto explicaría por qué, en ausencia del Topo IV, la replicación continúa, pero los dúplex hermanos completamente replicados permanecen densamente encadenados

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Ferrándiz, M. J.; Hernández, P.; de la Campa, A. G. Genome-wide proximity between RNA polymerase and DNA topoisomerase I supports transcription in *Streptococcus pneumoniae*. *PLoS Genet* 2021, 17 (4), e1009542, doi: 10.1371/journal.pgen.1009542.
- Cebrián, J.; Martínez, V.; Hernández, P.; Krimer, D. B.; Fernández-Nestosa, M. J.; Schwartzman, J. B. Two-Dimensional gel electrophoresis to study the activity of type IIA topoisomerases on plasmid replication intermediates. *Biology* 2021, 10 (11), 1195, doi: 10.3390/biology10111195.
- Schwartzman, J. B.; Martínez, V.; Hernández, P.; Krimer, D. B.; Fernández-Nestosa, M. J. Changes in the topology of DNA replication intermediates: Important discrepancies between *in vitro* and *in vivo*. *BioEssays* 2021, 43 (5), e2000309, doi: 10.1002/bies.202000309.
- Martínez, V.; Schaerer, C.; Hernández, P.; Krimer, D. B.; Schwartzman, J. B.; Fernández-Nestosa, M. J. Distribution of torsional stress between the un-replicated and replicated regions in partially replicated molecules. *J Biomol Struct Dyn* 2021, 39(6), 2266-2277, doi: 10.1080/07391102.2020.1751294.
- García-López, M.; Hernández, P.; Megias, D.; Ferrándiz, M. J.; de la Campa, A. G. Physiologic and transcriptomic effects triggered by overexpression of wild type and mutant DNA Topoisomerase I in *Streptococcus pneumoniae*. *Int J Mol Sci* 2023, 24 (21), 15800, doi: 10.3390/ijms242115800.
- de Vasconcelos Junior, A. A.; Tirado-Vélez, J. M.; Martín-Galiano, A. J.; Megias, D.; Ferrándiz, M. J.; Hernández, P.; Amblar, M.; de la Campa, A. G. StaR is a positive regulator of Topoisomerase I activity involved in supercoiling maintenance in *Streptococcus pneumoniae*. *Int J Mol Sci* 2023, 24 (6), 5973, doi: 10.3390/ijms24065973.
- Marešová, A.; Oravcová, M.; Rodríguez-López, M.; Hradilová, M.; Zemlianski, V.; Häslner, R.; Hernández, P.; Bähler, J.; Převorovský, M. Critical importance of DNA binding for CSL protein functions in fission yeast. *J Cell Sci* 2024, jcs.261568, doi:10.1242/jcs.261568



**Figure 1**

Detection of TopoI and RNAP peaks by ChIP-seq in all *S. pneumoniae* genes and identification of binding motifs. A) Diagrams showing the number of genes containing peaks and, in parentheses, their average expression level estimated by RNA-seq. B) Position of the summits of TopoI and RNAP peaks near the ATG codon. C) Position of the indicated TopoI binding motifs identified using MEME suite.

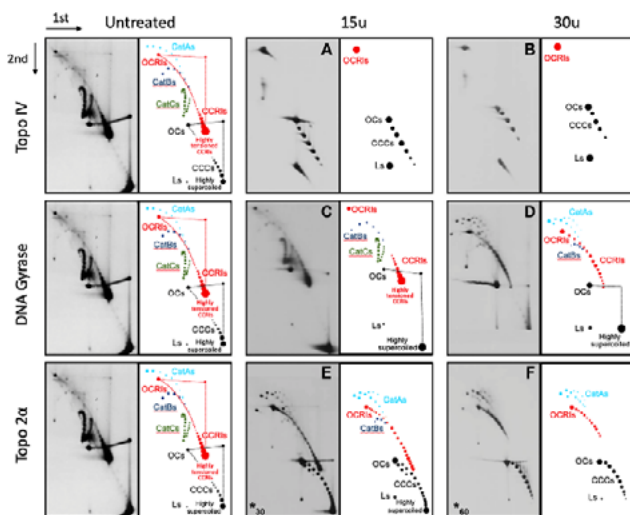
# Molecular biology of the chromosomes

We use different experimental approaches to study the role played by DNA topology on basic cellular processes such as transcription, replication, and segregation, and how the torsional stress that several of these processes impose on DNA is resolved by the action of DNA topoisomerases that allow them to progress properly.

One line of research is the study of the role that DNA topoisomerases play in transcription. Using surface plasmon resonance (SPR) and ChIP-Seq, we have found that RNA polymerase (RNAP) and the topoisomerase Topo I of *S. pneumoniae* physically interact with each other in vitro and, in addition, in vivo they show a high level of colocalization along the entire genome, mainly in promoters of highly transcribed genes and in genes in which transcription and replication collide. We propose that Topo I plays a dual role in transcription: collaborating in the formation

and stability of the RNAP-DNA complex and relaxing the torsional stress imposed on the DNA by RNAP during transcription. Concerning these findings, the effect of overexpression of wild-type Topo I and mutants obtained by directed mutagenesis shows the important role that Topo I plays in global transcription and its suitability as a target for antibiotics, being the target of the new antibiotic seconeolitsine.

We also study the role of topoisomerases during DNA replication. We examined the ability of type II DNA topoisomerases in vitro to relax supercoiling in the unreplicated region, necessary for normal replication progress, and to unlink pre-catenanes in the replicated region within partially replicated molecules, required for the segregation of fully replicated molecules. The results obtained revealed the preferential functions of these DNA topoisomerases and the existence of some redundancy in their in vitro activity. As for the *E. coli* Topo IV, despite this topoisomerase having a lower processivity to unlink the right-handed (+) crossings of pre-catenanes and fully replicated catenanes, this is indeed its main role in vivo. This would explain why in the absence of Topo IV replication goes on, but fully replicated sister duplexes remain heavily catenated.



## Financiación / Funding

- PID2021-1247380B-I00 (MICINN)
- BIO2017-82951-R (MICINN)
- PINV18-122 (Programa Prociencia, CONACYT)

## Figure 2

Immunograms and interpretative cartoons of untreated and treated forms of a replicating plasmid isolated from *E. coli* and analyzed by 2D electrophoresis. Samples were treated with the indicated units of the type II DNA topoisomerases shown to the left. *CatA*, *CatB*, *CatC*: fully replicated catenanes. *CCR1*, *OCRI*: supercoiled and relaxed replicating forms; *CCC*, *OC*: non-replicating forms; *L*: linear forms.



**Angel Luis Corbí López**

Profesor de Investigación  
acorbi@cib.csic.es



PhD, 1985, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 1985-1987, Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA

Postdoctoral, 1987-1989, Center for Blood Research, Harvard Medical School, Boston, USA

Postdoctoral, 1989-1990, Hospital de la Princesa, Madrid, España.

Adjunto, 1991-1994, Hospital de la Princesa, Madrid, España.

Científico Titular, 1994, IPBLN, CSIC

Investigador Científico, 2001, CIB, CSIC

Profesor de Investigación, 2003, CIB, CSIC

**María Colmenares Brunet**

Científica Titular  
maria.colmenares@cib.csic.es



PhD, 1996, Universidad de Barcelona

Postdoctoral, 1996-2001, Yale University School of Medicine, USA

Científico Titular, 2005, CIB, CSIC

**Miguel Ángel Vega Palacios**

Investigador Científico  
mavega@cib.csic.es



PhD, 1987, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 1987-1989, Dana Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA

Postdoctoral, 1990-1991, CBM, UAM-CSIC

Adjunto 1992-1994, Unidad de Biología Molecular, Hospital de la Princesa, Madrid, España

Científico Titular, 1994, IPBLN-CSIC

Científico Titular, 1998-2002, Hospital Ramón y Cajal

Científico Titular, 2002, CIB, CSIC

Investigador Científico, 2008, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Concepción Nieto Mazarrón

Ángeles Domínguez Soto

Arturo González de la Aleja

Miriam Simón Fuentes

Cristina Herrero Pérez

Rodolfo Israel Ríos Hernández

Alejandro del Castillo Buey



<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 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.

**Financiación / Funding**

- Fundación BBVA BBVA/COVID-19 (Fundación BBVA)
- CSIC-COVID19-152S (CSIC)
- PID2020-114323RB-100 (MINECO)
- P2022/BMD-7274 (Comunidad Autónoma de Madrid).

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Simón-Fuentes, M.; Ríos, I.; Herrero, C.; Lasala, F.; Labiod, N.; Luczkowiak, J.; Roy-Vallejo, E.; Fernández de Córdoba-Oñate, S.; Delgado-Wicke, P.; Bustos, M.; Fernández-Ruiz, E.; Colmenares, M.; Puig-Kröger, A.; Delgado, R.; Vega, M. A.; Corbí, A. L.; Domínguez-Soto, A. MAFB shapes human monocyte-derived macrophage response to SARS-CoV-2 and controls severe COVID-19 biomarker expression. *JCI Insight* 2023 Nov 2:e172862, doi: 10.1172/jci.insight.172862.
- Simón-Fuentes, M.; Herrero, C.; Acero-Riaguas, L.; Nieto, C.; Lasala, F.; Labiod, N.; Luczkowiak, J.; Alonso, B.; Delgado, R.; Colmenares, M.; Corbí, A. L.; Domínguez-Soto, A. TLR7 activation in M-CSF-dependent monocyte-derived human macrophages potentiates inflammatory responses and prompts neutrophil recruitment. *J Innate Immun* 2023, 15, 517-530, doi: 10.1159/000530249.
- de la Aleja, A. G.; Herrero, C.; Torres-Torresano, M.; Schiaffino, M. T.; Del Castillo, A.; Alonso, B.; Vega, M. A.; Puig-Kröger, A.; Castrillo, A.; Corbí, A. L. Inhibition of LXR controls the polarization of human inflammatory macrophages through upregulation of MAFB. *Cell Mol Life Sci* 2023, 80, 96. doi: 10.1007/s00018-023-04745-4.
- Ríos, I.; López-Navarro, B.; Torres-Torresano, M.; Soler Palacios, B.; Simón-Fuentes, M.; Domínguez-Soto, Á.; Muller, I. B.; Jansen, G.; Corbí, A. L.; Puig-Kröger, A. GSK3β inhibition prevents macrophage reprogramming by high-dose methotrexate. *J Innate Immun* 2022, 15, 1-14, doi: 10.1159/000526622.
- Simón-Fuentes, M.; Sánchez-Ramón, S.; Fernández-Paredes, L.; Alonso, B.; Guevara-Hoyer, K.; Vega, M. A.; Corbí, A. L.; Domínguez-Soto, A. Intravenous immunoglobulins promote an expansion of monocytic myeloid-derived suppressor cells (MDSC) in COVID patients. *J Clin Immunol* 2022, 42, 1093-1105, doi: 10.1007/s10875-022-01277-7.
- González de la Aleja, A.; Herrero, C.; Torres-Torresano, M.; de la Rosa, J. V.; Alonso, B.; Capa-Sardón, E.; Muller, I. B.; Jansen, G.; Puig-Kröger, A.; Vega, M. A.; Castrillo, A.; Corbí, A. L. Activation of LXR nuclear receptors impairs the anti-inflammatory gene and functional profile of M-CSF-Dependent human monocyte-derived macrophages. *Front Immunol* 2022, 13, 835478, doi: 10.3389/fimmu.2022.835478.
- Cuevas, V. D.; Simón-Fuentes, M.; Orta-Zavalza, E.; Samaniego, R.; Sánchez-Mateos, P.; Escribese, M.; Cimas, F. J.; Bustos, M.; Pérez-Diego, M.; Ocaña, A.; Domínguez-Soto, Á.; Vega, M. A.; Corbí, A. L. The gene signature of activated M-CSF-Primed human monocyte-derived macrophages is IL-10-dependent. *J Innate Immun* 2022, 14, 243-256, doi: 10.1159/000519305.
- Vega, M. A.; Simón-Fuentes, M.; González de la Aleja, A.; Nieto, C.; Colmenares, M.; Herrero, C.; Domínguez-Soto, Á.; Corbí, A. L. MAFB and MAF transcription factors as macrophage checkpoints for COVID-19 severity. *Front Immunol* 2020, 11, 603507, doi: 10.3389/fimmu.2020.603507.
- Estrada-Capetillo, L.; Aragonese-Fenoll, L.; Domínguez-Soto, Á.; Fuentelsaz-Romeo, S.; Nieto, C.; Simón-Fuentes, M.; Alonso, B.; Portolés, P.; Corbí, A. L.; Rojo, J. M.; Puig-Kröger, A. CD28 is expressed by macrophages with anti-inflammatory potential and limits their T-cell activating capacity. *Eur J Immunol* 2021, 51, 824-834, doi: 10.1002/eji.202048806.

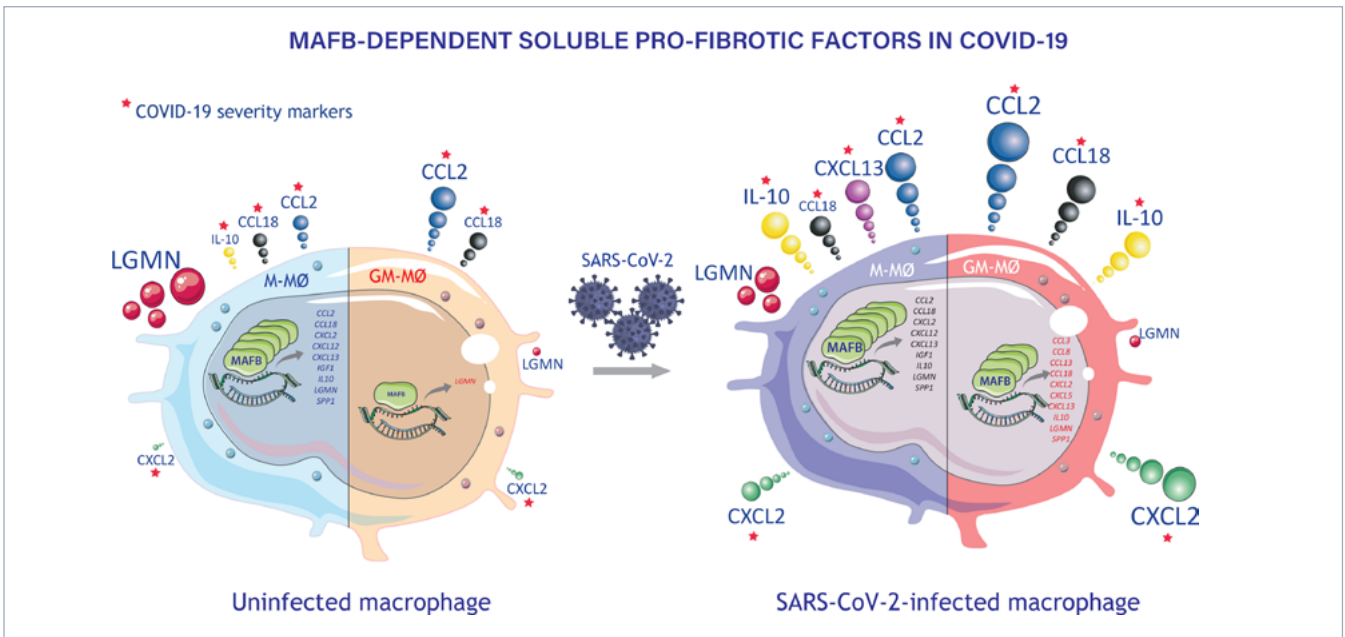


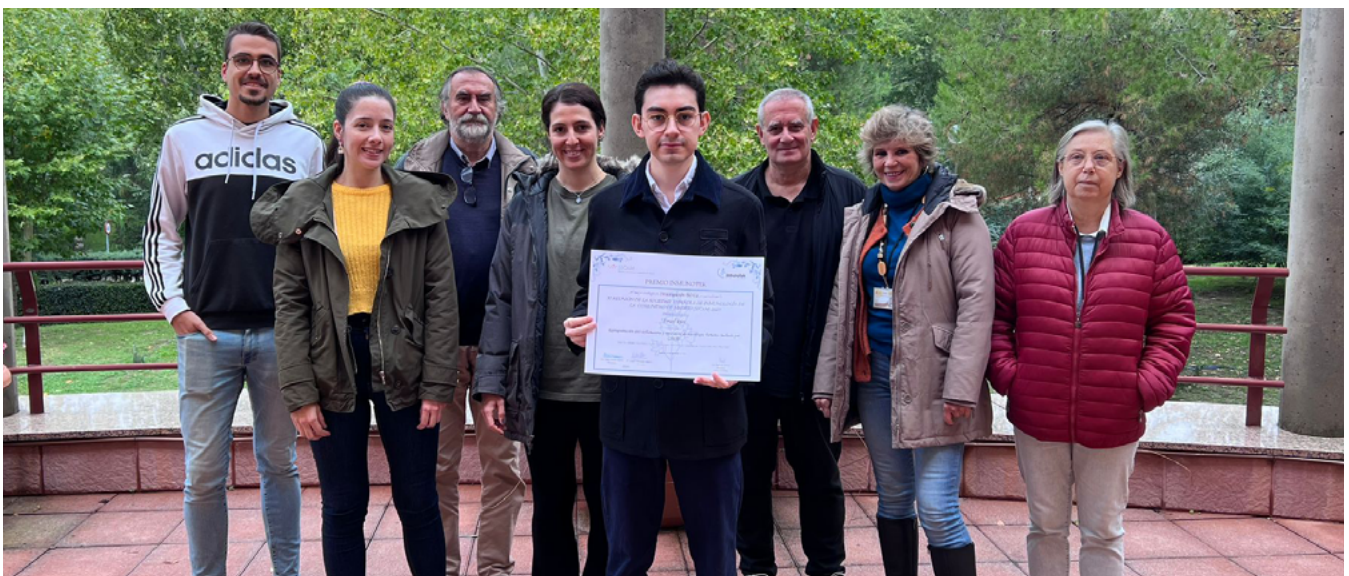
Figure 1

MAFB-dependent soluble pro-fibrotic genes and factors in human macrophages under basal conditions and upon SARS-CoV-2 infection.

## Myeloid Cell Biology

Macrophages are 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 the maintenance of tissue homeostasis in the steady state. To address these issues, our group (1) analyses 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, to design diagnostic genomic tools that will allow the definition of the inflammatory state of tissue myeloid cells under homeostatic and pathological conditions.



# Biomedicina Molecular

## Molecular Biomedicine

- 38 Enrique J. De la Rosa Cano**  
**Catalina Hernández-Sánchez**  
**Teresa Suárez**  
**Consuelo González Manchón**  
**Jesús del Mazo**  
Laboratorio 3D: Desarrollo, Diferenciación y Degeneración  
*3D Lab: Development, Differentiation & Degeneration*
- 40 Javier Redondo Muñoz**  
Biomecánica nuclear y epigenética durante la migración celular  
*Biomechanics of the nucleus and epigenetics during cell migration*
- 42 Ángeles Martín Requero**  
**Matilde Sánchez Ayuso**  
Bases celulares y moleculares de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias  
*Cellular and molecular basis of Alzheimer's disease and other dementias*
- 44 Carmelo Bernabéu Quirante**  
Biología celular y molecular del endotelio vascular  
*Cellular and molecular biology of the vascular endothelium*
- 46 Ana O'Loghlen**  
Epigenética y Senescencia Celular  
*Epigenetics and Cellular Senescence*
- 48 Eduardo Oliver**  
Farmacología Experimental y Nuevas Dianas en Desórdenes Cardiopulmonares  
*Experimental Pharmacology and New Targets in Cardiopulmonary Disorders*
- 50 Joaquín Teixido Calvo**  
Migración y diferenciación de células inmunes, y resistencia a terapias en cáncer  
*Immune cell migration and differentiation, and therapy resistance in cancer*
- 52 Faustino Mollinedo García**  
Muerte Celular y Terapia del Cáncer  
*Cell Death and Cancer Therapy*
- 54 Alicia García Arroyo**  
Metaloproteinasas de Matriz en Angiogénesis e Inflamación  
*Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Inflammation*
- 56 José Ignacio Casal Álvarez**  
Mecanismos de metástasis tumoral  
*Mechanisms of cancer metastasis*
- 58 Aurora Gómez-Durán**  
Mitofenómica  
*MitoPhenomics*
- 60 Santiago Rodríguez de Córdoba**  
Patología Molecular / Genética del Complemento  
*Molecular Pathology / Complement Genetics*
- 62 José María Rojo Hernández**  
Activación de Linfocitos T  
*T Lymphocyte Activation*
- 64 Estela Area Gómez**  
Papel de las membranas del ER asociadas a mitocondria (MAM) en la homeostasis celular  
*The role of mitochondria-associated ER membranes (MAM) in cellular homeostasis*
- 66 Luisa-María Botella Cubells**  
Investigación traslacional en enfermedades raras con implicación vascular: del laboratorio a los pacientes  
*Translational research in rare diseases with vascular involvement: from the lab to the patients.*
- 68 Ignacio Benedicto Español**  
Envejecimiento Vascular  
*Vascular Ageing*
- 70 María Montoya González**  
Inmunología Viral: Terapias y Vacunas  
*Viral Immunology: Therapies and Vaccines*

# Overview

El Departamento de Biomedicina Molecular se dedica a comprender los procesos fisiológicos fundamentales en patologías humanas y su aplicación clínica. Específicamente, abordamos cuestiones relacionadas con los mecanismos moleculares y celulares que subyacen al cáncer, la inflamación, la neurodegeneración y la senescencia, utilizando tecnologías de vanguardia y enfoques *in vivo*. El departamento alberga grupos de investigación multidisciplinarios centrados en comprender las alteraciones en la señalización celular implicadas en la quimiorresistencia y la metástasis para desvelar nuevas dianas terapéuticas; explorar la regulación de la respuesta inflamatoria en el contexto de patologías autoinmunes; investigar las interacciones virus-célula en infecciones agudas y crónicas; dilucidar las alteraciones metabólicas que se producen en las primeras etapas de enfermedad neurodegenerativa para desarrollar nuevas herramientas diagnósticas; analizar el papel y la contribución de los defectos mitocondriales en el contexto de las enfermedades raras, entre otros. Nuestros equipos de investigación participan activamente en múltiples proyectos nacionales e internacionales, así como en iniciativas multicéntricas, como redes CIBER y plataformas interdisciplinarias, lo que refleja nuestro compromiso con la investigación traslacional colaborativa

*The Department of Molecular Biomedicine is dedicated to understanding fundamental physiological processes and translating them into clinics. Specifically, we tackle questions related to the molecular and cellular mechanism(s) underlying cancer, inflammation, neurodegeneration, and senescence using state-of-the-art technologies and in vivo approaches. The department houses multidisciplinary research groups focused on understanding the alterations in cellular signaling involved in chemoresistance and metastasis to unveil novel therapeutic targets; exploring the regulation of the inflammatory response in the context of autoimmune pathologies; investigating virus-cell interactions in acute and chronic infections; elucidating the metabolic alterations that occur in early stages of neurodegenerative disease to develop new diagnostic tools; analyzing the role and contribution of mitochondria defects in the context of rare diseases, among others. Our research teams actively participate in multiple national and international projects and multicenter initiatives, such as CIBER networks and interdisciplinary platforms, reflecting our common commitment to collaborative translational research.*

**Alicia G. Arroyo, Head of the Department until October 2023**

**Estela Area, Head of the Department from November 2023**

**Enrique J. de la Rosa Cano**

Investigador Científico  
ejdelarosa@cib.csic.es



PhD, 1984, Universidad Autónoma de Madrid y CBM, CSIC  
 Postdoctoral, 1985, CBM, CSIC; 1986-1989, Instituto Max-Planck de Biología del Desarrollo (Tübingen, Alemania); 1989-1991, Instituto Cajal, CSIC; 1991-1993, CIB, CSIC  
 Visiting Scientist, 1993, NIH, Bethesda, USA; 2003, Johns Hopkins University, Baltimore, USA; 2013, McGill University, Montreal, Canadá  
 Científico Titular, 1993, CIB, CSIC  
 Investigador Científico, 2002, CIB, CSIC  
 Director, 2019-2023, CIB, CSIC

**Catalina Hernández-Sánchez**

Científica Titular  
chernandez@cib.csic.es



PhD, 1993, Universidad Autónoma de Madrid e Instituto Cajal-CSIC  
 Postdoctoral, 1993-1994, CIB, CSIC; 1994-1998, Visiting Fellow, 1999-2000, Visiting Associate, National Institutes of Health, USA; 2000-2002, 2002-2007, Investigadora Ramón y Cajal, CIB, CSIC  
 Visiting Scientist, 2011, St George's Hospital, London, UK  
 Científica Titular, 2007, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Mariano Redondo  
 Patricia Vázquez  
 Héctor Zamora Carrera  
 Alonso Sánchez Cruz  
 Belén Moreno Jiménez  
 Mateo Pazo González  
 Ana Fernández Escribano  
 Rubén Prieto Paredes

Cayetana Murillo Gómez  
 Laura Ramírez Martínez  
 Miriam Ropero Ramos  
 Alberto M. Hernández Pinto  
 Cristina Peláez Gutiérrez  
 Antonio Quílez Álvarez  
 Rubén Míguez Labandeira

<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/3d-lab-development-differentiation-degeneration>

**Teresa Suárez**

Científica Titular  
teresa@cib.csic.es



PhD, 1986, Universidad de Salamanca  
 Postdoctoral, 1987-1993, Institut de Génétique et Microbiologie, CNRS-Université Paris XI, Orsay, Francia; 1994-1995, CIB, CSIC  
 Estancia sabática, 2003-2004, Laboratory of Molecular Biology-MRC, Cambridge, UK  
 Científica Titular, 1995, CIB, CSIC  
 Vicedirectora, 2015-2018, CIB, CSIC  
 Vocal de la Comisión de Mujeres y Ciencia del CSIC desde 2016

**Consuelo González Manchón**

Científica Titular  
cgmanchon@cib.csic.es



MD, 1983, Universidad de Extremadura  
 PhD, 1987, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1988-1990, Salk Institute, La Jolla (CA, USA); 1991-1998, CIB, CSIC  
 Científica Titular, 1999, CIB, CSIC

**Jesús del Mazo**

Investigador científico *Ad honorem*  
jdelmazo@cib.csic.es



PhD, 1978, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1979-1981, CSIC  
 Científico Titular, 1981, CIB, CSIC  
 Research Associate, 1987-1989, California Institute of Technology (CALTECH), Pasadena, USA  
 Investigador Científico, 2006, CIB, CSIC  
 Profesor Honorífico, 2006, Universidad de Valparaíso, Chile  
 Nombrado por la Comisión Europea "Scientific Advisors on Risk Assessment and Public Health" (Commission Decision 2008/721/EC)  
 Miembro del CONTAM Panel, European Food Safety Authority (EFSA), 2018-presente

## Laboratorio 3D: Desarrollo, Diferenciación y Degeneración

Investigamos la regulación de procesos celulares básicos, como la proliferación, diferenciación y apoptosis, en condiciones fisiológicas y patológicas, buscando aplicar el conocimiento adquirido para resolver necesidades médicas y tecnológicas. En colaboración interdisciplinar, desarrollamos microdispositivos nanoestructurados y nanopartículas para el análisis de parámetros celulares y tisulares, y la interferencia con funciones específicas.

La Retinosis Pigmentaria (RP) es una enfermedad neurodegenerativa de la retina, no prevenible ni tratable. La comprensión de cómo mutaciones en más de 80 genes causantes de la RP convergen en ceguera constituye un desafío científico de interés. Más aún, es necesario identificar alteraciones moleculares y celulares que definen dianas terapéuticas para buscar un tratamiento. Nos centramos en el proceso de la inmunidad innata, pues la disfunción y muerte de los fotorreceptores cursan con neuroinflamación. Estudiamos los receptores *Toll-like* (TLR) y sus posibles ligandos, como las alarminas. Asimismo, profundizamos en la acción de la proinsulina e investigamos el PIF (*Prelimplantation Factor*), que regula la activación de las células del sistema inmunitario.

Llevamos a cabo pruebas de concepto en modelos de RP en ratón, evaluando la preservación de la estructura retiniana y la función visual en respuesta a tratamientos experimentales.

Además, en colaboración con grupos de físicos y químicos, desarrollamos microdispositivos nanoestructurados de silicio y partículas nanotérmicas para la determinación de parámetros intracelulares y tisulares en diferentes sistemas modelo: líneas celulares humanas y de ratón, *Dictyostelium*, cultivos primarios y retina de ratón. Hemos demostrado su biocompatibilidad y su internalización celular. Este nuevo tipo de micro/nanoplateformas intracelulares tecnológicas permite estudiar e interferir con las células, detectando parámetros físicos como la presión, la fuerza o la temperatura. Perseguimos, mediante su funcionalización selectiva, conseguir la liberación controlada de fármacos, su uso como antenas al combinarse con diferentes materiales piezoeléctricos, o desarrollar fármacos mecánicos fabricándose en formas y tamaños apropiados. Nuestro trabajo sobre la RP y el diseño de sofisticados dispositivos contribuirán a diseñar nuevas herramientas diagnósticas y terapéuticas para combatir enfermedades.

**Financiación / Funding**

- CPP2022-009867 (MICINN, 2023-2026)
- PID2022-1389170B-I00 (MICINN, 2023-2026)
- PDC2022-133960-I00 (MICINN, 2022-2024)
- PID2020-115663GB-C33 (MICINN, 2021-2024)
- PID2019-109506RB-I00 (MICINN, 2020-2023)
- CRSII5\_189967/1 (Swiss National Science Foundation, 2020-2024)
- BFU2017-87095-R (MICINN, 2018-2021)



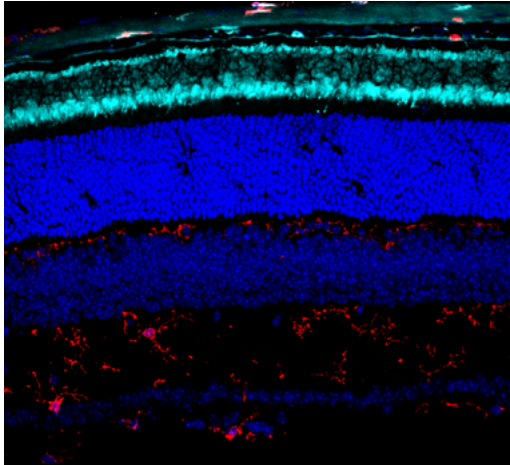


Figure 1

Wild-type mouse retina: The various layers are observed in an alternating pattern, with the staining of rod-type photoreceptors (cyan), cell nuclei (blue), and the distribution of retinal microglial cells (red).

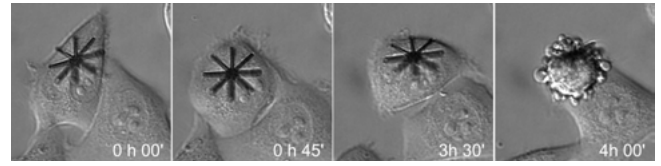


Figure 2

Effect of a mechanical drug: Frames from a video captured at different time points during an in vivo treatment, depicting the impact of the internalization of a mechanical drug on a cultured Hela cell. Reproduced from Arjona et al. 2022.

## 3D Lab: Development, Differentiation & Degeneration

We study the regulation of basic cellular processes, such as proliferation, differentiation and apoptosis, under both physiological and pathological conditions, aiming to apply the acquired knowledge to address medical and technological needs. In interdisciplinary collaboration, we develop nanostructured microdevices and nanoparticles for the analysis of cellular and tissue parameters, and for selectively interfering with specific functions.

Retinitis Pigmentosa (RP) is a neurodegenerative disease of the retina, neither preventable nor treatable. Understanding how mutations in over 80 RP-causing genes converge to cause blindness poses a scientific challenge of interest. Furthermore, it is essential to identify molecular and cellular alterations that define therapeutic targets for potential treatments. We focus on the innate immunity process, as dysfunction and death of photoreceptors are associated with neuroinflammation. We investigate Toll-like receptors (TLR) and their potential ligands, such as alarmins. Additionally, we further characterize the action of proinsulin and explore Preimplantation Factor (PIF), which regulates the activation of immune system cells. We conduct proof-of-concept tests in mouse models of RP, assessing the preservation of retinal structure and visual function in response to experimental treatments.

Additionally, in collaboration with groups of physicists and chemists, we develop nanostructured silicon microdevices and nanothermal particles for determining intracellular and tissue parameters in various model systems: human and mouse cell lines, Dictyostelium, primary cultures, and mouse retina. We have demonstrated their biocompatibility and cellular internalization. This novel type of intracellular technological micro/nanoplatforms allows us to study and interfere with cells, detecting physical parameters such as pressure, force, or temperature. Through selective functionalization, we aim to achieve controlled drug release, utilize them as antennas when combined with different piezoelectric materials, or develop mechanical drugs in appropriate forms and sizes. We believe that both our studies on RP and these devices can contribute to designing new diagnostic and therapeutic tools to combat diseases.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Coro, A.; Herrero Ruiz, A.; Pazo-González, M.; Sánchez-Cruz, A.; Busch, T.; Hernández Medel, A.; Ximenes, E. C.; Ortgies, D. H.; López-Méndez, R.; Espinosa, A.; Jiménez de Aberasturi, D.; Jaque, D.; Fernández Monsalve, N.; de la Rosa, E. J.; Hernández-Sánchez, C.; Martín Rodríguez, E.; H Juárez, B. Ag2S biocompatible ensembles as dual oct contrast agents and nir ocular imaging probes. *Small* **2023**, *19*, e2305026, doi.org/10.1002/smll.202305026
- Arjona, M. I.; Duch, M.; Hernández-Pinto, A.; Vázquez, P.; Aguil, J. P.; Gómez-Martínez, R.; Redondo-Horcajo, M.; Amirthaling, E.; Pérez-García, L.; Suárez, T.; Plaza, J. A. Intracellular mechanical drugs induce cell-cycle altering and cell death. *Adv Mater* **2022**, *34*, e2109581, doi.org/10.1002/adma.202109581
- Sirés, A.; Pazo-González, M.; López-Soriano, J.; Méndez, A.; de la Rosa, E. J.; de la Villa, P.; Comella, J. X.; Hernández-Sánchez, C.; Solé, M. Intracellular mechanical drugs induce cell-cycle altering and cell death. *Adv Mater* **2022**, *34*, e2109581, doi.org/10.1002/adma.202109581
- Álvarez-Lindo, N.; Suárez, T.; de la Rosa, E. J. Exploring the origin and physiological significance of DNA double strand breaks in the developing neuroretina. *Int J Mol Sci* **2022**, *23*, 6449, doi.org/10.3390/ijms23126449
- Sánchez-Cruz, A.; Hernández-Pinto, A.; Lillo, C.; Isiegas, C.; Marchena, M.; Lizasoain, I.; Bosch, F.; de la Villa, P.; Hernández-Sánchez, C.; de la Rosa, E. J. Insulin receptor activation by proinsulin preserves synapses and vision in retinitis pigmentosa. *Cell Death Dis* **2022**, *13*, 383, doi.org/10.1038/s41419-022-04839-0
- Barreñada, O.; Larriba, E.; Fernández-Pérez, D.; Briño-Enriquez, M. A.; del Mazo, J. Unraveling mitochondrial piRNAs in mouse embryonic gonadal cells. *Sci Rep* **2022**, *10*, 18036, doi.org/10.1038/s41598-022-14414-4.
- Arjona, M. I.; González-Manchón, C.; Durán, S.; Duch, M.; Del Real, R. P.; Kadambi, A.; Aguil, J. P.; Redondo-Horcajo, M.; Pérez-García, L.; Gómez, E.; Suárez, T.; Plaza, J. A. Integrating magnetic capabilities to intracellular chips for cell trapping. *Sci Rep* **2021**, *16*, 18495, doi.org/10.1038/s41598-021-98095-5.
- Sánchez-Cruz, A.; Méndez, A. C.; Lizasoain, I.; de la Villa, P.; de la Rosa, E. J.; Hernández-Sánchez, C. Tlr2 gene deletion delays retinal degeneration in two genetically distinct mouse models of retinitis pigmentosa. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, 7815, doi.org/10.3390/ijms22157815.
- Benítez-Fernández, R.; Melero-Jerez, C.; Gil, C.; de la Rosa, E. J.; Martínez, A.; de Castro, Dynamics of central remyelination and treatment evolution in a model of multiple sclerosis with optic coherence tomography. *Int J Mol Sci* **2021**, *22*, 2440, doi.org/10.3390/ijms22052440 F.

### Patentes / Patents

- Catalina Hernández Sánchez y Enrique J. de la Rosa Cano. "Peptides for the Treatment of Retinitis Pigmentosa" PCT/EP2023/057494



**Javier Redondo Muñoz**

Científico Titular

jasanz@cib.csic.es



PhD, 2010, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 2010-2013, CNB, CSIC

Wellcome Trust Fellow, 2014-2016, Cell Matrix Centre, University of Manchester, UK

John Goldman Fellow, 2016-2017, University of Manchester, UK

Ramón y Cajal, 2017-2020, Universidad Complutense de Madrid

Científico Titular, 2020, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Elena Madrazo Béjar

Raquel González Novo

Gracia Peralta Carrero

María del Pilar Cruz Rodríguez


<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/biomechanics-nucleus-and-epigenetics-during-cell-migration>

## Biomecánica nuclear y epigenética durante la migración celular

Durante la progresión tumoral, las células cancerosas tienen que atravesar múltiples barreras físicas para invadir otros tejidos. En este proceso de invasión, el núcleo debe sufrir cambios para permitir que la célula se deforme y atraviese los diferentes ambientes extracelulares. Nuestro grupo se centra en estudiar los mecanismos moleculares y biofísicos que regulan el núcleo de células de leucemia durante su migración.

En estos últimos años el grupo se ha centrado en investigar el papel de señales extracelulares para promover cambios epigenómicos y con capacidad para modificar la migración celular. Dentro de este contexto, nos hemos centrado en conocer cómo la quimioquina CXCL12 induce la metilación de la histona H3 en el residuo K9 de células de leucemia linfoblástica aguda de tipo T (pero no en las de tipo B). Además, hemos identificado cómo este cambio afecta a la estructura global de la cromatina, a la deformación del núcleo celular y a la capacidad invasiva de las células tumorales *in vitro* e *in vivo* (Madrazo *et al.*, *Oncogene* 2022).

Además, nos hemos centrado en estudiar cómo el ambiente en 3D de la matriz extracelular provoca otros cambios en el núcleo de las células. De este modo, en un primer estudio (González-Novo *et al.*, *Eur J Cell Biol* 2023) hemos comprobado cómo células de leucemia aumentan los niveles de H3K4me3 en respuesta a un ambiente en 3D. Mediante técnicas biofísicas y genómicas hemos estudiado el perfil transcripcional y mecanobiológico de estas células, así como confirmado que el bloqueo de esta metilación también reduce la capacidad de infiltración de las células de leucemia en modelos animales. Además, hemos definido cómo un estrés mecánico es capaz de promover cambios permanentes en el núcleo celular, favoreciendo una mayor heterogeneidad genómica, aumentando el daño basal en el ADN celular y alterando funciones celulares relacionadas con supervivencia y migración celular (de Lope Planelles *et al.*, *Cell Mol Life Sci* 2023).

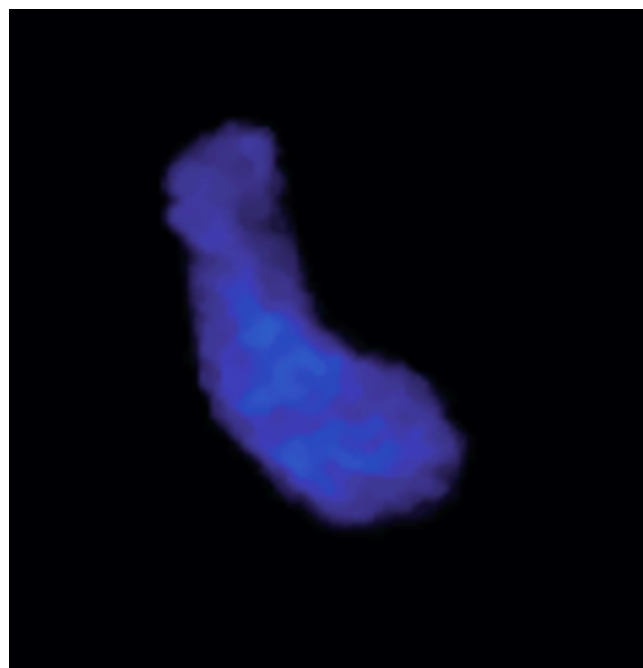
Por último, estamos investigando cómo el ambiente en 3D también es capaz de promover cambios permanentes en el núcleo de células de leucemia, así como el posible papel de proteínas del esqueleto celular en estos cambios. Todo ello nos permitirá entender mejor los mecanismos moleculares subyacentes entre el núcleo y la migración celular con el objetivo de desarrollar posibles terapias que frenen la diseminación de células de leucemia.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- de Lope-Planelles, A.; González-Novo, R.; Madrazo, E.; Peralta-Carrero, G.; Cruz Rodríguez, M. P.; Zamora-Carreras, H.; Torrano, V.; López-Menéndez, H.; Roda-Navarro, P.; Monroy, F.; Redondo-Muñoz, J. Mechanical stress confers nuclear and functional changes in derived leukemia cells from persistent confined migration. *Cell Mol Life Sci* **2023**, 80, 316, doi:10.1007/s00018-023-04968-5.
- González-Novo, R.; de Lope-Planelles, A.; Cruz Rodríguez, M. P.; González-Murillo, A.; Madrazo, E.; Acitores, D.; García de Lacoba, M.; Ramírez, M.; Redondo-Muñoz, J. 3D environment controls H3K4 methylation and the mechanical response of the nucleus in acute lymphoblastic leukemia cells. *Eur J Cell Biol* **2023**, 102, 151343, doi:10.1016/j.ejcb.2023.151343.
- Madrazo, E.; González-Novo, R.; Ortiz-Placín, C.; García de Lacoba, M.; González-Murillo, A.; Ramírez, M.; Redondo-Muñoz, J. Fast H3K9 methylation promoted by CXCL12 contributes to nuclear changes and invasiveness of T-acute lymphoblastic leukemia cells. *Oncogene* **2022**, 41, 1324-1336, doi:10.1038/s41388-021-02168-8.

**Figure 1**

Nuclear deformability of a leukemia cell migrating across the extracellular matrix.



## Biomechanics of the nucleus and epigenetics during cell migration

*During tumor progression, cancer cells have to cross multiple physical barriers to invade other tissues. In this invasion process, the nucleus must change to allow the cell to deform and traverse different extracellular environments. Our group focuses on studying the molecular and biophysical mechanisms that regulate the nucleus of leukemia cells during their migration.*

*In recent years, our group has focused on investigating the role of extracellular signals in promoting epigenetic changes that can modify cell migration. Specifically, we have studied how the chemokine CXCL12 induces histone H3 lysine 9 trimethylation (H3K9me3) in T-cell acute lymphoblastic leukemia cells, but not in B-cells. We have also demonstrated that this modification affects chromatin structure, nuclear deformation, and the invasive capacity of cancer cells both in vitro and in vivo (Madrado et al., Oncogene 2022).*

*In addition, we have explored how the three-dimensional (3D) extracellular matrix environment influences changes in the nucleus of cancer cells. In a previous study (González-Novo et al., Eur J Cell Biol 2023), we showed that leukemia cells increase levels of H3K4me3 in response to a 3D environment. Using biochemical and genomic techniques, we analyzed the transcriptional and mechanobiological profile of these cells and confirmed that blocking this methylation reduces their ability to invade animal models. Furthermore, we have found that mechanical stress caused by cell migration is capable of promoting permanent changes in the nucleus, leading to increased genomic instability, DNA damage, and alterations in cellular functions related to survival and migration (de Lope Planelles et al., Cell Mol Life Sci 2023).*

*Finally, we are investigating whether the 3D environment could promote permanent changes in the nucleus of leukemia cells, as well as the potential role of cytoskeleton proteins in these changes. This will allow us to better understand the underlying molecular mechanisms between the nucleus and cell migration, with the ultimate goal of developing therapies that block the spread of leukemia cells.*



**Figure 2**

*Nuclear changes induced by mechanical stress. Nuclear lamina (labelled in red) indicates multiple invaginations.*

### Financiación / Funding

- SAF2017-86327-R (MICINN, 2017-2021)
- Beca Leonardo 2020 (Fundación BBVA, 2020-2021)
- PEJ-2020-AI/BMD-19152 (Comunidad de Madrid, 2021-2022)
- PID2020-118525RB-I00. (MICINN, 2021-2024)



## 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

### Otros miembros / Other members

Gracia Porras Franco

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

## Matilde Sánchez Ayuso

Investigadora científica *Ad honorem*  
msayuso@cib.csic.es



PhD, 1969, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1969-1971, Universidad de Harvard, Boston, Massachusetts, USA; 1971-1972, Universidad de Pennsylvania, Filadelfia, Pennsylvania, USA  
Colaboradora Científica, 1972-1979, Instituto G. Marañón, CIB, CSIC  
Investigadora Científica, 1979-2013, CIB, CSIC  
Subdirectora General de Relaciones Internacionales, 1996-2002, CSIC  
Subdirectora General de Organismos y Programas Internacionales y de Grandes Instalaciones, Secretaría de Estado de Política Científica y Tecnológica, 2002-2003, Ministerio de Ciencia y Tecnología  
Directora General de Investigación, Secretaría de Estado de Investigación Científica y Tecnológica, Ministerio de Ciencia y Tecnología, 2003-2004  
Investigadora *Ad Honorem*, 2013-2022, CIB, CSIC

# Bases celulares y moleculares de la enfermedad de Alzheimer y otras demencias

Estudiamos mecanismos que inducen muerte celular, como alteraciones en el ciclo celular, apoptosis, función mitocondrial, estrés oxidativo y proteostasis en modelos celulares y animales de neurodegeneración, con el objetivo de identificar biomarcadores selectivos y elucidar a nivel preclínico el potencial terapéutico de candidatos a fármacos para la enfermedad de Alzheimer, demencia frontotemporal y la esclerosis lateral amiotrófica

### 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. Hemos trabajado en un proyecto que tiene como objetivo el diseño, síntesis y evaluación preclínica de nuevos agonistas del receptor de Cannabinoides de tipo 2 (CB2), con propiedades colinérgicas e inhibitoras del enzima  $\beta$ -secretasa (BACE-1). Se analizaron los efectos de estos compuestos multidiana en linfoblastos de pacientes, en modelos neuronales de la enfermedad y en ratones transgénicos APP/PS1

### TDP-43 roteopatías: Degeneración Lobar Frontotemporal, Esclerosis Lateral Amiotrófica y Enfermedad de Alzheimer.

La degeneración del lóbulo frontotemporal (DLFT-TDP) y la Esclerosis Lateral Amiotrófica (ELA) son enfermedades que presentan características neuropatológicas similares, destacando la presencia de agregados de la proteína TDP-43 en el citoplasma de las neuronas afectadas.

Hemos utilizado líneas linfoblásticas de pacientes de DLFT-TDP y de casos esporádicos de ELA, así como células de neuroblastoma humano SH-SY5Y para estudiar 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.

Recientemente hemos podido demostrar la presencia de TDP-43 proteopatía también en casos de pacientes de Alzheimer. En todas estas enfermedades neurodegenerativas se observa un aumento en la fragmentación de TDP-43, así como una mayor fosforilación y localización aberrante de TDP-43 en el compartimento citosólico de los linfoblastos derivados de pacientes. Además, se encontró un fragmento de aproximadamente 25 kDa en vesículas extracelulares (EV), aisladas del medio extracelular, que parece tener características priónicas.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Martínez-González, L.; Cuevas, E. P.; Tosat-Bitrián, C.; Nozal, V.; Gil, C.; Palomo, V.; Martín-Requero, A.; Martínez, A. TTBK1 and CK1 inhibitors restore TDP-43 pathology and avoid disease propagation in lymphoblast from Alzheimer's disease patients. *Front Mol Neurosci* 2023, 16, 1243-1277, doi: 10.3389/fnmol.2023.1243277.
- Rodríguez-Periñán, G.; de la Encarnación, A.; Moreno, F.; López de Munain, A.; Martínez, A.; Martín-Requero, A.; Alquézar, C.; Bartolomé, F. Progranulin Deficiency Induces Mitochondrial Dysfunction in Frontotemporal Lobar Degeneration with TDP-43 Inclusions. *Antioxidants (Basel)* 2023, 12, 581, doi:10.3390/antiox12030581.
- Porras, G.; Ruiz, S.; Maestro, I.; Borrego-Hernández, D.; Redondo, A. G.; Martínez, A.; Martín-Requero, A. Functional Characterization of a Familial ALS-Associated Missense TBK1 (p-Arg573Gly) Mutation in Patient-Derived Lymphoblasts. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 2847, doi:10.3390/ijms24032847.
- González-Naranjo, P.; Pérez, C.; González-Sánchez, M.; Gironde-Martínez, A.; Ulzurrun, E.; Bartolomé, F.; Rubio-Fernández, M.; Martín-Requero, A.; Campillo, N. E.; Páez, J. A. Multitarget drugs as potential therapeutic agents for Alzheimer's disease. A new family of 5-substituted indazole derivatives as cholinergic and BACE1 inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2022, 37, 2348-2356, doi:10.1080/14756366.2022.2117315.
- Cuevas, E. P.; Rodríguez-Fernández, A.; Palomo, V.; Martínez, A.; Martín-Requero, A. TDP-43 Pathology and Prion-like Behavior in Human Cellular Models of Alzheimer's Disease Patients. *Biomedicines* 2022, 10, 385, doi:10.3390/biomedicines10020385
- Martínez-González, L.; Gonzalo-Consuegra, C.; Gómez-Almería, M.; Porras, G.; de Lago, E.; Martín-Requero, A.; Martínez, A. Tideglusib, a Non-ATP Competitive Inhibitor of GSK-3 $\beta$  as a Drug Candidate for the Treatment of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 8975, doi:10.3390/ijms22168975.
- Lastres-Becker, I.; Porras, G.; Arribas-Blázquez, M.; Maestro, I.; Borrego-Hernández, D.; Boya, P.; Cerdán, S.; García-Redondo, A.; Martínez, A.; Martín-Requero, A. Molecular Alterations in Sporadic and SOD1-ALS Immortalized Lymphocytes: Towards a Personalized Therapy. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 3007, doi:10.3390/ijms22063007.PMID:33809456.
- Vaca, G.; Martínez-González, L.; Fernández, A.; Rojas-Prats, E.; Porras, G.; Cuevas, E. P.; Gil, C.; Martínez, A.; Martín-Requero, A. Therapeutic potential of novel Cell Division Cycle Kinase 7 inhibitors on TDP-43-related pathogenesis such as Frontotemporal Lobar Degeneration (FTLD) and amyotrophic lateral sclerosis (ALS). *J Neurochem* 2021, 156, 379-390, doi:10.1111/jnc.15118.

### Premios

- Premio a la mejor invención. Oficina Española de Patentes 2022. Ana Martínez, Carmen Gil-Ayuso, Ángeles Martín-Requero, Elisa Rojas-Prat, Loreto Martínez-González. "Derivados de purina inhibidores de cdc7 y su uso para el tratamiento de enfermedades neurológicas" WO2020058558, ES2749743

# Cellular and molecular basis of Alzheimer's disease and other dementias

*We study mechanisms that cause cell death in cellular and animal models of neurodegenerative disorders, such as cell cycle dysfunction, apoptosis, mitochondrial impairment, oxidative damage and proteostasis, aiming at finding selective biomarkers and to elucidate, at the preclinical level, the therapeutic potential of several drug candidates, for Alzheimer's disease, frontotemporal dementia and amyotrophic lateral sclerosis*

## Cellular and molecular basis of Alzheimer's disease.

There are no disease modifying drugs currently available for Alzheimer's disease (AD). We are working in designing and evaluating the therapeutic potential of new compounds with a multitarget profile as CB2 cannabinoid agonists and  $\beta$ -secretase (BACE-1) and/or butyrylcholinesterase (BuChE) inhibitors. We had studied the effects of these molecules on the mechanisms controlling cell survival/dead in lymphoblastic cell lines from AD patients as well as in neuronal cell modes and transgenic mice APP/PS1.

## TDP-43 proteinopathies: Frontotemporal Lobar Degeneration, Amyotrophic Lateral Sclerosis and Alzheimer's disease

Frontotemporal lobar degeneration (FTLD-TDP), associated with progranulin haploinsufficiency, and Amyotrophic Lateral Sclerosis (ALS) are considered as extreme points of a disease spectrum on the basis

of common genetic and neuropathological features. 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 alterations in TDP-43 homeostasis, using immortalized lymphocytes from FTLD-TDP and sporadic ALS patients and human neuroblastoma cells as experimental models, which allow us to evaluate novel therapeutic strategies aimed at preventing the enhanced TDP-43 phosphorylation.

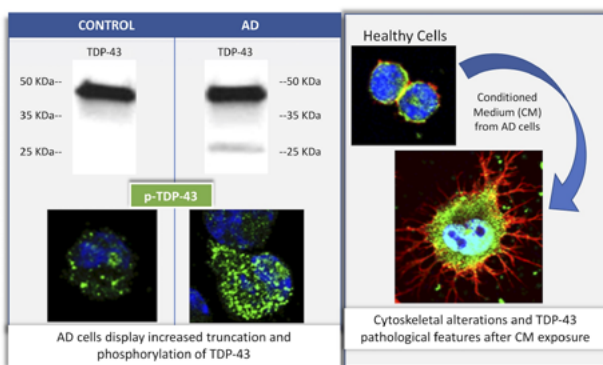
Recently, we demonstrated the presence of TDP-43 proteinopathy in cases of Alzheimer's disease. We found an increase in TDP-43 fragmentation, as well as enhanced phosphorylation and aberrant localization of TDP-43 in the cytosolic compartment of lymphoblasts derived from patients similar to those observed in other TDP-43 proteinopathies. Moreover, a fragment of approximately 25 KDa was found in the extracellular medium, that seems to have prion-like characteristics. Moreover, a fragment of approximately 25 KDa was found in the extracellular medium, that seems to have prion-like characteristics.

## Financiación / Funding

- S2017/BMD-3813 (CAM)
- RTI2018-096100-B-I00 (MCIU)
- CB18/05/00040 (ISCIII, Programa CIBER)

## Patentes / Patents

- Ana Martínez, Carmen Gil-Ayuso, Vanesa Nozal, Ángeles Martín-Requero, Loreto Martínez-González y Eva Pérez-Cuevas E. "Compuestos inhibidores de la quinasa de tau y tubulina (ttbk)". P202130653



**Figure 1**

Role of TDP-43 in AD pathogenesis and its cell to cell propagation. TDP-43 proteinopathy in AD lymphoblasts (left panel). Addition of conditioned medium from AD lymphoblasts to healthy cells induced the characteristic features of TDP-43 pathology, i.e., increased phosphorylation, cytosolic accumulation of TDP-43 and changes in the cytoskeleton (right panel)



**Carmelo Bernabéu Quirante**

Profesor de Investigación

Doctor Vinculado *Ad Honorem* (Julio 2022)

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 CSIC, 1985, CIB, CSIC  
 Investigador Científico CSIC, 1987, CIB, CSIC  
 Jefe de grupo, 1988, CIB, CSIC  
 Profesor de Investigación CSIC, 2003, CIB, CSIC  
 Visiting Professor, 2018, University of Utah, Salt Lake City, Utah, USA

**Otros miembros / Other members**

Katarina Tripska  
 Elena Cano Alberca



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/cellular-and-molecular-biology-vascular-endothelium>

## Biología celular y molecular del endotelio vascular

Endoglina es un componente del complejo receptor de la familia del TGF- $\beta$  en células endoteliales y participa en la adhesión celular mediada por integrinas. Se asocia con una amplia gama de condiciones, incluidas la angiogénesis fisiológica y patológica, patología vascular, preeclampsia, vascularización tumoral, hemostasia o malignidad tumoral. El objetivo del laboratorio es estudiar el papel de la endoglina en la fisiopatología.

La familia del factor de crecimiento transformante (TGF- $\beta$ ) incluye las subfamilias de la proteína morfogenética del hueso (BMP; *bone morphogenetic protein*), activinas y TGF- $\beta$ . La señalización de esta familia de factores a través de sus receptores de membrana regula de forma crucial diversos procesos en el sistema cardiovascular como la angiogénesis o el desarrollo, remodelado y homeostasis vascular. Endoglina es un componente del complejo receptor de TGF- $\beta$  en células endoteliales que tiene importantes implicaciones en la fisiopatología vascular. Así, mutaciones en el gen de endoglina son responsables de la Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria tipo 1 (HHT1), una displasia vascular autosómica dominante asociada con frecuentes epistaxis, hemorragias gastrointestinales, telangiectasias cutáneas, y malformaciones arteriovenosas en pulmón, hígado y cerebro. Endoglina juega un importante papel en angiogénesis y en la homeostasis vascular, y se ha descrito un papel patogénico para los niveles elevados de una forma soluble de endoglina presente en mujeres embarazadas con preeclampsia. Además, la liberación de endoglina soluble mediada por las metaloproteasas de matriz MMP-12 y MMP-14 inhibe la angiogénesis tumoral, regula el remodelado vascular, y agrava la disfunción endotelial de la pared vascular. Por otra parte, endoglina endotelial es un receptor de adhesión que interacciona con integrinas de leucocitos, plaquetas y células murales vasculares. A pesar de su importancia en la fisiopatología humana, se desconocen en gran medida los mecanismos por los cuales endoglina actúa en dichos procesos biológicos y enfermedades. Nuestra actual línea de investigación pretende profundizar en el conocimiento de la expresión, estructura y función de endoglina, lo que permitirá entender mejor los mecanismos moleculares por los cuales esta proteína está implicada en la patología.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Mager, J. J.; Bernabeu, C.; Post, M. Eds. Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. Recent Advances and Future Challenges. Special Issue in Journal of Clinical Medicine. 231 pages. *MDPI*, 2021. ISBN 978-3-0365-0591-6, doi:10.3390/books978-3-0365-0591-6.
- Rossi, E.; Kauskot, A.; Saller, F.; Frezza, E.; Poirault-Chassac, S.; Lokajczyk, A.; Bourdoncle, P.; Saubaméa, B.; Gaussem, P.; Pericacho, M.; Bobe, R.; Bachelot-Loza, C.; Pasquali, S.; Bernabeu, C.; Smadja, D. M. Endoglin Is an Endothelial Housekeeper against Inflammation: Insight in ECFC-Related Permeability through LIMK/Cofilin Pathway. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 8837, doi:10.3390/ijms22168837.
- Ruiz-Llorente, L.; Vega, M. C.; Fernández, F. J.; Langa, C.; Morrell, N. W.; Upton, P. D.; Bernabeu, C. Generation of a Soluble Form of Human Endoglin Fused to Green Fluorescent Protein. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 11282, doi:10.3390/ijms222011282.
- Tripska, K.; Igreja Sá, I. C.; Vasinova, M.; Vicen, M.; Havelek, R.; Eissazadeh, S.; Svobodova, Z.; Vitverova, B.; Theuer, C.; Bernabeu, C.; Nachtigal, P. Monoclonal anti-endoglin antibody TRC105 (carotuximab) prevents hypercholesterolemia and hyperglycemia-induced endothelial dysfunction in human aortic endothelial cells. *Front Med (Lausanne)* 2022, 9, 845918, doi:10.3389/fmed.2022.845918.
- Rossi, E.; Pericacho, M.; Kauskot, A.; Gamella-Pozuelo, L.; Reboul, E.; Leuci, A.; Egido-Turrión, C.; El Hamaoui, D.; Marchelli, A.; Fernández, F. J.; Margail, I.; Vega, M. C.; Gaussem, P.; Pasquali, S.; Smadja, D. M.; Bachelot-Loza, C.; Bernabeu, C. Soluble endoglin reduces thrombus formation and platelet aggregation via interaction with  $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$  integrin. *J Thromb Haemost* 2023, 21, 1943-1956, doi:10.1016/j.jth.2023.03.023.
- Ruiz-Llorente, L.; Ruiz-Rodríguez, M. J.; Savini, C.; González-Muñoz, T.; Riveiro-Falkenbach, E.; Rodríguez-Peralto, J. L.; Peinado, H.; Bernabeu, C. Correlation Between Endoglin and Malignant Phenotype in Human Melanoma Cells: Analysis of hsa-mir-214 and hsa-mir-370 in Cells and Their Extracellular Vesicles. *Adv Exp Med Biol* 2023, 1408, 253-272, doi:10.1007/978-3-031-26163-3\_14.
- Simon, F.; Bernabeu, C., Eds. Advances in Molecular Pathology. Part of the book series: *Advances in Experimental Medicine and Biology* (AEMB, volume 1408). 330 pages. April 2023 Springer-Nature, Cham, Switzerland. ISBN 978-3-031-26163-3, doi:10.1007/978-3-031-26163-3.
- Bernabeu, C. Therapeutic Targeting of the Ang2/Tie Pathway in Endothelial Cells as a Potential Treatment of Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2023, 43, 1404-1408, doi:10.1161/ATVBAHA.123.319631.
- Bernabeu, C.; Olivieri, C.; Rossi, E. Role of membrane-bound and circulating endoglin in disease. *Front Med (Lausanne)* 2023, 10, 1271756, doi:10.3389/fmed.2023.1271756.

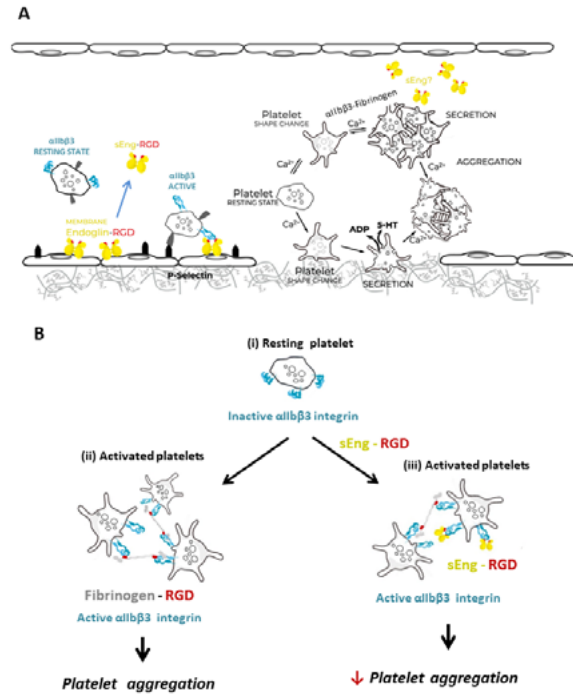
**Financiación / Funding**

- 201920E022 (PIE-CSIC, 2019-2022)
- CB06/07/0038 (CIBERER-ISCI, 2006-Presente)
- PEJ-2019-TL/BDM-1387 (CAM, 2020-2021)
- 2004312-17804 (Millipore, 2004-2025)
- 200374\_1 (Immunostep, 2003-Presente)

# Cellular and molecular biology of the vascular endothelium

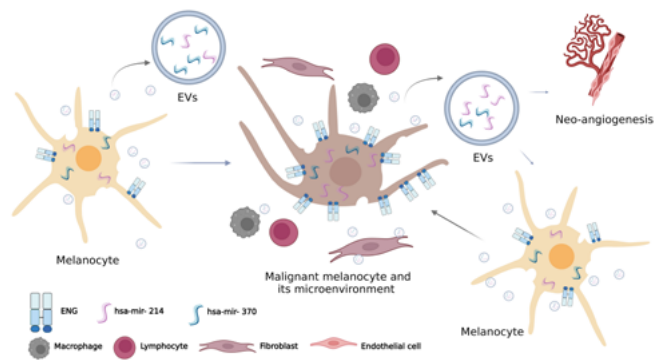
**Endoglin is a component of the receptor complex of the TGF-β family in endothelial cells and is involved in integrin-mediated cell adhesion. It is associated with a broad range of conditions, including physiological and pathological angiogenesis, vascular pathology, preeclampsia, tumor vascularization, hemostasis, or tumor malignancy. The goal of the laboratory is to study the role of endoglin in pathophysiology.**

The transforming growth factor (TGF-β) family includes subfamilies of the bone morphogenetic protein (BMP), activins, and TGF-β. The signaling of this family of factors through their membrane receptors crucially regulates various processes in the cardiovascular system, such as angiogenesis or vascular development, remodeling, and homeostasis. Endoglin is a component of the TGF-β receptor complex in endothelial cells that has important implications in vascular pathophysiology. Thus, mutations in the endoglin gene are responsible for Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia type 1 (HHT1), an autosomal dominant vascular dysplasia associated with frequent epistaxis, gastrointestinal bleeding, cutaneous telangiectasia, and arteriovenous malformations in the lung, liver, and brain. Endoglin plays an important role in angiogenesis and vascular homeostasis, and a pathogenic role has been described for elevated levels of a soluble form of endoglin present in pregnant women with preeclampsia. Furthermore, the release of soluble endoglin mediated by matrix metalloproteases MMP-12 and MMP-14 inhibits tumor angiogenesis, regulates vascular remodeling, and aggravates endothelial vascular wall dysfunction. On the other hand, endothelial endoglin is an adhesion receptor that interacts with integrins of leukocytes, platelets, and vascular wall cells. Despite its importance in human pathophysiology, the mechanisms by which endoglin acts in these biological processes and diseases are largely unknown. Our current line of research aims to deepen the knowledge of the expression, structure, and function of endoglin, which will allow us to better understand the molecular mechanisms by which this protein is involved in pathology.



**Figure 1**

**Mechanism of sEng-induced inhibition on platelet aggregation.** (A) Binding between endothelial endoglin and integrin  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  of circulating platelets and platelets secretion and aggregation via  $\alpha\text{IIb}\beta_3$ -fibrinogen interactions. (B) Inactive  $\alpha\text{IIb}\beta_3$  (i) is activated (ii) enabling fibrinogen- $\alpha\text{IIb}\beta_3$  interactions mediated by the RGD motif. A soluble form of endoglin (sEng) binds to  $\alpha\text{IIb}\beta_3$ , destabilizing the thrombus (iii). [Adapted from Rossi et al. 2023].



**Figure 2**

**Hypothetical model of endoglin in melanoma progression.** Endoglin contributes to the malignant phenotype by dysregulating hsa-mir-214 and hsa-mir-370. Malignant melanocytes release extracellular vesicles (EVs) to target primary melanocytes, endothelial cells, melanoma-associated fibroblasts, lymphocytes, or tumor-associated macrophages, leading to enhanced melanoma tumor growth and development [Adapted from Ruiz-Llorente et al. 2023]

**Ana O'Loghlen**

Investigadora Distinguida

ana.ologhlen@cib.csic.es



PhD, 2001-2005, Hospital Ramón y Cajal, Madrid  
 Postdoctoral, 2006, CNIO; 2007-2012 Imperial College of London, UK  
 Postdoctoral Senior, 2013, London Research Institute (LRI), CRUK, UK  
 Investigadora Principal, 2013-2022, Blizard Institute, Queen Mary University, Londres, UK  
 Investigadora Principal, 2022, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Juan Manuel Barbero Paredes  
 Marta Menéndez García  
 Mario Mira Carnicer  
 Celia Palomino Lozano



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/epigenetics-and-cellular-senescence>

## Epigenética y Senescencia Celular

Las células senescentes son aquellas que dejan de dividirse pero siguen siendo metabólicamente activas. Las células senescentes participan en una variedad de procesos biológicos, fisiológicos y patológicos, como el cáncer y las enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Nuestro grupo está interesado en investigar cómo las células senescentes se comunican entre ellas y con su microambiente en diferentes contextos.

La senescencia celular se caracteriza por una parada del ciclo celular y un metabolismo secretor activo, denominado fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP). Las células senescentes participan en numerosos procesos biológicos, fisiológicos y patológicos, incluido el desarrollo embrionario, el cáncer y enfermedades relacionadas con el envejecimiento. A pesar de los importantes avances en los últimos años, existen múltiples cuestiones abiertas sobre la funcionalidad, la relevancia fisiológica del programa de senescencia y su papel en la patogénesis de diferentes enfermedades, así como sobre su posible manipulación con fines terapéuticos. Nuestro grupo está interesado en determinar la comunicación celular en senescencia durante el envejecimiento y procesos neurodegenerativos así como su manipulación para el rejuvenecimiento. En particular, nuestro énfasis está en estudiar el papel que juegan las vesículas extracelulares en estos diferentes contextos. Para ello, empleamos diferentes abordajes experimentales que abarcan desde análisis moleculares y celulares, análisis masivos (scRNAseq, proteómica, metabolómica, transcriptómica), uso de modelos animales y cribados genéticos y farmacológicos.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Carpintero-Fernández, P.; Borghesan, M.; Eleftheriadou, O.; Pan-Castillo, B.; Fafian-Labora, J. A.; Mitchell, T. P.; Yuste, A.; Ogrunc, M.; Nightingale, T. D.; Mayan, M.; O'Loghlen, A. Genome wide CRISPR/Cas9 screen identifies the coagulation factor IX (F9) as a regulator of senescence. *Cell Death Dis* 2022, 13, 163, doi:10.1038/s41419-022-04569-3.
- Mylonas, A.; O'Loghlen, A. Cellular Senescence and Ageing: Mechanisms and Interventions. *Front Aging* 2022, 3, 866718, doi:10.3389/fragi.2022.866718.
- O'Loghlen, A. The potential of aging rejuvenation. *Cell Cycle* 2022, 21, 111-116, doi:10.1080/15384101.2021.2013612.
- Fafian-Labora, J. A.; O'Loghlen, A. NF-kappaB/IKK activation by small extracellular vesicles within the SASP. *Aging Cell* 2021, 20, e13426, doi:10.1111/ace1.13426.
- Guerrini, L.; García-Rico, E.; O'Loghlen, A.; Giannini, V.; Álvarez-Puebla, R. A. Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS) Spectroscopy for Sensing and Characterization of Exosomes in Cancer Diagnosis. *Cancers (Basel)* 2021, 13, 2179, doi:10.3390/cancers13092179.
- Prasanna, P. G.; Citrin, D. E.; Hildesheim, J.; Ahmed, M. M.; Venkatachalam, S.; Riscuta, G.; Xi, D.; Zheng, G.; Deursen, J. V.; Goronzy, J.; et al. Therapy-Induced Senescence: Opportunities to Improve Anticancer Therapy. *J Natl Cancer Inst* 2021, 113, 1285-1298, doi:10.1093/jnci/djab064.

**Premios**

- 2021, Selected article of the month by the Spanish Society for Biochemistry and Molecular Biology (SEBBM)
- 2021, Best Talk Prize at the European Society for Clinical Investigation (ESCI)

**Financiación / Funding**

- PID2021-1256560B (MICINN/AEI)
- SenesceX-CM P2022/BMD-7393 (CAM)
- CNS2022-135134 (MICINN/AEI)





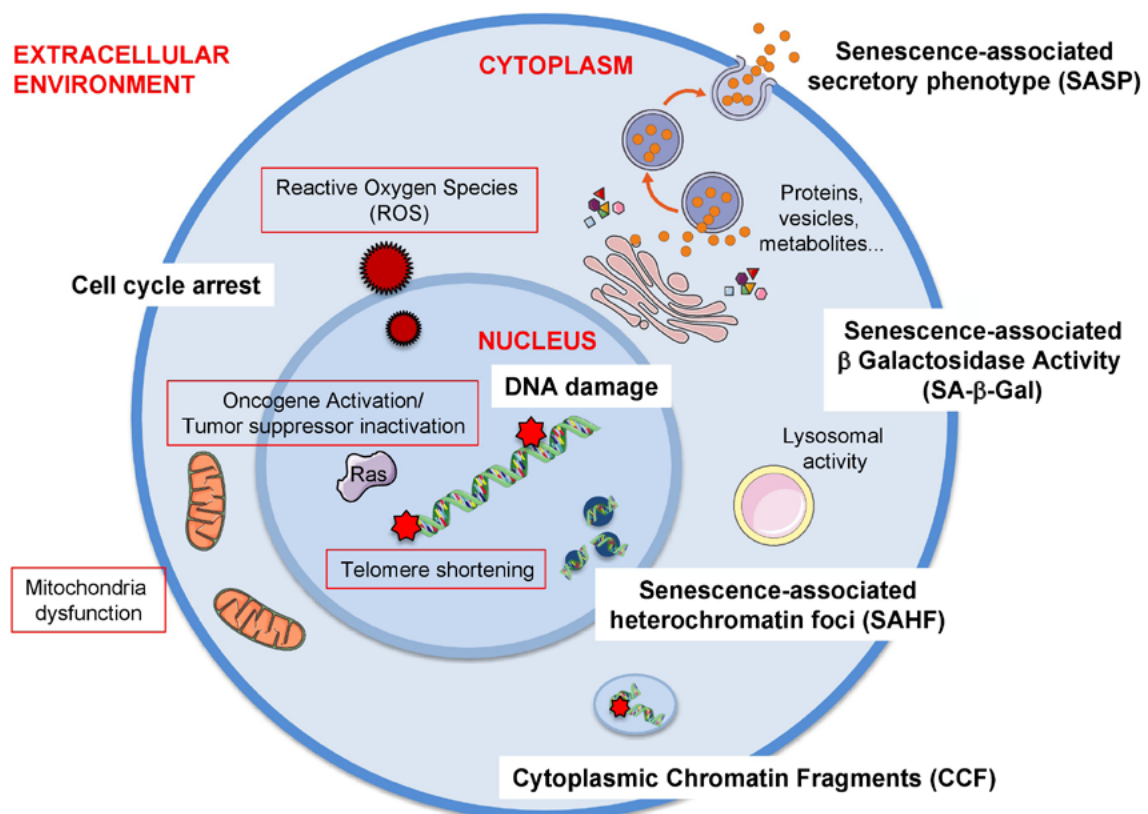
# Epigenetics and Cellular Senescence

**Senescent cells are those that stop dividing but remain metabolically active. Senescent cells participate in a variety of biological, physiological and pathological processes, such as cancer and age-related diseases. Our group is interested in investigating how senescent cells communicate with each other and with their microenvironment in different contexts.**

Cellular senescence is characterized by a cell cycle arrest and an active secretory metabolism, termed senescence-associated secretory phenotype (SASP). Senescent cells participate in numerous biological, physiological, and pathological processes, including embryonic development, cancer, and aging-related diseases. Despite the important advances in recent years, there are multiple open questions about the functionality, the physiological relevance of the senescence program, and its role in the pathogenesis of different diseases, as well as its possible manipulation for therapeutic purposes. Our group is interested in determining cellular communication in senescence during aging and neurodegenerative processes as well as its manipulation for rejuvenation. In particular, our emphasis lies in studying the role that extracellular vesicles play in these different contexts. To do this, we use different experimental approaches that range from molecular and cellular analyses, massive analysis (scRNAseq, proteomics, metabolomics, transcriptomics), use of animal models, and genetic and pharmacological screenings.

**Figure 1**

**Triggers and biomarkers of cellular senescence.** Several triggers activate cellular senescence such as ROS, the expression of oncogenes or loss of tumor suppressor genes, telomere shortening, and mitochondrial dysfunction. A combination of several biomarkers is used to identify senescence: SASP, chromatin alterations (SAHF), cytoplasmic chromatin fragments and/or SA- $\beta$ -Gal.



**Eduardo Oliver**

Científico titular

eduardo.oliver@cib.csic.es



PhD, 2010, Universitat de Valencia

Postdoctoral, 2011-2016, Imperial College London, UK

Postdoctoral MSCA, 2016-2018, CNIC

Investigador Atracción de Talento Madrid, 2018-2022, CNIC

Investigador Ramón y Cajal, Jefe de Grupo, 2022, CIB, CSIC

Científico Titular, 2023, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Yolanda Sierra Palomares

Daniel Ángel Lobato Alonso

Bertha García León

Laura de la Bastida Casero

Lola Navarro Llinares

Ana Ferrández Murtula

Andrea N. Reyes Flores

Noelia González Guijarro


<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/experimental-pharmacology-and-new-targets-cardiopulmonary-disorders>

# Farmacología Experimental y Nuevas Dianas en Desórdenes Cardiopulmonares

**Nuestro grupo busca profundizar en las bases celulares y moleculares de la disfunción vascular pulmonar usando como modelo una enfermedad poco común, la hipertensión arterial pulmonar. Estudiamos desde el daño endotelial y su conexión con el músculo liso y el sistema inmune hasta sus consecuencias a nivel cardiaco. Nuestro fin es encontrar nuevas dianas, biomarcadores y estrategias terapéuticas que contribuyan a combatir este grupo de enfermedades.**

La hipertensión arterial pulmonar (HAP) es una enfermedad rara y agresiva, causada por cambios funcionales y estructurales en las arteriolas pulmonares. Aunque el desarrollo de tratamientos específicos ha mejorado notablemente su pronóstico, todavía ninguno ha sido capaz de curar la enfermedad. La búsqueda de nuevas dianas y estrategias terapéuticas capaces de combatir la HAP de forma multifactorial y precisa es de vital importancia para mejorar la esperanza y la calidad de vida de los pacientes. Nuestra investigación se centra en el endotelio vascular pulmonar como principal diana, ya que éste juega un papel fundamental en el control de la salud y la enfermedad. Sabemos que la disfunción endotelial es un elemento clave a tener en cuenta para entender el inicio, desarrollo y respuesta a las terapias. Para entender mejor la enfermedad y buscar maneras de atacarla, utilizamos diferentes enfoques que van desde ratones modificados genéticamente hasta análisis de biomarcadores en pacientes. Basado en resultados previos, exploramos el papel del eje  $\beta$ 3-adrenérgico, el metabolismo celular y la regulación mitocondrial en modelos celulares y animales de HAP, y estudiamos posibles estrategias terapéuticas que lo regulen. Entre otros, estudiamos desde un enfoque preclínico, molecular y traslacional el uso de los agonistas  $\beta$ 3- adrenérgicos como posible tratamiento protector del endotelio. Además, investigamos la comunicación intercelular entre células endoteliales y células del músculo liso, y su relevancia para el desarrollo de la enfermedad vascular pulmonar. Finalmente, colabora-

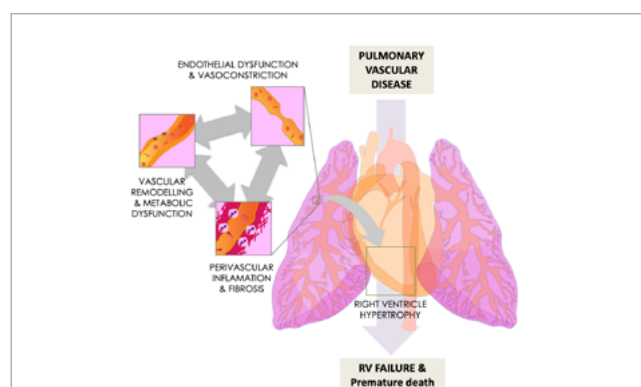
mos con hospitales de referencia para evaluar el uso de biomarcadores de daño endotelial para establecer una estrategia de medicina de precisión en HAP gracias a una mejor clasificación de los pacientes. Nuestro fin último es encontrar nuevas dianas, biomarcadores y estrategias terapéuticas que contribuyan, desde la biología básica y la farmacología experimental, a solucionar este reto de salud.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Clemente-Moragón, A.; Martínez-Milla, J.; Oliver, E.; Santos, A.; Flandes, J.; Fernández, I.; Rodríguez-González, L.; Serrano del Castillo, C.; Ioan, A.-M.; López-Álvarez, M.; Gómez-Talavera, S.; Galán-Arriola, C.; Fuster, V.; Pérez-Calvo, C.; Ibáñez, B. Metoprolol in Critically Ill Patients With COVID-19. *J Am Coll Cardiol* 2021, 78, 1001-1011, doi:10.1016/j.jacc.2021.07.003.
- Lareo, A.; Nuche, J.; Cristo Ropero, M. J.; Ynsaurriaga, F. A.; Oliver, E.; Escribano-Subías, P. Recent Advances in the Pharmacotherapy of Pulmonary Hypertension: Practical Considerations. *Cardiol Pol* 2021, 79, 386-392, doi:10.33963/KP.15928.
- Pun-García, A.; Clemente-Moragón, A.; Villena-Gutiérrez, R.; Gómez, M.; Sanz-Rosa, D.; Díaz-Guerra, A.; Prados, B.; Medina, J. P.; Montó, F.; Ivorra, M. D.; Márquez-López, C.; Cannavo, A.; Bernal, J. A.; Koch, W. J.; Fuster, V.; de la Pompa, J. L.; Oliver, E.; Ibáñez, B. Beta-3 Adrenergic Receptor Overexpression Reverses Aortic Stenosis-Induced Heart Failure and Restores Balanced Mitochondrial Dynamics. *Basic Res Cardiol* 2022, 117, 62-87, doi:10.1007/s00395-022-00966-z.
- Santos-Coquillat, A.; González, M. I.; Clemente-Moragón, A.; González-Arjona, M.; Albaladejo-García, V.; Peinado, H.; Muñoz, J.; Ximénez Embún, P.; Ibáñez, B.; Oliver, E.; Desco, M.; Salinas, B. Goat Milk Exosomes As Natural Nanoparticles for Detecting Inflammatory Processes By Optical Imaging. *Small* 2022, 18, 2105421- 2105433, doi:10.1002/smll.202105421.
- Clemente-Moragón, A.; Oliver, E.; Calle, D.; Cussó, L.; Gómez, M.; Pradillo, J. M.; Castejón, R.; Rallón, N.; Benito, J. M.; Fernández-Ferro, J. C.; Carneado-Ruiz, J.; Moro, M. A.; Sánchez-González, J.; Fuster, V.; Cortés-Canteli, M.; Desco, M.; Ibáñez, B. Neutrophil  $\beta$ 1 Adrenoceptor Blockade Blunts Stroke-Associated Neuroinflammation. *Br J Pharmacol* 2023, 180, 459-478, doi:10.1111/bph.15963.
- Martín de Miguel, I.; Cruz-Utrilla, A.; Oliver, E.; Escribano-Subías, P. Novel Molecular Mechanisms Involved in the Medical Treatment of Pulmonary Arterial Hypertension. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 4147-4167, doi:10.3390/ijms24044147.
- Ayyoub, S.; Orriols, R.; Oliver, E.; Ceide, O. T. Thrombosis Models: An Overview of Common In Vivo and In Vitro Models of Thrombosis. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 2569-2590, doi:10.3390/ijms24032569.
- Segalés, J.; Sánchez-Martín, C.; Pujol-Morcillo, A.; Martín-Ruiz, M.; de los Santos, P.; Lobato-Alonso, D.; Oliver, E.; Rial, E. Role of UCP2 in the Energy Metabolism of the Cancer Cell Line A549. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 8123-8135, doi:10.3390/ijms24098123

**Figure 1**

Anatomical and cellular pathological features of pulmonary vascular disease

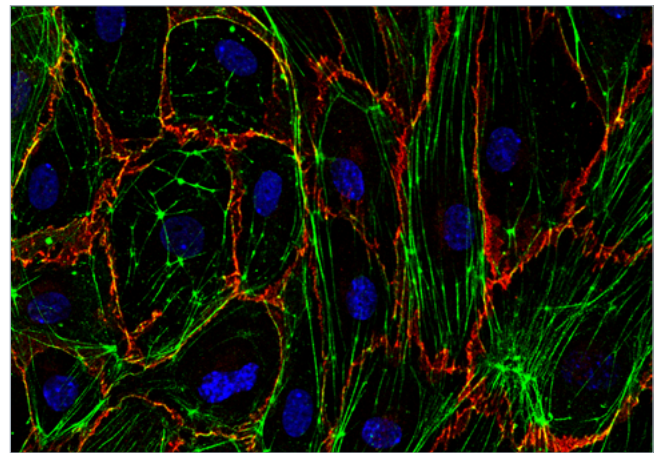


# Experimental Pharmacology and New Targets in Cardiopulmonary Disorders

**Our group seeks to further understand the cellular and molecular bases of pulmonary vascular dysfunction using a rare disease, pulmonary arterial hypertension, as a model. Our studies go from endothelial damage and its connection with smooth muscle and the immune system to its consequences at the cardiac level. Our goal is to find new targets, biomarkers, and therapeutic strategies that contribute to solving this group of diseases.**

Pulmonary arterial hypertension (PAH) is a rare and aggressive disease, caused by functional and structural changes in the pulmonary arterioles. Although the development of specific treatments has significantly improved its prognosis, none have yet been able to cure the disease. The search for new targets and therapeutic strategies capable of combating PAH in a multifactorial and precise way is of vital importance to improve the patient's life quality and life expectancy. Our research focuses on the pulmonary vascular endothelium as the main target, as it plays a fundamental role in the control of health and disease. We know that endothelial dysfunction is a key element to consider for understanding the initiation, development, and response to therapies. To better understand the disease and look for ways to tackle it, we use different approaches ranging from genetically modified mice to biomarker analysis in patients. Based on previous results,

we explore the role of the  $\beta_3$ -adrenergic axis, cellular metabolism, and mitochondrial regulation in cellular and animal models of PAH, and study possible therapeutic strategies that regulate it. Among others, we study from a preclinical, molecular, and translational approach the use of  $\beta_3$ -adrenergic agonists as a possible protective treatment of the endothelium. Furthermore, we investigate intercellular communication between endothelial and smooth muscle cells and its relevance for the development of pulmonary vascular disease. Finally, we collaborate with the main referral hospitals to evaluate the use of endothelial damage biomarkers to help establish a better classification of patients and therefore a precision medicine strategy in PAH. Our ultimate goal is to find new targets, biomarkers, and therapeutic strategies that contribute, from basic biology and experimental pharmacology to solving this health challenge.



**Figure 2**

Human pulmonary microvascular cells. F-actin fibers in green, VE-Cadherin in red marking the integrity of the membrane and nuclei in blue.

## Premios

- EuroScience Policy Award, por la iniciativa Ciencia en el Parlamento. EuroScience (2023)

## Patentes / Patents

- Sánchez-Sancho, F.; Csáky, A. G.; del Pozo, C; del Pozo, J.; Marcilla, A.; Ibáñez Cabeza, B.; Oliver, E. Cumella, J. M.; Roscales, S. 27 Junio 2023 "Derivados de imidazo[1,2-a]piridina con actividad antiinflamatoria" P202330530

## Financiación / Funding

- 2017-T1/BMD-5185 (CAM, 2018-2022)
- C20P101\_I (CIBERCV, 2020-2023)
- RYC2020-028884-I (MICINN, 2022-2027)
- PID2021-1231670B-I00 (MICINN, 2022-2025)
- 20222AT010 (CSIC, 2022-2025)
- 09-PIN1-00004.3/2022-(19) Sanidad-CIB(2) (CAM, 2022-2023)
- CEX2021-001226-S-20-8 (MICINN, 2023-2027)
- RED2022-134299-T (MICINN, 2023-2025)
- PIPF-2022/SAL-GL-24824 (CAM, 2023-2027)



**Joaquín Teixido Calvo**

Profesor de Investigación

joaquin@cib.csic.es



**PhD, 1985**, Max Plank Institute für Molekulare Genetik, Berlín; 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**, CIB, CSIC

**Jefe de grupo, 1994**, CIB, CSIC

**Investigador Científico, 2003**, CIB, CSIC

**Profesor de Investigación, 2007**, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Nohemí Arellano Sánchez

Yaiza Rodríguez García

Valeria Burdiel Herencia

Ana Paula de Jesús Santos

Marta Hurtado Borrás



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/immune-cell-migration-and-differentiation-and-therapy-resistance>

## Migración y diferenciación de células inmunes, y resistencia a terapias en cáncer

**El principal foco de investigación en nuestro laboratorio es la caracterización de la adhesión, migración y diferenciación de células inmunes, y la identificación de mecanismos moleculares de resistencia de las células cancerosas.**

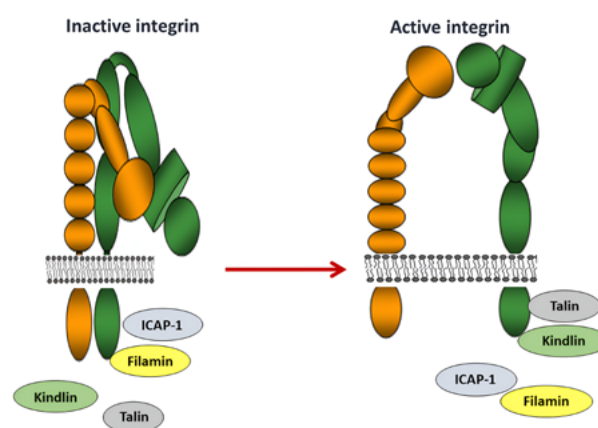
Las integrinas son moléculas heterodiméricas compuestas por subunidades  $\alpha$  y  $\beta$  que juegan un papel clave en adhesión celular. La activación de integrinas linfocitarias como VLA-4 ( $\alpha 4\beta 1$ ) es un paso crucial durante el tráfico de linfocitos a sitios de inflamación. La activación de VLA-4 depende de moléculas citoplásmicas que se unen a la subunidad  $\beta$  entre las que se incluyen talina y kindlina, las cuales activan a la integrina, e ICAP-1, que inhibe dicha activación. Mediante la utilización de ratones *knock-out* para ICAP-1, estamos caracterizando el papel de ICAP-1 en la diferenciación de células del sistema inmune.

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 la vía MAPK-ERK, y sus relaciones con el microambiente inmune tumoral.

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.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- García Ortiz, A.; Rodríguez García, Y.; Encinas, J.; Maroto Martín, E.; Castellano, E.; Teixido, J.; Martínez López, J. The Role of Tumor Microenvironment in Multiple Myeloma Development and Progression. *Cancers* **2021**, *13*, 217, doi:10.3390/cancers13020217
- Sevilla-Movilla, S.; Fuentes, P.; Rodríguez-García, Y.; Arellano-Sánchez, N.; Krenn, P. W.; de Val, S. I.; Montero-Herradón, S.; García-Ceca, J.; Burdiel-Herencia, V.; Gardeta, S. R.; Aguilera-Montilla, N.; Barrio-Alonso, C.; Crainiciuc, G.; Bouvard, D.; García-Pardo, A.; Zapata, A. G.; Hidalgo, A.; Fässler, R.; Carrasco, Y. R.; Toribio, M. L.; Teixido, J. *Eur J Immunol* **2022**, *52*, 1228-1242, doi:10.1002/eji.202149560.
- Rodríguez-García, Y.; Martínez-Moreno, M.; Alonso, L.; Sánchez-Vencells, A.; Arranz, A.; Dagà-Millán, R.; Sevilla-Movilla, S.; Valeri, A.; Martínez-López, J.; Teixido, J. Regulation of miRNA expression by  $\alpha 4\beta 1$  integrin-dependent multiple myeloma cell adhesion. *EJHaem* **2023**, *4*, 631-638, doi:10.1002/jha2.756.

**Figure 1**

*Regulators of integrin activation. Inactive and active conformations of integrins. ICAP-1 keeps integrins in an inactive conformation, whereas talin and kindlin favor the activated conformation that allows ligand binding.*

# Immune cell migration and differentiation, and therapy resistance in cancer

**Main research focus in our lab is the characterization of immune cell adhesion, migration and differentiation, and the identification of molecular mechanisms of cancer cell resistance**

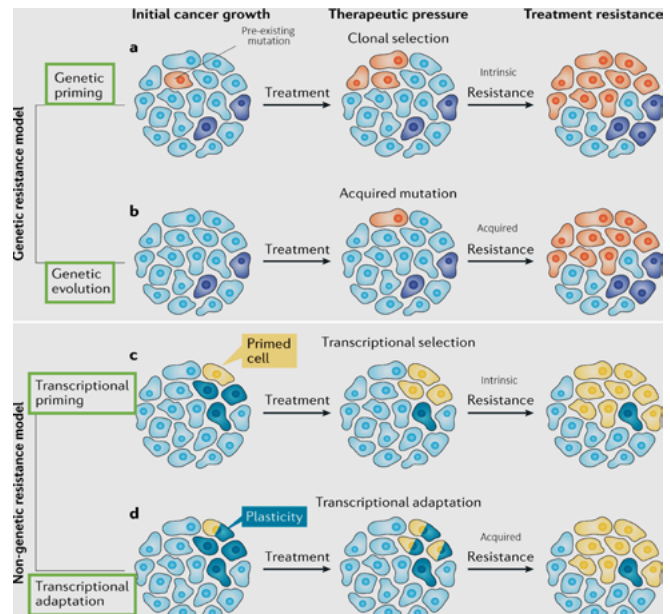
Integrins are heterodimeric molecules composed of  $\alpha$  and  $\beta$  subunits that play key roles in cell adhesion. Activation of lymphocyte integrins such as VLA-4 ( $\alpha 4\beta 1$ ) is a crucial step during the trafficking of lymphocytes to sites of inflammation. Activation of VLA-4 depends on cytoplasmic molecules that bind to the  $\beta$  subunit. These include talin and kindlin, which activate the integrin, and ICAP-1, which inhibits this activation. Using ICAP-1 knock-out mice, we are characterizing the role of ICAP-1 in the differentiation of cells of the immune system.

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 MAPK/ERK inhibitors, and their relationships with the tumor immune microenvironment.

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.

## Financiación / Funding

- PID2020-116291RB-I00 (MICINN)



**Figure 2**

Models of genetic and non-genetic cancer resistance. Clonal selection, acquired mutations, and transcriptional selection and adaptation modes during development of resistance [Adapted from Marine, Dawson and Dawson, *Nature Rev Cancer*, 2020].



**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 Center, NY, USA

Científico Titular, 1986, CIB, CSIC

Jefe de Grupo, 1986-1994, CIB, CSIC

Investigador Científico, 1989, CIB, CSIC

Jefe de Grupo, 1994-2000, IBGM, CSIC-Universidad de Valladolid

Jefe de Grupo, 2000-2015, IBMCC-CIC, CSIC-Universidad de Salamanca

Profesor de Investigación, 2002, IBMCC-CIC, CSIC-Universidad de Salamanca

Jefe de Grupo, 2015, CIB, CSIC

Associate Editor (*Frontiers in Cell Death*, 2022), Associate Editor (*Frontiers in Oncology*, 2022), Academic Editor (*Genes*, 2022)**Otros miembros / Other members**

Consuelo Gajate Fraile

Alejandro Martín Roncero

Ramón Romero Varo


<https://cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/laboratory-cell-death-and-cancer-therapy>

# Muerte Celular y Terapia del Cáncer

Nuestros estudios se centran en la identificación y caracterización de: (a) nuevos compuestos antitumorales y mecanismos de acción para la inducción selectiva de muerte celular en células tumorales; (b) dominios *lipid rafts* como una nueva diana terapéutica y modulación de muerte celular; (c) biología del neutrófilo y su papel en cáncer y metástasis; (d) mecanismo de acción de los análogos alquil-fosfolípidos frente a cáncer y leishmaniosis.

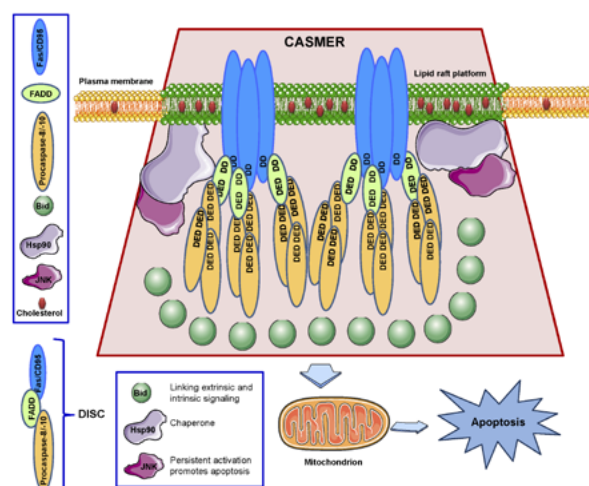
El éter lípido edelfosina es el prototipo de una familia de agentes antitumorales sintéticos denominados análogos alquil-fosfolípidos, que actúan sobre las membranas celulares. Edelfosina induce apoptosis de forma selectiva en células tumorales, mediante un mecanismo único. Nuestros estudios han revelado que la actividad antitumoral de la edelfosina implica su acumulación en los dominios de membrana *lipid rafts*, conduciendo a la reorganización de estos dominios de membrana, especialmente en tumores hematológicos, identificando así los dominios *lipid rafts* como una nueva diana terapéutica en la terapia del cáncer. Además, la actividad antitumoral de edelfosina sobre tumores sólidos, incluidas células *stem* cancerosas, está mediada por una respuesta de estrés del retículo endoplásmico. Estas señales mediadas por *lipid rafts* y retículo endoplásmico convergen en las mitocondrias, que juegan un papel crítico en el destino final de la célula diana. Por otra parte, hemos introducido recientemente un nuevo concepto en la interacción del sistema inmune innato, particularmente los neutrófilos, con las células tumorales que facilitarían la metástasis. Nuestros principales objetivos se pueden resumir en: (a) identificar vías de inducción selectiva de la muerte celular, principalmente apoptosis, en la célula tumoral, utilizando como herramienta la molécula sintética edelfosina, lo que implica la participación de los dominios *lipid rafts* en los procesos de muerte celular, actuando como plataformas para albergar y concentrar distintas rutas de señalización apoptóticas, en lo que hemos denominado CASMERs (*Clusters of Apoptotic Signaling Molecule-Enriched Rafts*), y su conexión con otros orgánulos intracelulares; y (b) identificar los procesos moleculares que facilitan la interacción del sistema inmune innato, particularmente neutrófilos y su plasticidad celular y funcional, con la célula tumoral, y como esta interrelación afecta a la metástasis y progresión del tumor

**Figure 1**

The concept of CASMER. Apoptotic signaling molecules, including Fas/CD95, FADD, and procaspase-8, forming the death-inducing signaling complex (DISC), are brought together in close proximity, through homotypic interactions of DD and DED domains between the DISC constituents, in large cholesterol-enriched lipid raft platforms (highlighted in green) as a result of raft clustering.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

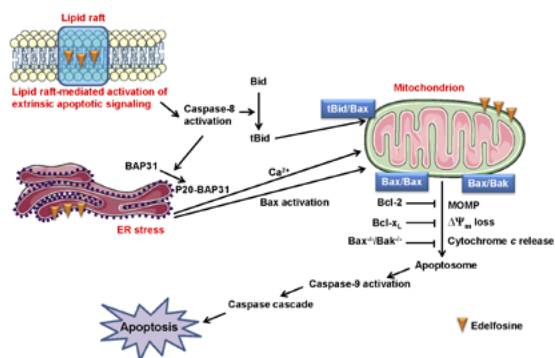
- Dakir, El-H.; Gajate, C.; Mollinedo, F. Antitumor activity of alkylphospholipid edelfosine in prostate cancer models and endoplasmicreticulum targeting. *Biomed Pharmacother* 2023, 167, 115436, doi:10.1016/j.biopha.2023.115436.
- Mollinedo, F. Raft platforms highly enriched in cholesterol: major scaffolds for IL-6 signaling assembly with implications in inflammation and cancer. *FEBS J* 2022, 289, 5891-5894, doi:10.1111/febs.16547.
- Mollinedo, F.; Gajate, C. Clusters of apoptotic signaling molecule-enriched rafts, CASMERs: membrane platforms for protein assembly in Fas/CD95 signaling and targets in cancer therapy". *Biochem Soc Trans* 2022, 50, 1105-1118, doi:10.1042/BST20211115.
- Bai, J. F.; Majjigapu, S. R.; Sordat, B.; Poty, S.; Vogel, P.; Elías-Rodríguez, P.; Moreno-Vargas, A. J.; Carmona, A. T.; Caffa, I.; Ghanem, M.; Khalifa, A.; Monacelli, F.; Cea, M.; Robina, I.; Gajate, C.; Mollinedo, F.; Bellotti, A.; Nahimana, A.; Duchosal, M.; Nencioni, A. Identification of new FK866 analogues with potent anticancer activity against pancreatic cancer. *Eur J Med Chem* 2022, 239, 114504, doi:10.1016/j.ejmech.2022.114504.
- Mollinedo, F.; Gajate, C. Direct Endoplasmic Reticulum Targeting by the Selective Alkylphospholipid Analog and Antitumor Ether Lipid Edelfosine as a Therapeutic Approach in Pancreatic Cancer. *Cancers* 2021, 13, 4173, doi:10.3390/cancers13164173.
- Gajate, C.; Gayet, O.; Fraunhofer, N. A.; Iovanna, J.; Dusetti, N.; Mollinedo, F. Induction of Apoptosis in Human Pancreatic Cancer Stem Cells by the Endoplasmic Reticulum-Targeted Alkylphospholipid Analog Edelfosine and Potentiation by Autophagy Inhibition. *Cancers* 2021, 13, 6124, doi:10.3390/cancers13236124.
- Vicente-Blázquez, A.; González, M.; Medarde, M.; Mollinedo, F.; Peláez, R. New indole-sulfonamide derivatives targeting the colchicine site of tubulin: synthesis, anti-tumor activity, structure-activity relationships, and molecular modeling. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2021, 36, 2025-2044, doi:10.1080/14756366.2021.1975277.
- García-Navas, R.; Gajate, C.; Mollinedo, F. Neutrophils drive endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in cancer cells through arginase-1 release. *Sci Rep* 2021, 11, 12574, doi:10.1038/s41598-021-91947-0
- Mollinedo, F.; Gajate, C. Mitochondrial Targeting Involving Cholesterol-Rich Lipid Rafts in the Mechanism of Action of the Antitumor Ether Lipid and Alkylphospholipid Analog Edelfosine. *Pharmaceutics* 2021, 13, 763, doi:10.3390/pharmaceutics13050763.
- Mollinedo-Gajate, I.; Villar-Álvarez, F.; Zambrano-Chacón, M. L. A.; Núñez-García, L.; de la Dueña-Muñoz, L.; López-Chang, C.; Górgolas, M.; Cabello, A.; Sánchez-Pernaute, O.; Romero-Bueno, F.; Aceña A.; González-Mangado, N.; Peces-Barba, G.; Mollinedo, F. First and Second Waves of Coronavirus Disease 2019 in Madrid, Spain: Clinical Characteristics and Hematological Risk Factors Associated With Critical/Fatal Illness. *Crit Care Explor* 2021, 3, e0346, doi:10.1097/CCE.0000000000000346.



# Cell Death and Cancer Therapy

**Our research focuses on: (a) cancer drug discovery, and identification of novel drugs and mechanisms of action triggering selective tumor cell death; (b) lipid rafts as a novel therapeutic target and their role in cell death regulation; (c) neutrophil biology and interaction between innate immune system and tumor cells in cancer and metastasis; (d) mechanism of action of membrane-targeting alkylphospholipid analogs acting on cancer and leishmaniasis.**

The ether lipid edelfosine is the prototype of a family of synthetic antitumor compounds, so-called alkylphospholipid analogs, which target cell membranes. Edelfosine induces apoptosis in tumor cells by a rather selective and unique mechanism. We have found that the antitumor activity of edelfosine involves its accumulation in lipid rafts, leading to a reorganization of these membrane domains especially in hematological tumors. This has led to the identification of lipid rafts as a novel therapeutic target, thus opening a new avenue in cancer



**Figure 2**

Schematic model of the involvement of plasma membrane lipid rafts, endoplasmic reticulum (ER), and mitochondria in edelfosine-induced apoptosis in cancer cells. Protection of mitochondria by Bcl-2 or Bcl-xL overexpression (or by Bax-/-/Bak-/-) prevents cell death, indicating that the apoptotic signals derived from the plasma membrane and ER converge on mitochondria.

therapy. In addition, the antitumor activity of edelfosine on solid tumors, including cancer stem cells, 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 eventual fate of the target cell. On the other hand, we have recently introduced a new concept in the interaction between the innate immune system, particularly neutrophils, and cancer cells favoring metastasis. Our main goals can be summed up as follows (a) identification of new signaling pathways to promote selectively cell death, mainly apoptosis, in tumor cells, using edelfosine as a tool to figure out new mechanisms in the modulation of the cell death process, which entails the involvement of lipid rafts, serving as platforms to host and concentrate signaling apoptotic routes in what we have coined as CASMERs (Clusters of Apoptotic Signaling Molecule-Enriched Rafts), and acting through their connection with other subcellular organelles; and (b) unraveling the molecular processes that facilitate the interaction between the innate immune system, particularly neutrophils and their cellular and functional plasticity, with the tumor cell, and how this interplay affects cancer metastasis and progression.

## Financiación / Funding

- PID2020-119656RB-I00 (MICINN)
- 2020/00322/001 (Junta de Castilla y León)
- SA262P18 (Junta de Castilla y León)
- 2018/00417/001 (Junta de Castilla y León)
- SAF2017-89672-R (MICINN)



**Alicia García Arroyo**Investigador Científico  
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  
Científico Titular, 2017-2021, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 2021, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Cristina Clemente Toribio  
Alberto Jiménez-Montiel  
Laura Luque Martín  
Rocío Moreno Cañadas  
Javier Cruz Caballero

Adrián Santiso Rubio  
Laura Cuesta Ramos  
Cristina Sánchez Camacho  
Natalia Moracho Pascual



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

## Metaloproteinasas de Matriz en Angiogénesis e Inflamación

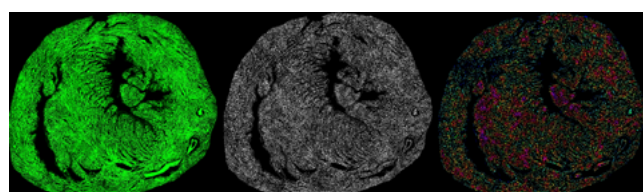
La respuesta vascular e inmunitaria al daño contribuye a la reparación tisular. Para comprender este proceso, nuestro grupo estudia las acciones de las metaloproteinasas de matriz de membrana y el flujo sanguíneo en la remodelación vascular y la vigilancia intravascular por monocitos patrulleros con el fin de mejorar la perfusión tisular en enfermedades cardiovasculares o inflamatorias y la actividad inmune en infecciones o metástasis pulmonares.

Nuestro grupo está interesado en 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 tras daño o isquemia. Para ello estudiamos las acciones de las metaloproteinasas de matriz extracelular ancladas a membrana (MT-MMPs) y más recientemente del flujo sanguíneo en: (i) el remodelado de las redes vasculares mediante poda (eliminación) o duplicación (expansión) de capilares, necesario para la optimización de la distribución de oxígeno y nutrientes; y (ii) el rastreo intravascular de los monocitos patrulleros, una subpoblación encargada de detectar daño y de combatir agentes extraños para restaurar la homeostasis vascular. Para ello empleamos técnicas de microscopía avanzada y análisis de imágenes 3D, herramientas computacionales, ensayos de flujo *in vitro* y modelos de ratones reporteros *in vivo*.

En cuanto al remodelado de redes vasculares hemos identificado que la ausencia de la proteasa MT4-MMP mejora la formación de arteriolas colaterales y la recuperación del flujo vascular tras la ligación de la arteria femoral mediante la regulación de la dinámica mitocondrial. También hemos reconocido la presencia de eventos de poda capilar en el corazón postnatal de ratón y su requerimiento para la maduración correcta de los cardiomiocitos.

Además, hemos propuesto que en los monocitos patrulleros los mecanismos de rastreo y búsqueda están acoplados y estamos determinando el papel de la proteasa MT4-MMP en regular el comportamiento de dichos monocitos en distintos contextos fisiopatológicos.

Estas líneas de investigación mejorarán la comprensión de estos procesos regulados por el flujo vascular y nos permitirán identificar dianas para: (i) mejorar la perfusión capilar y la reparación tisular en patologías cardiovasculares o inflamatorias; y (ii) aumentar la actividad inmune para combatir infecciones y metástasis tumorales principalmente en el pulmón.



**Figure 1**

2D and 3D image analysis to study the remodeling of vascular networks. The computational tool "number of neighbors" allows us to generate endothelial cell density maps that capture the dynamic rearrangements of these cells during vascular pruning in the postnatal mouse heart. Vasculature (green), endothelial nuclei (white), and density map (pseudocolor).

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Santamaría, R.; Cruz-Caballero, J.; Gkontra, P.; Jiménez-Montiel, A.; Clemente, C.; López, J. A.; Villaiba-Otero, M.; Vázquez, J.; Hutloff, A.; Lara-Pezzi, E.; Arroyo, A.G. Capillary pruning couples tissue perfusion and oxygenation with cardiomyocyte maturation in the postnatal mouse heart. *Front Cell Dev Biol* **2023**, *11*, 1256127, doi:10.3389/fcell.2023.1256127.
- Muñoz-Sáez, E.; Moracho, N.; Learte, A. I. R.; Collignon, A.; Arroyo, A. G.; Noel, A.; Sounni, N. E.; Sánchez-Camacho, C. Molecular Mechanisms Driven by MT4-MMP in Cancer Progression. *Int J Mol Sci* **2023**, *24*, 9944, doi:10.3390/ijms24129944.
- Mulero, F.; Oteo, M.; Garaulet, G.; Magro, N.; Rebollo, L.; Medrano, G.; Santiveri, C.; Romero, E.; Sellek, R. E.; Margolles, Y.; Campos-Olivas, R.; Arroyo, A. G.; Fernández, L. A.; Morcillo, M. A.; Martínez-Torrecuadrada, J. L. Development of anti-membrane type 1-matrix metalloproteinase nanobodies as immunoPET probes for triple-negative breast cancer imaging. *Front Med (Lausanne)* **2022**, *9*, 1058455, doi:10.3389/fmed.2022.1058455.
- Sahún-Español, A.; Clemente, C.; Jiménez-Loygorri, J. I.; Sierra-Filardi, E.; Herrera-Melle, L.; Gómez-Durán, A.; Sabio, G.; Monsalve, M.; Boya, P.; Arroyo, A. G. p38 MAPK priming boosts VSMC proliferation and arteriogenesis by promoting PGC1 $\alpha$ -dependent mitochondrial dynamics. *Sci Rep* **2022**, *12*, 5938, doi:10.1038/s41598-022-09757-x.
- Moracho, N.; Learte, A. I. R.; Muñoz-Sáez, E.; Marchena, M. A.; Cid, M. A.; Arroyo, A. G.; Sánchez-Camacho, C. Emerging roles of MT-MMPs in embryonic development. *Dev Dyn* **2022**, *251*, 240-275, doi:10.1002/dvdy.398.
- Martín-Alonso, M.; Iqbal, S.; Vornwald, P. M.; Lindholm, H. T.; Damen, M. J.; Martínez, F.; Hoel, S.; Díez-Sánchez, A.; Altelaar, M.; Katajisto, P.; Arroyo, A. G.; Oudhoff, M. J. Smooth muscle-specific MMP17 (MT4-MMP) regulates the intestinal stem cell niche and regeneration after damage. *Nat Commun* **2021**, *12*, 6741, doi:10.1038/s41467-021-26904-6.
- Moreno-Cañadas, R.; Luque-Martín, L.; Arroyo, A. G. Intravascular Crawling of Patrolling Monocytes: A Lévy-Like Motility for Unique Search Functions? *Front Immunol* **2021**, *12*, 730835, doi:10.3389/fimmu.2021.730835.
- Muñoz-Sáez, E.; Moracho, N.; Learte, A. I. R.; Arroyo, A. G.; Sánchez-Camacho, C. Dynamic Expression of Membrane Type 1-Matrix Metalloproteinase (Mt1-mmp/Mmp14) in the Mouse Embryo. *Cells* **2021**, *10*, 2448, doi:10.3390/cells10092448.

### Financiación / Funding

- PID2020-112981RB-I00 (MICINN). 2021-2024.
- PEJ-2020-AI\_BMD-18213 (Comunidad de Madrid). 2021-2023
- PEJ-2018-TL\_BMD-10786 (Comunidad de Madrid). 2019-2021.
- PR[17]\_BIO\_IMG\_0114 (BBVA Foundation). 2018-2021.
- SAF2017-83229-R (MCIU). 2018-2021.



## Matrix Metalloproteinases in Angiogenesis and Inflammation

**Vascular and immune responses to damage contribute to tissue repair. To understand this process, our group studies the actions of membrane matrix metalloproteinases and blood flow on vascular remodeling and intravascular surveillance by patrolling monocytes to improve tissue perfusion in cardiovascular or inflammatory diseases and immune activity in infections or metastases in the lung.**

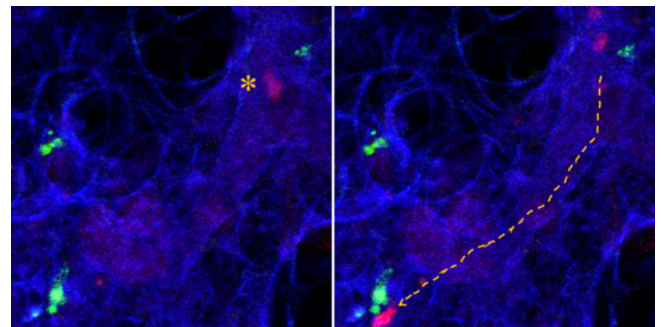
Our group is interested in elucidating the cellular basis and molecular mechanisms that govern vascular and immune responses during inflammation and how they may contribute to tissue repair after damage or ischemia. To this end, we study the actions of membrane-anchored extracellular matrix metalloproteinases (MT-MMPs) and more recently of blood flow in (i) the remodeling of vascular networks by pruning (removal) or duplication (expansion) of capillaries, necessary for the optimization of oxygen and nutrient distribution; and (ii) the intravascular crawling of patrolling monocytes, a subpopulation responsible for detecting damage and combating foreign agents to restore vascular homeostasis. To this end, we employ advanced microscopy techniques and 3D image analysis, computational tools, in vitro flow assays, and in vivo reporter mouse models.

In terms of vascular network remodeling, we have identified that the absence of MT4-MMP protease enhances collateral arteriolar formation and vascular flow recovery after femoral artery ligation by regulating mitochondrial dynamics. We have also recognized the presence of

capillary pruning events in the postnatal mouse heart and their requirement for proper cardiomyocyte maturation.

In addition, we have proposed that in patrolling monocytes crawling and search modes are coupled and we are determining the role of the MT4-MMP protease in regulating the behavior of these monocytes in different pathophysiological contexts.

These lines of research will improve our understanding of these processes regulated by vascular flow and will allow us to identify targets to: (i) improve capillary perfusion and tissue repair in cardiovascular or inflammatory pathologies; and (ii) increase immune activity to fight infections and tumor metastasis, mainly in the lung.



**Figure 2**

**Patrolling monocytes survey the microvasculature.** Patrolling monocytes (red) crawling through the mouse lung vasculature (blue) in search of circulating tumor cells (green), visualized by intravital confocal microscopy (the asterisk and the dotted line mark the starting position and the trajectory to the end position).



## José Ignacio Casal Álvarez

Investigador Científico  
 icasal@cib.csic.es



PhD, 1984, CBM, 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 CIB, CSIC, 2008

### Otros miembros / Other members

Rubén A. Bartolomé Conde  
 Laura Pintado Berninches  
 Tania Calvo López  
 Pablo Otero Núñez

Marta Jaén Castaño  
 Ángela Martín Regalado  
 Javier Robles Sebastián  
 Issam Boukich

**W** <https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/mechanisms-cancer-metastasis>

# Mecanismos de metástasis tumoral

**Nuestro grupo estudia los mecanismos moleculares implicados en la metástasis del cáncer colorrectal y otros tumores, incluyendo la regulación de la plasticidad epitelial, la diferenciación y la resistencia a fármacos. Nuestro objetivo final es la obtención de nuevas terapias y la identificación de biomarcadores diagnósticos y pronósticos de utilidad clínica.**

Nuestro grupo estudia la biología del cáncer, con especial énfasis en la diseminación y la colonización metastásica.

- Se han identificado moléculas como cadherina 17 (CDH17), IL13R $\alpha$ 2 o SOSTDC1 que juegan un papel clave en la adhesión, migración y supervivencia celular en metástasis. CDH17 juega un papel clave en la colonización del hígado y participa en la activación de integrinas utilizando un motivo RGD, también presente en otras cadherinas. El bloqueo de la unión cadherina-integrina  $\alpha$ 2 $\beta$ 1 mediada por RGD tiene una clara utilidad terapéutica no solo en cáncer colorrectal, sino también en otros tumores. Se ha caracterizado un panel de anticuerpos anti-cadherina RGD y su capacidad terapéutica para inhibir la metástasis en diferentes tumores. Recientemente hemos identificado la cadherina desmosomal DSC1 como un mediador clave de las actividades de CDH17 en la diseminación metastásica.

- El proceso de invasión tumoral se acompaña de cambios en la morfología y el fenotipo celular conocido como transición epitelio-mesénquima (EMT) y su proceso inverso MET. Datos recientes indican que CDH17 regula la expresión de proteínas clave en la capacidad stem y la resistencia a los fármacos en el cáncer colorrectal. Actualmente estamos involucrados en la caracterización del papel de CDH17 en la regulación de la vía Wnt con el objetivo de identificar nuevas dianas de valor terapéutico.

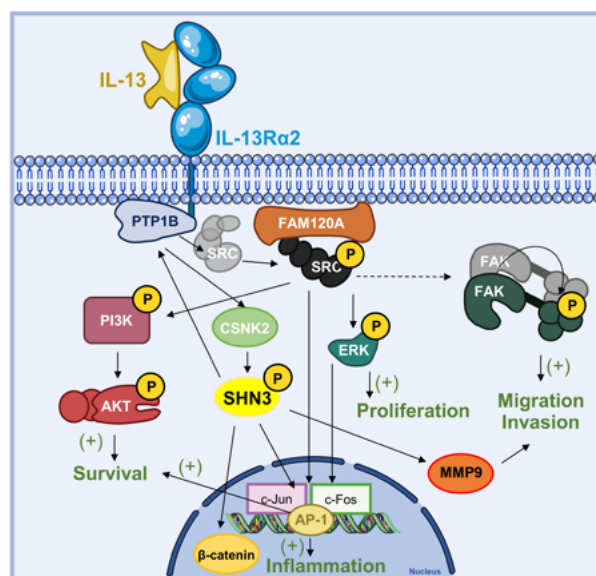
- En cuanto a IL13R $\alpha$ 2, hemos demostrado su capacidad de señalización inducida por IL-13 y hemos identificado los mediadores implicados en su vía de señalización: FAM120A, PTP1B y SHN3. Hemos diseñado un péptido IL13R $\alpha$ 2 capaz de inhibir la unión y la actividad pro-metastásica de IL13, que se ha utilizado para generar anticuerpos monoclonales capaces de inhibir la metástasis hepática en el cáncer colorrectal. Estos hallazgos han dado lugar a diversas patentes.

### Figure 1

**Deciphering the IL-13/IL13R $\alpha$ 2 signaling pathway.** A functional model involving IL13/PTP1B/SHN3/MMP9 during cancer progression in IL13R $\alpha$ 2-positive tumors. IL-13 promotes cancer cell invasion and proliferation through PTP1B-mediated Src activation, which would then activate CSNK2-mediated SHN3 phosphorylation, which in turn regulates AP-1 activation, Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and MMP9 expression promoting cancer invasion.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Bartolomé, R. A.; Martín-Regalado, A.; Pintado, L.; Robles, J.; Boukich, I.; Sanchez-Gómez, P.; Balyasnikova, I. V.; Casal, J. I. Schnurri-3 drives tumor growth and invasion in cancer cells expressing interleukin-13 receptor alpha 2. *Cell Death Dis* 2023, 14, 742, doi:10.1038/s41419-023-06255-4.
- Montero-Calle, A.; Jiménez de Ocaña, S.; Benavente-Naranjo, R.; Rejas-González, R.; Bartolomé, R. A.; Martínez-Useros, J.; Sanz, R.; Dziaková, J.; Fernández-Aceñero, M. J.; Mendiola, M.; Casal, J. I.; Peláez-García, A.; Barderas, R. Functional Proteomics Characterization of the Role of SPRYD7 in Colorectal Cancer Progression and Metastasis. *Cells* 2023, 12, 2548, doi:10.3390/cells12212548.
- Bartolomé, R. A.; Casal, J. I. Proteomic profiling and network biology of colorectal cancer liver metastasis. *Expert Rev Proteomics* 2023, 24, 1-14, doi:10.1080/14789450.2023.2275681.
- Robles, J.; Pintado-Berninches, L.; Boukich, I.; Escudero, B.; de Los Ríos, V.; Bartolomé, R. A.; Jaén, M.; Martín-Regalado, A.; Fernández-Aceñero, M. J.; Imbaud, J. I.; Casal, J. I. A prognostic six-gene expression risk-score derived from proteomic profiling of the metastatic colorectal cancer secretome. *J Pathol Clin Res* 2022, 8, 495-508, doi:10.1002/cjp2.294.
- Jaén, M.; Martín-Regalado, A.; Bartolomé, R. A.; Robles, J.; Casal, J. I. Interleukin 13 receptor alpha 2 (IL13R $\alpha$ 2): Expression, signaling pathways and therapeutic applications in cancer. *BBA Rev Cancer* 2022, 1877, 188802, doi:10.1016/j.bbcan.2022.188802.
- Jaén, M.; Bartolomé, R. A.; HYPERLINK "https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33917458/#\_blank" Aizpurua, C.; Martín-Regalado, A.; Imbaud, J. I.; Casal, J. I. Inhibition of Liver Metastasis in Colorectal Cancer by Targeting IL-13/IL13R $\alpha$ 2 Binding Site with Specific Monoclonal Antibodies. *Cancers (Basel)* 2021, 13, 1731, doi:10.3390/cancers13071731.
- Bartolomé, R. A.; Robles, J.; Martín-Regalado, A.; Pintado-Berninches, L.; Burdiel, M.; Jaén, M.; Aizpurúa, C.; Imbaud, J. I.; Casal, J. I. CDH6-promoted crosstalk between  $\alpha$ 1 $\beta$ 3 and  $\alpha$ 2 $\beta$ 1 integrins regulates adhesion and invasion in metastatic ovarian and renal cancers. *Mol Oncol* 2021, 15, 1849-1865, doi:10.1002/1878-0261.12947
- López-Janeiro, A.; Ruz-Caracuel, I.; Ramón-Patino, J. L.; De Los Ríos, V.; Villalba Esparza, M.; Berjón, A.; Yébenes, L.; Hernández, A.; Masetto, I.; Kadioglu, E.; Goubert, V.; Heredia-Soto, V.; Barderas, R.; Casal, J. I.; de Andrea, C. E.; Redondo, A.; Mendiola, M.; Peláez-García, A.; Hardisson, D. Proteomic Analysis of Low-Grade, Early-Stage Endometrial Carcinoma Reveals New Dysregulated Pathways Associated with Cell Death and Cell Signaling. *Cancers (Basel)* 2021, 13, 794. doi:10.3390/cancers13040794.



# Mechanisms of cancer metastasis

Our group studies the molecular mechanisms involved in the metastasis of colorectal cancer and other tumors, including the regulation of epithelial plasticity, differentiation and drug resistance. Our ultimate goal is to obtain new therapies and identify clinically useful diagnostic and prognostic biomarkers.

Our group studies the biology of cancer, with special emphasis on dissemination and metastatic colonization.

- Molecules such as cadherin 17 (CDH17), IL13R $\alpha$ 2, or SOSTDC1 have been identified as they play a key role in cell adhesion, migration, and survival in metastasis. CDH17 plays a key role in liver colonization and participates in integrin activation using an RGD motif, which is also present in other cadherins. Blocking RGD-mediated cadherin-integrin  $\alpha$ 2 $\beta$ 1 binding has clear therapeutic utility not only in colorectal cancer but also in other tumors. A panel of anti-RGD-cadherin antibodies and their therapeutic capacity to inhibit metastasis in different tumors have been characterized. We have recently identified the desmosomal cadherin DSC1 as a key mediator of CDH17 activities in metastatic dissemination.

- The process of tumor invasion is accompanied by changes in morphology and cellular phenotype known as epithelial-mesenchymal transition (EMT) and its reverse process MET. Recent data indicate that CDH17 regulates the expression of key proteins in stemness and drug resistance in colorectal cancer. We are currently involved in characterizing the role of CDH17 in the regulation of the Wnt pathway to identify new targets of therapeutic value.

- Regarding IL13R $\alpha$ 2, we have demonstrated its signaling capacity induced by IL-13 and identified the mediators involved in its signaling pathway: FAM120A, PTP1B, and SHN3. We have designed an IL13R $\alpha$ 2 peptide capable of inhibiting the binding and pro-metastatic activity of IL13, which has been used to generate monoclonal antibodies capable of inhibiting liver metastasis in colorectal cancer. These findings have given place to various patents.

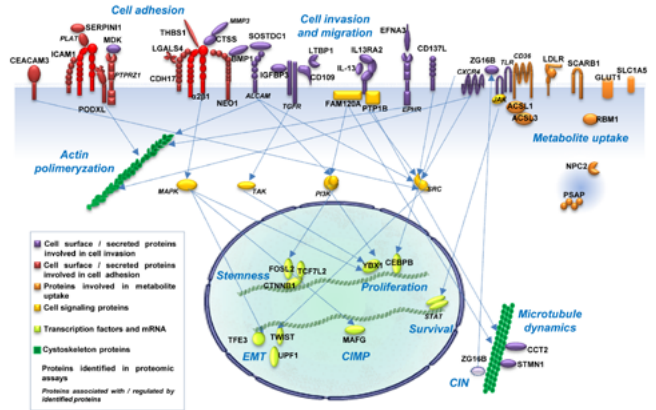


Figure 2

A summary of proteins involved in CRC metastasis. Proteins identified by proteomic assays in CRC cell lines are classified by cell location and their pro-metastatic functions. Most proteins are cell receptors involved in cell adhesion or cell signaling leading to enhanced invasiveness, proliferation, stemness, and survival through the activity of signaling proteins and transcription factors.

## Financiación / Funding

- PMPTA22/00108 (ISCIII)
- Convocatoria redes grupos CAM - Biomedicina 2022
- CPP2021-008337 (MICYT)
- PDC2022-133056-I00 (MICYT)
- PID2021-1222270B-I00 (MICYT)
- IND2022/BMD-23554 (CAM)

## Patentes / Patents

- José Ignacio Casal y Javier Robles, 1 Agosto 2022, "Gene signature for the prognosis of colorectal cancer", EP22382745.2
- José Ignacio Casal, Marta Jaén y Rubén Bartolomé, 31 Marzo 2021, "Antibody and use thereof for the treatment of cancer", EP121382266.1



**Aurora Gómez-Durán**

Atracción de Talento de la Comunidad de Madrid

aurora.gomez@cib.csic.es

aurora.gomez@usc.es (actual)



PhD, 2012, Universidad de Zaragoza

Research Associate, 2012-2015, Institute of Medical Genetics, University of Newcastle, UK

Investigator Scientist, 2015-2019, MRC-MBU, University of Cambridge, UK

Group Leader, 2020-2022, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Cristina de Jesús Sen

María Antonia Febrer

Nerea González García

Carmen Gil García

Diego González-Pérez

Carmen Linares Andújar

Virginia García-Calvo

Ignacio Monar Redondo

<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/mitophenomics>

# Mitofenómica

**El objetivo de nuestro laboratorio es descifrar cómo la variación genética en el genoma mitocondrial impacta en fenotipos celulares, identificar nuevos mecanismos en enfermedad y la sensibilidad a fármacos.**

Las mitocondrias son orgánulos vitales que coordinan el metabolismo celular, la función del sistema inmunológico y la autofagia. La función mitocondrial está regulada por la comunicación entre el genoma nuclear y mitocondrial (ADNmt). El ADNmt es pequeño, poco estudiado y de herencia materna. Mutaciones patológicas en el ADNmt causan un grupo de patologías raras, con gran variación en la penetrancia, conocidas como enfermedades mitocondriales (EM). Además, variantes poblacionales en este genoma (haplogrupos) también se han asociado con un aumento de la penetrancia de patologías comunes (ej. Parkinson, cáncer) y las EM, si bien los mecanismos moleculares se desconocen.

Recientes observaciones de nuestro laboratorio han puesto de manifiesto la relación entre la variación fenotípica mitocondrial con enfermedades comunes y raras, sin la acción directa de la fosforilación oxidativa, sino vías celulares vitales (ej. mTORC1). Estos datos han generado nuevas incógnitas. Por ello, nuestro objetivo es comprender el papel de la variación fenotípica mitocondrial en el metabolismo y la señalización celular en salud y enfermedad, caracterizar funcionalmente estos procesos biológicos y encontrar biomarcadores y nuevos tratamientos farmacogenómicos.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Green, A. P.; Klimm, F.; Marshall, A. S.; Leetmaa, R.; Aryaman, J.; Gómez-Durán, A.; Chinnery, P. F.; Jones, N. S. Cryptic mitochondrial ageing coincides with mid-late life and is pathophysiologically informative in single cells across tissues and species. *bioRxiv* 2023, doi:10.1101/2023.07.04.547509.
- Sahún-Español, A.; Clemente, C.; Jiménez-Loygorri, J. I.; Sierra-Filardi, E.; Herrera-Melle, L.; Gómez-Durán, A.; Sabio, G.; Monsalve, M.; Boya, P.; Arroyo, A. G. p38 MAPK priming boosts VSMC proliferation and arteriogenesis by promoting PGC1 $\alpha$ -dependent mitochondrial dynamics. *Sci Rep* 2022, 12, 5938, doi:10.1038/s41598-022-09757-x.
- Bicci, I.; Calabrese, C.; Golder, Z. J.; Gómez-Durán, A.; Chinnery, P. F. Single-molecule mitochondrial DNA sequencing shows no evidence of CpG methylation in human cells and tissues. *Nucleic Acids Res* 2021, 49, 12757-12768, doi:10.1093/nar/gkab1179.
- Gómez-Durán, A.; Cai, Na.; Yonova-Doing, E.; Stegle, O.; Chinnery, P. F.; Soranzo, N. Mitochondrial DNA variants modulate N-formylmethionine, proteostasis and risk of late-onset human diseases. *Nat Med* 2021, 27, 1564-1575, doi:10.1038/s41591-021-01441-3.
- Yonova-Doing, E.; Calabrese, C.; Gómez-Durán, A.; Schon, K.; Wei, W.; Karthikeyan, S.; Chinnery, P. F.; Howson, J. M. M. An atlas of mitochondrial DNA associations in UK Biobank reveals associations with renal and liver function. *Nat Genet* 2021, 53, 982-993, doi:10.1038/s41588-021-00868-1.
- Pezet, M. G.; Gómez-Durán, A.; Klimm, F.; Aryaman, J.; Burr, S.; Wei, W.; Saitou, M.; Prudent, J.; Chinnery, P. F. Oxygen tension modulates the mitochondrial genetic bottleneck and influences the segregation of a heteroplasmic mtDNA variant. *Commun Biol* 2021, 4, 584, doi:10.1038/s42003-021-02069-2

# MitoPhenomics

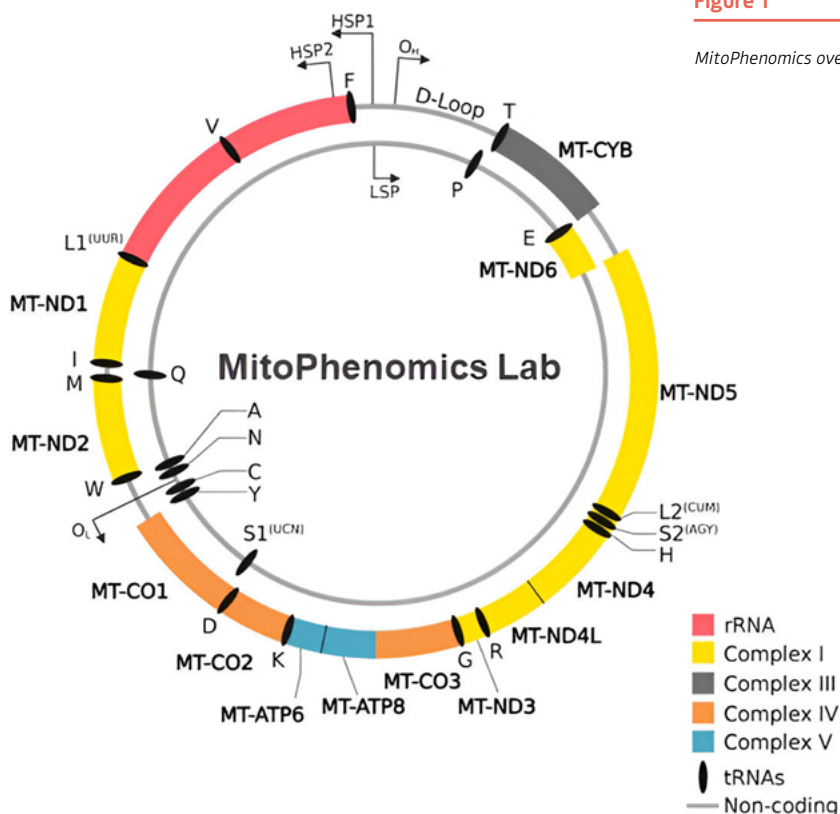
**Our lab aims to decipher how genetic variation in the mitochondrial genome impacts cellular phenotypes, and identify new mechanisms involved in disease and drug sensitivity.**

Mitochondria are vital organelles that coordinate cell metabolism, immune system function, and autophagy. Mitochondrial function is regulated by communication between the mitochondrial genome (mtDNA) and the nuclear genome. mtDNA is a small, understudied, maternally inherited genome. Pathological mutations in the mtDNA cause a group of rare diseases, with great variation in penetrance, known as mitochondrial diseases (MDs). In addition, maternally inherited mtDNA population variants (haplogroups) have also been associated with an increase in the penetrance of common diseases such as Parkinson and cancer as well as MDs. However, how mtDNA variation impacts this phenomenon is unknown.

Our recent observations have provided a new mechanism linking mitochondrial phenotypic variation with common and rare diseases that do not directly involve oxidative phosphorylation but vital pathways (i.e. mTORC1, ISR) through metabolic regulation, with impact at several levels. These data have generated many new questions. Thus, we aim to understand the role of mitochondrial phenotypic variation in metabolism and cell signaling in health and disease, functionally characterize these biological processes and find biomarkers and new pharmacogenomic treatments.

## Financiación / Funding

- IDEAS222813GOME (Proyecto Semilla AECC, 2022-2024)
- PEJ-2021-AI/BMD-21431 (CAM, 2022-2025)
- RYC2020-029291-I (MCIN/AEI, 2022-2027)
- PID2020-114709RA-I00 (MCIN/AEI, 2021-2024)
- PEJ-2020-AI/BMD-17829 (CAM, 2021-2023)



**Santiago Rodríguez de Córdoba**

Profesor de Investigación

srdecorbada@cib.csic.es



PhD, 1981, Hospital Ramón y Cajal, Universidad Complutense de Madrid  
 Visiting Scientist, 1981, Associate Investigator, 1985, The New York Blood Center, NY, USA  
 Científico Titular, 1986  
 Incorporación CIB, CSIC, 1989  
 Investigador Científico, 1990, CIB, CSIC  
 Profesor de Investigación, 2000, CIB, CSIC  
 Director Unidad de Patología Molecular, 1996-2002, Fundación Jiménez Díaz, Madrid

**Otros miembros / Other members**

Marta Subías Hidalgo  
 Héctor Martín Merinero  
 Adrián Martín-Ambrosio Doménech  
 Silvia González Sanz  
 Lucía Juana López  
 Sheila Pinto García  
 Malkoa Michelena González

Andrea Reparaz Suevos  
 Jesús María García Fernández  
 Emilia Arjona Bolaños  
 Ángela Ruiz Sánchez

**W** <https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/molecular-pathology-complement-genetics>

# Patología Molecular / Genética del Complemento

**Estudiamos el complemento y las enfermedades que se asocian con su desregulación. Nuestra actividad incluye el estudio de la variabilidad genética de los componentes del complemento y la caracterización funcional y estructural de las proteínas que codifican. También generamos modelos animales de enfermedad con el fin de entender los mecanismos patogénicos y desarrollar moléculas con potencial terapéutico y nuevas estrategias diagnósticas.**

Nuestro trabajo actual se centra en el estudio del papel del sistema del complemento en salud y enfermedad. El complemento es un componente esencial en la inmunidad innata con papeles fundamentales en infección, eliminación de restos celulares e inmunocomplejos 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 las causas precisas de la desregulación del complemento en estas patologías para entender mejor sus mecanismos patogénicos. Nuestra actividad experimental es multidisciplinar y se centra en el estudio del síndrome hemolítico urémico atípico, la glomerulopatía C3, la degeneración macular asociada a la edad, la hemoglobinuria paroxística nocturna y la nefropatía IgA. La identificación y caracterización 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 o describiendo funciones previamente desconocidas, como es el caso de la actividad de las proteínas FHRs.

Los resultados de nuestra actividad investigadora tienen una traslación casi inmediata a la clínica, facilitando una medicina de precisión. 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 el estudio genético y molecular de estas patologías, lo que está permitiendo implementar en esta área una medicina individualizada.

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

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Huerta, A.; Arjona, E.; Portoles, J.; López-Sánchez, P.; Cavero, T.; Fernández-Cusicanqui, J.; Blasco, M.; Cabello, V.; Calvo, N.; Diaz, M.; Herrero-Goñi, M.; Aguirre, M.; Elías, S.; Alcaide, M. P.; Ramos, N.; Sellares, J.; Rodríguez de Córdoba, S. On the relevance of thrombomodulin variants in atypical hemolytic uremic syndrome. *Kidney Int* **2023**, 104, 851-855, doi:10.1016/j.kint.2023.07.020
- Okroj, M.; Rodríguez de Córdoba, S. Will a hyperactive classical complement pathway exacerbate autoimmune diseases? Letter to the Editor. *Autoimmunity Reviews* **2023**, 22, 103241, doi:10.1016/j.autrev.2022.103241
- Rodríguez de Córdoba, S. Genetic variability shapes the Alternative Pathway complement activity and predisposition to complement-related diseases. *Immunol Rev* **2023**, 313, 71-90, doi:10.1111/imr.13131
- Cavero, T.; Auñón, P.; Caravaca-Fontán, F.; Trujillo, H.; Arjona, E.; Morales, E.; Guillén, E.; Blasco, M.; Rabasco, C.; Espinos, M.; Blanco Pardo, M.; Rodríguez-Magariños, C.; Cao, M.; Ávila, A.; Huerta, A.; Rubio, E.; Cabello-Chavez, V.; Barrios, X.; Goicoechea de Jorge, E.; Rodríguez de Córdoba, S.; Praga, M. Thrombotic microangiopathy in patients with malignant hypertension. *Nephrol Dial Transpl* **2023**, 38, 1217-1226, doi:10.1093/ndt/gfac248
- Serrano, I.; Luque, A.; Mitjavila, F.; Blom, A. M.; Rodríguez de Córdoba, S.; Vega, M. C.; Torras, J.; Aran, J. M. The hidden side of complement regulator C4BP: dissection and evaluation of its immunomodulatory activity. *Front Immunol* **2022**, 13, 883743, doi:10.3389/fimmu.2022.883743
- Márquez-Tirado, B.; Gutiérrez-Tenorio, J.; Tortajada, A.; Lucientes-Continente, L.; Caravaca-Fontán, F.; Malik, T. H.; Roldán-Montero, R.; Elías, S.; Saiz, A.; Fernández-Juarez, G.; Sánchez-Corral, P.; Pickering, M. C.; Praga, M.; Rodríguez de Córdoba, S.; Goicoechea de Jorge, E. Factor H-Related protein 1 drives disease susceptibility and prognosis in C3 Glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol* **2022**, 33, 1137-1153, doi:10.1681/ASN.2021101318
- Fernández, F. J.; Santos-López, J.; Martínez-Barricarte, R.; Querol-García, J.; Martín-Merino, H.; Navas-Yuste, S.; Savko, M.; Shepard, W. E.; Rodríguez de Córdoba, S.; Vega, M. C. The crystal structure of iC3b-CR2 *α1* reveals a modular recognition of the main opsonin iC3b by the CR3 integrin receptor. *Nat Commun* **2022**, 13, 1955, doi:10.1038/s41467-022-29580-2
- Urban, A.; Kowalska, D.; Stasióć, G.; Kuźniewska, A.; Skrobińska, A.; Arjona, E.; Castellote Alonso, E.; Fenollosa Segarra, M. A.; Jorgenius, I.; Spaapen, R.; Satchell, S.; Thiel, M.; Ołdziej, S.; Rodríguez de Córdoba, S.; Okroj, M. Gain-of-function mutations R249C and S250C in complement C2 protein increase C3 deposition in the presence of C-Reactive Protein. *Front Immunol* **2021**, 12, 724361, doi:10.3389/fimmu.2021.724361
- Martín-Merino, H.; Zhang, Y.; Arjona, E.; del Ángel, G.; Goodfellow, R.; Gómez-Rubio, E.; Ji, R. R.; Michelena, M.; Smith, R. J. H.; Rodríguez de Córdoba, S. Functional characterization of 105 Factor H variants associated with aHUS: lessons for variant classification. *Blood* **2021**, 138, 2185-2201, doi:10.1182/blood.2021012037
- García-Fernández, J.; Vilches-Arroyo, S.; Olavarrieta, L.; Pérez-Pérez, J.; Rodríguez de Córdoba, S. Detection of genetic rearrangements in the regulators of complement activation RCA cluster by high throughput sequencing and MLPA. *Methods Mol Biol* **2021**, 2227, 159-178, doi:10.1007/978-1-0716-1016-9\_16
- Martín-Merino, H.; Subías, M.; Pereda, A.; Gómez-Rubio, E.; Juana-López, L.; Fernández Rivera, C.; Goicoechea de Jorge, E.; Martín-Santamaría, S.; Cañada, F. J.; Rodríguez de Córdoba, S. Molecular bases for the association of FHR-1 with atypical hemolytic uremic syndrome and other diseases. *Blood* **2021**, 137, 3484-3494, doi:10.1182/blood.202010069

**Financiación / Funding**

- SAF2016-81876-REDT (MINECO/AEI)
- S2017/BMD-3673 (CAM)
- Fundación Kidneys (OPE01750)
- PID2019-104912RB-I00 (MICINN)
- CSIC-COVID19-206 (CSIC-PIE)
- 202220E058 (CSIC-PIE)
- RED2022-134750-T (MICINN)
- S2022/BMD-7278 (CAM)

# Molecular Pathology / Complement Genetics

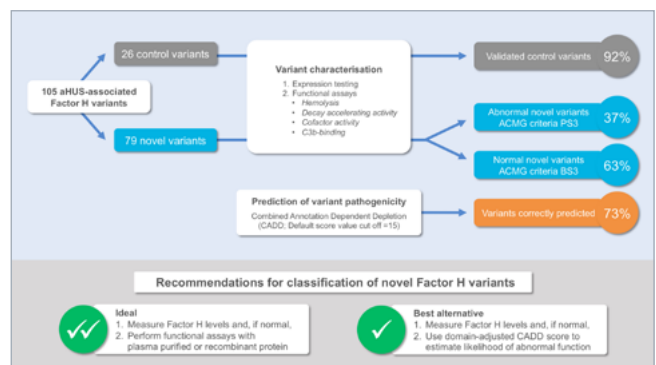
*We study the complement and the diseases that are associated with its dysregulation. Our activity includes the study of the genetic variability of complement components and the functional and structural characterization of the proteins they encode. We also generate animal models of disease to understand pathogenic mechanisms and develop molecules with therapeutic potential and novel diagnostic strategies.*

Our current work focuses on the study of the role of the complement system in health and disease. The complement is an essential component in innate immunity with fundamental roles in infection, elimination of cellular and immune complex debris, and modulation of acquired immunity. However, it is a double-edged sword as its uncontrolled activation is associated with many diseases. Our goal is to understand the precise causes of complement dysregulation in these pathologies to understand better their pathogenic mechanisms. Our experimental activity is multidisciplinary and focuses on the study of atypical hemolytic uremic syndrome, C3 glomerulopathy, age-related macular degeneration, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria, and IgA nephropathy. The identification and characterization of pathogenic variants of complement proteins associated with disease is also allowing us to advance in basic aspects of the complement system, providing mechanistic knowledge of its activities or describing previously unknown functions, such as the activity of FHRs proteins.

The results of our research activity have an almost immediate transfer to the clinic, facilitating precision medicine. 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 benchmark in the genetic and molecular study of these pathologies.

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



**Figure 1**

Validation of a new strategy for the functional characterization of variants in factor H, and classification of 79 previously uncharacterized variants through its implementation. Based on the results, recommendations for the classification of new variants were established.



**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

Colaborador Científico, 1988, CIB, CSIC

Jefe de Grupo, 1988, CIB, CSIC

Investigador Científico, 1990, CIB, CSIC

Investigador *Ad honorem*, 2022, CIB, CSIC

W

<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/t-lymphocyte-activation>

## Activación de Linfocitos T

**Estudiamos moléculas co-estimuladoras de linfocitos T (CD28 y el co-estimulador inducible ICOS/CD278), sus ligandos (CD80, CD86, ICOS-L) y moléculas directamente implicadas en su señalización (PI3 quinasas de clase I) esenciales para las respuestas inmunitarias eficientes. Analizamos su expresión y papel funcional en células mieloides y linfocitos T y su impacto en modelos de enfermedad autoinmune. Además, analizamos la utilidad y el impacto de nanomateriales en inmunidad innata y adaptativa.**

Nos interesan vías de modulación de la respuesta inmune innata y adaptativa. Estudiamos moléculas co-estimuladoras (CD28 y el co-estimulador inducible ICOS/CD278) que son esenciales para la respuesta antígeno-específica de linfocitos T, y también las PI3 quinasas de clase I, como la subunidad catalítica p110 $\alpha$ , que están directamente implicadas en su señalización.

CD28 e ICOS son típicamente expresadas por linfocitos T, pero nuestros resultados recientes muestran que también se expresan y son funcionales en células linfoides o mieloides de la inmunidad innata como macrófagos, y particularmente macrófagos anti-inflamatorios M2 (ver Estrada-Capetillo *et al.* 2021).

Las células de la inmunidad innata expresan los ligandos de CD28 y de ICOS (CD80, CD86, y el ligando de ICOS, ICOS-L), lo cual sugiere que la expresión simultánea de moléculas coestimuladoras y sus ligandos forman circuitos de regulación negativa de las señales de CD28 e ICOS. En este sentido, hemos mostrado una internalización ICOS-dependiente de su ligando que implica un mecanismo de trans-endocitosis (Aragoneses-Fenoll *et al.* 2021, ver Figura).

Respecto a la inmunidad adaptativa, estudios de transcriptómica muestran que ICOS regulan vías relacionadas con STAT3, osteoartritis y glicosaminoglicanos, mientras CD28 regula vías de p38 MAPK, la cadena respiratoria y la biosíntesis de colesterol (Gigliotti *et al.* 2022).

Empleando ratones modificados genéticamente hemos determinado que la PI3 quinasa p110 $\alpha$  participa en la homeostasis, la diferenciación y la función de subpoblaciones de linfocitos T incluyendo células T reguladoras. La actividad de esta subunidad tiene un impacto claro en el desarrollo de enfermedades como la artritis inducida por colágeno o la

encefalitis experimental autoinmune (ver Rojo *et al.* 2021 y Montes-Casado *et al.* 2021), con variaciones notables en función de la edad (Rojo *et al.* 2021).

Por último, hemos continuado analizando el impacto de nanomateriales en la función de células de la inmunidad innata (Díez-Orejas *et al.* 2021).

Los resultados sugieren nuevas dianas moleculares y nuevas aproximaciones metodológicas en inmunoterapia, para favorecer respuestas inmunes eficientes frente a patógenos y tumores, o evitar procesos adversos como alergias, enfermedades autoinmunes, o rechazo de trasplantes.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Gigliotti, C. L.; Boggio, E.; Favero, F.; Incarnato, D.; Santoro, C.; Oliviero, S.; Rojo, J. M.; Zucchelli, S.; Persichetti, F.; Baldanzi, G.; Dianzani, U.; Corà, D. Specific transcriptional programs differentiate ICOS from CD28 costimulatory signaling in human naïve CD4<sup>+</sup> T cells. *Front Immunol* 2022, 13, 915963, doi:10.3389/fimmu.2022.915963.
- Rojo, J.M.; Montes-Casado, M.; Aragoneses-Fenoll, L.; Ojeda, G.; Dianzani, U.; Portolés, P. PI3-Kinase p110 $\alpha$  deficiency modulates T cell homeostasis and function and attenuates Experimental Allergic Encephalitis in mature mice. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 8698, doi:10.3390/ijms22168698.
- Montes-Casado, M.; Ojeda, G.; Criado, G.; Rojo, J. M.; Portolés, P. The PI-3-kinase p110 $\alpha$  catalytic subunit of T lymphocytes modulates Collagen-Induced Arthritis. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 6405, doi:10.3390/ijms22126405.
- Estrada-Capetillo, L.; Aragoneses-Fenoll, L.; Domínguez-Soto, A.; Fuentelsaz-Romero, S.; Nieto, C.; Simón-Fuentes, M.; Alonso, B.; Portolés, P.; Corbí, A. L.; Rojo, J. M.; Puig-Króger, A. CD28 is expressed by macrophages with anti-inflammatory potential and limits their T-cell activating capacity. *Eur J Immunol* 2021, 51, 824-834, doi:10.1002/eji.202048806.
- Díez-Orejas, R.; Casarrubios, L.; Feito, M. J.; Rojo, J. M.; Vallet-Regí, M.; Arcos, D.; Portolés, M. T. Effects of mesoporous SiO<sub>2</sub>-CaO nanospheres on the murine peritoneal macrophages/*Candida albicans* interface. *Int Immunopharmacol* 2021, 94, 107457, doi:10.1016/j.intimp.2021.107457.
- Aragoneses-Fenoll, L.; Montes-Casado, M.; Ojeda, G.; García-Paredes, L.; Arimura, Y.; Yagi, J.; Dianzani, U.; Portolés, P.; Rojo, J. M. Role of endocytosis and trans-endocytosis in ICOS costimulator-induced downmodulation of the ICOS Ligand. *J Leukoc Biol* 2021, 110, 867-884, doi:10.1002/jlb.2a0220-127r.



# T Lymphocyte Activation

**We are interested in costimulatory molecules expressed by T lymphocytes (CD28 and inducible costimulatory molecule ICOS/ CD278), their ligands (CD80, CD86, ICOS-L), and molecules directly involved in their signaling (PI3 class I kinases) essential to efficient immune responses. We analyze their expression and functional role in myeloid cells and T lymphocytes and their impact on autoimmune disease models. In addition, we analyze the use and impact of nanomaterials on innate and adaptive immunity.**

We are interested in new ways to control innate and adaptive immune responses. We have studied costimulatory molecules (CD28 and inducible costimulatory (ICOS/CD278) that are essential for the antigen-specific response of T lymphocytes, and also class I PI3 kinases, such as the catalytic subunit p110 $\alpha$ , which are directly involved in their signaling.

Whereas CD28 and ICOS are needed for efficient T cell-dependent adaptive immune responses, our recent results show that they can also be expressed by and are functional in lymphoid and myeloid cells of the innate arm of the immune system, like macrophages, particularly the anti-inflammatory M2 macrophages (see Estrada-Capetillo et al. 2021).

Innate immune cells can also express CD28 and ICOS ligands (CD80, CD86, as well as the ICOS ligand, ICOS-L), suggesting that the simultaneous expression of costimulatory molecules and their ligands form circuits down-regulating CD28 and ICOS signals. In this regard, we have shown an ICOS-ligand-dependent internalization involving a mechanism of trans-endocytosis (Aragoneses-Fenoll et al. 2021, see Figure)

Concerning adaptive immunity, transcriptomic studies show differences in that ICOS regulates STAT3-related pathways, osteoarthritis, and glycosaminoglycans, while CD28 regulates p38 MAPK pathways, the respiratory chain, and cholesterol biosynthesis (Gigliotti et al. 2022).

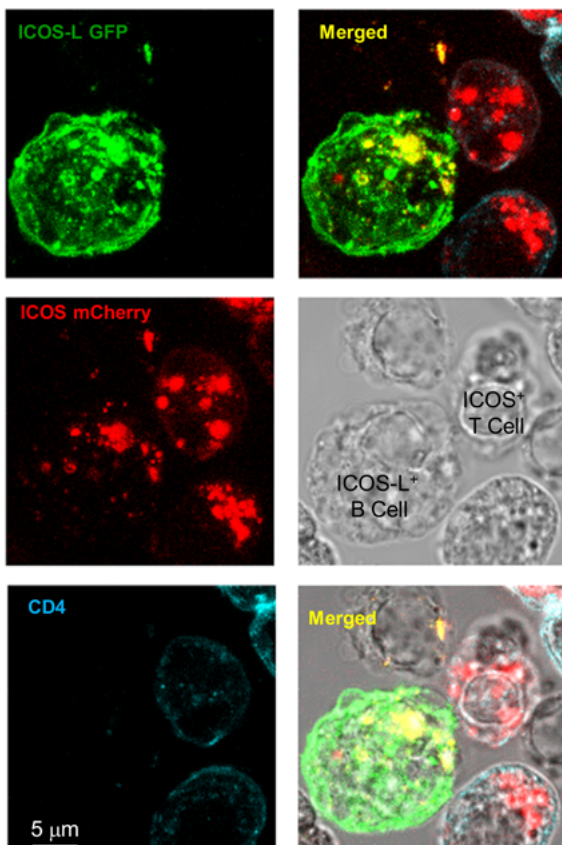
Using genetically modified mice, we have determined that PI3 kinase p110 $\alpha$  is involved in the homeostasis, differentiation, and function of distinct subpopulations of T lymphocytes, including regulatory T cells. The activity of PI3 kinase p110 $\alpha$  has a clear impact on the development of diseases such as collagen-induced arthritis or experimental autoimmune encephalitis (see Rojo et al. 2021 and Montes-Casado et al. 2021), with clear variations depending on age (Rojo et al. 2021).

Last, we have continued to analyze the impact of nanomaterials on the function of innate immunity cells (Díez-Orejas et al. 2021).

Our results suggest new molecular targets and new methodological approaches in immunotherapy, to favor efficient immune responses against pathogens and tumors, while avoiding adverse processes such as allergies, autoimmune diseases, or transplant rejection.

## Financiación / Funding

- SAF2017-89672-R (MINECO, 2018-2021)
- AESI 21CIII/022 (ISCIII)



**Figure 1**

Cells of the M12 B cell lymphoma transfected with ICOS-L-GFP fusion protein (green) were co-incubated with CD4+ T cells (blue) transfected with ICOS-mCherry fusion protein (red) and analyzed by confocal microscopy. Merged panels show that ICOS-L GFP is located in the cell membrane and intracellular vesicles of B cells co-localizing with ICOS-mCherry from the T cell [Aragoneses-Fenoll et al. 2021].

**Estela Area Gómez**

Científico titular

estela.area@cib.csic.es



PhD, 2004, Universidad Autónoma de Madrid  
 Postdoctoral, 2004-2006, Columbia University  
 Científica asociada, 2006-2014; Profesora asistente, 2014-2022;  
 Profesora asociada adjunta, 2022, Columbia University  
 Científica titular, 2022, CIB, CSIC



<https://cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/role-mitochondria-associated-er-membranes-mam-cellular-homeostasis>

**Otros miembros / Other members**

Jorge Montesinos  
 Nuria Gómez  
 Mónica Uceda  
 Elvira Arroyo  
 Cristina Antón

## Papel de las membranas del ER asociadas a mitocondria (MAM) en la homeostasis celular

**El objetivo de nuestro laboratorio es entender el origen y la relevancia de las alteraciones metabólicas, mitocondriales y lipídicas, las cuales están presentes en estadios tempranos de la mayoría -si no todas- las enfermedades neurodegenerativas y qué estrategias se pueden abordar para restaurar el metabolismo celular y la regulación bioenergética en el contexto de dichas patologías.**

Mi laboratorio tiene tres objetivos principales: (i) investigar el papel de las membranas del RE asociadas a las mitocondrias (MAM) en el metabolismo neuronal; (ii) Investigar si las perturbaciones en la regulación de MAM subyacen a la disfunción sináptica y/o a la muerte neuronal en los trastornos neurodegenerativos; (iii) identificar nuevas vías implicadas en alteraciones metabólicas en neurodegeneraciones que puedan arrojar algo de luz sobre el origen de la enfermedad y ayudar a diseñar nuevas dianas terapéuticas.

Para abordar estas preguntas fundamentales, mi laboratorio emplea enfoques multidisciplinares y enfoques basados en la "lipidómica" de última generación.

Nuestros datos apuntan a una alteración temprana en la regulación de MAM en enfermedades como ELA o Alzheimer. Los dominios MAM son regiones temporales que se forman en la membrana del ER capaces de interactuar con la mitocondria. Estos dominios son esenciales en la regulación de varias rutas lipídicas, metabolismo de glucosa, autofagia y dinámica mitocondrial entre otras funciones. Por este

motivo, nuestro laboratorio se centra en investigar el papel y relevancia de MAM en las alteraciones lipídicas y bioenergéticas que ocurren durante la neurodegeneración. Como resultado, nuestro laboratorio es experto en campos innovadores que ayudarán a comprender algunas de las características de la desregulación de MAM como efectores seminales en neurodegeneración.

**Premios / Awards**

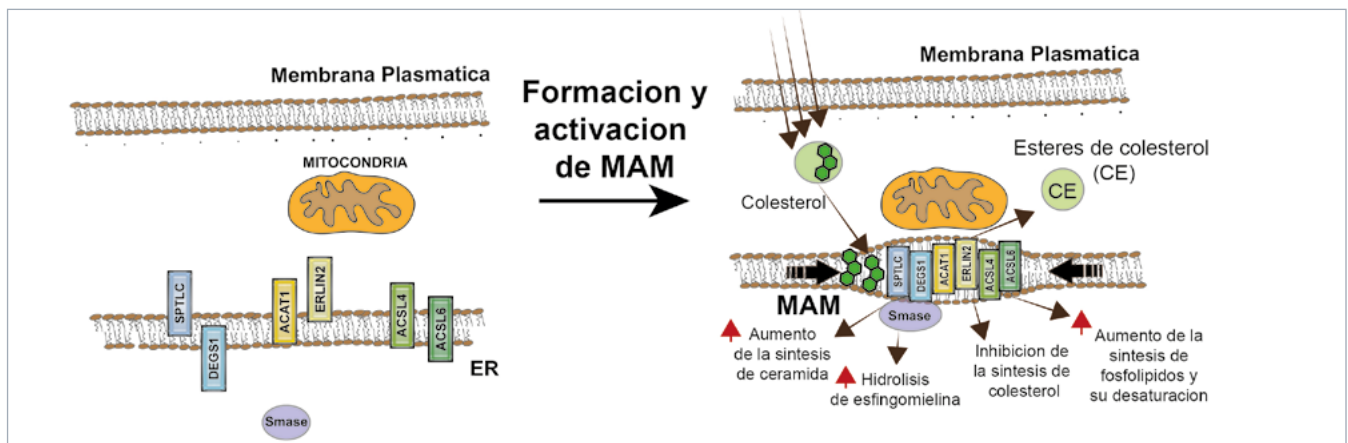
- Oskar Fisher Award for the best hypothesis in Alzheimer's. UTSA, US.

**Financiación / Funding**

- HRT002023 (La Caixa Health Foundation)
- Ref no determinada (Fundación Luzón, 2023)
- PID2021-126818NB-I00 (MICINN)
- 202220E087 (CSIC)

**Figure 1**

**MAM is a temporary lipid-raft domain in the ER.** The increase in cholesterol in the ER induces the formation of MAM and the recruitment of enzymes involved in cholesterol synthesis and turnover (Erlin2: ER-lipid-raft-associated protein). The increase in cholesterol in the ER and the formation of MAM activates in turn several enzymes related to the synthesis and modulation of cholesterol, sphingolipids (CerS, Smase...), or phospholipids (PSS, Acsl4 and -6).



# The role of mitochondria-associated ER membranes (MAM) in cellular homeostasis

**The objective of our laboratory is to understand the cause and the importance of the alterations in metabolic, mitochondrial, and lipid profiles, which are present in the early stages of most - if not all - neurodegenerative diseases, and to develop methods to restore cellular metabolism and bioenergetic regulation in the context of these neurodegenerative diseases.**

My lab has three main objectives: (i) to investigate the role of mitochondria-associated ER membranes (MAM) in neuronal metabolism; (ii) To investigate whether perturbations in MAM regulation underlie synaptic dysfunction and/or neuronal death in neurodegenerative disorders; (iii) identify new pathways involved in metabolic alterations in neurodegenerations that may shed some light on the origin of the disease, and help design new therapeutic targets.

My lab employs multidisciplinary approaches and state-of-the-art "lipidomics"-based methods to address these fundamental questions.

Our data point to an early alteration in the regulation of MAM in diseases such as ALS or Alzheimer's. MAM domains are temporary regions that form in the ER membrane and are capable of interacting with mitochondria. These domains are essential in the regulation of various lipid pathways, glucose metabolism, autophagy, and mitochondrial dynamics among other functions. For this reason, our laboratory focuses on investigating the role and relevance of MAM in the lipid and bioenergetic alterations that occur during neurodegeneration. As a result, our laboratory is an expert in innovative fields that will help to understand some of the characteristics of MAM dysregulation as seminal effectors in neurodegeneration.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Area-Gomez, E.; Larrea, D.; Yun, T.; Xu, Y.; Hupf, J.; Zandkarimi, F.; Chan, R.B.; Mitsumoto, H. Lipidomics study of plasma from patients suggest that ALS and PLS are part of a continuum of motor neuron disorders. *Sci Rep* 2021, 30, 13562, doi: 10.1038/s41598-021-92112-3
- Sol, J.; Jové, M.; Povedano, M.; Sproviero, W.; Domínguez, R.; Piñol-Ripoll, G.; Romero-Guevara, R.; Hye, A.; Al-Chalabi, A.; Torres, P.; Andrés-Benito, P.; Area-Gómez, E.; Pamplona, R.; Ferrer, I.; Ayala, V.; Portero-Otín, M. Lipidomic traits of plasma and cerebrospinal fluid in amyotrophic lateral sclerosis correlate with disease progression. *Brain Commun* 2021, 26, 3(3):fcab143. doi: 10.1093/braincomms/fcab143
- Agrawal, R.R.; Larrea, D.; Xu, Y.; Shi, L.; Zirpoli, H.; Cummins, L.G.; Emmanuele, V.; Song, D.; Yun, T.D.; Macaluso, F.P.; Min, W.; Kernie, S.G.; Deckelbaum, R.J.; Area-Gómez, E. Alzheimer's-associated upregulation of mitochondria-associated ER membranes after traumatic brain injury. *Cell Mol Neurobiol* 2023, 43, 2219-2241, doi: 10.1007/s10571-022-01299
- Miranda, A.M.; Ashok, A.; Chan, R.B.; Zhou, B.; Xu, Y.; McIntire, L.B.; Area-Gómez, E.; Di Paolo, G.; Duff, K.E.; Oliveira, T.G.; Nuriel, T. Effects of APOE4 allelic dosage on lipidomic signatures in the entorhinal cortex of aged mice. *Transl Psychiatry* 2022, 29, 129, doi: 10.1038/s41398-022-01881-6
- Çoku, J.; Booth, D.M.; Skoda, J.; Pedrotty, M.C.; Vogel, J.; Liu, K.; Vu, A.; Carpenter, E.L.; Ye, J.C.; Chen, M.A.; Dunbar, P.; Scadden, E.; Yun, T.D.; Nakamaru-Ogiso, E.; Area-Gómez, E.; Li, Y.; Goldsmith, K.C.; Reynolds, C.P.; Hajnoczky, G.; Hogarty, M.D. Reduced ER-mitochondria connectivity promotes neuroblastoma multidrug resistance. *EMBO J* 2022, 25:e108272, doi: 10.15252/embj.2021108272
- Fan, L.C.; McConn, K.; Platakí, M.; Kenny, S.; Williams, N.C.; Kim, K.; Quirke, J.A.; Chen, Y.; Sauler, M.; Möbius, M.E.; Chung, K.P.; Area-Gómez, E.; Choi, A.M.; Xu, J.F.; Cloonan, S.M. Alveolar type II epithelial cell FASN maintains lipid homeostasis in experimental COPD. *JCI Insight* 2023, 8, 16:e163403, doi: 10.1172/jci.insight.163403
- Launay, N.; Ruiz, M.; Planas-Serra, L.; Verdura, E.; Rodríguez-Palmero, A.; Schlüter, A.; Goicoechea, L.; Guílera, C.; Casas, J.; Campelo, F.; Jouanguy, E.; Casanova, J.L.; Boespflug-Tanguy, O.; Vázquez-Cancela, M.; Gutiérrez-Solana, L.G.; Casanovas, C.; Area-Gómez, E.; Pujol, A. RINT1 deficiency disrupts lipid metabolism and underlies a complex hereditary spastic paraplegia. *J Clin Invest* 2023, 17, 133:e162836, doi: 10.1172/JCI162836
- Paredes, A.; Justo-Méndez, R.; Jiménez-Blasco, D.; Núñez, V.; Calero, I.; Villalba-Orero, M.; Alegre-Martí, A.; Fischer, T.; Gradillas, A.; Sant'Anna, V.A.R.; Were, F.; Huang, Z.; Hernansanz-Agustín, P.; Contreras, C.; Martínez, F.; Camafeita, E.; Vázquez, J.; Ruiz-Cabello, J.; Area-Gómez, E.; Sánchez-Cabo, F.; Treuter, E.; Bolaños, J.P.; Estébanez-Perpiñá, E.; Rupérez, F.J.; Barbás, C.; Enriquez, J.A.; Ricote, M.  $\gamma$ -Linolenic acid in maternal milk drives cardiac metabolic maturation. *Nature* 2023, 618(7964):365-373, doi: 10.1038/s41586-023-06068-7
- Planas-Serra, L.; Launay, N.; Goicoechea, L.; Heron, B.; Jou, C.; Juliá-Palacios, N.; Ruiz, M.; Fourcade, S.; Casanovas, C.; De La Torre, C.; Gelot, A.; Marsal, M.; Loza-Alvárez, P.; García-Cazorla, A.; Fatemi, A.; Ferrer, I.; Portero-Otín, M.; Area-Gómez, E.; Pujol, A. Sphingolipid desaturase DEGS1 is essential for mitochondria-associated membrane integrity. *J Clin Invest* 2023, 133(10):e162957, doi: 10.1172/JCI162957



## Luisa-María Botella Cubells

Investigadora Científica

cibluisa@cib.csic.es



PhD, 1985, Universidad de Valencia  
 Postdoctoral, 1986-1988, Universidad de Lund, Suecia  
 Científico Titular, 1989, CIB, CSIC  
 Jefe de Grupo, 2005, CIB, CSIC  
 Investigador Científico, 2007, CIB, CSIC  
 Investigador Principal U-707, CIBER de Enfermedades Raras

### Otros miembros / Other members

Virginia Albiñana Díaz  
 Lucía Recio Poveda  
 Ángel Cuesta Martínez  
 Laura-María Lorente Herraiz



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/translational-research-rare-diseases-vascular-involvement-lab>

# Investigación traslacional en enfermedades raras con implicación vascular: del laboratorio a los pacientes

El grupo se centra en la investigación de enfermedades raras. Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT), síndrome de von Hippel Lindau (VHL) y cavernomatosis familiar (CCM). HHT es una displasia vascular autosómica dominante, VHL, conduce al desarrollo de hemangioblastomas en Sistema Nervioso Central y carcinoma renal. CCM da lugar a malformaciones vasculares en cerebro principalmente. La investigación ha ido dirigida al diagnóstico, conocimiento de los mecanismos moleculares y búsqueda de terapias de reposicionamiento.

El grupo realiza estudios en enfermedades vasculares raras, desde 2003. Se ha dedicado a investigar la Telangiectasia Hemorrágica Hereditaria (HHT) y los aspectos moleculares de la enfermedad. La HHT es una displasia vascular dominante producida por mutaciones en Endoglin y ACVRL1/ALK1. Clínicamente cursa con sangrados nasales, hemorragias gastrointestinales, telangiectasias cutáneas y malformaciones arteriovenosas en pulmón, hígado y cerebro. Entre los objetivos de la investigación figura el diagnóstico genético de la HHT, con panel exómico y Sanger. Más recientemente se ha introducido la captura de las zonas genómicas de los genes implicados en la HHT. Se hace también búsqueda de biomarcadores diagnósticos de expresión diferencial entre pacientes HHT y población general. Objetivo fundamental es la búsqueda de medicamentos huérfanos contra las dianas/vías de señalización usando reposicionamiento terapéutico. En 2013, incorporamos el estudio del síndrome de von Hippel Lindau, enfermedad tumoral con herencia dominante, donde los tumores, carcinoma renal y hemangioblastomas, están altamente vascularizados. Se derivan cultivos primarios de excedentes tumorales de cada cirugía. Esos cultivos son modelo de screening para reposicionamiento de fármacos, como propranolol ( $\beta$ -bloqueante adrenérgico de los receptores b1 y b2) y el IC118,551, específico del receptor b2. Como resultado de ensayos *in vitro* de cultivos y del ensayo con 7 pacientes VHL, se consiguió la designación del propranolol como medicamento huérfano para VHL en el 2017. Más recientemente en 2021 hemos empezado con el diagnóstico y estudio de la base molecular de la cavernomatosis familiar (CCM) en células endoteliales primarias procedentes de pacientes. Nuestro grupo se encuentra ali-

neado con los objetivos del IRDiRC, Eurordis y la NORD, en sus prioridades de diagnóstico, el estudio de las bases moleculares de la enfermedad y la búsqueda de tratamientos.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Cuesta, A. M.; Gallardo-Vara, E.; Casado-Vela, J.; Recio-Poveda, L.; Botella, L. M.; Albiñana, V. The Role of Propranolol as a Repurposed Drug in Rare Vascular Diseases. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 4217, doi:10.3390/ijms23084217.
- Albiñana, V.; Gallardo-Vara, E.; Casado-Vela, J.; Recio-Poveda, L.; Botella, L. M.; Cuesta, A. M. Propranolol: A "Pick and Roll" Team Player in Benign Tumors and Cancer Therapies. *J Clin Med* 2022, 11, 4539. doi:10.3390/jcm11154539.
- Errasti Díaz, S.; Peñalva, M.; Recio-Poveda, L.; Vilches, S.; Casado-Vela, J.; Pérez Pérez, J.; Botella, L. M.; Albiñana, V.; Cuesta, A. M. A Novel Splicing Mutation in the ACVRL1/ALK1 Gene as a Cause of HHT2. *J Clin Med* 2022, 11, 3053, doi:10.3390/jcm11113053.
- Albiñana, V.; Recio-Poveda, L.; González-Peramato, P.; Martínez-Piñeiro, L.; Botella, L. M.; Cuesta, A. M. Blockade of  $\beta$ 2-Adrenergic Receptor Reduces Inflammation and Oxidative Stress in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 1325, doi:10.3390/ijms23031325.

### Premios / Awards

- 2º premio al emprendimiento, +50 emprende 2022. Fundación Savia. Endesa. Empresa Helppure.
- Premio en Biomedicina Ateneo Mercantil de Valencia 2021, a una vocación científica dedicada a las enfermedades raras.

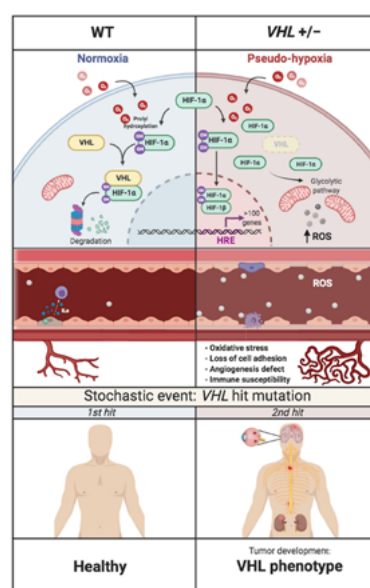


Figure 1

Flow chart of VHL disease development. The absence of pVHL promotes the accumulation of HIF-1 in the cell and a state of permanent pseudo-hypoxia, manifested by loss of adhesion capacity, defective angiogenesis, immune susceptibility, altered metabolism, and induction of oxidative stress. The endothelium of these patients is partially damaged and more susceptible to tumor development. All this precedes the second hit mutation in VHL that triggers tumorigenesis.

# Translational research in rare diseases with vascular involvement: from the lab to the patients

The group focuses on the research of rare diseases. Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (HHT), von Hippel Lindau syndrome (VHL), and familial cavernomatosis (CCM). HHT is an autosomal dominant vascular dysplasia and VHL leads to the development of hemangioblastomas in the central nervous system and renal carcinoma. CCM leads to vascular malformations mainly in the brain. Research has been directed to diagnosis, knowledge of molecular mechanisms, and search for repositioning therapies.

The group performs studies on rare vascular diseases, since 2003. It has been dedicated to investigating Hereditary Hemorrhagic Telangiectasia (HHT) and its molecular aspects. HHT is a dominant vascular dysplasia caused by mutations in *Endoglin* and *ACVRL1/ALK1*. Clinically it presents with nosebleeds, gastrointestinal bleeding, cutaneous telangiectasias, and arteriovenous malformations in the lung, liver, and brain. Research objectives include genetic diagnosis of HHT, with exome and Sanger panel. More recently, the capture of genomic areas of genes involved in HHT has been introduced. The search for diagnostic biomarkers of differential expression between HHT patients and the general population is also performed. The fundamental objective is the search for orphan drugs against signaling targets/pathways using therapeutic repositioning. In 2013, we incorporated the study of von Hippel Lindau syndrome, a tumor disease with dominant inheritance, where the tumors, renal carcinoma and hemangioblastomas, are highly vascularized. Primary cultures are derived from tumor surplus from each surgery. These cultures are screening models for drug repositioning, such as propranolol (b1 and b2 receptor adrenergic  $\beta$ -blocker), and ICI118,551, specific to the b2 receptor. As a result of in vitro culture assays and the 7-patient VHL trial, propranolol achieved orphan drug designation for VHL in 2017.

More recently in 2021, we have started with the diagnosis and study of the molecular basis of familial cavernomatosis (CCM) in primary endothelial cells from patients.

Our group is aligned with the objectives of the IRDIRC, Eurordis, and NORD in its diagnostic priorities, the study of the pathogenic basis of diseases, and the search for treatments.

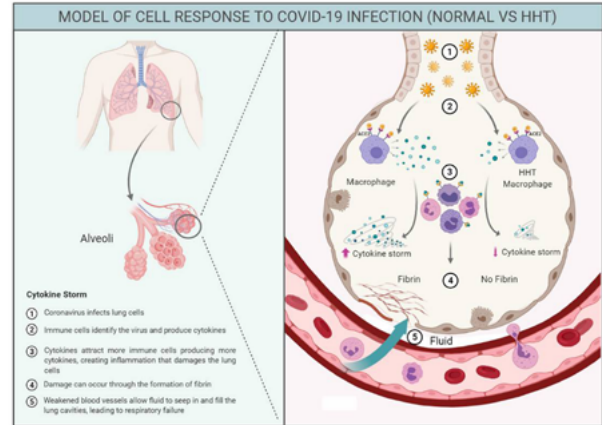


Figure 2

Graphical scheme explaining the COVID-19 reaction in HHT macrophages compared to macrophages of general population. The figure is based on the hypothesis that the cytokine production in HHT is not as exacerbated as that occurring in the normal population which leads to the so-called cytokine storm. 1. Coronavirus infects lung cells; 2. Immune cells, including macrophages, identify the virus and produce cytokines; 3. Cytokines attract more immune cells, such as white blood cells, which in turn produce more cytokines, creating a cycle of inflammation that damages the lung cells; 4. Damage can occur through the formation of fibrin; 5. Weakened blood vessels allow leakage, filling the lung cavities and leading to respiratory failure.

## Patentes / Patents

- Luisa María Botella, Virginia Albiñana y Lucía Recio. Licenciada a Varsity (Cambridge) 2021. "ICI 118,551 as antitumoral agent to treat hemangioblastomas and clear cell renal carcinomas in von Hippel Lindau tumors and other HIF dependent pathological processes". PCT P201731019
- José María Sánchez-Puelles, Luisa María Botella, Virginia Albiñana y Ángel Cuesta. Licenciada a Varsity Cambridge, diciembre 2021. "Treatment and prevention of glioblastoma". EP18382917.5. File No. EP1838291712. Ref. P16278EP00

## Financiación / Funding

- PID2020-115371RB-I00 (MICINN, 2021-2024)
- PIE201820E073 (2018-2021)
- PIE202220E033 (2022-2024)
- Draincov (Fondos Supera COVID, CRUE, 2020-2021)
- Proyecto de investigación de la enfermedad de von Hippel-Lindau (Alianza von Hippel Lindau de España, 2020-2021)



**Ignacio Benedicto Español**

Investigador Ramón y Cajal

ignacio.benedicto@cib.csic.es



PhD, 2011, Universidad Autónoma de Madrid

Postdoctoral, 2012, Instituto de Investigación Sanitaria Princesa, Madrid

Postdoctoral, 2013-2018, Weill Cornell Medicine, Nueva York, USA

Postdoctoral Senior, 2018-2022, CNIC

Jefe de Grupo, 2022, Universidad Complutense de Madrid

Investigador Ramón y Cajal, Jefe de Grupo, 2023, CIB, CSIC

Científico Visitante, 2022-2023, CNIC

**Otros miembros / Other members**

Rosa María Carmona Canorea

<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/vascular-ageing>

## Envejecimiento Vascular

Las células endoteliales proporcionan conjuntos altamente especializados de factores angiocrinos en diferentes órganos, de gran importancia para el mantenimiento de la homeostasis y la regeneración tisular. Mi grupo se centra en el estudio de las alteraciones de las células endoteliales durante el envejecimiento y su potencial como diana terapéutica para combatir enfermedades asociadas a la edad.

Las células endoteliales (CEs) vasculares no son sólo conductos pasivos para transportar sangre. Las CEs también desempeñan funciones específicas de tejido al proporcionar conjuntos altamente especializados de factores angiocrinos en diferentes ubicaciones del cuerpo. Estos factores son esenciales para la comunicación intercelular entre CEs y otros tipos celulares, ya que desempeñan funciones clave en el mantenimiento de la homeostasis y la regeneración tisular. En los últimos años nos hemos centrado en estudiar las CEs en diferentes tejidos afectados por trastornos relacionados con la edad, incluyendo la coroides ocular y el epitelio pigmentario retinal (degeneración macular asociada a la edad), el hígado (regeneración alterada asociada a la edad después de resección parcial) y el sistema cardiovascular (aterosclerosis y disfunción cardíaca). Hemos estudiado tanto el envejecimiento fisiológico como el síndrome de progeria de Hutchinson-Gilford (HGPS), una enfermedad rara que induce envejecimiento acelerado, patología cardiovascular y muerte prematura. Hemos aplicado una amplia gama de técnicas que incluyen *bulk* y *single-cell* RNAseq, análisis proteómico, microscopía de fuerza atómica, investigación de células madre, cultivos primarios humanos, ensayos de función visual, ultrasonido cardiovascular y experimentos de regeneración de órganos. Las principales líneas de investigación de mi grupo son: (1) evaluar cómo los repertorios de factores angiocrinos endoteliales específicos de tejido cambian con la edad, utilizando *single-cell* RNAseq como plataforma de descubrimiento; (2) estudiar cómo las CEs envejecidas perjudican la función y la regeneración de los órganos en condiciones normales y de estrés; (3) investigar los mecanismos que median las alteraciones endoteliales relacionadas con la edad, con especial atención a la epigenética y la mecanotransducción; (4) desarrollar estrategias terapéuticas dirigidas a las CEs para combatir enfermedades asociadas a la edad.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Macías, A.; Nevado, R. M.; González-Gómez, C.; Gonzalo, P.; Andrés-Manzano, M. J.; Dorado, B.; Benedicto, I.; Andrés, V. Coronary and carotid artery dysfunction and KV7 overexpression in a mouse model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome. *Geroscience* 2023, 46, 867-884, doi:10.1007/s11357-023-00808-3.
- Lehmann, G. L.; Ginsberg, M.; Nolan, D. J.; Rodríguez, C.; Martínez-González, J.; Zeng, S.; Voigt, A. P.; Mullins, R. F.; Rafii, S.; Rodríguez-Boulán, E.; Benedicto, I. Retinal Pigment Epithelium-Secreted VEGF-A Induces Alpha-2-Macroglobulin Expression in Endothelial Cells. *Cells* 2022, 11, 2975, doi:10.3390/cells11192975.
- Benedicto, I.; Chen, X.; Bergo, M. O.; Andrés, V. Progeria: a perspective on potential drug targets and treatment strategies. *Expert Opin Ther Targets* 2022, 26, 393-399, doi:10.1080/14728222.2022.2078699.
- Baretino, A.; Benedicto, I.; Andrés, V. Whole Mount Preparation of Mouse Aorta for Confocal Microscopy Studies of the Intima. *Methods Mol Biol* 2022, 2419, 597-610, doi:10.1007/978-1-0716-1924-7\_37.
- Pan, C.; Banerjee, K.; Lehmann, G. L.; Almeida, D.; Hajjar, K. A.; Benedicto, I.; Jiang, Z.; Radu, R. A.; Thompson, D. H.; Rodríguez-Boulán, E.; Nociari, M. M. Lipofuscin causes atypical necroptosis through lysosomal membrane permeabilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 2021, 118, e2100122118, doi:10.1073/pnas.2100122118.
- Sánchez-López, A.; Espinós-Estévez, C.; González-Gómez, C.; Gonzalo, P.; Andrés-Manzano, M. J.; Fanjul, V.; Riquelme-Borja, R.; Hamczyk, M. R.; Macías, A.; Del Campo, L.; Camafeita, E.; Vázquez, J.; Barkaway, A.; Rolas, L.; Nourshargh, S.; Dorado, B.; Benedicto, I.; Andrés, V. Cardiovascular Progerin Suppression and Lamin A Restoration Rescue Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome. *Circulation* 2021, 144, 1777-1794, doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.121.055313.
- Hanke-Gogokhia, C.; Lehmann, G. L.; Benedicto, I.; de la Fuente-Ortega, E.; Arshavsky, V. Y.; Schreiner, R.; Rodríguez-Boulán, E. Apical CLC-2 in retinal pigment epithelium is crucial for survival of the outer retina. *FASEB J* 2021, 35, e21689, doi:10.1096/fj.202100349R.
- Benedicto, I.; Dorado, B.; Andrés, V. Molecular and Cellular Mechanisms Driving Cardiovascular Disease in Hutchinson-Gilford Progeria Syndrome: Lessons Learned from Animal Models. *Cells* 2021, 10, 1157, doi:10.3390/cells10051157.

**Financiación / Funding**

- PID2022-137110A-I00 (MICINN, 2023-2026)
- RYC2021-033805-I (MICINN, 2023-2027)
- 2021-5A/BMD-20944 (CAM, 2022-2023)
- 2017-T1/BMD-52474 (CAM, 2018-2022)

# Vascular Ageing

**Endothelial cells provide highly specialized sets of angiocrine factors in different organs, being of great importance for homeostasis maintenance and tissue regeneration. My group focuses on the study of endothelial alterations during aging and their potential as a therapeutic target to fight against age-related diseases.**

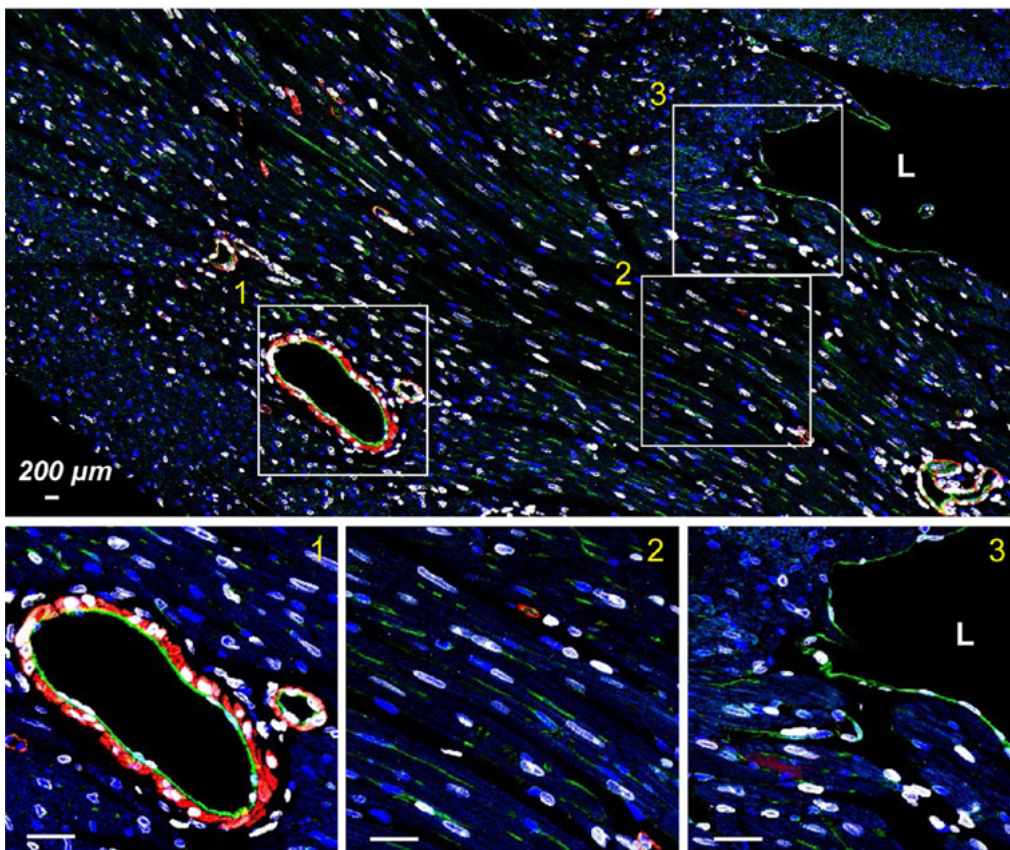
Vascular endothelial cells (ECs) are not just passive conduits for delivering blood. Rather, ECs also play tissue-specific functions by providing highly specialized sets of angiocrine factors at different body locations. These factors are essential for the intercellular communication between ECs and other cell types, as they play key roles in homeostasis maintenance and organ regeneration. Over the last years, we have focused on studying ECs in different tissues severely affected by age-related disorders, namely the eye choroid and retinal pigment epithelium (age-related macular degeneration), the liver (age-related impaired regeneration after partial resection), and the cardiovascular system (atherosclerosis and cardiac dysfunction). We have

studied age-related endothelial alterations both during physiological aging and in mouse models of Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS), a rare disease that induces accelerated aging, cardiovascular pathology, and premature death. We have applied a wide array of techniques including bulk and single-cell RNAseq, proteomics analysis, atomic force microscopy, stem cell research, human primary cultures, visual function assessments, cardiovascular ultrasound, and organ regeneration experiments.

The main research lines in my group are: (1) to assess how repertoires of tissue-specific endothelial angiocrine factors change with age, using single-cell RNAseq as a discovery platform; (2) to study how aged ECs impair organ function and regeneration under normal and stressed conditions; (3) to investigate the mechanisms that mediate age-related endothelial alterations, with a special focus on epigenetics and mechanotransduction; (4) to develop EC-targeted therapeutic approaches to fight age-related diseases.

**Figure 1**

Heart in a mouse model of Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS). Immunofluorescence showing endothelial cells (CD31, green), vascular smooth muscle cells ( $\alpha$ SMA, red), nuclei (Hoechst 33342, blue), and progerin (white), the mutant protein causing HGPS. 1, epicardium; 2, myocardium; 3, endocardium. L, lumen. Image extracted from Sánchez-López et al., *Circulation* 2021 (published in Open Access under a Creative Commons license).



**María Montoya González**

Científica Titular

maria.montoya@cib.csic.es



Master, 1992, Universidad de Birmingham, UK  
 PhD, 1997, Universidad Autónoma de Madrid  
 Postdoctoral, 1997-1998, ISCIII, Madrid  
 Postdoctoral, 1998-2005, The Edward Jenner Institute for Vaccine Research, UK  
 Jefe de Grupo, 2005, CRESA, Barcelona  
 Jefe de Grupo, 2014, The Pribright Institute, UK  
 Investigador Distinguido, 2018, CIB, CSIC  
 Científica Titular, 2020, CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/molecular-biomedicine/viral-immunology-therapies-and-vaccines>

**Otros miembros / Other members**

Sofía Pérez Ramos  
 Ana de Lucas Rius  
 Laura Mendoza García  
 Blanca Dies López-Ayllón  
 Larysa Muzykina  
 Alicia Marín Gómez

## 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. Actualmente estudiamos los procesos inflamatorios producidos por SARS-CoV-2. Además, analizamos la respuesta inmune innata al virus de la gripe y coronavirus porcino. También investigamos diversos agentes moduladores de la respuesta inmune inflamatoria.**

El objetivo general del grupo de inmunología viral es investigar la relación de virus RNA con el hospedador natural como estrategia para poder diseñar nuevas terapias o vacunas. Para ello, nos centramos en dos virus con potencial pandémico: SARS-CoV-2 y el virus de la gripe.

Estamos trabajando en la hipótesis de que las proteínas accesorias del SARS-CoV-2 contribuyen a la virulencia/patogénesis. La expresión de ORF7a/ORF7b en las células pulmonares humanas crean condiciones más favorables para el SARS-CoV-2 al inhibir la respuesta de IFN-I, aumentar la liberación de citocinas proinflamatorias y alterar la actividad metabólica y la adhesión de las células (Figura 1). En base a estos resultados, ORF7a/ORF7b podrían usarse como biomarcadores de infección.

Al estudiar las ORF6, ORF8, ORF9b u ORF9c de SARS-CoV-2 mediante análisis transcriptómico, tanto IL11 como WNT5A estaban significativamente aumentados, revelándose su relación en la enfermedad idiopática de fibrosis pulmonar. Los ensayos funcionales confirmaron su asociación con respuestas profibróticas (Figura 2). Por tanto, estas proteínas accesorias podrían ser el objetivo de nuevas terapias contra la enfermedad COVID-19.

Las infecciones virales zoonóticas continúan causando una alta morbilidad y mortalidad en todo el mundo. Además de su importancia como zoonosis, el virus de la influenza porcina (swIV) es una enfermedad respiratoria porcina relevante. Virus de la gripe de tipo A (swIAV) y el coronavirus respiratorio porcino (PRCV) se dirigen a las células epiteliales de las vías respiratorias, aunque difieren en patogenicidad y control inmunológico. El ganado vacuno es el huésped natural del virus de la influenza D, pero ahora es un virus emergente en los cerdos (swIDV) y su patogénesis sigue siendo poco explorada. Estudiamos la transmisión, patogénesis, respuesta inmune y tropismo de huésped de seis genotipos diferentes de swIAV, swIDV y PRCV. Además, estamos diseñando nuevas aproximaciones de diagnóstico para el swIAV.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Pujol, M.; Guzman, E.; Montaner-Tarbes, S.; Montoya, M. Heterogeneous populations from in vitro cultures of antigen presenting cells in pigs. *Vet Immunol Immunopathol* 2021, 234, 110215, doi:10.1016/j.vetimm.2021.110215.
- Grigas, J.; Montoya, M.; Simkute, E.; Buitkus, M.; Zagrabkaite, R.; Pautienius, A.; Razukevicius, D.; Jonaitis, L. V.; Kiudelis, G.; Skieceviciene, J.; Vaiciuniene, R.; Stankuviene, A.; Bumblyte, I. A.; Kupcinskas, J.; Stankevicius, A. Molecular Characterization and Seroprevalence of Hepatitis E Virus in Inflammatory Bowel Disease Patients and Solid Organ Transplant Recipients. *Viruses* 2021, 13, doi:10.3390/v13040670.
- Redondo, N.; Zaldívar-López, S.; Garrido, J. J.; Montoya, M. SARS-CoV-2 Accessory Proteins in Viral Pathogenesis: Knowns and Unknowns. *Front Immunol* 2021, 12, 708264, doi:10.3389/fimmu.2021.708264.
- García-García, T.; Fernández-Rodríguez, R.; Redondo, N.; de Lucas-Rius, A.; Zaldívar-López, S.; López-Ayllón, B. D.; Suárez-Cardenas, J. M.; Jiménez-Marín, A.; Montoya, M.; Garrido, J. J. Impairment of antiviral immune response and disruption of cellular functions by SARS-CoV-2 ORF7a and ORF7b. *iScience* 2022, 25, 105444, doi:10.1016/j.isci.2022.105444.
- Sanluis-Verdes, A.; Colomer-Vidal, P.; Rodríguez-Ventura, F.; Bello-Villarino, M.; Spínola-Amilibia, M.; Ruiz-López, E.; Illanes-Vicioso, R.; Castroviejo, P.; Aiese Cigliano, R.; Montoya, M.; Falabella, P.; Pesquera, C.; González-Legarreta, L.; Arias-Palomo, E.; Sola, M.; Torroba, T.; Arias, C. F.; Bertocchini, F. Wax worm saliva and the enzymes therein are the key to polyethylene degradation by *Galleria mellonella*. *Nat Commun* 2022, 13, 5568, doi:10.1038/s41467-022-33127-w.
- Alcolea, P. J.; Larraga, J.; Rodríguez-Martín, D.; Alonso, A.; Loayza, F. J.; Rojas, J. M.; Ruiz-García, S.; Louludes-Lázaro, A.; Carlon, A. B.; Sánchez-Cordón, P. J.; Nogales-Altozano, P.; Redondo, N.; Manzano, M.; Lozano, D.; Palomero, J.; Montoya, M.; Vallet-Regí, M.; Martín, V.; Sevilla, N.; Larraga, V. Non-replicative antibiotic resistance-free DNA vaccine encoding S and N proteins induces full protection in mice against SARS-CoV-2. *Front Immunol* 2022, 13, 1023255, doi:10.3389/fimmu.2022.1023255
- López-Ayllón, B. D.; de Lucas-Rius, A.; Mendoza-García, L.; García-García, T.; Fernández-Rodríguez, R.; Suárez-Cardenas, J. M.; Santos, F. M.; Corrales, F.; Redondo, N.; Pedrucci, F.; Zaldívar-López, S.; Jiménez-Marín, A.; Garrido, J. J.; Montoya, M. SARS-CoV-2 accessory proteins involvement in inflammatory and profibrotic processes through IL11 signaling. *Front Immunol* 2023, 14, 1220306, doi:10.3389/fimmu.2023.1220306
- Botella-Asunción, P.; Rivero-Buceta, E. M.; Vidaurre-Agut, C.; Lama, R.; Rey-Campos, M.; Moreno, A.; Mendoza, L.; Mingo-Casas, P.; Escribano-Romero, E.; Gutiérrez-Adan, A.; Saiz, J. C.; Smerdou, C.; González, G.; Prosper, F.; Argemi, J.; Miguel, J. S.; Sánchez-Cordon, P. J.; Figueras, A.; Quesada-Gómez, J. M.; Novoa, B.; Montoya, M.; Martín-Acebes, M. A.; Pineda-Lucena, A.; Benlloch, J. M. AG5 is a potent non-steroidal anti-inflammatory and immune regulator that preserves innate immunity. *Biomed Pharmacother* 2023, 169, 115882, doi:10.1016/j.biopha.2023.115882
- Understanding and Combating African Swine Fever in Europe. *Ed Wageningen Academic Pub* 2021, doi:10.3920/978-90-8686-910-7

**Patentes / Patents**

- Pablo Botella Asunción, José María Benlloch Baviera, María Montoya González y José Manuel Quesada Gómez. 29 Septiembre 2023. "Use of AG5 compound in inflammatory disorders as an innate immune system preserving agent", EP23382992

**Financiación / Funding**

- COVID-19-117 (PTI Salud Global, 2020-2021)
- CV20-20089 (Junta de Andalucía, 2020-2021)
- SGL2103015 (PTI Salud Global, 2021-2023)
- PID2021-1233990B-I00 (MICINN, 2022-2025)
- COOPB22065 (ICOOP2022.CSIC, 2023-2024)
- CPP2021-008618 (MICINN, 2022-2025)
- EPICVIR-ID57 (Era-Net ICRAD, EU, 2023-2026)
- EFDS-FL1-34 (ALLEA, EU, 2022-2023)



# Viral Immunology: Therapies and Vaccines

The main objective of the group is to delve deeper into the immunological relationship of viral infections with the natural host to design new treatments or vaccines. We are currently studying the inflammatory processes produced by SARS-CoV-2. In addition, we analyze the innate immune response to swine influenza virus and coronavirus. We also investigate various immunomodulatory agents.

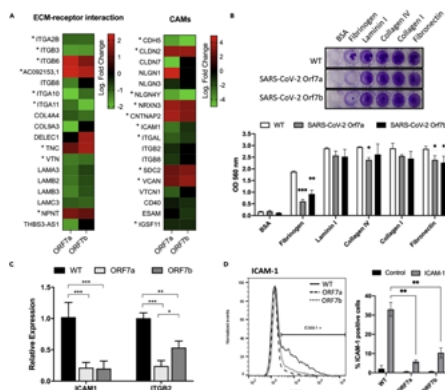
The overarching aim of the viral immunology group is to investigate the relationship between RNA viruses and the natural host as a strategy for designing new therapies or vaccines. To achieve this, we focus on two viruses with pandemic potential: SARS-CoV-2 and the influenza virus.

We are working on the hypothesis that the accessory proteins of SARS-CoV-2 contribute to its virulence/pathogenesis. The expression of ORF7a/ORF7b in human lung cells creates more favorable conditions for SARS-CoV-2 by inhibiting the IFN-I response, increasing the release of proinflammatory cytokines, and altering cell metabolic ac-

tivity and adhesion (Figure 1). Based on these results, ORF7a/ORF7b could be used as infection biomarkers.

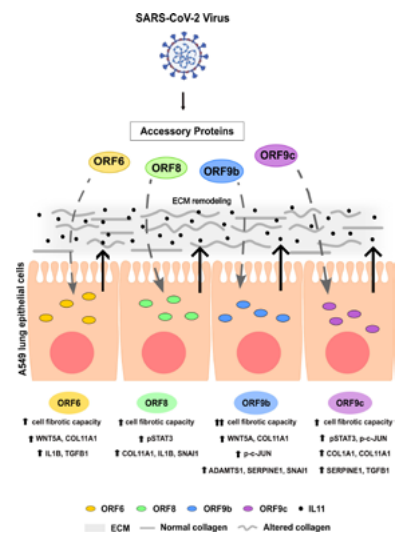
By studying the ORF6, ORF8, ORF9b, or ORF9c of SARS-CoV-2 through transcriptomic analysis, both IL11 and WNT5A were significantly increased, revealing their involvement in idiopathic pulmonary fibrosis. Functional assays confirmed their association with profibrotic responses (Figure 2). Therefore, these accessory proteins could be targeted for new therapies against COVID-19.

Zoonotic viral infections continue to cause high morbidity and mortality worldwide. Apart from their significance as zoonoses, swine influenza virus (swIV) is a relevant porcine respiratory disease. Type A influenza viruses (swIAV) and porcine respiratory coronavirus (PRCV) target respiratory epithelial cells, although they differ in pathogenicity and immune control. Cattle are the natural host of the influenza D virus, but it has now emerged in pigs (swIDV), and its pathogenesis remains largely unexplored. We study the transmission, pathogenesis, immune response, and host tropism of six different genotypes of swIAV, swIDV, and PRCV. Additionally, we are designing new diagnostic approaches for swIAV



**Figure 1**

Effect of SARS-CoV-2 ORF7a and SARS-CoV-2 ORF7b in cell adhesion. (A) Log<sub>2</sub> Foldchange Heatmaps of DEGs involved in extracellular matrix (ECM) and cell adhesion (CA). Asterisk (\*) for significant. (B) Quantification of A549 cells adhering to the ECM components. (C) RT-qPCR for ICAM1 and ITGB2 genes. (D) Flow cytometry of ICAM-1 expression in A549 cells expressing ORF7a or ORF7b.



**Figure 2**

Graphical summary. Effects of SARS-CoV-2 accessory proteins ORF6, ORF8, ORF9b, or ORF9c in A549 lung epithelial cells are described.



# Departamento de Biología Estructural y Química

## Department of Structural and Chemical Biology

- 74 Ruth Pérez Fernández**  
Sistemas químicos biológicos  
*Biological systems chemistry*
- 76 Francisco José Blanco Gutiérrez**  
RMN Biomolecular  
*Biomolecular NMR*
- 78 Valle Palomo**  
Biosensores y Química Biológica  
*Biosensors and Chemical Biology*
- 80 Daniel Lietha**  
Señalización y Adhesión Celular  
*Cell Signalling and Adhesion*
- 82 Sonsoles Martín-Santamaría**  
Química Biológica Computacional  
*Computational Chemical Biology*
- 84 Ernesto Arias Palomo**  
Crio-ME de máquinas macromoleculares  
*Cryo-EM of macromolecular machines*
- 86 Luis Ignacio Rivas López**  
**José-María Sánchez-Puelles González-Carvajal**  
**Eduardo Rial Zueco**  
Metabolismo Energético y Desarrollo de Fármacos  
*Energy Metabolism and Drug Development*
- 88 Francisco Javier Cañada Vicinay**  
RMN y Reconocimiento Molecular  
*NMR and Molecular Recognition*
- 90 Dolores Pérez-Sala Gozalo**  
**María de los Ángeles Pajares Tarancón**  
Modificación postraducciona l de proteínas  
*Posttranslational modification of proteins*
- 92 M<sup>a</sup> Cristina Vega Fernández**  
Biología Estructural de las Interacciones Huésped Patógeno  
*Structural Biology of Host-Pathogen Interactions*
- 94 Antonio Romero Garrido**  
Biología Estructural de Proteínas  
*Structural Biology of Proteins*
- 96 José Fernando Díaz Pereira**  
**María Ángela Oliva Blanco**  
**Juan Francisco Giménez Abián**  
**Larraga Rodríguez de Vera, Vicente**  
**Alcolea Alcolea, Pedro José**  
Estructura y Función del Citoesqueleto. Farmacología y Vacunas  
*Structure and Function of the Cytoskeleton. Pharmacology and Vaccines*
- 98 Carlos Fernández Tornero**  
Estructura de Ensamblados Macromoleculares  
*Structure of Macromolecular Assemblies*
- 100 Germán Alejandro Rivas Caballero**  
**Silvia Zorrilla López**  
**Carlos Alfonso Botello**  
**Mercedes Jiménez Sarmiento**  
Bioquímica de sistemas de la división bacteriana  
*Systems biochemistry of bacterial division*
- 102 Ana Martínez Gil**  
**Carmen Gil Ayuso-Gontán**  
**Nuria E. Campillo Martín**  
Química Medica y Biológica Traslacional  
*Translational Medicinal and Biological Chemistry*

# Overview

La misión del Departamento de Biología Estructural y Química es generar conocimiento fundamental sobre los mecanismos moleculares de la vida y traducirlo en recursos para la mejora de la salud humana y la sostenibilidad, en línea con el plan estratégico del CIB Margarita Salas. Combinamos enfoques de biología estructural, molecular, celular, sintética y química para estudiar y reconstituir las interacciones que gobiernan el ensamblaje de las máquinas celulares y los eventos clave de reconocimiento molecular. Estos esfuerzos integradores nos permiten no solo comprender, modular y potencialmente reprogramar procesos esenciales, sino también arrojar luz sobre la complejidad de la organización celular. Asimismo, este programa de investigación pretende descifrar las disfunciones asociadas a determinadas patologías humanas y diseñar sistemas microbianos y sintéticos para aportar soluciones innovadoras a importantes retos sociales. Nuestra investigación también desarrolla y aplica tecnologías avanzadas para establecer las bases de plataformas integradas en ciencia de las proteínas y el cribado de fármacos. Comprometidos con la excelencia académica, el departamento promueve activamente programas de formación avanzada que cubren las áreas científicas de vanguardia relacionadas con nuestros objetivos de investigación.

*The Department of Structural and Chemical Biology's mission is to generate fundamental knowledge on the molecular mechanisms of life and translate it into resources to improve human health and sustainability, in line with the CIB Margarita Salas strategic plan. We combine structural, molecular, cellular, synthetic, and chemical biology approaches to study and reconstitute the interactions governing the assembly of cellular machines and key molecular recognition events. These integrative efforts will not only provide insights to understand, target, and potentially reprogram essential processes, but also shed light on the complexity of cellular organization. Besides, our research program aims to decipher dysfunctions in specific human pathologies and engineer microbial and synthetic systems to offer innovative solutions to relevant societal challenges. Our research also develops and applies advanced technologies to establish the foundations of integrated platforms in protein science and drug screening. Committed to academic excellence, the department fosters advanced training programs that cover the state-of-the-art scientific areas related to our research goals.*

**Germán Rivas, Head of the Department until October 2023**

**Cristina Vega, Head of the Department from November 2023**

**Ruth Pérez Fernández**

Científico titular  
[ruth.perez@csic.es](mailto:ruth.perez@csic.es)



PhD, 2005, Universidad Autónoma de Madrid  
 Postdoctoral, 2005-2009, University of Cambridge, UK; CNIO; IQM, CSIC  
 Científico titular, 2009, IQM, CSIC  
 Incorporación, 2014, CIB, CSIC  
 Jefe de grupo, 2021, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Miguel Ángel Ortega  
 Andrea Canal Martín



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

## Sistemas químicos biológicos

Nuestra investigación se desarrolla en el área comprendida entre la química biológica, médica y supramolecular. Utilizamos distintas técnicas analíticas para el estudio de librerías dinámicas combinatorias. Estas librerías tienen aplicación tanto en el descubrimiento de fármacos, como en redes moleculares que imitan funciones que se encuentran en la naturaleza.

**Sistemas químicos**

En el grupo estudiamos mezclas complejas de moléculas sintéticas que interactúan de forma no covalente y se comportan como redes moleculares que transmiten información molecular. La química de sistemas, o sistemas químicos, estudia el comportamiento y funciones de estas redes interconectadas de moléculas. La red molecular, y no los componentes individuales, proporciona estas propiedades emergentes al sistema. Los mecanismos que subyacen a la formación de redes moleculares complejas sintéticas basadas en interacciones no covalentes conducen al diseño de sistemas evolutivos con nuevas funciones que pueden imitar las funciones que se encuentran en la naturaleza.

**Química dinámica combinatoria dirigida por proteínas**

La química dinámica combinatoria (DCC) estudia mezclas de compuestos formados a través de reacciones reversibles y la respuesta de esas mezclas a estímulos externos.

Trabajamos con sistemas químicos dirigidos por proteínas como una herramienta de identificación de hits en el área del descubrimiento de fármacos como moduladores de proteínas y de complejos proteína-proteína. Estudiamos también las diferentes químicas reversibles y las adaptamos para que funcionen de manera eficiente en condiciones fisiológicas incluso a bajas temperaturas.

En DCC dirigida por proteínas, el proceso de reconocimiento molecular tiene lugar en una Librería Dinámica Combinatoria (DCL) que bajo

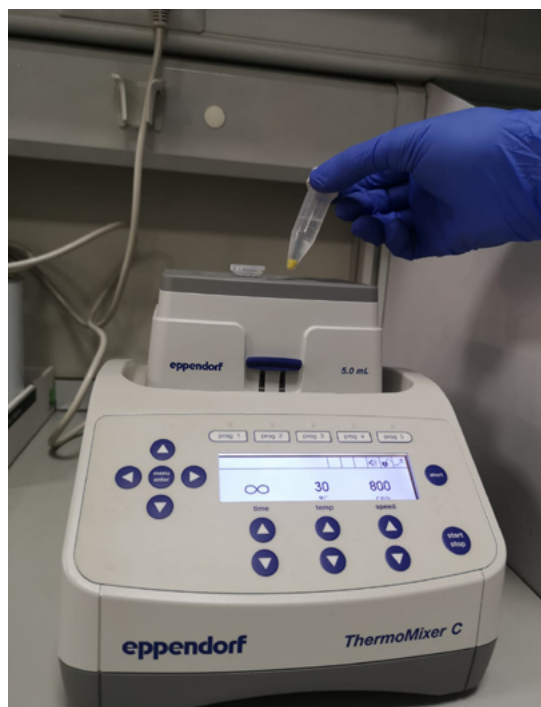
control termodinámico es capaz de adaptarse y autocorregir los enlaces entre los diferentes compuestos en presencia de una proteína. Si una o más moléculas presentes en la mezcla se unen a esta proteína, produciendo un complejo más estable, el equilibrio se desplazará hacia la formación de este compuesto a expensas de otros constituyentes de la mezcla no afines a la proteína.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Canal-Martín, A.; Pérez-Fernández, R. Biomimetic selenocystine based dynamic combinatorial chemistry for thiol-disulfide exchange. *Nat Commun* **2021**, 12, 163, doi:10.1038/s41467-020-20415-6.
- Canal-Martín, A.; Navo, C. D.; Sáez, E.; Molero, D.; Jiménez-Osés, G.; Pérez-Fernández, R. Nucleophilic catalysis of p-substituted aniline derivatives in acylhydrazone formation and exchange. *Org Biomol Chem* **2021**, 19, 7202, doi:10.1039/D1OB00871D.

**Figure 1**

Dynamic network generation under non-conventional conditions.



## Biological systems chemistry

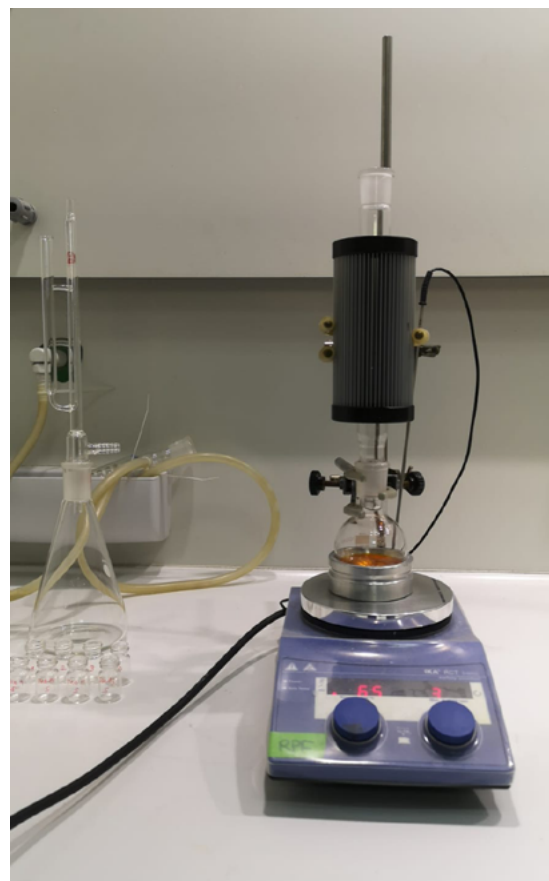
*Our research involves chemical biology, medicinal chemistry, and supramolecular chemistry. We use modern analytical techniques to study dynamic combinatorial libraries: dynamic networks of interchanging chemical species. We apply these dynamic networks as a hit-identification tool in drug discovery and study the properties derived from the molecular networks to mimic functions encountered in Nature.*

### Systems chemistry

*Biological systems function through complex interlinked molecular processes. We study complex mixtures of synthetic molecules that interact non-covalently and behave as molecular networks that transmit molecular information. Systems chemistry looks into complex networks of interacting molecules and their system-level properties. The molecular network, and not the individual components, provides emergent properties to the system. Understanding the mechanisms underlying the formation of synthetic complex molecular networks based on non-covalent interactions can lead to the design of self-evolvable systems with new functions enhancing those found in Nature.*

*Dynamic combinatorial chemistry (DCC) studies mixtures of compounds formed through reversible reactions and the response of those mixtures to external stimuli. We work with Protein-directed DCC systems as a hit identification tool in drug discovery searching for modulators of proteins and Protein-protein complexes. We study as well the reversible chemical processes and adapt them to work efficiently under physiological conditions even at low temperatures.*

*In Protein-directed DCC the molecular recognition process takes place in a thermodynamic controlled Dynamic Combinatorial Library (DCL) able to adapt and self-correct the bonds between the different components in the presence of a protein template. If one or more molecules present in the mixture bind to it, yielding a more stable complex, the equilibrium will be displaced to amplify the amount of this compound at the expense of other non-binding constituents.*



**Figure 2**

*Chemical synthesis of library building blocks through the latest air-cooled reflux systems.*

### Financiación / Funding

- PID2022-1425650B-I00 (MICIN)
- TED2021-132094B-I00 (MICIN)

### Premios / Awards

- "V National Award Young Research Group Leader in Chemical Biology" from the Spanish Royal Society of Chemistry (March 2023)
- Fulbright Scholarship 2023



**Francisco José Blanco Gutiérrez**

Investigador Científico  
[fj.blanco@cib.csic.es](mailto:fj.blanco@cib.csic.es)



PhD, 1992, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1993-2001, EMBL, NIH, CSIC  
 Jefe de Grupo, 2002-2020, CNIO, CIC bioGUNE  
 Investigador Científico 2020, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Belén Chaves Arquero  
 Mariola Ferreras Gutiérrez  
 Antonio Ruiz Albor  
 Miriam Barbera Sánchez



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

## RMN Biomolecular

Se han caracterizado estructuralmente interacciones de proteínas humanas que son posibles dianas terapéuticas en cáncer, implicadas en replicación de ADN (la pinza deslizante PCNA con helicasa FBH1), en remodelado de cromatina (la oncoproteína ING3 con histona H3), y en señalización celular (la subunidad Gai3 de proteínas G con GIV y un inhibidor) mediante RMN y otras técnicas.

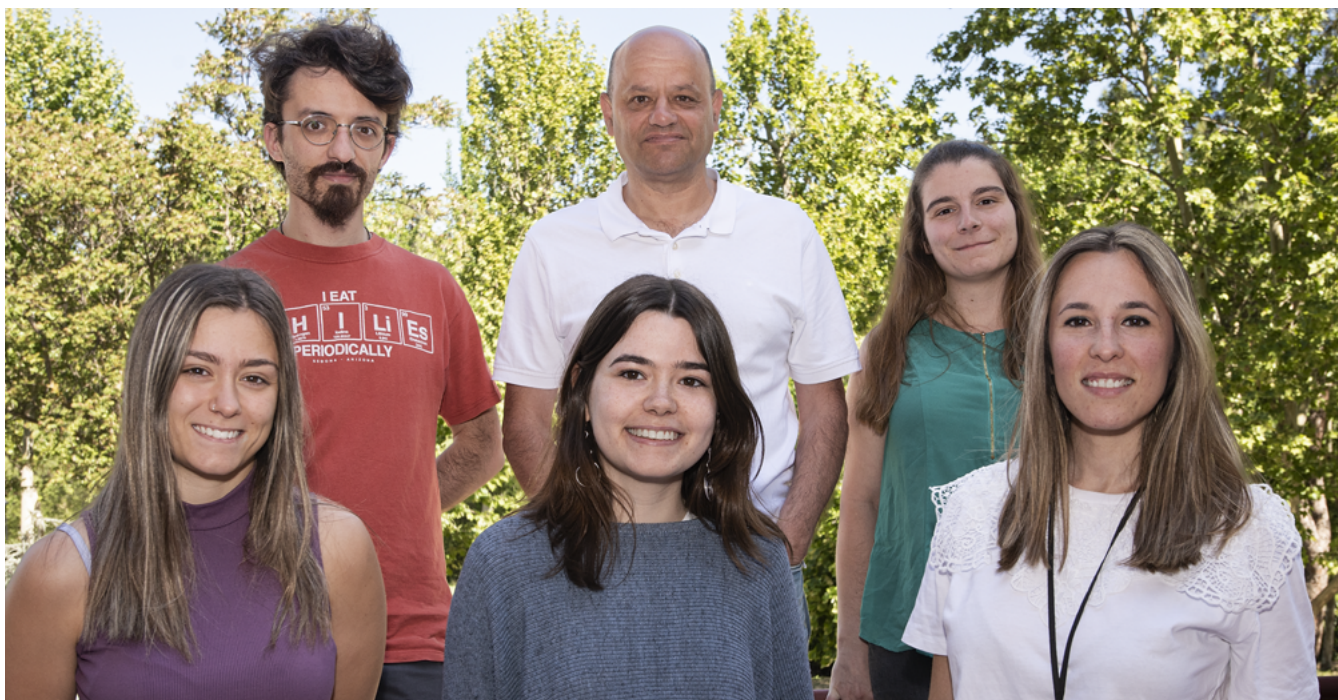
La proteína PCNA es un homotrímero con forma de anillo que se desliza sobre el ADN y que se une a diversas enzimas que actúan en el metabolismo del ADN, así como a proteínas reguladoras. Muchas de estas proteínas interactúan con PCNA por un sitio de unión presente en cada protómero. La helicasa FBH1 tiene dos motivos de unión a PCNA y hemos encontrado que uno de ellos se une con alta afinidad y el otro con una afinidad mucho más baja, proponiendo un modelo de reclutamiento a través del primer sitio que puede reforzarse por el segundo.

El oncogén ING3 reconoce el extremo N-terminal de la histona H3 mediante un dominio PHD C-terminal. Mediante RMN en disolución y cristalografía hemos encontrado que la proteína forma dímeros y que el dominio PHD se une específicamente a histona H3 trimetilada en el residuo K4 con una afinidad micromolar.

La subunidad Gai3 de proteínas G es una enzima regulada por la proteína GIV, cuyos niveles elevados en células correlacionan con malignidad y metástasis en cáncer de mama. Hemos caracterizado la interacción y la inhibición con una molécula pequeña mediante RMN, encontrando que la inhibición es competitiva.

**Financiación / Funding**

- PID2020-113225GB-I00 (MCIN/AEI)
- R01GM130120 (National Institutes of Health)
- PRE2018-085926 (MCIN)
- PEJ-2021-TL/BMD-22009 (Comunidad de Madrid)



# Biomolecular NMR

*Interactions of human proteins as potential therapeutic targets in cancer involved in DNA replication (the PCNA sliding clamp with helicase FBH1), in chromatin remodeling (the oncoprotein ING3 with histone H3), and in cell signaling (the G protein subunit Gai3 with GIV and an inhibitor) have been structurally characterized by NMR and other techniques.*

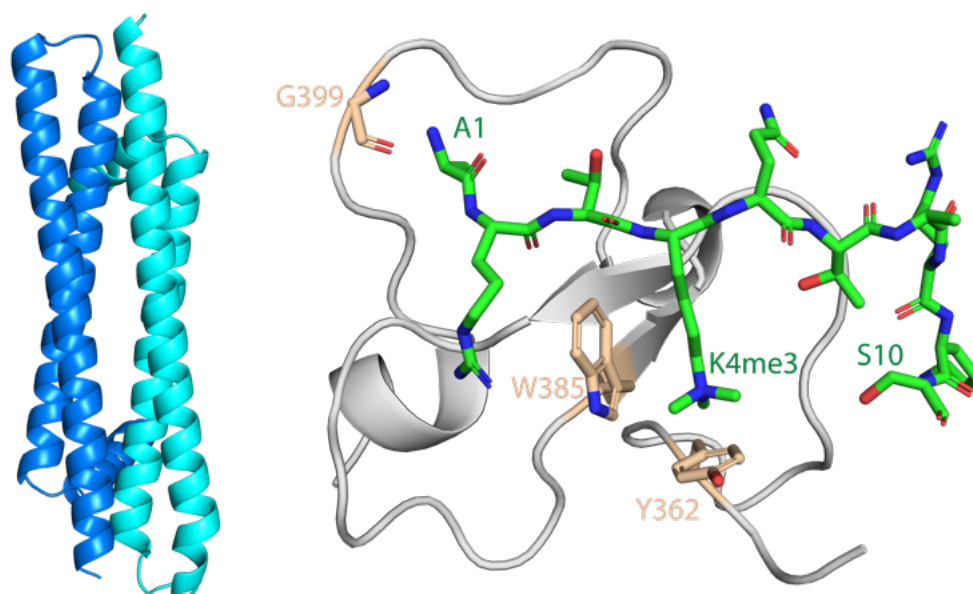
The PCNA protein is a ring-shaped homotrimer that slides on DNA and binds to various enzymes involved in DNA metabolism as well as regulatory proteins. Many of these proteins interact with PCNA through a binding site present on each protomer. The helicase FBH1 has two PCNA-binding motifs and we have found that one of them binds with high affinity and the other with much lower affinity, proposing a model of recruitment through the first site that can be reinforced by the second.

The ING3 oncogene recognizes the N-terminal end of histone H3 via a C-terminal PHD domain. By solution NMR and crystallography, we have found that the protein forms dimers and that the PHD domain binds specifically to trimethylated histone H3 at residue K4 with micromolar affinity.

The Gai3 subunit of G proteins is an enzyme regulated by the GIV protein, whose elevated cellular levels correlate with malignancy and metastasis in breast cancer. We have characterized the interaction and inhibition with a small molecule by NMR, finding that the inhibition is competitive.

**Figure 1**

On the left, the helical region of ING3 with the two molecules in different shades of blue. On the right, the region of ING3 (in gray, with some residues highlighted in brown) that recognizes the methylated histone H3 (in green).



## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Compte, M.; Harwood, S. L.; Erce-Llamazares, A.; Tapia-Galisteo, A.; Romero, E.; Ferrer, I.; Garrido-Martín, E. M.; Enguita, A. B.; Ochoa, M. C.; Blanco, B.; Oteo, M.; Merino, N.; Nehme-Álvarez, D.; Hangiu, O.; Domínguez-Alonso, C.; Zonca, M.; Ramírez-Fernández, A.; Blanco, F. J.; Morcillo, M. A.; Muñoz, I. G.; Melerio, I.; Rodríguez-Peralto, J. L.; Paz-Ares, L.; Sanz, L.; Álvarez-Vallina, L. An Fc-free EGFR-specific 4-1BB-agonistic Trimerbody Displays Broad Antitumor Activity in Humanized Murine Cancer Models without Toxicity. *Clin Cancer Res* 2021, 27, 3167-3177, doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-4625.
- Tapia-Galisteo, A.; Sánchez Rodríguez, I.; Aguilar-Sopeña, O.; Harwood, S. L.; Narbona, J.; Ferreras Gutierrez, M.; Navarro, R.; Martín-García, L.; Corbacho, C.; Compte, M.; Lacadena, J.; Blanco, F. J.; Chames, P.; Roda-Navarro, P.; Álvarez-Vallina, L.; Sanz, L. Trispecific T-cell engagers for dual tumor-targeting of colorectal cancer. *Oncoimmunology* 2022, 11, 2034355, doi:10.1080/2162402X.2022.2034355.
- Chaves-Arquero, B.; Persson, C.; Merino, N.; Tomás-Cortazar, J.; Rojas, A. L.; Anguita, J.; Blanco, F. J. Structural Analysis of the Black-Legged Tick Saliva Protein Salp15. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 3134, doi:10.3390/ijms23063134.
- Hangiu, O.; Compte, M.; Dinesen, A.; Navarro, R.; Tapia-Galisteo, A.; Mandrup, O. A.; Erce-Llamazares, A.; Lázaro-Gorines, R.; Nehme-Álvarez, D.; Domínguez-Alonso, C.; Harwood, S. L.; Alfonso, C.; Blanco, B.; Rubio-Pérez, L.; Jiménez-Reinoso, A.; Díez-Alonso, L.; Blanco, F. J.; Sanz, L.; Howard, K. A.; Álvarez-Vallina, L. *iScience* 2022, 25, 104958, doi:10.1016/j.isci.2022.104958.
- Cano, A.; Vázquez-Chantada, M.; Conde-Vancells, J.; González-Lahera, A.; Mosen-Ansorena, D.; Blanco, F. J.; Clément, K.; Aron-Wisniewsky, J.; Tran, A.; Gual, P.; García-Monzón, C.; Caballería, J.; Castro, A.; Martínez-Chantar, M. L.; Mato, J. M.; Zhu, H.; Finnell, R. H.; Aransay, A. M. Impaired Function of Solute Carrier Family 19 Leads to Low Folate Levels and Lipid Droplet Accumulation in Hepatocytes. *Biomedicines* 2023, 11, 337, doi:10.3390/biomedicines11020337.
- Liu, J.; Chaves-Arquero, B.; Wei, P.; Tencer, A. H.; Ruiz-Albor, A.; Zhang, J.; Blanco, F. J.; Kutateladze, T. G. Molecular insight into the PCNA-binding mode of FBH1. *Structure* 2023, 31, 511-517.e3, doi:10.1016/j.str.2023.03.004.
- Rubio-Pérez, L.; Lázaro-Gorines, R.; Harwood, S. L.; Compte, M.; Navarro, R.; Tapia-Galisteo, A.; Bonet, J.; Blanco, B.; Lykkemark, S.; Ramírez-Fernández, A.; Ferreras-Gutiérrez, M.; Domínguez-Alonso, C.; Díez-Alonso, L.; Segura-Tudela, A.; Hangiu, O.; Erce-Llamazares, E.; Blanco, F. J.; Santos, C.; Rodríguez-Peralto, J. L.; Sanz, L.; Álvarez-Vallina, L. A PD-L1/EGFR bispecific antibody combines immune checkpoint blockade and direct anti-cancer action for an enhanced anti-tumor response. *Oncoimmunology* 2023, 12, 2205336, doi:10.1080/2162402X.2023.2205336.
- Zhao, J.; DiGiorgio, V.; Ferreras-Gutiérrez, M.; Dastjerdi, S.; Ibáñez de Opakua, A.; Park, J. C.; Luebbbers, A.; Chen, Q.; Beeler, A.; Blanco, F. J.; M García-Marcos, M. Small-molecule targeting of GPCR-independent noncanonical G-protein signaling in cancer. *PNAS* 2023, 120, e2213140120, doi:10.1073/pnas.2213140120.
- Ferreras-Gutiérrez, M.; Chaves-Arquero, B.; González-Magaña, A.; Merino, N.; Amusatagui-Mateu, I.; Huecas, S.; Medrano, F. J.; Blanco, F. J. Structural analysis of ING3 protein and histone H3 binding. *Int J Biol Macromol* 2023, 242, 124724, doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.124724.
- Lázaro-Gorines, R.; Pérez, P.; Heras-Murillo, I.; Adán-Barrientos, I.; Albericó, G.; Astorgano, D.; Flores, S.; Luczkowiak, J.; Labiod, N.; Harwood, S. L.; Segura-Tudela, A.; Rubio-Pérez, L.; Nugraha, Y.; Shang, X.; Li, Y.; Alfonso, C.; Adipietro, K. A.; Abeyawardhane, D. L.; Navarro, R.; Compte, M.; Yu, W.; MacKerell, A. D. Jr.; Sanz, L.; Weber, D. J.; Blanco, F. J.; Esteban, M.; Pozharski, E.; Godoy-Ruiz, R.; Muñoz, I. G.; Delgado, R.; Sancho, D.; García-Arriaza, J.; Álvarez-Vallina, L. Dendritic Cell-Mediated Cross-Priming by a Bispecific Neutralizing Antibody Boosts Cytotoxic T Cell Responses and Protects Mice against SARS-CoV-2. *Adv Sci* 2023, 10, 2304818, doi:10.1002/adv.202304818.

**Valle Palomo**

Junior Leader

vpalomo@cib.csic.es;

valle.palomo@imdea.org (actual)



PhD, 2012, Universidad Autónoma de Madrid

Postdoctoral Researcher, 2013-2016, The Scripps Research Institute

Juan de la Cierva Incorporación, 2016-2018, CIB, CSIC

Jefe de Grupo, 2018, CIB, CSIC

Investigador asociado Ramón y Cajal, 2021, IMDEA Nanociencia

**Otros miembros / Other members**

Carlota Tosat Bitrián

Rebeca París Ogayar

Carmen Pérez de la Lastra

Paula Fernández Gómez

## Biosensores y Química Biológica

Nuestra investigación se centra en el uso de nanopartículas y otras herramientas químicas para comprender procesos biológicos de enfermedades neurodegenerativas 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 neurodegenerativas y la búsqueda de tratamientos farmacológicos innovadores.

Nuestro grupo trabaja principalmente con nanopartículas luminiscentes de tipo *Quantum Dot* (QD) conjugadas con anticuerpos monoclonales (mAb) o con péptidos sustratos de enzimas de interés. Con los conjugados de QD estamos estudiando tanto procesos dinámicos relevantes en la patología de enfermedades neurodegenerativas, así como el marcaje simultáneo de varias proteínas a nivel de célula única. En estos modelos, estudiamos la modulación ante tratamientos farmacológicos.

Como ejemplo de procesos dinámicos, trabajamos en el desarrollo de péptidos para marcar motores moleculares dineína y kinesina que permiten evaluar el transporte intracelular en modelos de enfermedades neurodegenerativas.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Oliva, M. Á.; Tosat-Bitrián, C.; Barrado-Gil, L.; Bonato, F.; Galindo, I.; Garaigorta, U.; Álvarez-Bernad, B.; París-Ogáyar, R.; Lucena-Agell, D.; Giménez-Abián, J. F.; García-Dorival, I.; Urquiza, J.; Gastaminza, P.; Díaz, J. F.; Palomo, V.; Alonso, C. Effect of Clinically Used Microtubule Targeting Drugs on Viral Infection and Transport Function. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 3448, doi:10.3390/ijms23073448.
- Nozal, V.; Martínez-Gonzalez, L.; Gómez-Almería, M.; Gonzalo-Consuegra, C.; Santana, P.; Chaikvad, A.; Perez-Cuevas, E.; Knapp, S.; Lietha, D.; Ramírez, D.; Petrala, S.; Monti, B.; Gil C.; Martín-Requero, A.; Palomo, V.; de Lago, E.; Martínez, A. TDP-43 Modulation by Tau-Tubulin Kinase 1 Inhibitors: A New Avenue for Future Amyotrophic Lateral Sclerosis Therapy. *J Med Chem* 2022, 65, 1585-1607, doi:10.1021/acs.jmedchem.1c01942.
- Cuevas, E. P.; Rodríguez-Fernández, A.; Palomo, V.; Martínez, A.; Martín-Requero, A. TDP-43 Pathology and Prionic Behavior in Human Cellular Models of Alzheimer's Disease Patients. *Biomedicines* 2022, 10, 385, doi:10.3390/biomedicines10020385.
- Rico, A.; Guembelzu, G.; Palomo, V.; Martínez, A.; Aiausti, A.; Casas-Fraile, L.; Valls, A.; López de Munain, A.; Sáenz, A. Allosteric Modulation of GSK-3 $\beta$  as a New Therapeutic Approach in Limb Girdle Muscular Dystrophy R1 Calpain 3-Related. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 7367, doi:10.3390/ijms22147367.
- Nozal, V.; García-Rubia, A.; Cuevas, E. P.; Pérez, C.; Tosat-Bitrián, C.; Bartolomé, F.; Carro, E.; Ramírez, D.; Palomo, V.; Martínez, A. From Kinase Inhibitors to Multitarget Ligands as Powerful Drug Leads for Alzheimer's Disease using Protein-Templated Synthesis. *Angew Chem Int Ed Engl* 2021, 60, 19344-19354, doi:10.1002/anie.202106295.
- Tosat-Bitrián, C.; Avis-Bodas, A.; Porras, G.; Borrego-Hernández, D.; García-Redondo, A.; Martín-Requero, A.; Palomo, V. CdSe Quantum Dots in Human Models Derived from ALS Patients: Characterization, Nuclear Penetration Studies and Multiplexing. *Nanomaterials* 2021, 11, 671, doi:10.3390/nano11030671.





# Biosensors and Chemical Biology

*Our research is focused in the use of nanoparticles and other chemical tools to understand biological processes of neurodegenerative diseases 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 neurodegenerative 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 tracking dynamic processes and labelling proteins simultaneously, to study their modulation upon pharmacological treatment.*

*We also work on developing peptidic tools to label molecular motors kinesin and dynein that enable to track intracellular transport in neurodegenerative disease models and study its pharmacological evaluation.*

## Financiación / Funding

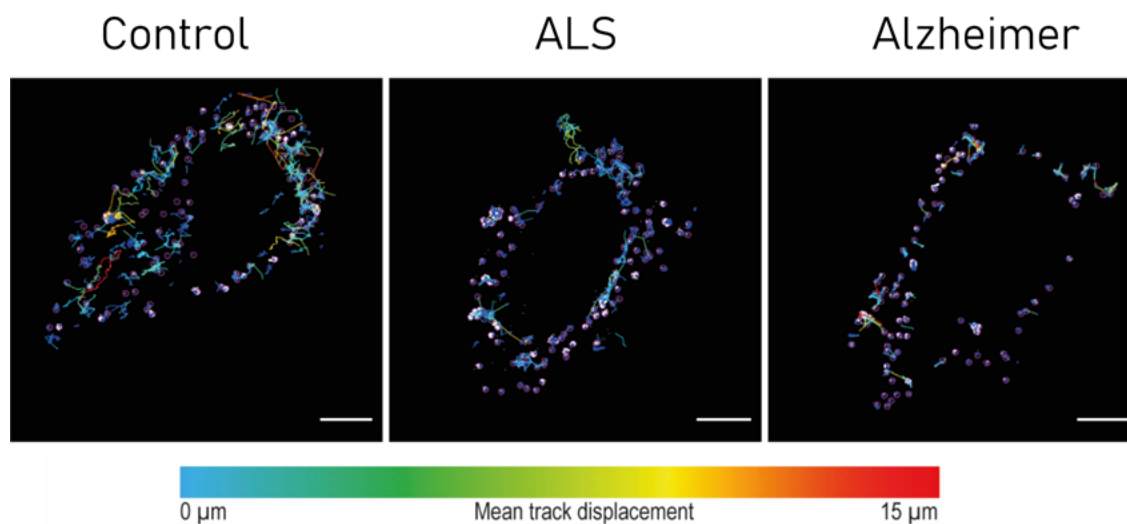
- RYC2019-027489-I (MICINN)
- LCF/PR/HA21/52350003 (Fundación la Caixa)
- EIN2019-103140 (MICINN)
- LCF/TR/CI19/52460012 (Fundación la Caixa)
- CIVP19A5917 (Fundación Ramón Areces)
- LCF/BQ/PR18/11640007 (Fundación la Caixa)

## Patentes / Patents

- Ana Martínez, Carmen Gil, Vanesa Nozal, Valle Palomo, Ángeles Martín-Requero, Loreto Martínez-González y Eva Pérez Cuevas. 09 Julio 2021. "Compuestos inhibidores de la quinasa de tau y tubulina (TTBK)". WO2023281149A1
- Ana Martínez, Valle Palomo, Miren Amets Sáenz Peña y Adolfo López de Munain Arregi. 24 Abril 2021. "1,2-Dihidroquinoline-2-onas para su uso en el tratamiento de distrofia muscular de cinturas". WO2022248394A1

## Premios / Awards

- Accésit premio EFMC para Químico Médico Joven en Academia. Marzo 2023.
- Seleccionada para participar en el foro de jóvenes de la Real Academia Nacional de Medicina (RANM). Octubre 2023.



**Figure 1**

Cy5-KBP trajectories analyzed in U2OS cells, treated with CM from lymphoblasts from healthy subjects (Control), amyotrophic lateral sclerosis patients (ALS) and Alzheimer disease patients (Alzheimer). Trajectories were analyzed using ImageJ and colored by the mean track displacement. Scale bar: 10  $\mu\text{m}$ .

**Daniel Lietha**

Científico Titular

[daniel.lietha@cib.csic.es](mailto:daniel.lietha@cib.csic.es)

PhD, 2004, Birkbeck College, University of London, UK

Postdoctoral, 2004-2009, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, USA

Jefe de Grupo, 2009-2018, CNIO

Investigador Distinguido, 2018-2021, CIB, CSIC

Científico Titular, 2021, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Pilar López Navajas

Bárbara Rodrigo Martín

Karen Díaz Palacios

<https://cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/cell-signalling-and-adhesion>

## Señalización y Adhesión Celular

Estudiamos la estructura, función y señalización de las adhesiones focales, complejos proteicos claves en la migración celular. En los cánceres invasivos estas señales aumentan para iniciar la metástasis en el cáncer. Empleamos un enfoque multidisciplinar para entender estos eventos a nivel estructural y mecánico y lo utilizamos para el diseño de agentes anti metastásicos para la terapia contra cánceres avanzados.

Las adhesiones focales (AF) desempeñan un papel clave en la migración celular y, en el cáncer, inician los procesos de invasión y metástasis. Las AF conectan la matriz extracelular con el citoesqueleto de actina en el interior de la célula, lo que permite la tracción para la motilidad celular. En las AF, las proteínas talina y vinculina transducen fuerzas generadas por las fibras de actina adheridas. También interactúan con las proteínas de señalización en AF, como la quinasa de adhesión focal (FAK) y Src, situadas en la membrana plasmática, lo que permite su activación inducida por la fuerza. Utilizamos un enfoque *bottom-up* para reconstituir subcomplejos de AF con proteínas purificadas en membranas lipídicas para estudios mecánicos y estructurales.

Anteriormente, demostramos que FAK en las AF adopta un ensamblaje oligomérico unido a la membrana plasmática (Fig. 1A, Acebrón *et al.*, 2020, EMBO J). Ahora estudiamos cómo FAK interactúa con componentes estructurales en las AF y cómo la transducción de fuerza resulta en su activación bioquímica. La proteína paxilina juega un papel importante como adaptador, interactuando con FAK (Fig.1 B) y vinculina (Fig.1C). Nuestros datos sugieren que esta conexión se regula a través de la fosforilación del dominio FAT de FAK por Src (Fig. 1D). Además, obtuvimos una estructura que define la interacción entre el motivo LD2 de paxilina y el dominio vinculina tail (VT), mostrando que VT puede interactuar simultáneamente con paxilina y actina (Fig. 1C), como se requiere para la activación de FAK por fuerza a través del enlace actina-vinculina-paxilina (Fig. 1D).

Por último, utilizamos los conocimientos mecánicos para diseñar estrategias que impidan la señalización en AF. Los agentes resultantes podrían prevenir la invasión y metástasis de tumores avanzados. Con este fin, colaboramos en el descubrimiento de un inhibidor que atrapa a Src en una conformación inactiva, impidiendo así su interacción con FAK (Tems *et al.*, 2021). Este inhibidor está actualmente en ensayos clínicos.



# Cell Signalling and Adhesion

We study the structure, function, and signaling in the focal adhesion complex, a key protein complex in cell migration. In invasive cancers, these signals are upregulated to initiate cancer cell invasion and metastasis. We employ a multidisciplinary approach to obtain structural and mechanistic insights and use this information for the design of anti-metastatic agents for potential use in therapy against advanced solid cancers.

The Focal Adhesion (FA) complex plays a key role in mammalian cell migration and in cancer is responsible for initiating tumor invasion and metastasis. FAs connect the extracellular matrix outside the cell via integrin receptors and intracellular FA proteins to the actin cytoskeleton, enabling traction for directional cell motility. The structural FA components talin and vinculin are responsible for the transduction of forces generated by attached actin stress fibers. They also interact with FA signaling components on the plasma membrane allowing for force-induced activation of signaling molecules, such as Focal Adhesion Kinase (FAK) and Src. We use a bottom-up approach to reconstitute FA subcomplexes with purified components on lipid membrane systems for mechanistic and structural studies.

We previously showed how FAK in FAs adopts an oligomeric and primed assembly bound to the plasma membrane (Fig.1A, Acebrón et al., 2020, EMBO J). We now study how FAK interacts with structural components in FAs and how force transduction results in its biochemical activation. The FA adaptor protein paxillin plays an important role by interacting with FAK (Fig.1B) and vinculin (Fig.1C). Our data suggests that this linkage is regulated via phosphorylation of the FAK-FAT domain on Y925 by Src (Fig.1D). We further recently obtained a crystal structure defining the interaction between the paxillin LD2 motif with the vinculin tail (V<sub>T</sub>) domain, indicating that V<sub>T</sub> can simultaneously interact with paxillin LD2 and actin (Fig.1C), as required for force activation of FAK via an actin-vinculin-paxillin linkage (Fig.1D).

Lastly, we use our mechanistic insights to design strategies to prevent FA signaling. Resulting agents could prevent cancer invasion and metastasis of advanced tumors. To this end, we collaborated on the discovery of an inhibitor that traps Src in an inactive conformation, thereby preventing its interaction with FAK (Temps et al., 2021). This inhibitor is currently tested in clinical trials.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Le Coq, J.; Acebrón, I.; Rodrigo Martín, B.; López Navajas, P.; Lietha, D. New insights into FAK structure and function in focal adhesions. *J Cell Sci* **2022**, 135, jcs259089, doi:10.1242/jcs.259089.
- Bauer, M. S.; Gruber S.; Hausch A.; Gomes P. S. F. C.; Milles L. F.; Nicolaou T.; Schendel L. C.; Navajas P. L.; Procko E.; Lietha D.; Melo M. C. R.; Bernardi R. C.; Gaub H. E.; Lipfert J. A tethered ligand assay to probe SARS-CoV-2:ACE2 interactions. *PNAS* **2022**, 119, e2114397119, doi:10.1073/pnas.2114397119.
- Nozal, V.; Martínez-González, L.; Gómez-Almería, M.; Gonzalo-Consuegra, C.; Santana, P.; Chaikuad, A.; Pérez-Cuevas, E.; Knapp, S.; Lietha D.; Ramírez D.; Petralia S.; Monti B.; Gil C.; Martín-Requero A.; Palomo V.; de Lago E.; Martínez A. TDP-43 Modulation by Tau-Tubulin Kinase 1 Inhibitors: A New Avenue for Future Amyotrophic Lateral Sclerosis Therapy. *J Med Chem* **2022**, 65, 1585-1607, doi:10.1021/acs.jmedchem.1c01942.
- Temps, C.; Lietha, D.; Webb, E. R.; Li, X. F.; Dawson, J. C.; Muir, M.; Macleod, K. G.; Valero, T.; Munro, A. F.; Contreras-Montoya, R.; Luque-Ortega, J. R.; Fraser, C.; Beetham, H.; Schoenherr, C.; Lopalco, M.; Arends, M. J.; Frame, M. C.; Qian, B. Z.; Brunton, V. G.; Carragher, N. O.; Unciti-Broceta, A. A Conformation Selective Mode of Inhibiting SRC Improves Drug Efficacy and Tolerability. *Cancer Res* **2021**, 81, 5438-5450, doi:10.1158/0008-5472.CAN-21-0613.
- Le Coq, J.; López Navajas, P.; Rodrigo Martín, B.; Alfonso, C.; Lietha, D. A new layer of phosphoinositide-mediated allosteric regulation uncovered for SHIP2. *FASEB J* **2021**, 35, e21815, doi:10.1096/fj.202100561R.
- Takahashi, K.; Kanerva, K.; Vanharanta, L.; Almeida-Souza, L.; Lietha, D.; Olkkonen, V. M.; Ikonen, E. ORP2 couples LDL-cholesterol transport to FAK activation by endosomal cholesterol/PI(4,5)P2 exchange. *EMBO J* **2021**, 40, e106871, doi:10.15252/emboj.2020106871.

## Financiación / Funding

- PID2021-127058NB-I00 (MICINN)
- 2021AEP104 (MICINN)
- RTI2018-099318-B-I00 (MCIU)

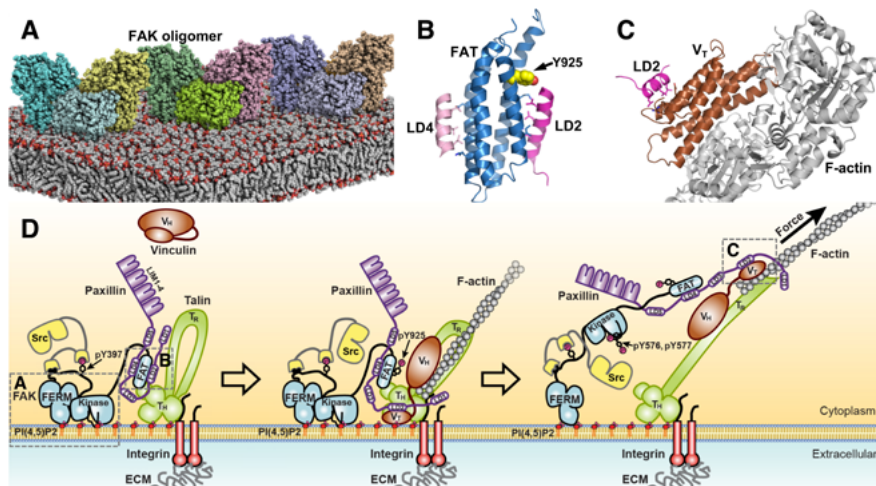


Figure 1

(A) Cryo-EM structure of FAK oligomers bound to a lipid membrane. (B) Structure of the FAK-FAT domain bound to paxillin motifs LD2 and LD4 (PDB: 2L6F). Y925 is indicated. (C) Superposition of the vinculin tail (V<sub>T</sub>) domain bound to F-actin (PDB: 3JB1) and our structure of V<sub>T</sub> bound to paxillin LD2 (unpublished). (D) Schematic of a possible mechanism for FAK force activation regulated by Y925 phosphorylation (adapted from Le Coq et al., 2021). Dashed boxes correspond to panels A-C.

## Sonsoles Martín-Santamaría

Investigador Científico  
[smsantamaria@cib.csic.es](mailto:smsantamaria@cib.csic.es)



PhD, 1998, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1998-2000, Imperial College London, UK  
 Postdoctoral, 2000-2003, Universidad de Alcalá  
 Investigador Ramón y Cajal, 2004-2008, Universidad CEU San Pablo  
 Profesor Ayudante, 2008-2011; Profesor Titular, 2011-2014, Universidad CEU San Pablo  
 Investigador principal, 2012; Científico Titular, 2014, CIB, CSIC  
 Secretaria General de la RSEQ desde 2018  
 Investigador Científico, 2023, CIB, CSIC

### Otros miembros / Other members

Juan Felipe Franco González  
 Javier García Marín  
 Joan Guzmán Caldentey  
 Olmo Martín Cámara  
 Elena Gómez Rubio  
 Alejandra Matamoros Recio  
 Marina Mínguez Toral



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

# Química Biológica Computacional

Nuestro interés de investigación 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 se centra en los receptores de la inmunidad innata *Toll-like* y lectinas.

Nuestro trabajo está dedicado al modelado molecular y al estudio computacional de procesos de reconocimiento molecular que involucran receptores de reconocimiento de patrones de inmunidad innata: receptores *Toll-like* (TLRs) y lectinas. Combinamos metodologías computacionales a diferentes escalas de resolución, desde la mecánica cuántica hasta la mecánica clásica, como el modelado por homología, el *docking* proteína-proteína y ligando-proteína, el cribado virtual y simulaciones de dinámica molecular atomísticas y *coarse-grained*. Trabajamos en estrecha colaboración con especialistas en química farmacéutica, bioquímica y biología celular.

1- Mecanismos moleculares de inmunidad innata y resistencia bacteriana: TLRs y lipopolisacáridos (LPSs). Los TLRs han despertado un gran interés en la modulación terapéutica del sistema de la inmunidad innata. Estudiamos los mecanismos moleculares implicados en la funcionalidad de los TLRs, y en el reconocimiento por PAMPs, como los LPS naturales y los lipopéptidos, con especial interés en el diseño e identificación de nuevos compuestos capaces de modular el comportamiento de los TLRs con posible aplicación terapéutica en infección, inflamación, cáncer y enfermedades neurodegenerativas, entre otras. También buscamos profundizar en los mecanismos moleculares relacionados con la resistencia a los antimicrobianos, en particular: la envoltura bacteriana, las proteínas de conjugación bacteriana y diseño de péptidos antimicrobianos.

2- Reconocimiento de glicanos-proteínas: diseño y propiedades de unión de glicomiméticos. Las lectinas humanas tienen muchas funciones fisiopatológicas y juegan un papel muy importante en el reconocimiento de varios patógenos. El sistema del Complemento es fundamental para la inmunidad innata con funciones en la muerte bacteriana y la apoptosis, pero cuando su activación no está controlada, puede contribuir a patologías. Nos interesa el esclarecimiento de los mecanismos que gobiernan

el reconocimiento de oligosacáridos naturales y sintéticos por diferentes lectinas (siglecs, galectinas, DC-SIGN) y proteínas del Complemento, y en el diseño de glicomiméticos como moduladores.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Matamoros-Recio, A.; Merino, J.; Gallego-Jiménez, A.; Conde-Álvarez, R.; Fresno, M.; Martín-Santamaría, S. Immune evasion through Toll-like receptor 4: The role of the core oligosaccharides from  $\alpha 2$ -Proteobacteria atypical lipopolysaccharides. *Carbohydr Polym* **2023**, 318, 121094, doi:10.1016/j.carbpol.2023.121094.
- Romero, A.; Gotri, N.; Franco, A. R.; Artusa, V.; Shaik, M. M.; Pasco, S. T.; Atxabal, U.; Matamoros-Recio, A.; Mínguez-Toral, M.; Zalamea, J. D.; Franconetti, A.; Abrescia, N. G. A.; Jiménez-Barbero, J.; Anguita, J.; Martín-Santamaría, S.; Peri, F. New Glucosamine-Based TLR4 Agonists: Design, Synthesis, Mechanism of Action, and In Vivo Activity as Vaccine Adjuvants. *J Med Chem* **2023**, 66, 3010-29, doi:10.1021/acs.jmedchem.2c01998.
- Franco-González, J. F.; Matamoros-Recio, A.; Torres-Mozas, A.; Rodrigo-Lacave, B.; Martín-Santamaría, S. Lipid-A-dependent and cholesterol-dependent dynamics properties of liposomes from gram-negative bacteria in ESKAPE. *Sci Rep* **2022**, 12, 19474, doi:10.1038/s41598-022-22886-7.
- Gratal, P.; Mediero, A.; Lamuedra, A.; Matamoros-Recio, A.; Herencia, C.; Herrero-Beaumont, G.; Martín-Santamaría, S.; Largo, R. 6-Shogaol (enexasogol) treatment improves experimental knee osteoarthritis exerting a pleiotropic effect over immune innate signalling responses in chondrocytes. *Br J Pharmacol* **2022**, 179, 5089-5108, doi:10.1111/bph.15908.
- Francisco, S.; Billod, J. M.; Merino, J.; Punzón, C.; Gallego, A.; Arranz, A.; Martín-Santamaría, S.; Fresno, M. Induction of TLR4/TLR2 Interaction and Heterodimer Formation by Low Endotoxic Atypical LPS. *Front Immunol* **2022**, 12, 748303, doi:10.3389/fimmu.2021.748303.
- Matamoros-Recio, A.; Franco-Gonzalez, J. F.; Perez-Regidor, L.; Billod, J. M.; Guzman-Caldentey, J.; Martín-Santamaría, S. Full-Atom Model of the Agonist LPS-Bound Toll-like Receptor 4 Dimer in a Membrane Environment. *Chem A Eur J* **2021**, 27, 15406-15425, doi:10.1002/chem.202102995.
- Facchini, F. A.; Minotti, A.; Luraghi, A.; Romero, A.; Gotri, N.; Matamoros-Recio, A.; Iannucci, A.; Palmer, C.; Wang, G.; Ingram, R.; Martín-Santamaría, S.; Pirianov, G.; De Andrea, M.; Valvano, M. A.; Peri, F. Synthetic Glycolipids as Molecular Vaccine Adjuvants: Mechanism of Action in Human Cells and In Vivo Activity. *J Med Chem* **2021**, 64, 12261-72, doi:10.1021/acs.jmedchem.1c00896.
- Martín Merinero, H.; Subías, M.; Pereda, A.; Gómez-Rubio, E.; Juana López, L.; Fernández, C.; Goicoechea de Jorge, E.; Martín-Santamaría, S.; Cañada, F. J.; Rodríguez de Córdoba, S. Molecular bases for the association of FHR-1 with atypical hemolytic uremic syndrome and other Diseases. *Blood* **2021**, 137, 3484-94, doi:10.1182/blood.2020010069.
- Matamoros-Recio, A.; Franco-González, J.F.; Forgiore, R.E.; Torres-Mozas, A.; Silipo, A.; Martín-Santamaría, S. Understanding the Antibacterial Resistance: Computational Explorations in Bacterial Membranes. *ACS Omega* **2021**, 6, 6041-54, doi:10.1021/acsomega.0c05590.

### Financiación / Funding

- PID2020-113588RB-I00 (MICINN)
- P2022/BMD-7278 (Red excelencia Comunidad de Madrid)
- TED2021-132094B-I00 (MICINN)
- S2017/BMD-3673L (Red excelencia Comunidad de Madrid)
- CSIC-COV19-082 & Fondo SUPERA "BlockAce"
- COVID-19-26 (PRACE)
- PRE2018-086249 (FPI Alejandra Matamoros-Recio; MICINN)
- PRE2021-097247 (FPI Marina Mínguez Toral; MICINN)

# 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 to the design of drugs and biological probes. We combine these investigations with structural and biological studies, within a multidisciplinary and integrative approach. Our work focuses on Toll-like innate immunity receptors and lectins.

Our work focuses in the molecular modeling and computational study of molecular recognition processes involving innate immunity Pattern Recognition Receptors: Toll-like receptors (TLRs), and lectins. We combine computational methodologies at different resolution scales, from quantum to classical mechanics, such as homology modeling, protein-protein and ligand-protein docking, virtual screening, and all-atom and coarse-grained molecular dynamics simulations. We work in close collaboration with international specialists in medicinal chemistry, biochemistry, and cell biology.

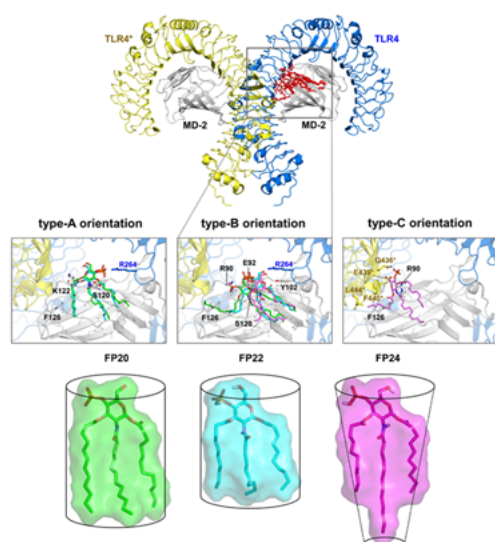


Figure 1

We use diverse computational approaches for the study of molecular mechanisms of innate immunity and the design of Toll-like receptor modulators as vaccine coadjuvants.

1- Molecular mechanisms of innate immunity and bacterial resistance: TLRs and lipopolysaccharides (LPSs). The TLRs have sparked great interest in therapeutic manipulation of the innate immune system. We are devoted to the study of the molecular mechanisms involved in the TLR functionality and in the recognition by PAMPs, such as natural LPSs and lipopeptides, with a special focus on the design and identification of new compounds able to modulate the TLR behavior with possible therapeutic applications in infection, inflammation, cancer, and neurodegenerative diseases, among others. We also pursue deepening antimicrobial resistance-related molecular mechanisms, in particular: bacterial envelope, bacterial conjugation proteins, and antimicrobial peptides.

2- Understanding glycan-protein recognition: design and binding properties of glycomimetics. Human lectins have many physio/pathological roles since they can act as pro-inflammatory and pro-tumoral effectors, and play a role in the recognition of several pathogens. Complement is central to innate immunity with roles in bacterial killing and apoptosis, but may contribute to pathologies when its activation is uncontrolled. Our work focuses on the elucidation of the mechanisms that govern natural and synthetic oligosaccharide recognition by different lectins (siglecs, galectins, DC-SIGN) and Complement system proteins, and on the design of glycomimetics as modulators.

## Premios

- Sonsoles Martín Santamaría. Académica Correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia (2023).

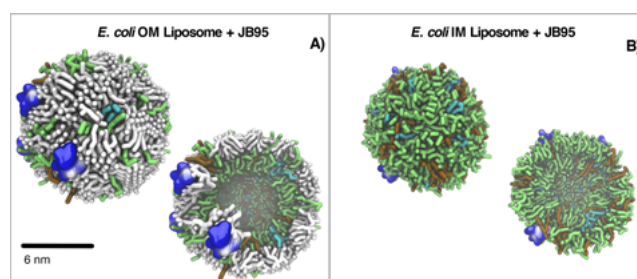


Figure 2

Understanding of the recognition between the antimicrobial peptide JB95 and Escherichia coli liposome using coarse-grained simulations.



**Ernesto Arias Palomo**

Científico Titular  
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 Ramón y Cajal, 2017-2018, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2018, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Lidia Araújo Bazán  
Mercedes Spínola Amilibia  
Álvaro de la Gándara Fernández  
Lucía Reglero Fernández



<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, cristalografía de rayos x, junto con técnicas bioquímicas y funcionales.

Nuestro laboratorio está interesado en comprender cómo las máquinas macromoleculares controlan diversas funciones celulares esenciales. Estamos especialmente interesados en desarrollar modelos a nivel atómico que expliquen cómo los complejos macromoleculares transforman la energía química en fuerza y movimiento, y en determinar cómo las células aprovechan estos complejos para adaptarse al medio y proliferar.

Nuestra investigación se centra en la transferencia horizontal de genes y, en particular, en los transposones, elementos genéticos móviles capaces de reubicarse de manera independiente dentro del genoma. Los transposones constituyen una parte importante de la mayoría de los genomas, pero existen muchos interrogantes acerca de sus mecanismos de regulación y funciones fisiológicas. Desempeñan un papel crucial en la promoción de la diversidad genética, facilitando la adaptación y la evolución. Los transposones también desempeñan papeles esenciales en la regulación génica, el desarrollo, la inmunidad y la neurogénesis. En las bacterias, los transposones contribuyen en gran medida a la propagación de genes de resistencia a los antibióticos, lo que plantea un importante problema de salud pública. Además, algunos de estos elementos están mostrando un gran potencial como herramientas biotecnológicas y de edición génica.

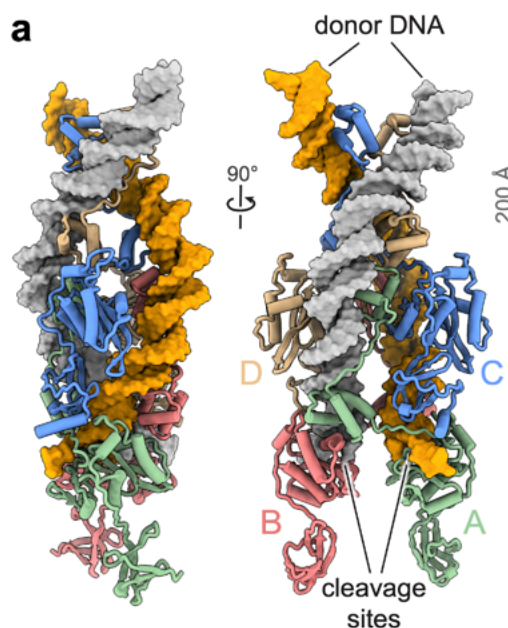
Con el fin de entender los mecanismos moleculares que rigen el movimiento y regulación de los transposones empleamos un conjunto diverso de enfoques metodológicos, que incluyen herramientas de biología estructural, bioquímica, biofísica, bioinformática y biología celular. Nuestra investigación pretende dilucidar las bases estructurales de los complejos responsables de la transposición, aclarar los procesos empleados para la escisión e integración del ADN, descubrir los principios fundamentales que rigen la selección de sitios diana, investigar sus patrones de distribución dentro de los genomas y explorar su interacción con la célula huésped.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Spínola-Amilibia, M.; Araújo-Bazán, L.; de la Gándara A.; Berger J. M.; Arias-Palomo, E. IS21 family transposase cleaved donor complex traps two right-handed superhelical crossings. *Nat Commun* **2023**, 14, 2335, doi:10.1038/s41467-023-38071-x.
- Spínola-Amilibia, M.; Illanes-Vicioso, R.; Ruiz-López, E.; Colomer-Vidal, P.; Rodríguez-Ventura, F.; Peces Pérez, R.; Arias, C. F.; Torroba, T.; Solà, M.; Arias-Palomo, E.; Bertocchini, F. Plastic degradation by insect hexamerins: Near-atomic resolution structures of the polyethylene-degrading proteins from the wax worm saliva. *Sci Adv* **2023**, 9, eadi6813, doi:10.1126/sciadv.adi6813.
- Sanluis-Verdes, A.; Colomer-Vidal, P.; Rodríguez-Ventura, F.; Bello-Villarino, M.; Spínola-Amilibia, M.; Ruiz-López, E.; Illanes-Vicioso, R.; Castroviejo, P.; Aiese Cigliano, R.; Montoya, M.; Falabella, P.; Pesquera, C.; González-Legarreta, L.; Arias-Palomo, E.; Solà M.; Torroba, T.; Arias, C. F.; Bertocchini, F. Wax worm saliva and the enzymes therein are the key to polyethylene degradation by *Galleria mellonella*. *Nat Commun* **2022**, 13, 5568, doi:10.1038/s41467-022-33127-w.
- Lázaro-Berenguer, M.; Paredes-Martínez, F.; Bel, Y.; Núñez-Ramírez, R.; Arias-Palomo, E.; Casino, P.; Ferré, J. Structural and functional role of Domain I for the insecticidal activity of the Vip3Aa protein from *Bacillus thuringiensis*. *Microb Biotechnol* **2022**, 15, 2607-2618, doi:10.1111/1751-7915.14110.
- Pinar, M.; Alonso, A.; de Los Ríos, V.; Bravo-Plaza, I.; de la Gándara, A.; Galindo, A.; Arias-Palomo, E.; Peñalva, M. A. The type V myosin-containing complex HUM is a RAB11 effector powering movement of secretory vesicles. *iScience* **2022**, 25, 104514, doi:10.1016/j.isci.2022.104514.
- Claeys Bouuaert, C.; Tischfield, S. E.; Pu, S.; Mimitou, E. P.; Arias-Palomo, E.; Berger, J. M.; Keeney, S. Structural and functional characterization of the Spo11 core complex. *Nat Struct Mol Biol* **2021**, 28, 92-102, doi:10.1038/s41594-020-00534-w.

**Figure 1**

Cryo-EM structure of *IstA*, the transposase of the widespread IS21 family of mobile elements. The reconstruction shows that *IstA* self-assembles into a tetramer to engage two transposon ends with a highly supercoiled configuration. Adapted from Spínola-Amilibia et al., *Nature Commun* **2023**.



# 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.*

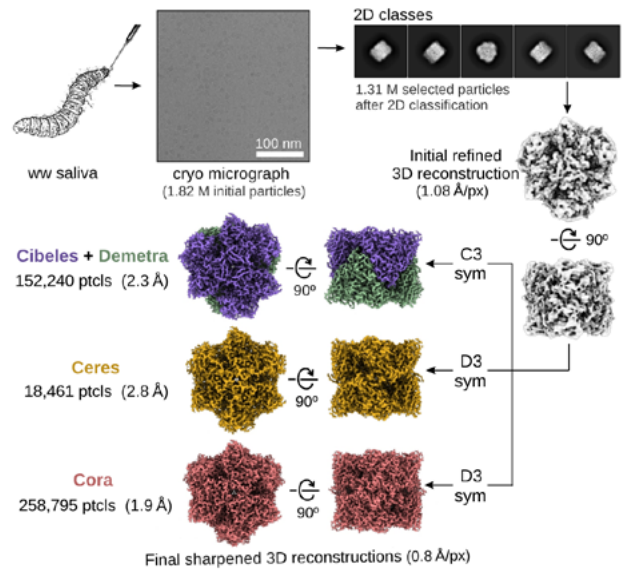
*Our laboratory is interested in understanding how macromolecular machines control essential cellular functions. We are particularly interested in developing mechanistic models that explain how multi-subunit assemblies transduce chemical energy into force and motion, and in determining how cells exploit these complexes and their activities for function.*

*Our investigation centers on horizontal gene transfer and in particular in transposons, which are mobile genetic elements capable of independently relocating within the genome. Transposons make up a significant portion of most genomes, yet their mechanisms and physiological functions are only beginning to be understood. They play a crucial role in promoting genetic diversity, facilitating adaptation and evolution. Recent findings have revealed that transposons also play essential roles in gene regulation, development, immunity, and neurogenesis. In bacteria, transposons greatly contribute to the spread of antibiotic resistance, posing a significant public health concern. In addition, some of these mobile DNA elements are showing great potential as biotechnological and gene editing tools.*

*In order to gain a deeper understanding of transposons and streamline their practical applications, we undertake a comprehensive examination of the molecular mechanisms governing their movement and regulation. This endeavor is supported by a diverse array of methodological approaches, including structural biology, biochemistry, biophysics, bioinformatics and cell biology. Our research aims to elucidate the intricate structure of functional transposition complexes, decipher the chemical processes employed for DNA excision and integration, uncover the fundamental principles guiding their selection of target sites, investigate their distribution patterns within genomes, and explore their sophisticated interplay with the host cell.*

## Financiación / Funding

- PID2020-120275GB-I00 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033)
- EQC2021-006930-P (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por la Unión Europea "NextGenerationEU"/ "PRTR")



**Figure 2**

*Cryo-EM analysis of *G. mellonella* saliva directly from the native source. These studies revealed that the saliva is composed of three main oligomeric complexes, formed by four proteins, that can degrade polyethylene (collaboration with F. Bertocchini and M. Solà). Adapted from Spinola-Amilibia et al., *Sci Adv* 2023.*



**Luis Ignacio Rivas López**

Investigador Científico  
[luis.rivas@cib.csic.es](mailto:luis.rivas@cib.csic.es)



PhD, 1984, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1984-1987, Institute Weizmann, Israel;  
 Yale University, EEUU  
 Científico Titular, 1987, CIB, CSIC  
 Jefe de Grupo, 1988, CIB, CSIC  
 Investigador Científico, 2006, CIB, CSIC

**Eduardo Rial Zueco**

Investigador Científico  
[rial@cib.csic.es](mailto:rial@cib.csic.es)



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

**José María Sánchez-Puelles González-Carvajal**

Investigador Científico  
[jmpuelles@cib.csic.es](mailto:jmpuelles@cib.csic.es)



PhD, 1986, Universidad Complutense de Madrid  
 Director I+D, 1990-2003, MSD, GSK y Pharmamar  
 Director I+D, 2004-2008, C.I. Príncipe Felipe  
 Investigador Científico y Jefe de Grupo, 2007, CIB, CSIC  
 Miembro Comité Salud Global CSIC, 2020-2022  
 Colaborador Externo AEI desde 2009

**Otros miembros / Other members**

Paula Martínez de Iturrate Sanz  
 José Javier Fernández Rodríguez  
 Marina Moreno Mayorga  
 Jorge Fernández Lajo

Patricia de los Santos León  
 Juan Manuel Monteiro Ruiz  
 Michelle Milagros Dávila



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/energy-metabolism-and-drug-development>

## Metabolismo Energético y Desarrollo de Fármacos

Las líneas de investigación actuales son: (i) **intervención farmacológica en el metabolismo energético como diana esencial de la interfaz hospedador-parásito, con el fin de revertir la reprogramación metabólica causada por patógenos;** (ii) **nuevas vías de presentación antigénica por biochips como transportadores a las células presentadoras;** (iii) **desarrollo de nuevas entidades químicas indanólicas como antitumorales y/o antimicrobianos novedosos.**

Las líneas de trabajo en curso son:

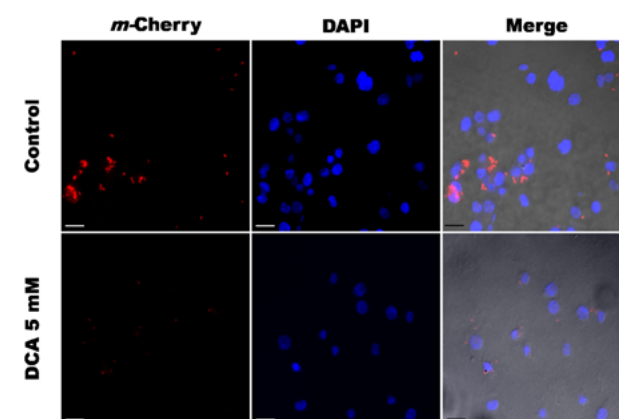
(i) Intervención farmacológica del metabolismo energético como diana esencial de la interfaz hospedador-parásito. Los patógenos intracelulares reprograman vías clave de la célula hospedadora para obtener los metabolitos precisos para su proliferación. Pretendemos validar fármacos de uso clínico y nuevas entidades químicas que reviertan la reprogramación metabólica inducida por el protozoo *Leishmania* y virus.

La infección vírica induce en la célula el "efecto Warburg", con utilización de la glucólisis en detrimento de la fosforilación oxidativa, como sucede a la célula tumoral. Fármacos antitumorales que revierten el efecto Warburg se han ensayado como antivirales y como agentes leishmanicidas, mediante reversión de la reprogramación metabólica inducida por tales patógenos. De especial relevancia es el uso de modelos experimentales celulares adecuados para la caracterización de tales fármacos.

Adicionalmente se ha ensayado la actividad leishmanicida intrínseca y sobre parásitos intracelulares de las nuevas entidades químicas (ver (iii)) con definición de sus dianas en el parásito.

(ii) Biochips como transportadores de antígenos a las células presentadoras. Se ha iniciado el estudio de la vehiculación de antígenos de *Leishmania* en biochips de silicio para promover su presentación al sistema inmune, con optimización de su unión al biochip y caracterización de su adquisición celular. Colaboración con la Dra. Teresa Suárez (CIB Margarita Salas) y A4Cells.

(iii) Desarrollo de nuevas entidades químicas indanólicas como antitumorales y/o antimicrobianos novedosos. ICI 118.551 (ICI) es el antagonista más potente y selectivo de los receptores  $\beta_2$ -adrenérgicos ( $\beta_2$ -ADR). En 2021 se ha licenciado a Varsity Pharmaceuticals Ltd (PCT/EP2019/084822) para su uso en glioblastoma como cáncer cerebral mortal. Se ha desarrollado y caracterizado una nueva generación de análogos de ICI (pendiente de protección), como bloqueantes de los ADR y como posibles nuevos agentes antitumorales y antimicrobianos con mecanismos diversos.



**Figure 1**

*Leishmanicidal activity of dichloroacetate in THP-1 macrophages infected with Leishmania pifanoi. After infecting THP-1 with m-cherry L. pifanoi axenic amastigotes (red fluorescence), macrophages were incubated with dichloroacetate (5mM, 24h), and the nuclei were stained with DAPI (blue fluorescence). Merge: Combination of visible and fluorescence microscopy images. Scale bar = 25  $\mu$ m*

**Financiación / Funding**

- PID2019-108166GB-I00 (MINECO)
- Pathfinder 101046927 (EU)
- NAG2021-04-001 (CSIC)
- SGL2103051 (CSIC)



# Energy Metabolism and Drug Development

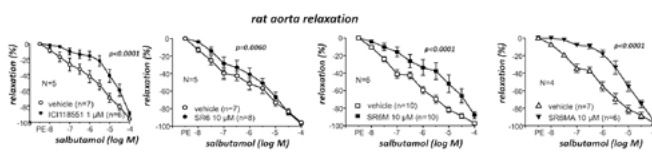
Current research within the group encompasses (i) pharmacological interference of the energy metabolism as an essential target at the host-parasite interface, aiming to revert metabolic reprogramming of host cells due to pathogen infection; (ii) new antigen presentation pathways using biochips as antigen carriers to the antigen-presenting cells; (iii) development of a new family of indole derivatives, as antitumor and/or antimicrobial drugs.

The current research subjects are:

**(i) Pharmacological intervention in energy metabolism as a key target in the host-parasite interface.** Intracellular pathogens reprogram key pathways in the host cell to obtain the precise metabolites necessary for their proliferation. We aim to validate clinically used drugs and novel chemical entities that reverse the metabolic reprogramming induced by the protozoan *Leishmania* and viruses. Viral infection in cells induces the “Warburg effect”, utilizing glycolysis at the expense of oxidative phosphorylation, similar to tumoral cells. Antitumor drugs reversing the Warburg effect have been tested as antivirals and leishmanicidal agents by reversing the induced metabolic reprogramming by such pathogens. The use of appropriate experimental cellular models is crucial for the proper characterization of these drugs.

Additionally, the intrinsic leishmanicidal activity on intracellular parasites of the new chemical entities (see (iii)) has been tested, defining some of their targets within the energy metabolism of the parasite.

**(ii) Biochips as carriers of antigens to antigen-presenting cells.** We have initiated the study of *Leishmania* antigen delivery on silicon biochips to enhance their presentation to the immune system. This involves optimizing their binding into the biochip and characterizing



**Figure 2**

Concentration-relaxation curves of rat aortic rings for ICI 118,551 and its analogs. Rat aortic rings were contracted with epinephrine and relaxation measured at different concentrations of salbutamol ( $\beta_2$  agonist) alone or with a fixed concentration of the antagonist (ICI or its indane-analogs).  $N$  = number of rats,  $n$  = number of aortic rings tested. Collaboration with Prof. Aurelio G Czaky (UCM) and Dr. José Angulo (Ramón y Cajal University Hospital, Madrid).

their cellular acquisition. Collaboration with Dr. Teresa Suárez (CIB Margarita Salas) and A4Cells.

**(iii) Development of new indanolic chemical entities as innovative antitumor and/or antimicrobial agents.** ICI 118,551 (ICI) is the most potent and selective antagonist of  $\beta_2$ -adrenergic receptors (B2-ADR). In 2021 it was licensed by our group to Varsity Pharmaceuticals Ltd (PCT/EP2019/084822) for its use in glioblastoma, the most deadly brain cancer in adults. A new generation of ICI analogs (pending protection) has been developed and characterized as ADR blockers and potential new antitumor and antimicrobial agents with diverse mechanisms.

## Patentes / Patents

- José María Sánchez-Puelles, Tania Aguado, Luisa María Botella, Ángel Cuesta, Virginia Albiñana y Karina Villar. Licenciada a Varsity Pharmaceuticals Ltd, noviembre 2021 “Tratamiento y prevención de Glioblastoma”. PCT/EP2019/084822

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Cecchino, G. N.; García-Velasco; J. A.; Rial, E. Reproductive senescence impairs the energy metabolism of human luteinized granulosa cells. *Reprod Biomed Online* 2021, 43, 779-787, doi:10.1016/j.rbmo.2021.08.006.
- Lima, M. L.; Abengózar, M. A.; Torres-Santos, E. C.; Borborema, S. E. T.; Godzien, J.; López-González, Á.; Barbas, C.; Rivas, L.; Tempone, A. G. Energy metabolism as a target for cyclobenzaprine: A drug candidate against visceral leishmaniasis. *Bioorg Chem* 2022, 127, 106009, doi:10.1016/j.bioorg.2022.106009.
- Sebastián-Pérez, V.; Martínez de Iturrate, P.; Náchter-Vázquez, M.; Nóvoa, L.; Pérez, C.; Campillo, N. E.; Gil, C.; Rivas, L. Naphthoquinone as a new chemical scaffold for leishmanicidal inhibitors of *Leishmania* GSK-3. *Biomedicines* 2022, 10, 1136, doi:10.3390/biomedicines10051136.
- Abengózar, M. A.; Fernández-Reyes, M.; Salazar, V. A.; Torrent, M.; de la Torre, B. G.; Andreu, D.; Boix, E.; Rivas, L. Essential role of enzymatic activity in the leishmanicidal mechanism of the Eosinophil Cationic Protein (RNase 3). *ACS Infect Dis* 2022, 8, 1207-1217, doi:10.1021/acsinfectdis.1c00537.
- Tourmente, M.; Sansegundo, E.; Rial, E.; Roldán, E. R. S. Bioenergetic changes in response to sperm capacitation and two-way metabolic compensation in a new murine model. *Cell Mol Life Sci* 2022, 80, 11, doi:10.1007/s00018-022-04652-0.
- Tourmente, M.; Sansegundo, E.; Rial, E.; Roldán, E. Capacitation promotes a shift in energy metabolism in murine sperm. *Front Cell Dev Biol* 2022, 10, 950979, doi:10.3389/fcell.2022.950979.
- Pérez-Liébana, I.; Juaristi, I.; González-Sánchez, P.; González-Moreno, L.; Rial, E.; Podunavac, M.; Zakarian, A.; Molgó, J.; Vallejo-Illarramendi, A.; Mosqueira-Martín, L.; López de Munain, A.; Pardo, B.; Satrustegui, J.; Del Arco, A. A Ca<sup>2+</sup>-dependent mechanism boosting glycolysis and OXPHOS by activating aralar-malate-aspartate shuttle, upon neuronal stimulation. *J Neurosci* 2022, 42, 3879-3895, doi:10.1523/JNEUROSCI.1463-21.2022.
- Román-Álamo, L.; Allaw, M.; Ávalos-Padilla, Y.; Manca, M. L.; Manconi, M.; Fulgheri, F.; Fernández-Lajo, J.; Rivas, L.; Vázquez, J. A.; Peris, J. E.; Roca-Geronès, X.; Poonlaphdecha, S.; Alcover, M. M.; Fisa, R.; Riera, C.; Fernández-Busquets, X. *In vitro* evaluation of aerosol therapy with pentamidine-loaded liposomes coated with chondroitin sulfate or heparin for the treatment of leishmaniasis. *Pharmaceutics* 2023, 15, 1163, doi:10.3390/pharmaceutics15041163.
- Segalés, J.; Sánchez-Martín, C.; Pujol-Morcillo, A.; Martín-Ruiz, M.; de los Santos, P.; Lobato-Alonso, D.; Oliver, E.; Rial, E. Role of UCP2 in the energy metabolism of the cancer cell line A549. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 8123, doi:10.3390/ijms24098123.



**Francisco Javier Cañada Vicinay**

Profesor de Investigación  
jcanada@cib.csic.es



PhD, 1985, Universidad del País Vasco

Postdoctoral, 1985-1987, CBM, CSIC; 1988-1990, Harvard Medical School (USA);  
1991, IQOG, CSIC

Científico Titular, 1992, IQOG, CSIC

Investigador Científico, 2004, CIB, CSIC

Profesor de Investigación, 2009, CIB, CSIC

## RMN y Reconocimiento Molecular

El grupo de RMN y reconocimiento molecular está interesado en el análisis de procesos de reconocimiento molecular en sistemas biológicos con especial énfasis en el estudio de interacciones carbohidrato-proteína/enzima con interés biomédico, 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 de otras biomoléculas en disolución

El grupo de RMN y reconocimiento molecular se centra en el estudio de procesos de reconocimiento molecular de carbohidratos aplicando y desarrollando metodologías de resonancia magnética nuclear con una estrategia colaborativa, con grupos dentro del CIB Margarita Salas y de otras instituciones nacionales e internacionales, que permite un abordaje multidisciplinar incluyendo síntesis orgánica, biología molecular y química computacional. Se desarrollan estudios en distintos sistemas de interés biológico donde están implicados los carbohidratos, y los receptores o enzimas que actúan sobre ellos: lectinas de diversos orígenes, vírico, vegetal, bacteriano o animal (resaltando aquí receptores y lectinas del sistema inmunológico); enzimas glicosidasas y sistemas modelo (interacciones carbohidrato-ácido nucleico). En colaboración con grupos del CIB Margarita Salas y dentro de la red sobre el sistema del complemento de la Comunidad de Madrid, estamos estudiando, desde un punto de vista estructural, el reconocimiento de carbohidratos por el factor H y proteínas relacionadas. Por otro lado, se colabora con la empresa Immunotek con el objetivo de caracterizar carbohidratos derivados de células tumorales con potenciales aplicaciones en diagnóstico, tratamiento o desarrollo de vacunas. En todos estos estudios se han aplicado estrategias de RMN basadas tanto en la observación del ligando (transferencia de saturación, filtrado de relajación transversal, efectos paramagnéticos) como en la observación del receptor (perturbación de desplazamiento químico y difusión traslacional). Al mismo tiempo, en el grupo se están desarrollando nuevas estrategias de RMN basadas en el uso de isótopos magnéticamente activos ( $^{13}\text{C}$ ) o en la introducción de flúor ( $^{19}\text{F}$ ) o colaborando en la introducción de efectos paramagnéticos por el etiquetado químico con lantánidos. El grupo mantiene una estrecha colaboración mediante proyectos coordinados con el Prof. Jiménez Barbero, del CICbioGUNE (Bilbao).

### Financiación / Funding

- RTI2018-094751-B-C22 (MINECO)
- PID2021-123781OB-C22 (AEI-MICIN)
- S2017/BMD-3673 y P2022/BMD-7278 (Comunidad de Madrid)
- IND2022/BMD-23573 (Comunidad de Madrid)

### Otros miembros / Other members

Eva Calviño

María del Carmen Fernández Alonso

Amaia Pereda Hernández

Paula Flores Galán

María Vila Gonzalo

Francisco Javier Alonso Martínez

José Daniel Martínez Ordoñez

Paola Oquist Phillips

Beatriz Fernández de Toro Ronda

Pablo Valverde

Beatriz Fernández del Río



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

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Shen, Y.; Kalograiaki, I.; Prunotto, A.; Dunne, M.; Boulos, S.; Taylor, N. M. I.; Sumrall, E. T.; Eugster, M. R.; Martín, R.; Julian-Rodero, A.; Gerber, B.; Leiman, P. G.; Menéndez, M.; Dal Peraro, M.; Cañada, F. J.; Loessner, M. J. Structural basis for recognition of bacterial cell wall teichoic acid by pseudo-symmetric SH3b-like repeats of a viral peptidoglycan hydrolase. *Chem Sci* 2021, 12, 576-589. doi: 10.1039/d0sc04394j.
- Quintana, J. I.; Delgado, S.; Núñez-Franco, R.; Cañada, F. J.; Jiménez-Osés, G.; Jiménez-Barbero, J.; Ardá, A. Galectin-4 N-Terminal Domain: Binding Preferences Toward A and B Antigens With Different Peripheral Core Presentations. *Front Chem* 2021, 9, 664097. doi: 10.3389/fchem.2021.664097.
- Martín Merinero, H.; Subías, M.; Pereda, A.; Gómez-Rubio, E.; Juana-López, L.; Fernández Rivera, C.; Goicoechea de Jorge, E.; Martín-Santamaría, S.; Cañada, F. J.; Rodríguez de Córdoba, S. The molecular bases for the association of FHR-1 with atypical hemolytic uremic syndrome and other diseases. *Blood* 2021, 137, 3484-3494. doi: 10.1182/blood.2020010069.
- Gabba, A.; Bogucka, A.; Luz, J. G.; Diniz, A.; Coelho, H.; Corzana, F.; Cañada, F. J.; Marcelo, F.; Murphy, P. V.; Birrane, G. Crystal Structure of the Carbohydrate Recognition Domain of the Human Macrophage Galactose C-Type Lectin Bound to GalNAc and the Tumor-Associated Tn Antigen. *Biochemistry* 2021, 60, 1327-1336. doi: 10.1021/acs.biochem.1c00009.
- Pozo-Rodríguez, A.; Méndez-Liter, J. A.; de Eugenio, L. I.; Nieto-Domínguez, M.; Calviño, E.; Cañada, F. J.; Santana, A. G.; Díez, J.; Asensio, J. L.; Barriuso, J.; Prieto, A.; Martínez, M. J. A Fungal Versatile GH10 Endoxylanase and Its Glycosynthase Variant: Synthesis of Xylooligosaccharides and Glycosides of Bioactive Phenolic Compounds. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 1383. doi: 10.3390/ijms23031383.
- Cañada, F. J.; Canales, A.; Valverde, P.; Fernández de Toro, B.; Martínez-Orts, M.; Oquist Phillips, P.; Pereda, A. Conformational and Structural Characterization of Carbohydrates and their Interactions Studied by NMR. *Curr Med Chem* 2022, 29, 1147-1172. doi: 10.2174/092986732866210705154046.
- Pozo-Rodríguez, A.; Méndez-Liter, J. A.; García-Villalba, R.; Beltran, D.; Calviño, E.; Santana, A. G.; De Eugenio, L. I.; Cañada, F. J.; Prieto, A.; Barriuso, J.; Tomás-Barberán, F. A. A.; Martínez, M. J. Synthesis and Characterization of a Novel Resveratrol Xylobioside Obtained Using a Mutagenic Variant of a GH10 Endoxylanase. *Antioxidants* 2023, 12, 85. doi: 10.3390/antiox12010085.
- Martín-Cruz, L.; Viñuela, M.; Kalograiaki, I.; Angelina, A.; Oquist-Phillips, P.; Real-Arévalo, I.; Cañada, F. J.; Tudela, J. I.; Molto, L.; Moreno-Sierra, J.; Subiza, J. L.; Palomares, O. A tumor-associated heparan sulfate-related glycosaminoglycan promotes the generation of functional regulatory T cells. *Cell Mol Immunol* 2023, 20, 1499-1512. doi: 10.1038/s41423-023-01096-9.
- Canales, A.; Sastre, J.; Orduña, J. M.; Spruit, C. M.; Pérez-Castells, J.; Domínguez, G.; Bouwman, K. M.; van der Woude, R.; Cañada, F. J.; Nycholat, C. M.; Paulson, J. C.; Boons, G.-J.; Jiménez-Barbero, J.; de Vries, R. P. Revealing the Specificity of Human H1 Influenza A Viruses to Complex N-Glycans. *JACS Au* 2023, 3, 868-878. doi: 10.1021/jacsau.2c00664

### Patentes / Patents

- José Luis Subiza Garrido-Lestache, Óscar Palomares Gracia, Francisco Javier Cañada Vicinay, Leticia Martín de la Cruz, Marcos Viñuela Martín, Ioanna Kalograiaki, Alba Angelina Querencias, Paola Oquist Phillips e Irene Real Arévalo. 20 Noviembre 2023. "Tumor-associated carbohydrate Ca10 inhibitors for treating cancer". EP23383184.1

# NMR and Molecular Recognition

The NMR and molecular recognition group is interested in the analysis of molecular recognition processes in biological systems with special emphasis on the study of carbohydrate-protein/enzyme interactions with biomedical interest, applying and developing methodologies based on NMR 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 processes of carbohydrates, applying and developing nuclear magnetic resonance methodologies with a collaborative strategy, with groups within the CIB Margarita Salas and other national and international institutions, which allows a multidisciplinary approach including organic synthesis, molecular biology, and computational chemistry. Studies are carried out in different systems of biological interest where carbohydrates, their receptors, or enzymes that act on them are involved: lectins of various origins, viral, plant, bacterial, or animal (highlighting here receptors and lectins of the immune system); glycosidase enzymes and model systems (carbohydrate-nucleic acid interactions). In collaboration with groups from the CIB Margarita Salas and within the network on the complement system of the Community of Madrid, we are studying, from a structural point of view, the recognition of carbohydrates by factor H and related proteins. On the other hand, we are collaborating with the company Immunotek to

characterize carbohydrates derived from tumor cells with potential applications in diagnosis, treatment, or vaccine development. In all these studies, NMR strategies have been applied based on both the observation of the ligand (saturation transfer, transverse relaxation filtering, paramagnetic effects) and the observation of the receptor (chemical shift perturbation and translational diffusion). At the same time, the group is developing new NMR strategies based on the use of magnetically active isotopes ( $^{13}\text{C}$ ) or the introduction of fluorine ( $^{19}\text{F}$ ) or collaborating on the introduction of paramagnetic effects through chemical labeling with lanthanides. The group maintains close collaboration under coordinated projects with Prof. Jiménez Barbero, from CICbioGUNE (Bilbao).

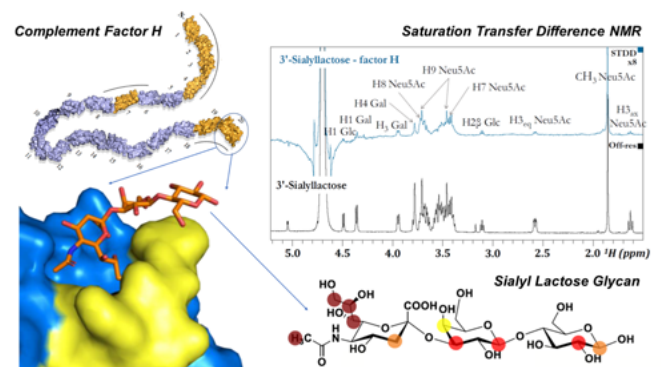


Figure 1

Example of application of the saturation transfer difference NMR experiment in the characterization of the recognition of sialylated glycans of the type present on self-cell surfaces by the H-Factor of the complement system [Martín Merinero et al. 2021].

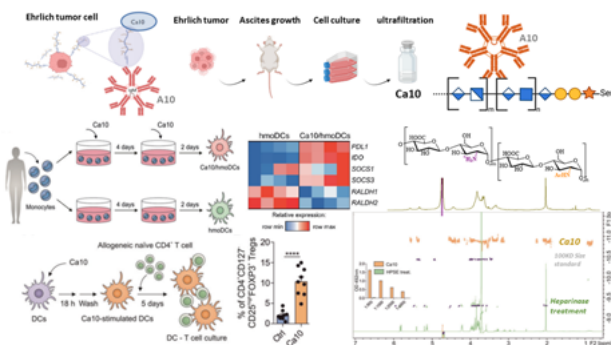


Figure 2

The Ca10 antigen from antibody A10 against Ehrlich tumor, characterized by NMR as an incompletely processed heparan sulfate, it has been discovered that can induce Tregs cells by stimulation of dendritic cells, opening new possibilities for antitumor diagnosis and therapy [Martín-Cruz et al., 2023].



**M<sup>a</sup> Dolores Pérez-Sala Gozalo**

Profesora de Investigación  
dperezsala@cib.csic.es



MD, 1983, Universidad de Extremadura  
PhD, 1987, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1987, Harvard Medical School, Boston, USA  
Científica Titular, 2000, CIB, CSIC  
Responsable de Grupo, 2003, CIB, CSIC  
Investigadora Científica, 2006, CIB, CSIC  
Profesora de Investigación, 2023, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Alma Martínez Fernández  
Elena Hernández Gerez  
Patricia González Jiménez  
Nuria Goya Iglesias  
Diego Moneo Corcuera

Elena Sala Lara  
Paula Martínez Cenalmor  
Vasiliki Lalioti  
Álvaro Viedma Poyatos  
Cristina Vidal Verdú

**María de los Ángeles Pajares Tarancón**

Investigadora Científica  
mapajares@cib.csic.es



PhD, 1986, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1987-1989, Harvard Medical School, Boston, USA  
Científica Titular, 1994-2006, IIBM, CSIC-UAM  
Jefa de grupo, 1997-2016, IIBM, CSIC-UAM  
Investigadora Científica, 2006-2016, IIBM, CSIC-UAM  
Investigadora Científica, 2017, CIB, CSIC



<http://www.cib.csic.es/research/chemical-and-physical-biology/posttranslational-modification-proteins>

## Modificación postraducciona l de proteínas

La modificación postraducciona l 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 postraducciona l, prestando especial atención a las modificaciones de cisteínas y en particular a su papel en la regulación recíproca de los filamentos intermedios y el estado redox en fisiopatología.

La modificación postraducciona l de proteínas es esencial para la generación de formas estructural y funcionalmente diversas (proteofomas), cuyo estudio puede contribuir a desvelar mecanismos fisiopatológicos, mejorar el diseño de fármacos y caracterizar procesos celulares. Las cisteínas son dianas clave de modificaciones no enzimáticas, como las oxidaciones o la adición de agentes electrófilos, que conllevan importantes repercusiones funcionales. Hemos observado que la única cisteína de las proteínas de filamentos intermedios de tipo III, vimentina, desmina y proteína ácida fibrilar de la glía (GFAP), es necesaria para la dinámica y la respuesta a estrés de estos filamentos y muestra una alta reactividad que es modulada por la presencia de zinc. Modificaciones estructuralmente distintas de esta cisteína inducen reorganizaciones diferenciales de los filamentos de vimentina. Además, la reorganización de la vimentina por ciertos agentes electrófilos es necesaria para la remodelación de la actina en respuesta a estrés, lo que desvela un papel clave de esta cisteína en señalización redox y en la coordinación de procesos celulares (Figura 1). Por otra parte, las modificaciones oxidativas de la GFAP influyen en la patogenia de la enfermedad de Alexander, una enfermedad rara neurodegenerativa causada por mutaciones en esta proteína (más información en <https://astromad.eu/>, Figura 2). Los mutantes que poseen residuos adicionales de cisteína son más sensibles a

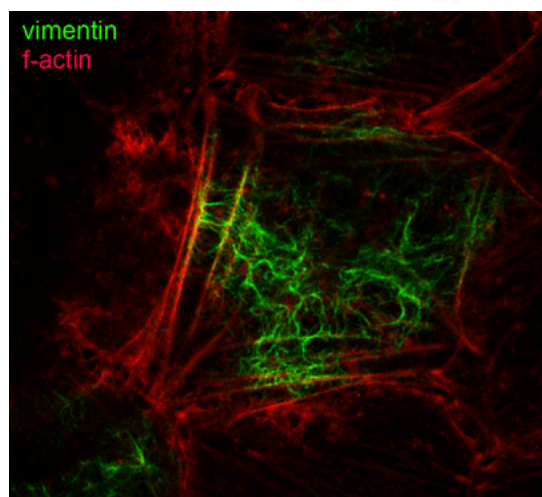
lipoxidación y a su vez inducen estrés oxidativo de origen mitocondrial, lo que perpetúa un ciclo patogénico. Recientemente hemos detectado la presencia de filamentos intermedios en la superficie celular y en cilio primario, donde actúan como correceptores de patógenos, por ejemplo, coronavirus. Actualmente estamos profundizando en el papel de estas proteínas y sus modificaciones, tanto en procesos celulares elementales como en modelos de enfermedad (neurodegenerativa, tumoral, infección viral, etc.).

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Pérez-Sala, D.; Quinlan, R.A. The redox responsive roles of intermediate filaments in cellular stress detection, integration and mitigation. *Curr Opin Cell Biol* 2024, 86,102283, doi:10.1016/j.ccb.2023.102283.
- Moneo-Corcuera, D.; Viedma-Poyatos, A.; Stamatakis, K.; Pérez-Sala, D. Desmin reorganization by stimuli inducing oxidative stress and electrophiles: role of its single cysteine residue. *Antioxidants* 2023, 12, 1703, doi:10.3390/antiox12091703.
- González-Jiménez, P.; Duarte, S.; Martínez, A. E.; Navarro-Carrasco, E.; Lalioti, V.; Pajares, M. A.; Pérez-Sala, D. Vimentin single cysteine residue acts as a tunable sensor for network organization and as a key for actin remodeling in response to oxidants and electrophiles. *Redox Biol* 2023, 64, 102756, doi:10.1016/j.redox.2023.102756.
- Pajares, M. A.; Hernández-Gerez, E.; Pekny, M.; Pérez-Sala, D. Alexander disease: the road ahead. *Neural Regen Res* 2023, 18, 2156-2160, doi:10.4103/1673-5374.369097.
- Viedma-Poyatos, A.; González-Jiménez, P.; Pajares, M. A.; Pérez-Sala, D. Alexander disease GFAP R239C mutant shows increased susceptibility to lipoxidation and elicits mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Redox Biol* 2022, 55, 102415, doi:10.1016/j.redox.2022.102415.
- Lois-Bermejo, I.; González-Jiménez, P.; Duarte, S.; Pajares, M. A.; Pérez-Sala, D. Vimentin tail segments are differentially exposed at distinct cellular locations and in response to stress. *Front Cell Dev Biol* 2022, 10, 908263, doi:10.3389/fcell.2022.908263.

**Figure 1**

The interweaving of vimentin and actin filaments under stress. Immunofluorescence of cytoskeletal structures in a cell treated with an electrophilic compound.



- Lalioti, V.; González-Sanz, S.; Lois-Bermejo, I.; González-Jiménez, P.; Viedma-Poyatos, A.; Merino, A.; Pajares, M. A.; Pérez-Sala, D. Cell surface detection of vimentin, ACE2 and SARS-CoV-2 Spike proteins reveals selective colocalization at primary cilia. *Sci Rep* 2022, 12, 7063, doi:10.1038/s41598-022-11248-y.
- González-Morena, J. M.; Sánchez-Gómez, F. J.; Vida, Y.; Pérez-Inestrosa, E.; Salas, M.; Montañez, M. I.; Altomare, A.; Aldini, G.; Pajares, M. A.; Pérez-Sala, D. Amoxicillin haptentation of  $\alpha$ -enolase is modulated by active site occupancy and acetylation. *Front Pharmacol* 2022, 12, 807742, doi:10.3389/fphar.2021.807742.
- Griesser, E.; Vemula, V.; Mónico, A.; Pérez-Sala, D.; Fedorova, M. Dynamic posttranslational modifications of cytoskeletal proteins unveil hot spots under nitroxidative stress. *Redox Biol* 2021, 44, 102014, doi:10.1016/j.redox.2021.102014.
- Mónico, A.; Guzmán-Caldentey, J.; Pajares, M. A.; Martín-Santamaría, S.; Pérez-Sala, D. Molecular insight into the regulation of vimentin by cysteine modifications and zinc binding. *Antioxidants* 2021, 10, 1039, doi:10.3390/antiox10071039.

## 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, paying special attention to cysteine modifications, and mainly to their role in the interplay between intermediate filaments and redox biology in health and disease.**

The posttranslational modification of proteins is critical for the generation of structurally and functionally diverse protein species (proteoforms), the study of which can contribute to unveiling pathophysiological mechanisms, improve drug design, and characterize essential cellular processes. Cysteine residues are key targets for non-enzymatic modifications, including oxidations and the addition of electrophilic species, which can elicit marked changes in protein function. We have observed that the single cysteine residue of the type III intermediate filament proteins glial fibrillary acidic protein (GFAP), desmin, and vimentin is necessary for their dynamic regulation and stress response, and displays a high reactivity, which is modulated by zinc availability. Structurally diverse modifications of this residue lead to distinct reorganizations of vimentin filaments and their cellular network. In turn, vimentin reorganization by various oxidants and electrophiles is necessary for actin remodeling in response to stress. This unveils the critical role of this cysteine residue in redox signaling and cytoskeletal interplay (Figure 1). Additionally, we have observed that oxidative modifications of GFAP play a pathogenic role in Alexander disease, a rare neurodegenerative disease caused by GFAP mutations (more information in <https://astromad.eu/>, Figure 2). Moreover, GFAP mutants with extra cysteine residues are more susceptible to lipoxidation and in turn elicit oxidative stress of mitochondrial origin, which perpetuates this pathogenic cycle.

Recently, we have detected the presence of intermediate filaments both at the cell surface and in primary cilia, where they behave as co-receptors for pathogens, including coronaviruses. We are currently exploring the role of some of these proteins and their modifications in essential cellular processes and models of disease (neurodegenerative disease, cancer, viral infections, etc.).



Figure 2

Webpage of the Astromad project, which investigates Alexander disease and is funded by Fundación "la Caixa"

### Financiación / Funding

- LCF/PR/HR21/52410002, "Astromad" (Fundación "la Caixa")
- EJP RD COFUND-EJP N° 825575 "Alexander" (Comisión Europea)
- PIE 202020E223/CSIC-COVID-19-100 (CSIC)
- RTI-2018-097624-B-I00 (MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 and "ERDF A way of making Europe")
- RD16/0006/0021, RETIC Aradyal, (ISCIII, AEI/ 10.13039/501100011033 and "ERDF A way of making Europe")
- CA19105 EpiLipidNET (Comisión Europea)
- PID2021-1268270B-I00 (MCIN/AEI/ 10.13039/501100011033 and "ERDF A way of making Europe")
- BES-2016-076965 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and ESF Investing in your future)
- PRE2019-088194 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and ESF Investing in your future)
- PRE2022-104075 ((MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and ESF Investing in your future)
- FJC2021-047028-I (European Union NextGenerationEU/PRTR)



**M<sup>a</sup> Cristina Vega Fernández**

Científica Titular  
[cvega@cib.csic.es](mailto:cvega@cib.csic.es)



PhD, 1997, UPC, CID-CSIC  
 Postdoctoral, 1997-2000, EMBL, Heidelberg, DE  
 Postdoctoral, 2001-2004, EMBL Outstation, Hamburg, DE  
 Investigadora Ramón y Cajal, 2004-2008, IBMB, CSIC  
 Científica Titular, 2008, CIB, CSIC  
 Cofundadora de Abvance Biotech S.L., *Spin-off* CSIC, 2016

**Otros miembros / Other members**

Javier Querol García  
 Sergio Navas Yuste  
 Sergio Camero Gigante  
 Emilia Isabel Arjona Bolanos  
 Eduardo de la Usada Molinero

Karla de la Paz García  
 Lucía Alfonso González  
 M<sup>a</sup> Teresa Caballero López  
 David Borrego Pérez  
 Jorge Santos López



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

# Biología Estructural de las Interacciones Huésped Patógeno

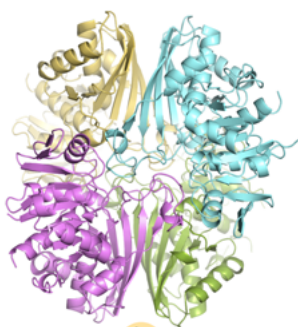
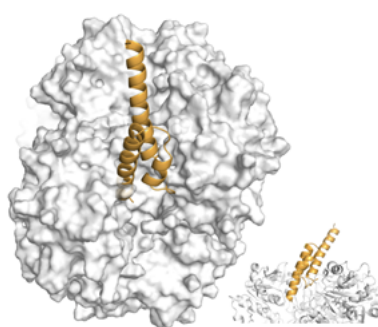
Nuestro equipo investiga las interacciones huésped-patógeno, enfocándose en la biología de infecciones y mecanismos de inmunoevasión del sistema inmune innato y del complemento, como en SARS-CoV-2. Utilizamos técnicas de producción de proteínas, análisis bioquímicos y biofísicos, y difracción de rayos-X para estudiar estructuras proteicas y desarrollar diagnósticos y terapias innovadoras basados en evidencia.

**Interacciones Huésped-Patógeno y el Sistema Inmune**

El sistema del complemento, parte crucial de la inmunidad innata, representa una de las primeras líneas de defensa contra patógenos, marcándolos para su destrucción. Sin embargo, los patógenos han desarrollado mecanismos complejos de inmunoevasión para burlar este sistema. La biología estructural es fundamental para descifrar la comunicación molecular entre huésped y patógenos (bacterias y virus), analizar la estructura y función de factores de inmunoevasión, y desarrollar nuevos agentes terapéuticos, incluyendo antimicrobianos y anticuerpos. En respuesta a la pandemia actual, investigamos estrategias para atenuar la inflamación pulmonar inducida por SARS-CoV-2, enfocándonos en la interacción del virus con el complemento. Abvance, una empresa *spin-off* del CSIC, surge de estos esfuerzos, dedicándose al desarrollo de terapias innovadoras basadas en anticuerpos para tratar enfermedades inmunológicas, inflamatorias y neurodegenerativas.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Serrano, I.; Luque, A.; Ruiz-Cerulla, A.; Navas, S.; Blom, A. M.; Rodríguez de Córdoba, S.; Fernández, F. J.; Vega, M. C.; Rodríguez-Moranta, F.; Guardiola, J.; Aran, J. M. C4B- $\beta$ -mediated immunomodulation attenuates inflammation in DSS-induced murine colitis and in myeloid cells from IBD patients. *Pharmacological Research* 2023, 197, 106948, doi:10.1016/j.phrs.2023.106948.
- Santos-López, J.; de la Paz, K.; Fernández, F. J.; Vega, M. C. Structural biology of complement receptors. *Front Immunol* 2023, 14, 1239146, doi:10.3389/fimmu.2023.1239146.
- Navas-Yuste, S.; de la Paz, K.; Querol-García, J.; Gómez, S.; Rodríguez de Córdoba, S.; Fernández, F. J.; Vega, M. C. The structure of *Leptospira interrogans* GAPDH sheds light into an immunoevasion factor that can target the anaphylatoxin C5a of innate immunity. *Front Immunology* 2023, 14, 1190943, doi:10.3389/fimmu.2023.1190943.
- Rossi, E.; Pericacho, M.; Kauskot, A.; Gamella-Pozuelo, L.; Reboul, E.; Leuci, A.; Egido-Turrión, C.; El Hamaoui D.; Marchelli, A.; Fernández, F. J.; Margail, I.; Vega, M. C.; Gaussem, P.; Pasquali, S.; Smadja, D. M.; Bachelot-Loza, C.; Bernabeu, C. Soluble endoglin reduces thrombus formation and platelet aggregation via interaction with  $\alpha$ IIb $\beta$ 3 integrin. *J Thromb Haemost* 2023, 27, S1538-7836(23)00254-4, doi:10.1016/j.jtha.2023.03.023.
- Serrano, I.; Luque, A.; Mitjavila, F.; Blom, A. M.; Rodríguez de Córdoba, S.; Vega, M. C.; Torras, J.; Aran, J. M. The Hidden Side of Complement Regulator C4BP: Dissection and Evaluation of Its Immunomodulatory Activity. *Front Immunol* 2022, 13, 883743, doi:10.3389/fimmu.2022.883743.
- Fernández, F. J.; Santos-López, J.; Martínez-Barricarte, R.; Querol-García, J.; Martín-Merino, H.; Navas-Yuste, S.; Savko, M.; Shepard, W. E.; Rodríguez de Córdoba, S.; Vega, M. C. The crystal structure of iC3b-CR3  $\alpha$ 1 reveals a modular recognition of the main opsonin iC3b by the CR3 integrin receptor. *Nature Commun* 2022, 13, 1955, doi:10.1038/s41467-022-29580-2.
- Mateu-Borrás, M.; González-Alsina, A.; Doménech-Sánchez, Q.; Querol-García, J.; Fernández, F. J.; Vega, M. C.; Albertí, S. *Pseudomonas aeruginosa* adaptation in cystic fibrosis patients increases C5a levels and promotes neutrophil recruitment. *Virulence* 2022, 13, 215-224, doi:10.1080/21505594.2022.2028484.
- Fernández, F. J.; Santos-López, J.; Martínez-Barricarte, R.; Querol-García, J.; Martín-Merino, H.; Navas-Yuste, S.; Savko, M.; William, E. S.; Rodríguez de Córdoba, S.; Vega, M. C. Biochemical and X-ray diffraction analysis of the interaction between iC3b and the CR3  $\alpha$ 1 domain. *Mol Immunol* 2021, 141, 135, doi:10.1016/j.molimm.2021.11.020.
- Ruiz-Llorente, L.; Vega, M. C.; Fernández, F. J.; Langa, C.; Morrell, N.W.; Upton, P. D.; Bernabeu, C. Generation of a Soluble Form of Human Endoglin Fused to Green Fluorescent Protein. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 11282, doi:10.3390/ijms22011282.
- Fàbrega-Ferrer, M.; Cuervo, A.; Fernández, F. J.; Machón, C.; Pérez-Luque, R.; Pous, J.; Vega, M. C.; Carrascosa, J. L.; Coll M. Using a partial atomic model from medium-resolution cryo-EM to solve a large crystal structure. *Acta Cryst. D* 2021, 77, 11-18, doi:10.1107/S2059798320015156.

**LIGAPDH****LIGAPDH:hC5a****Figure 1**

Structure of the complement immunoevasive factor GAPDH from *Leptospira interrogans*, the causative agent of one of the most widespread zoonotic diseases, leptospirosis. GAPDH associates with the human anaphylatoxin C5a to prevent it from driving macrophages to sites of infection.

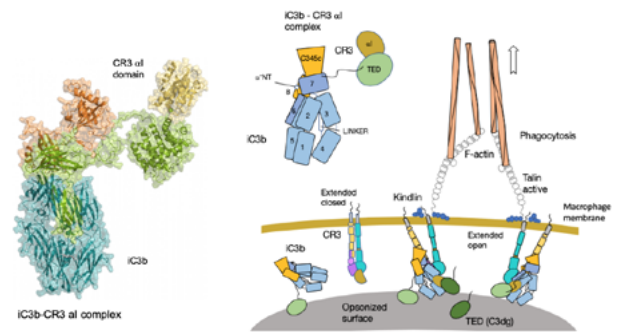


# Structural Biology of Host-Pathogen Interactions

Our group researches host-pathogen interactions, focusing on infection biology and immune evasion mechanisms, including the complement system, as seen in SARS-CoV-2. We use protein production techniques, biochemical and biophysical analysis, and X-ray diffraction to study protein structures and develop evidence-based innovative diagnostics and therapies.

## Host-Pathogen Interactions and the Immune System

The complement system, a key component of innate immunity, acts as a frontline defense against pathogens by tagging them for elimination. Pathogens, in turn, have evolved intricate immunoevasion strategies to elude this system. Structural biology is pivotal in enhancing our understanding of molecular interactions between hosts and pathogens, including bacteria and viruses. It aids in elucidating the structure-function relationship of immunoevasion factors and paves the way for innovative antimicrobials and therapeutic antibodies. Amidst the current pandemic, our focus is on mitigating lung inflammation caused by SARS-CoV-2, particularly its interplay with the complement system. The formation of Abvance, a CSIC spin-off, is a testament to these endeavors. Abvance is committed to developing antibody-based innovative medicines for immune, inflammatory, and neurodegenerative diseases.



**Figure 2**

Structure of *iC3b-α1* domain of Complement Receptor 3 (CR3), a key complex in the process of macrophage phagocytosis of complement-targeted surfaces, like pathogens (left). Model of the interaction between *iC3b* on the surface of a pathogen and CR3 on the surface of macrophages (right).

## Financiación / Funding

- CPP2022-009838 (MCIU) 2023-2026
- RED2022-134750-T (MCIU) 2023-2024
- S2022/BMD-7278 (MCIU) 2022-2026
- PDC2022-133713-I00 (MCIU) 2022-2024
- 202020E295-PIE (CSIC) 2020-2023
- CSIC-COV19-206-PIE (CSIC) 2020-2021
- IND2019/BMD-17219 (Comunidad de Madrid) 2020-2023
- IND2018-010094 (MCIU) 2019-2022
- RTI2018-102242-B-I00 (MINECO) 2019-2021
- S2017/BMD-3673 (Comunidad de Madrid) 2018-2021



**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, IQF, CSIC  
Jefe de Grupo, 1997, CIB, CSIC  
Profesor de Investigación, 2008, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Elena Santillana Heras  
Francisco Javier Medrano Martín  
Ana Águeda González Martínez  
Inés Julia Herrera Gómez  
Santiago Pleite Fernández



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

## Biología Estructural de Proteínas

El grupo de Biología Estructural de Proteínas se ha centrado en: (i) comprender las bases moleculares de las infecciones causadas por bacterias gram-negativas multiresistentes: *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, y (ii) el mecanismo de reconocimiento de carbohidratos por lectinas, involucradas en algunas patologías como en cáncer. Para ello empleamos la cristalografía de rayos X, junto con otras técnicas biofísicas y bioquímicas.

La resistencia antibiótica es un problema de salud pública mundial y un fenómeno creciente con implicaciones económicas y sociales. Las perspectivas para el futuro son poco alentadoras dado que la industria farmacéutica ha dejado de invertir en el desarrollo de nuevos antimicrobianos y la disponibilidad de antibióticos de reserva es actualmente escasa. Así pues, se necesita estudiar nuevas estrategias terapéuticas para tratar las infecciones bacterianas. Una estrategia sería inhibir los factores de virulencia bacteriana. Nos hemos centrado en el sistema de secreción 6 (T6SS). ¿Cómo son reclutados los efectores y cómo se activa toda esta maquinaria? La respuesta a estas preguntas podría ser determinante para la lucha contra las enfermedades infecciosas.

Dada la complejidad del sistema diseñamos una estrategia para caracterizar los componentes individuales y, posteriormente, abordar el estudio de los diferentes complejos mediante microscopía electrónica. Así, la resolución estructural de varios componentes del sistema: VgrG1, Hcp, TssL y TssK, así como del efector Tse1, y de su proteína moduladora o inmunitaria? Tsi1, y su interacción con Hcp han supuesto un gran logro dentro de la compleja temática abordada.

Otra línea de investigación está relacionada con galectinas y cáncer en la que el grupo ha obtenido, muy recientemente, resultados destacables. Las galectinas reconocen específicamente  $\beta$ -galactósidos y se han identificado como importantes moduladores extracelulares de la respuesta inmune, así como reguladores en cáncer.

La pandemia de COVID-19 marcó una carrera para el desarrollo de vacunas y nuevos antivirales. En este contexto, estudiamos la actividad de unos compuestos – peptidil nitroalquenos- frente a la enzima Mpro, la principal proteasa del virus en colaboración con varios grupos de investigación.

**Figure 1**

*Tse1*, a toxic effector secreted by *A. baumannii* T6SS (represented in rainbow colors inside its molecular surface), and its modulator or immunity protein *Tsi1* (depicted in red and yellow colors)

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Medrano, F. J.; de la Hoz-Rodríguez, S.; Marti, S.; Arafet, K.; Schirmeister, T.; Hammerschmidt, S. J.; Muller, C.; González-Martínez, A.; Santillana, E.; Ziebuhr, J.; Romero, A.; Zimmer, C.; Weldert, A.; Zimmermann, R.; Lodola, A.; Swiderek, K.; Moliner, V.; González, F. V. Peptidyl Nitroalkene Inhibitors of Main Protease (Mpro) rationalized by Computational/Crystallographic Investigations as Antivirals against SARS-CoV-2. *Commun Chem* 2024, 7, 15, doi:10.1038/s42004-024-01104-7.
- Massaro, M.; Cagnoni, A. J.; Medrano, F. J.; Pérez-Sáez, J. M.; Abdullayev, S.; Belkhadem, K.; Mariño, K. V.; Romero, A.; Roy, R.; Rabinovich, G. A. Selective modifications of lactose and N-acetyllactosamine with sulfate and aromatic bulky groups unveil unique structural insights in galectin-1-ligand recognition. *Bioorg Med Chem* 2023, 94, 117480, doi:10.1016/j.bmc.2023.117480.
- Abdullayev, S.; Kadav, P.; Bandyopadhyay, P.; Medrano, F. J.; Rabinovich, G. A.; Dam, T. K.; Romero, A.; Roy, R. Selectively Modified Lactose and N-Acetyllactosamine Analogs at Three Key Positions to Afford Effective Galectin-3 Ligands. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 3718, doi:10.3390/ijms24043718.
- Linde, D.; Santillana, E.; Fernández-Fueyo, E.; González-Benjumea, A.; Carro, J.; Gutiérrez, A.; Martínez, A. T.; Romero, A. Structural characterization of two short unspecific peroxxygenases: two different dimeric arrangements. *Antioxidants* 2022, 11, 891, doi:10.3390/antiox11050891.
- Ruiz, F. M.; Medrano, F. J.; Ludwig, A.-K.; Kaltner, H.; Shilova, N. V.; Bovin, N. V.; Gabius, H. J.; Romero, A. Structural Characterization of rat Galectin-5, an N-tailed monomeric proto-type-like Galectin. *Biomolecules* 2021, 11, 1854, doi:10.3390/biom11121854.
- Gabius, H.-J.; Cudic, M.; Diercks, T.; Kaltner, H.; Kopitz, J.; Mayo, K. H.; Murphy, P. V.; Oscarson, S.; Roy, R.; Schedlbauer, A.; Toegel, S.; Romero, A. What is the Sugar Code? *ChemBioChem* 2021, 22, 1-25, doi:10.1002/cbic.202100327.
- Sánchez-Ruiz, M. I.; Ayuso-Fernández, I.; Rencoret, J.; González-Ramírez, A. M.; Linde, D.; Davó-Siguero, I.; Romero, A.; Gutiérrez, A.; Martínez, A. T.; Ruiz-Dueñas, F. J. Agaricales Mushroom Lignin Peroxidase: From Structure-Function to Degradative Capabilities. *Antioxidants* 2021, 10, 1446, doi:10.3390/antiox10091446.
- Murphy, P. V.; Romero, A.; Xiao, Q.; Ludwig, A.-K.; Jogula, S.; Shilova, N. V.; Singh, T.; Gabba, A.; Javed, B.; Zhang, D.; Medrano, F. J.; Kaltner, H.; Kopitz, J.; Bovin, N. V.; Wu, A. M.; Klein, M. L.; Percec, V.; Gabius, H.-J. Probing sulfatide-tissue lectin recognition with functionalized glycodendrimerosomes. *iScience* 2021, 24, 101919, doi:10.1016/j.isci.2020.101919.
- Klein, M. L.; Romero, A.; Kaltner, H.; Percec, V.; Gabius, H.-J. From examining the relationship between (corona)viral adhesins and galectins to glyco-perspectives. *Biophys J* 2021, 120, 1031-1039, doi:10.1016/j.bpj.2020.11.020.

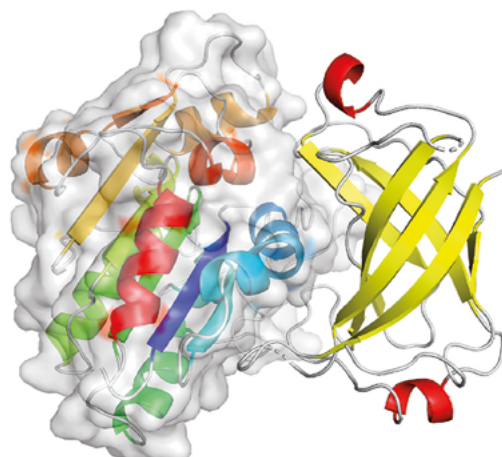




Figure 2

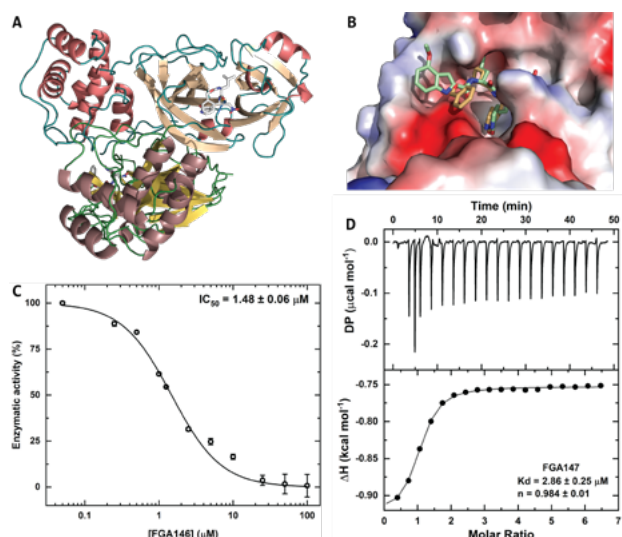
Crystal structure of SARS-CoV-2 Mpro in complex with inhibitors. The electrostatic surface of the active site of Mpro with bound FGA146 (green) and FGA147 (orange) is depicted. Binding isotherm of FGA146 and ITC binding profile of FGA147 to Mpro.

## Structural Biology of Proteins

The Structural Biology of Proteins group has focused on: (i) the molecular basis of infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria: *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*, (ii) the mechanism of carbohydrate recognition by lectins, involved in some pathologies such as cancer. For this, we use X-ray crystallography combined with other biophysical and biochemical techniques.

Antimicrobial resistance has become a global public health concern and a growing phenomenon with economic and social implications. Unfortunately, the rate of discovery of new and effective antibiotic compounds has declined during the last years because the pharmaceutical industry stopped investing in the development of new antimicrobial drugs and the availability of "reserve" antibiotics is currently scarce. Consequently, new research lines about innovative treatments have begun to be considered. One of the alternative options is to inhibit bacterial virulence factors. We have focused particularly on the secretion system 6 (T6SS). 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 subsequently carry out cryo-electron microscopy of different complexes.



We were able to solve the structures of several components of the system: *VgrG1*, *Hcp*, *TssL*, and *TssK*, as well as the structure of the effector *Tse1* and its 'modulator or immunity protein'? *Tsi1*, as well as its interaction with *Hcp*, is a great achievement for this issue.

Another research line is related to galectins and cancer, in which the group has obtained recent landmark results. Galectins recognize and bind  $\beta$ -galactosides and have been identified as important extracellular modulators of the immune response, as well as regulators of cancer progression.

The coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic marked a race for the development of vaccines and new antivirals. In this context, we studied the activity of compounds - peptidyl nitroalkenes - against Mpro, the main viral protease of the virus, in collaboration with several research groups.

### Financiación / Funding

- PIE202020E224-COVID19 (CSIC)



**José Fernando Díaz Pereira**

Investigador Científico  
fer@cib.csic.es



PhD, 1993, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1994-1995, Universidad Católica de Lovaina, Bélgica  
Investigador Asociado, 1996-1997, Universidad Católica de Lovaina, Bélgica  
Investigador Contratado, 1998-2001, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2001, CIB, CSIC  
Investigador Científico, Jefe de Grupo, 2008, CIB, CSIC

**Juan Francisco Giménez Abián**

Científico Titular  
gimenezjf@cib.csic.es



PhD, 1992, Universidad Autónoma de Madrid  
Postdoctoral, 1992-1994, University of Cambridge, Cambridge, Reino Unido  
Postdoctoral Reincorporación MEC, 1995-1997, CIB, CSIC  
Postdoctoral CAM, 1997-2001, CIB, CSIC  
Investigador Ramón y Cajal, 2001-2006, CIB, CSIC  
Guest Scientist, 2001-2003, Research Institute of Molecular Pathology, Viena, Austria  
Guest Scientist, 2004-2006, University of Minnesota, USA  
Investigador contratado, 2006-2008, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2008, CIB, CSIC

**Pedro José Alcolea Alcolea**

Científico Titular  
pjalcolea@cib.csic.es



PhD, 2010, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 2012-2018, Seattle Biomedical Research Institute, Seattle, Estados Unidos  
Ayudante de Investigación, 2009, IPBLN, CSIC  
Técnico Especializado, 2010, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2023, CIB, CSIC

**María Ángela Oliva Blanco**

Científica Titular  
marian@cib.csic.es



PhD, 2005, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 2005-2009, MRC-Laboratory of Molecular Biology, Cambridge, Reino Unido  
Postdoctoral Juan de la Cierva, 2009-2012, CIB, CSIC  
Investigadora Ramón y Cajal, 2012-2019, CIB, CSIC  
Investigadora contratada, 2019-2023, CIB, CSIC  
Científica Titular, 2023, CIB, CSIC

**Vicente Larraga Rodríguez de Vera**

Profesor de Investigación *Ad Honorem*  
vlarraga@cib.csic.es



PhD, 1974, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1974-1977, School of Medicine - Hebrew University Jerusalem; 1974, Instituto Weizmann, Rehovot, Israel; 1975, Johns Hopkins University Baltimore Md. USA, 1977  
Invited Scientist, 1994, Medical School. New York University  
Científico Titular, 1975, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 1983, CIB, CSIC  
Profesor de Investigación, 1992, CIB, CSIC  
Emérito, 2018

**Otros miembros / Other members**

Jaime Larraga Criado  
Daniel Lucena Agell  
Ana María Alonso Ayala  
Beatriz Álvarez Bernad  
Francesca Bonato  
Ahmed Soliman

Francisco Javier Loayza  
Rebeca París Ogayar  
Oscar Fernández Blanco  
Laura Fuertes Monge  
Rafael Hortigüela Mecerreyes  
Silvia Ruiz García



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/structure-and-function-cytoskeleton-pharmacology-and>

## Estructura y Función del Citoesqueleto. Farmacología y Vacunas

Utilizando la tubulina como diana farmacológica, nuestra investigación se centra en comprender el funcionamiento de sus productos de ensamblaje, los microtúbulos, y en desarrollar estrategias efectivas para modularlos con el fin de tratar procesos patológicos como el cáncer, la neurodegeneración y las infecciones virales. Además, empleamos plásmidos de ADN en el desarrollo de vacunas contra enfermedades como la *Leishmaniasis* y la malaria.

Tubulina es una proteína celular constitutiva, responsable de funciones clave a través de su ensamblaje en microtúbulos. Estos filamentos controlan la segregación cromosómica durante la división celular, la estructura celular, el transporte intracelular de partículas y sustancias químicas, y la plasticidad neuronal. Los moduladores de la tubulina están incluidos en los medicamentos esenciales de la OMS y han salvado millones de vidas. En el pasado, hemos contribuido al desarrollo de herramientas bioquímicas, biofísicas y celulares esenciales para la caracterización de cualquier modulador de la tubulina.

Nuestras líneas de investigación actuales y futuras pretenden obtener conocimientos sobre:

- Los mecanismos celulares y moleculares de la regulación del citoesqueleto de la tubulina, para encontrar formas mejores y más seguras de modularlo farmacológicamente.

- Los mecanismos de acción de agentes moduladores de los microtúbulos, para descubrir cómo ejercen sus efectos y por qué y cómo inducen efectos secundarios no deseados, para diseñar, sintetizar y probar mejores medicamentos.

- La implicación de los microtúbulos y otras proteínas del citoesqueleto sobreexplotadas en la infección viral, para que puedan ser objetivo farmacológico en el tratamiento de infecciones virales. Estos fármacos serían antivirales de amplio espectro capaces de evitar el principal mecanismo de resistencia viral a la toxicidad química (mutaciones genéticas).

Desde 2023, el grupo de Parasitología Molecular y Vacunas se fusionó con el grupo de Estructura y Función del Citoesqueleto, brindándonos la tecnología para el desarrollo de vacunas. Hemos desarrollado un vehículo de vacunación avanzado, pPAL, aprobado para una vacuna protectora contra la leishmaniasis canina por la Agencia Europea de Medicamentos (EMA/CVMP/858971/2022) con el nombre de Neoleish®, así como una vacuna de ADN efectiva contra el SARS-CoV-2 en el modelo animal que se encuentra en fase preclínica. En la actualidad, estamos desarrollando una vacuna de ADN contra la malaria.

**Financiación / Funding**

- PID2022-1367650B-I00 (MICINN)
- REACT ANTICIPA-UCM 2022 (Comunidad de Madrid - UCM)
- PID2021-1233990B-I00 (MICINN)
- SGL2103051 (EU)
- 202320E044 (CSIC)
- Fundación TATIANA 2021
- BIOFABRI (ZENDAL 2021)
- COV20/01007 (ISCIII)
- PID2019-104545RB-I00 (MICINN)
- 201920E111 (CSIC)
- H2020-MSCA-ITN-2019/0582 (EU)

**Premio / Award**

- III International Zenda Awards. Category: Animal Health. Protection against canine leishmaniasis

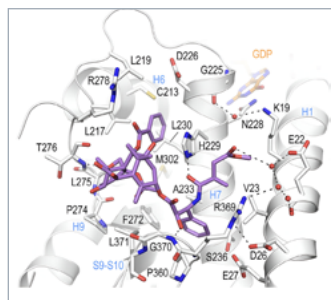


Figure 1

First crystallographic structure of a taxane derivative (3'-N-(de-tert-butoxycarbonyl)-3'-N-(4-methoxy-2-methylene-4-oxobutanoyl)-docetaxel bound to its site in tubulin [Prota et al. 2023].

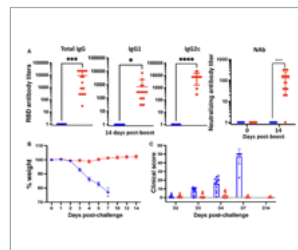


Figure 2

The pPAL-Sfs + pPAL-N vaccine confers protection against challenge with SARS-CoV-2 isolate in a murine model. (A) Titration of circulating antibodies 15 days after prime/boost immunization with pPAL-Sfs + pPAL-N. (B) Body weight evolution after challenge. Vaccinated animals maintained their weight throughout the experiment. (C) Clinical sign follow-up after challenge.

## Structure and Function of the Cytoskeleton. Pharmacology and Vaccines

Using tubulin as a pharmacological target, our research focuses on understanding the functioning of its assembly products, the microtubules, and on developing effective strategies to modulate them for treating pathological processes such as cancer, neurodegeneration, and viral infections. Additionally, we employ DNA plasmids in the development of vaccines against diseases like Leishmaniasis and malaria.

Tubulin is a major constitutive protein in cells, responsible for key canonical functions through its assembly into microtubules. These filaments control chromosome segregation during cell division, cell scaffolding, intracellular transport of particles and chemicals, and neural plasticity through static (main roads) or dynamic (mechanical forces) behaviors. Tubulin modulators are included in the WHO "essential medicines" and have saved millions of lives both in first-world and developing countries. In the past, we have contributed to the development of biochemical, biophysical, and cellular tools essential for the characterization of any tubulin modulator.

Our present and future research lines pretend to gain knowledge on:

-Cellular and molecular mechanisms of the regulation of tubulin cytoskeleton, so we can find better and safer ways to pharmacologically modulate it.

-Cellular and molecular mechanisms of action of microtubule modulating agents, to unveil how they exert their effects and why and how they induce undesired secondary effects, so we can design, synthesize, and test better drugs.

-The implication of microtubules and other cytoskeletal proteins hyper-exploited in viral infection, so they can be pharmacologically targeted to treat viral infections. These drugs would be wide-spectrum antivirals able to avoid the main viral mechanism of resistance to chemical toxicity (genetic mutations).

From 2023 the former group of Molecular Parasitology and Vaccines melted into the group of Structure and Function of the Cytoskeleton, giving us the vaccines development technology. We have developed an advanced vaccination vehicle, pPAL, approved for a protective vaccine against canine leishmaniasis by the European Medicines Agency (EMA/CVMP/858971/2022) under the name of Neoleish® as well as a DNA vaccine effective against SARS-CoV-2 at the animal model which is in pre-clinical phase. At present, we are developing a DNA vaccine against malaria.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Matthew, S.; Chen, Q.-Y.; Ratnayake, R.; Fermain, C. S.; Lucena-Agell, D.; Bonato, F.; Prota, A. E.; Lim, S. T.; Wang, X.; Díaz, J. F.; Risinger, A. L.; Paul, V. J.; Oliva, M. A.; Luesch, H. Gatorbulin-1, a distinct cyclodepsipeptide chemotype, targets a seventh tubulin pharmacological site. *PNAS* 2021, 118, e2021847118, doi:10.1073/pnas.2021847118.
- Rai, A.; Liu, T.; Katrukha, E. A.; Estévez-Gallego, J.; Manka, S. W.; Paterson, I.; Díaz, J. F.; Kaptein, L. C.; Moores, C. A.; Akhmanova, A. Lattice defects induced by microtubule-stabilizing agents exert a long-range effect on microtubule growth by promoting catastrophes. *PNAS* 2021, 118, e2112261118, doi:10.1073/pnas.2112261118.
- Alcolea, P. J.; Larraga, J.; Rodríguez-Martín, D.; Alonso, A.; Loayza, F. J.; Rojas, J. M.; Ruiz-García, S.; Loulodes-Lázaro, A.; Carlón, A. B.; Sánchez-Cordón, P. J.; Nogales-Altozano, P.; Redondo, N.; Manzano, M.; Lozano, D.; Palomero, J.; Montoya, M.; Vallet-Regí, M.; Martín, V.; Sevilla, N.; Larraga, V. Non-replicative antibiotic resistance-free DNA vaccine encoding S and N proteins induces full protection in mice against SARS-CoV-2. *Front Immunol* 2022, 13, doi:10.3389/fimmu.2022.1023255.
- Oliva, M. A.; Tosat-Bitrián, C.; Barrado-Gil, L.; Bonato, F.; Galindo, I.; Garaigorta, U.; Álvarez-Bernad, B.; París-Ogáyar, R.; Lucena-Agell, D.; Giménez-Abián, J. F.; García-Dorival, I.; Urquiza, J.; Gastaminza, P.; Díaz, J. F.; Palomo, V.; Alonso, C. Effect of Clinically Used Microtubule Targeting Drugs on Viral Infection and Transport Function. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 3448, doi:10.3390/ijms23073448.
- Estévez-Gallego, J.; Álvarez-Bernad, B.; Pera, B.; Wulschleger, C.; Raes, O.; Menche, D.; Martínez, J. C.; Lucena-Agell, D.; Prota, A. E.; Bonato, F.; Bargsten, K.; Cornelius, J.; Giménez-Abián, J. F.; Northcote, P.; Steinmetz, M. O.; Kamimura, S.; Altmann, K.-H.; Paterson, I.; Gago, F.; Van der Eycken, J.; Díaz, J. F.; Oliva, M. A. Chemical modulation of microtubule structure through the laulimalide/peloruside site. *Structure* 2023, 31, 88-99.e5, doi:10.1016/j.str.2022.11.006.
- Prota, A. E.; Lucena-Agell, D.; Ma, Y.; Estévez-Gallego, J.; Li, S.; Bargsten, K.; Josa-Prado, F.; Altmann, K.-H.; Gaillard, N.; Kamimura, S.; Mühlethaler, T.; Gago, F.; Oliva, M. A.; Steinmetz, M. O.; Fang, W.-S.; Díaz, J. F. Structural insight into the stabilization of microtubules by taxanes. *eLife* 2023, 12, e84791, doi:10.7554/eLife.84791.
- Ma, Y.; Josa-Prado, F.; Essif, J. N.; Liu, S.; Li, S.; Lucena-Agell, D.; Chan, P. Y. W.; Goossens, K.; Hortigüela, R.; Matesanz, R.; Wang, Y.; Gago, F.; Wang, H.; Risinger, A.; Díaz, J. F.; Fang, W.-S. Modulation of taxane binding to tubulin curved and straight conformations by systematic 3'N modification provides for improved microtubule binding, persistent cytotoxicity and in vivo potency. *Eur J Med Chem* 2023, 259, 115668, doi:10.1016/j.ejmech.2023.115668.
- Alonso, A.; Alcolea, P. J.; Larraga, J.; Peris, M. P.; Esteban, A.; Cortés, A.; Ruiz-García, S.; Castillo, J. A.; Larraga, V. A non-replicative antibiotic resistance-free DNA vaccine delivered by the intranasal route protects against canine leishmaniasis. *Front Immunol* 2023, 14, doi:10.3389/fimmu.2023.1213193.

### Patente / Patent

- Pedro José Alcolea, Vicente Larraga, Ana Alonso, Jaime Larraga, Silvia Ruiz-García, Francisco Javier Loayza y Noemí Sevilla. 2022. "New DNA SARS-CoV-2 vaccine". EP22382749



**Carlos Fernández Tornero**

Investigador Científico  
cftornero@cib.csic.es



PhD, 2002, Universidad Autónoma de Madrid  
Postdoctoral, 2002-2007, EMBL-Grenoble, Francia  
Científico de Plantilla, 2007-2009, EMBL-Heidelberg, Alemania  
Científico Titular, 2009, CIB, CSIC  
Jefe de Grupo, 2010, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 2017, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Sonia Huecas Gayo  
Federico Martín Ruiz  
Tommy Pascal Darrière  
Adrián Plaza Pegueroles  
Alicia Santos González de Aledo

Quoc Phong Nguyen  
Héctor Leal Lasalle  
Carolina Muñoz Núñez



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

Las máquinas macromoleculares llevan a cabo procesos fundamentales para la vida de las células. Nuestro grupo estudia diversas máquinas celulares implicadas en la expresión de los genes, la inserción del ADN y la división bacteriana.

Regulación de la expresión génica. La ARN polimerasa I (Pol I) es la máquina celular que sintetiza el esqueleto de los ribosomas eucariotas. Fuimos pioneros en la obtención de la estructura de rayos X de la Pol I [Nature, 2013], que completamos con estudios de cryo-EM sobre su regulación [eLife, 2017; Transcription 2018] y su bloqueo por lesiones en el ADN [PNAS, 2018]. También hemos contribuido a caracterizar la unión del factor de transcripción HIF con su diana de ADN [BBA-GRM, 2023].

Inserción del ADN. Los transposones son secuencias de ADN que pueden saltar dentro del genoma. Hemos caracterizado la actividad de la integrasa de Ty1, el transposón más activo de la levadura, y demostrado que su región C-terminal es flexible [JBC, 2021]. Usamos cryo-EM para mostrar cómo un segmento C-terminal de dicha integrasa se acopla a la superficie de la ARN polimerasa III (Figura 1) e induce una configuración que favorece su residencia en la cromatina [Nat Comm, 2023].

División celular bacteriana. La enzima FtsZ ocupa un papel fundamental en la maquinaria de división bacteriana. Por tanto, su inhibición se considera una estrategia óptima para frenar las infecciones bacterianas. Empleamos la cristalografía de rayos X para obtener la estructura de FtsZ del patógeno *Staphylococcus aureus* en complejo con nuevos inhibidores que pueden servir de base para el diseño de antibióticos eficaces [J Med Chem, 2021]. Además, obtuvimos estructuras de FtsZ en complejo con diversos análogos de nucleótido (Figura 2), que arrojan luz sobre el mecanismo de formación de filamentos funcionales [PLoS Biol, 2022]. Una comparación con el homólogo de arqueas nos permitió identificar elementos conservados en los sitios activos de estas enzimas [FEBS J, 2023].

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Nguyen, P. Q.; Huecas, S.; Asif-Laidin, A.; Plaza-Pegueroles, A.; Capuzzi, B.; Palmic, N.; Conesa, C.; Acker, J.; Reguera, J.; Lesage, P.; Fernández-Tornero, C. Structural basis of Ty1 integrase tethering to RNA polymerase III for targeted retrotransposon integration. *Nat Commun* 2023, 14, 1729, doi:10.1038/s41467-023-37109-4.
- Andreu, J. M.; Ruiz, F. M.; Fernández-Tornero, C. Conserved GTPase mechanism in bacterial FtsZ and archaeal tubulin filaments. *FEBS J* 2023, 290, 3527-3532, doi:10.1111/febs.16675.
- Rosell-García, T.; Rivas-Muñoz, S.; Kin, K.; Romero-Albillo, V.; Alcaraz, S.; Fernández-Tornero, C.; Rodríguez-Pascual, F. Multimerization of HIF enhances transcription of target genes containing the hypoxia ancillary sequence. *Biochim Biophys Acta Gene Regul Mech* 2023, 1866, 194963, doi:10.1016/j.bbagr.2023.194963.
- Ruiz, F. M.; Huecas, S.; Santos-Aledo, A.; Prim, E. A.; Andreu, J. M.; Fernández-Tornero, C. FtsZ filament structures in different nucleotide states reveal the mechanism of assembly dynamics. *PLoS Biol* 2022, 20, e3001497, doi:10.1371/journal.pbio.3001497.
- Nguyen, P. Q.; Conesa, C.; Rabut, E.; Bragagnolo, G.; Gouzerh, C.; Fernández-Tornero, C.; Lesage, P.; Reguera, J.; Acker, J. Ty1 integrase is composed of an active N-terminal domain and a large disordered C-terminal module dispensable for its activity in vitro. *J Biol Chem* 2021, 297, 101093, doi:10.1016/j.jbc.2021.101093.
- Huecas, S.; Araújo-Bazán, L.; Ruiz, F. M.; Ruiz-Ávila, L. B.; Martínez, R. F.; Escobar-Peña, A.; Artola, M.; Vázquez-Villa, H.; Martín-Fontecha, M.; Fernández-Tornero, C.; López-Rodríguez, M. L.; Andreu, J. M. Targeting the FtsZ Allosteric Binding Site with a Novel Fluorescence Polarization Screen, Cytological and Structural Approaches for Antibacterial Discovery. *J Med Chem* 2021, 64, 5730-574, doi:10.1021/acs.jmedchem.0c02207.

**Financiación / Funding**

- PID2020-116722GB-I00 (MICINN/AEI, 2021-2024)
- BFU2017-87397-P (MICINN/AEI, 2018-2021)
- 2020AEP152 (CSIC, 2020-2021)
- INSTRUC (ANR - Francia, 2018-2022)
- RED2018-102467-T (MICINN, 2020-2022)

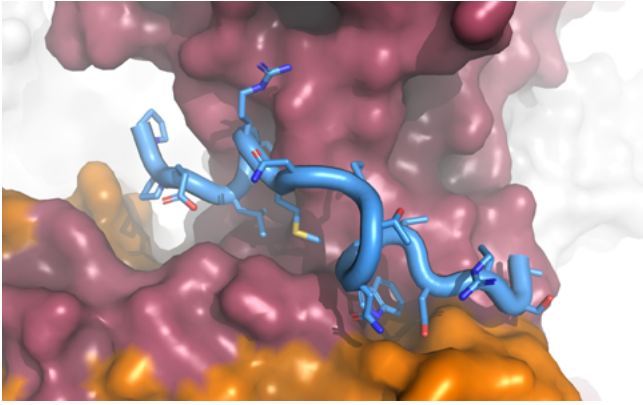


Figure 1

Cryo-EM structure of RNA polymerase III (dark red and orange) in complex with the integrase from the Ty1 retrotransposon (sky blue), which enabled identification of protein residues involved in the interaction and is essential for DNA insertion at safe regions of the yeast genome.

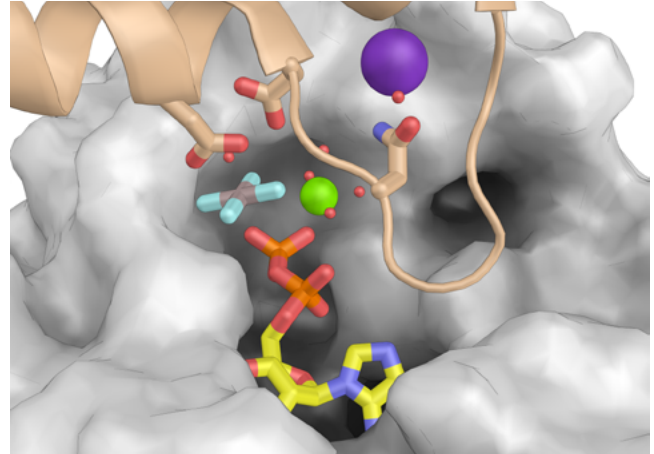


Figure 2

Active site of the FtsZ protein from *S. aureus*, a pathogen that threatens global health due to its resistance to antibiotics. The structure provides clues to understand how FtsZ hydrolyzes the GTP nucleotide during bacterial division, which can serve as basis for the design of new antibiotics.

## 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 assists the development of pharmacological applications.*

*Macromolecular machines carry out processes that are fundamental for cell life. Our group studies cellular machines involved in gene expression, targeted DNA insertion and bacterial division.*

*Regulation of gene expression. RNA polymerase I (Pol I) is the cellular machine that synthesizes the ribosome skeleton in eukaryotic cells. We pioneered the X-ray structural determination of Pol I [Nature, 2013], which we completed with cryo-EM studies on its regulation [eLife, 2017; Transcription 2018] and its blocking by DNA lesions [PNAS, 2018]. We also contributed to characterize the binding of the HIF transcription factor to its DNA target [BBA-GRM, 2023].*

*Targeted DNA insertion. Transposons are DNA sequences that can change their position within the genome. We have characterized the catalytic activity of the integrase from Ty1, the most active transposon in yeast, and shown that its C-terminal region is flexible [JBC, 2021]. We used cryo-EM to show how a C-terminal segment of the Ty1 integrase docks on the surface of RNA polymerase III (Figure 1), thus inducing a configuration that favors its residence on the chromatin [Nat Comm, 2023].*

*Bacterial cell division. The FtsZ enzyme plays a central role in the bacterial division machinery. Therefore, its inhibition is considered an optimal strategy to curb bacterial infections. We employed X-ray crystallography to obtain the structure of FtsZ from the pathogen *Staphylococcus aureus* in complex with novel inhibitors that can serve as a basis for the design of effective antibiotics [J Med Chem, 2021]. In addition, we obtained structures of FtsZ in complex with various nucleotide analogues (Figure 2), which shed light on the mechanism of filament formation dynamics [PLoS Biol, 2022]. A comparison with the FtsZ archaeal homologue allowed us to identify conserved elements in the active sites of these enzymes [FEBS J, 2023].*



**Germán Alejandro Rivas Caballero**

Profesor de Investigación  
grivas@cib.csic.es



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

**Carlos Alfonso Botello**

Científico Titular  
carlosa@cib.csic.es



PhD, 1991, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1992-1994, Wageningen Agricultural University, NL  
Postdoctoral, 1995-1998, Plant Protection Department, INIA, Madrid  
Científico Titular, 2010, CIB, CSIC  
Responsable Servicio Interacciones Moleculares, 2010, CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/systems-biochemistry-bacterial-division>

**Silvia Zorrilla López**

Científica Titular  
silvia@cib.csic.es



PhD, 2002, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 2003-2004, IQFR/IIB, CSIC  
Marie Curie Postdoctoral, 2005-2007, CBS (CNRS, INSERM, Univ. Montpellier), Francia  
Postdoctoral, 2007-2009, IQFR, CSIC  
Científica Titular, 2009, IQFR, CSIC  
Incorporación CIB, CSIC, 2013

**Mercedes Jiménez Sarmiento**

Científica Titular  
enoe@cib.csic.es



PhD, 1998, Universidad Autónoma de Madrid  
Científica Titular, 2008, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Begoña Monterroso Marco  
Marta Sobrinos Sanguino  
Miguel Ángel Robles Ramos  
Gianfranco Paccione

Inés Barros Medina  
Cristina Vidal Verdú  
Pedro Jiménez Carpio

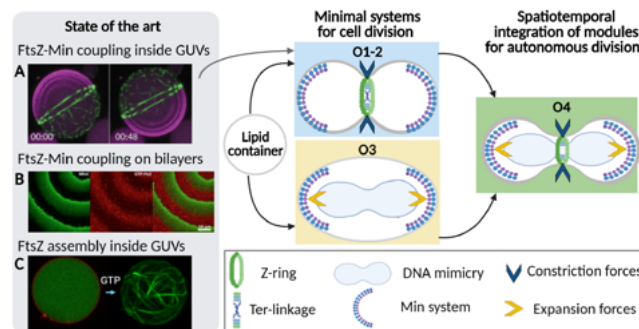
## Bioquímica de sistemas de la división bacteriana

La investigación de nuestro grupo está centrada en la reconstitución de maquinarias de división bacteriana mediante la integración de sus componentes moleculares en ambientes citomiméticos. Para ello, combinamos aproximaciones bioquímicas, biofísicas y de biología sintética. Pretendemos contribuir a comprender cómo se dividen las células y al gran reto de generar células sintéticas, con importantes implicaciones en biotecnología y biomedicina.

Nuestro programa de investigación está centrado en la reconstitución bioquímica de elementos implicados en la división celular bacteriana, con el fin de contribuir a la generación de células sintéticas capaces de dividirse de forma autónoma, mediante la integración de módulos funcionales (Figura 1). La maquinaria de división bacteriana, idónea para este propósito por su relativa simplicidad a pesar de que el subconjunto mínimo de elementos necesarios para la división está por identificar, es de gran interés por su repercusión como efectora de un proceso esencial para la supervivencia bacteriana. La generación de células artificiales proporcionará una herramienta de gran utilidad para comprender los procesos vitales y para controlarlos con fines medioambientales o terapéuticos.

Utilizando una amplia variedad de metodologías bioquímicas y biofísicas ortogonales (Figura 2), nuestros esfuerzos se focalizan en el análisis de los mecanismos moleculares que gobiernan el ensamblaje de los elementos del divisoma. Estudiamos las interacciones ADN-proteína-membrana implicadas en la regulación de la formación del anillo de división mediante sistemas agonistas y antagonistas, que operan de forma coordinada para garantizar su correcto posicionamiento en el centro de la bacteria. Para avanzar en la comprensión de estos me-

canismos, aplicamos y desarrollamos tecnologías de reconstitución en sistemas mínimos de membrana (Figura 2). Nuestros estudios están evidenciando la relevancia del contexto celular - efectos derivados de la aglomeración macromolecular inherente al citoplasma bacteriano, microambientes generados por separaciones de fase líquido-líquido y superficies de la membrana o el nucleóide - para la regulación de procesos bacterianos esenciales como la división celular. Adicionalmente, estamos explotando estos conocimientos para la búsqueda de nuevas estrategias dirigidas a combatir el problema de la resistencia a antibióticos, utilizando como diana la división bacteriana.



**Figure 1**

Schematic representation of strategies for the reconstitution of machineries for the autonomous division of minimal cells. Images adapted from Kohyama et al. 2022 Nat Commun 13; Martos et al. 2015 Biophys J 108; Cabre et al. 2013 J Biol Chem 288.

**Financiación / Funding**

- PID2022-136951NB-I00 (MCIN/ AEI /10.13039/501100011033/ y FEDER Una manera de hacer Europa)
- PID2019-104544GB-I00 (MICINN/ AEI/10.13039/501100011033)
- 2023AEP105 (MICINN)
- BES-2017-082003 (FPI Miguel Ángel Robles Ramos, AEI/FEDER, UE)
- PRE2020-092044 (FPI Gianfranco Paccione, MICINN/ AEI/10.13039/501100011033)
- FPU20/05620 (FPU Inés Barros Medina, MIU)

# Systems biochemistry of bacterial division

Research in our group is focused in the reconstitution of bacterial division machineries through integration of their molecular components in cell-like conditions. To this end, we combine biochemical, biophysical and synthetic biology approaches. We aim to contribute to understanding how cells divide and to the great challenge of generating synthetic cells from the bottom up, with important implications in biotechnology and medicine.

Our research program is centered in the biochemical reconstitution of elements involved in bacterial cell division with the aim of contributing to the generation of synthetic cells endowed with autonomous division, through the integration of functional modules (Figure 1). The bacterial division machinery, suitable for this purpose due to its relative simplicity even when the minimum subset of elements necessary to achieve division has not yet been identified, is of utmost interest because of its impact in an essential process for the survival of bacteria. The generation of artificial cells will allow gaining a deep understanding of life processes, which will ultimately allow finding new ways to control them with environmental or therapeutic purposes.

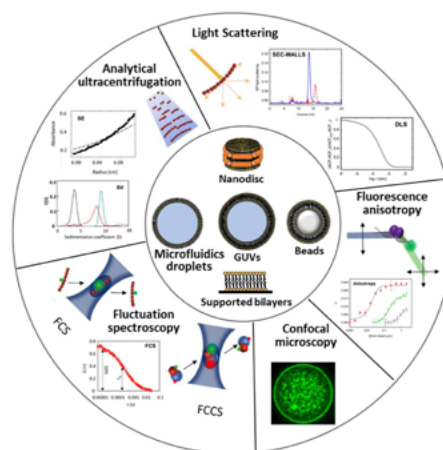
Using a wide variety of orthogonal biochemical and biophysical methodologies (Figure 2), our efforts are focused in the analysis of the molecular mechanisms underlying the assembly of the divisome elements. We study the DNA-protein-membrane interactions involved in the regulation of the division ring formation by agonistic and antagonistic systems that work in a coordinated manner to ensure its correct positioning at mid-cell. To advance in the understanding of these mechanisms, we develop and apply technologies for the reconstitution of molecules in minimal membrane platforms (Figure 2). Our studies are evidencing the relevancy of the cellular context - effects derived from macromolecular crowding inherent to the bacterial cytoplasm, compartmentalization arising from liquid-liquid phase separation and membrane or nucleoid surfaces - in the regulation of essential bacterial processes like cell division. Additionally, we are exploiting this knowledge to find new strategies to fight the problem of antibiotic resistance, targeting bacterial division protein interactions and higher order assemblies.

**Figure 2**

Illustration of the minimal membrane systems and the biophysical techniques we use for the reconstitution of the bacterial division elements. Adapted from Zorrilla & Monterroso et al. 2021 *Antibiotics* 10.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Monterroso, B.; Robles-Ramos, M. A.; Sobrinos-Sanguino, M.; Luque-Ortega, J. R.; Alfonso, C.; Margolin, W.; Rivas, G.; Zorrilla, S. Bacterial division ring stabilizing ZapA versus destabilizing SlmA modulate FtsZ switching between biomolecular condensates and polymers. *Open Biol* **2023**, 13, 220324, doi:10.1098/rsob.220324.
- Suigo, L.; Monterroso, B.; Sobrinos-Sanguino, M.; Alfonso, C.; Straniero, V.; Rivas, G.; Zorrilla, S.; Valoti, E.; Margolin, W. Benzodioxane-benzamides as promising inhibitors of Escherichia coli FtsZ. *Int J Biol Macromol* **2023**, 253, 126398, doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126398.
- Hernández-Rocamora, V. M.; Molina, R.; Alba, A.; Carrasco-López, C.; Rojas-Altuve, A.; Panjikar, S.; Medina, A.; Uson, I.; Alfonso, C.; Galán, B.; Rivas, G.; Hermoso, J. A.; Sanz, J. M. Structural characterization of PaaX, the main repressor of the phenylacetate degradation pathway in Escherichia coli W: A novel fold of transcription regulator proteins. *Int J Biol Macromol* **2023**, 254, 127935, doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.127935.
- Kaufmann, A.; Vigogne, M.; Neundorff, T. A.; Reverte-López, M.; Rivas, G.; Thiele, J. Studying Nucleoid-Associated Protein-DNA Interactions Using Polymer Microgels as Synthetic Mimics. *ACS Synth Biol* **2023**, 12, 3695-3703, doi:10.1021/acssynbio.3c00488.
- Paccione, G.; Robles-Ramos, M. A.; Alfonso, C.; Sobrinos-Sanguino, M.; Margolin, W.; Zorrilla, S.; Monterroso, B.; Rivas, G. Lipid Surfaces and Glutamate Anions Enhance Formation of Dynamic Biomolecular Condensates Containing Bacterial Cell Division Protein FtsZ and Its DNA-Bound Regulator SlmA. *Biochemistry* **2022**, 61, 2482-2489, doi:10.1021/acs.biochem.2c00424.
- Rivas, G.; Minton, A. P. Influence of Nonspecific Interactions on Protein Associations: Implications for Biochemistry In Vivo. *Annu Rev Biochem* **2022**, 91, 321-351, doi:10.1146/annurev-biochem-040320-104151.
- Robles-Ramos, M. A.; Zorrilla, S.; Alfonso, C.; Margolin, W.; Rivas, G.; Monterroso, B. Assembly of bacterial cell division protein FtsZ into dynamic biomolecular condensates. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* **2021**, 1868, 118986, doi:10.1016/j.bbamcr.2021.118986.
- Jiménez, M.; Campillo, N. E.; Canelles, M. COVID-19 Vaccine Race: Analysis of Age-Dependent Immune Responses against SARS-CoV-2 Indicates that more than Just One Strategy May Be Needed. *Curr Med Chem* **2021**, 28, 3964-3979, doi:10.2174/0929867327666201027153123.
- Monterroso, B.; Robles-Ramos, M. A.; Zorrilla, S.; Rivas, G. Reconstituting bacterial cell division assemblies in crowded, phase-separated media. *Methods Enzymol* **2021**, 646, 19-49, doi:10.1016/bs.mie.2020.06.012.
- Zorrilla, S.; Monterroso, B.; Robles-Ramos, M. A.; Margolin, W.; Rivas, G. FtsZ Interactions and Biomolecular Condensates as Potential Targets for New Antibiotics. *Antibiotics (Basel)* **2021**, 10, 254, doi:10.3390/antibiotics10030254.



**Ana Martínez Gil**

Profesor de Investigación  
ana.martinez@csic.es



PhD, 1987, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1988-1990, IQM, CSIC  
Científico Titular, 1990, IQM, CSIC  
Director I+D, 2002-2008, NeuroPharma S. A.  
Investigador Científico, 2008, IQM, CSIC  
Profesor de Investigación, 2009, IQM, CSIC  
Incorporación CIB, 2014

**Carmen Gil Ayuso-Gontán**

Investigador Científico  
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  
Científico Titular, 2007, IQM, CSIC  
Incorporación CIB, 2014  
Investigador Científico, 2017, CIB, CSIC

**Nuria E. Campillo Martín**

Investigador Científico  
nuria.campillo@csic.es



PhD, 1997, Universidad Autónoma de Madrid  
Postdoctoral Fellow, 1998-2001, Cambridge University, UK  
Científico Titular, 2003, IQM, CSIC  
Incorporación CIB, 2014  
ICMAT, CSIC, 2020-2023  
Investigador Científico, 2023, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Alfonso García Rubia  
Loreto Martínez González  
Tiziana Ginex  
Eugenia Ulzurrun de Asanza Vega  
Mikel Etxebeste Mitxeltoarena  
Javier Recio Ramos  
Elnaz Aledavood  
Sandra Ramos Inza  
Eva M<sup>a</sup> Pérez Cuevas

Ana María Fernández Escamilla  
Vanessa Nozal García  
Inés Maestro Inarejos  
Rocío Benítez Fernández  
Marcos Morales Tenorio  
Enrique Madruga Mayordomo  
Elena Caballero Sánchez  
Cecilia Sánchez Santos  
Gracia Porras Franco



<https://www.cib.csic.es/research/structural-and-chemical-biology/translational-medical-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 infecciosas. En este proceso de desarrollo de fármacos empleamos diferentes técnicas y herramientas habituales en química médica tales como quimioinformática, síntesis orgánica 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.

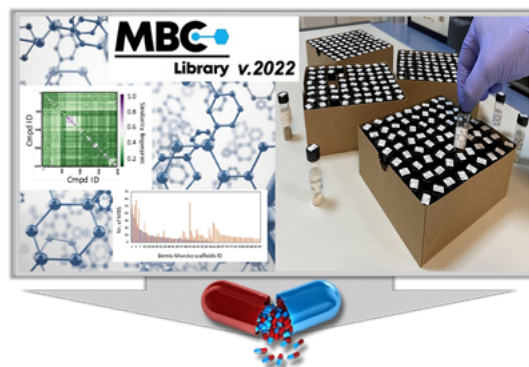
Nuestro grupo tiene una gran experiencia en el diseño y desarrollo de fármacos que incluyen metodologías tales como bioinformática y quimioinformática, síntesis orgánica, cribado biológico, optimización de propiedades ADMETox, e incluso la gestión empresarial. Los proyectos de investigación del grupo se diseñan para identificar tanto dianas farmacológicas innovadoras en enfermedades neurodegenerativas e infecciosas, así como nuevas moléculas multidiarias 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 de 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.

Desde 2020 somos oficialmente sitio acreditado de química médica en la infraestructura europea de investigación ERIC EU-OPENSREEN.

En el trienio 2021-23 nuestros resultados más importantes han sido:

- Prueba de eficacia *in vivo* de inhibidores de CDC7 y de TTBK1 en modelos murinos de esclerosis lateral amiotrófica (ELA)
- Identificación de derivados de *N*-fenilacetohidrazida como compuestos prometedores para el desarrollo de fármacos frente al virus del Ébola.

- Eficacia de los inhibidores de CK-1 y TTBK1 en evitar la transmisión priónica de TDP-43 en la enfermedad de Alzheimer y en la ELA.
- Descubrimiento de una nueva familia de pequeñas moléculas con actividad frente a cepas bacterianas resistentes a antibióticos.



**Figure 1**

*One of the main assets of our group: MBC in-house chemical library. It collects more than 2000 small heterocyclic molecules with drug like properties. The number of compounds registered in the MBC library increase continuously as our own research programs advance.*

**Premio / Award**

- Ana Martínez Gil. Premio Nacional de Investigación "Juan de la Cierva" 2022

**Patentes / Patentes**

- Ana Martínez, Carmen Gil, Vanesa Nozal, Valle Palomo, Ángeles Martín-Requero, Loreto Martínez-González y Eva M<sup>a</sup> Pérez-Cuevas. 9 Julio 2021. "Compuestos inhibidores de la quinasa de tau y tubulina (TTBK)". PCT/ES2022/070436
- Carmen Gil, Ana Martínez, Marcos Morales-Tenorio, Alfonso García-Rubia y Younes Smani. 24 Julio 2023. "Nuevos derivados útiles como agentes antibacterianos". P202330628



# Translational Medicinal and Biological Chemistry

The translational medicinal and biological chemistry group focuses its efforts on developing effective drugs in different neurodegenerative and infectious diseases. During the drug development process, we employ different medicinal chemistry techniques and tools such as chemoinformatics, organic synthesis, 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 infectious diseases that allow the discovery of innovative drugs with novel mechanisms 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.

Since 2020 our group is officially incorporated as a validated medicinal chemistry site to the European research infrastructure ERIC EU-OPENSCREEN.

Main achievements during 2021-23:

- In vivo efficacy of CDC7 and TTBK1 inhibitors in murine models of amyotrophic lateral sclerosis (ALS).
- Identification of N-phenylacetohydrazide derivatives as promising lead compounds for developing anti-Ebola virus drugs.
- TDP-43 prionic transmission in Alzheimer's disease and ALS hampering by CK-1γ and TTBK1 inhibitors.
- Discovery of a new family of small molecules to fight against antimicrobial resistances.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Lasala, F.; García-Rubia, A.; Requena, C.; Galindo, I.; Cuesta-Gejjo, M. A.; García-Dorival, I.; Bueno, P.; Labiod, N.; Luczkowiak, J.; Martínez, A.; Campillo, N. E.; Alonso, C.; Delgado, R.; Gil, C. Identification of potential inhibitors of protein-protein interaction useful to fight against Ebola and other highly pathogenic viruses. *Antiviral Res* **2021**, 186, 105011, doi:10.1016/j.antiviral.2021.105011.
- Maestro I.; de la Ballina L. R.; Simonsen A.; Boya P.; Martínez A. Phenotypic assay leads to discovery of mitophagy inducers with therapeutic potential for Parkinson's disease. *ACS Chem Neurosci* **2021**, 12, 4512-4523, doi:10.1021/acscchemneuro.1c00529.
- Nozal, V.; Martínez-González, L.; Gómez-Almería, M.; Gonzalo-Consuegra, C.; Santana, P.; Chaikuad, A.; Pérez-Cuevas, E.; Knapp, S.; Lietha, D.; Ramírez, D.; Petralia, S.; Monti, B.; Gil, C.; Martín-Requero, A.; Palomo, V.; de Lago, E.; Martínez, A. TDP-43 modulation by tau-tubulin kinase 1 inhibitors: A new avenue for future Amyotrophic Lateral Sclerosis therapy. *J Med Chem* **2022**, 65, 1585-1607, doi:10.1021/acscimedchem.1c01942.
- González-Naranjo, P.; Pérez, C.; González-Sánchez, M.; Girona-Martínez, A.; Ulzurrun, E.; Bartolomé, F.; Rubio-Fernández, M.; Martín-Requero, A.; Campillo, N. E.; Páez, J. A. Multitarget drugs as potential therapeutic agents for Alzheimer's disease. A new family of 5-substituted indazole derivatives as cholinergic and BACE1 inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem* **2022**, 37, 2348-2356, doi:10.1080/14756366.2022.2117315.
- Martínez, M. J.; Sabando, M. V.; Soto, A. J.; Roca, C.; Requena-Triguero, C.; Campillo, N. E.; Páez, J. A.; Ponzoni, I. Multitask deep neural networks for Ames mutagenicity prediction. *J Chem Inf Model* **2022**, 62, 6342-6351, doi:10.1021/acs.jcim.2c00532.
- García-Rubia, A.; Lasala, F.; Ginex, T.; Morales-Tenorio, M.; Olal, C.; Heung, M.; Oquist, P.; Galindo, I.; Cuesta-Gejjo, M.; Casasnovas, J. M.; Campillo, N. E.; Canales, A.; Alonso, C.; Martínez, A.; Muñoz-Fontela, C.; Delgado, R.; Gil, C. N-Phenylacetohydrazide derivatives as potent Ebola virus entry inhibitors with an improved pharmacokinetic profile. *J Med Chem* **2023**, 66, 5465-5483, doi:10.1021/acs.jmedchem.2c01785.
- Ginex, T.; Madruga, E.; Martínez, A.; Gil, C. MBC and ECBL libraries: outstanding tools for drug discovery. *Front Pharmacol* **2023**, 14, 1244317, doi:10.3389/fphar.2023.1244317.

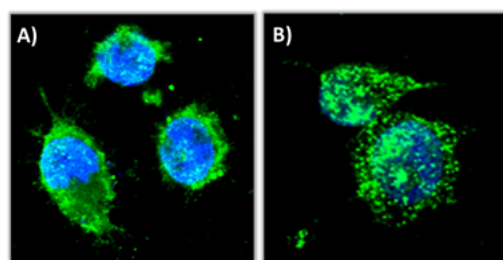


Figure 2

TDP-43 pathology presents in our patient-based ALS cellular model. A) Cytoplasmic localization (staining: TDP-43 green, nucleus blue). B) Phosphorylated-TDP-43 aggregates (staining: p-TDP-43 green).

## Financiación / Funding

- RTI2018-096100B-I00 (AEI, 2019-2021)
- PID2019-105600RB-I00 (AEI, 2020-2024)
- PID2021-122230B-I00 (AEI, 2022-2025)
- PDC2022-133774-I00 (AEI, 2022-2024)
- CPP2021-008750 (AEI, 2022-2025)
- TED2021-129633B-I00 (AEI, 2022-2024)
- TED2021-129970B-C21 (AEI, 2022-2024)
- DTS22/00119 I (ISCIII, 2023-2024)
- B2017/BMD-3813 (CM, 2018-2021)
- CIBERNED CB18/05/00040 (ISCIII)
- EU-OPENSCREEN-DRIVE GA 823893 (EU H2020, 2019-2023)
- Fragment-Screen GA 101094131 (EU Horizon, 2023-2026)
- LCF/PR/HR19/52160012 ("La Caixa" Banking Foundation, 2019-2023)
- LCF/PR/HR21/52410026 ("La Caixa" Banking Foundation, 2021-2024)
- LCF/PR/HR21/52350003 ("La Caixa" Banking Foundation, 2021-2024)



# Biotecnología Microbiana y de Plantas

## *Microbial and Plant Biotechnology*

- 106 Félix Ortego Alonso**  
**Pedro Hernández Crespo**  
**Gema Ma Pérez Farinós**  
**Lucas Sánchez Rodríguez**  
Entomología Aplicada a la Agricultura y la Salud  
*Applied Entomology for Human and Plant Health*
- 108 Susana Camarero Fernández**  
**Francisco Javier Ruiz Dueñas**  
**Ángel T. Martínez**  
Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica  
*Biotechnology for Lignocellulosic Biomass*
- 110 José Luis García López**  
**Beatriz Galán Sicilia**  
Biotecnología Medioambiental  
*Environmental Biotechnology*
- 112 Eduardo Díaz Fernández**  
**Manuel Carmona Pérez**  
Microbiología Medioambiental  
*Environmental Microbiology*
- 114 María Jesús Martínez Hernández**  
**Jorge Barriuso Maicas**  
**Alicia Prieto Orzanco**  
Sistemas Microbianos e Ingeniería de Proteínas  
*Microbial Systems and Protein Engineering*
- 116 Paloma López García**  
**Gloria del Solar Dongil**  
Biología Molecular de Bacterias Gram-positivas  
*Molecular Biology of Gram-positive Bacteria*
- 118 Tomás Canto Ceballos**  
**Francisco Tenllado Peralo**  
Interacciones moleculares planta/virus/vector  
*Molecular plant/virus/vector interactions*
- 120 Francisco Javier Medina Díaz**  
Nucleolo, Proliferación Celular y Microgravedad en Plantas  
*Plant Cell Nucleolus, Proliferation & Microgravity*
- 122 Julio Salinas Muñoz**  
**Rafael Catalá Rodríguez**  
Biología Molecular de Plantas  
*Plant Molecular Biology*
- 124 Pilar S. Testillano**  
Biotecnología del Polen de Plantas Cultivadas  
*Pollen Biotechnology of Crop Plants*
- 126 M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez**  
Biotecnología de Polímeros  
*Polymer Biotechnology*
- 128 Jesús Miguel Sanz Morales**  
**Pedro García González**  
Ingeniería de proteínas frente a la resistencia a antimicrobianos  
*Protein engineering against antimicrobial resistance*
- 130 César Llave**  
Regulación génica y estrés  
*Stress and gene regulation*

# Overview

Nuestro departamento se dedica a entender cómo los microorganismos, las plantas y los artrópodos interactúan con su entorno, y aprovechar este conocimiento para el desarrollo de aplicaciones industriales, agrícolas, medioambientales y sanitarias. Nuestros principales objetivos son el desarrollo de biocatalizadores enzimáticos microbianos y de fábricas celulares microbianas sintéticas para la producción sostenible y limpia de productos químicos, materiales y combustibles a partir de biomasa, residuos y contaminantes, reduciendo el uso de recursos fósiles y el calentamiento global, contribuyendo así a una bioeconomía circular y a la protección del medio ambiente. También abordamos importantes retos en el campo de la agricultura sostenible, como desentrañar los mecanismos que determinan las interacciones de las plantas con factores abióticos y bióticos, y desarrollar aplicaciones biotecnológicas para la mejora de los agroecosistemas y la sanidad vegetal. Nuestras actividades relacionadas con la salud humana se centran en microorganismos beneficiosos y patógenos y en artrópodos causantes de alergias.

La excelencia de nuestras actividades de I+D se refleja en el número de publicaciones en revistas y patentes de prestigio, colaboraciones internacionales y participación en numerosos proyectos de la UE y contratos con la industria. Nuestro compromiso para el futuro es hacer de nuestro departamento un entorno estimulante para que jóvenes científicos desarrollen su carrera científica en biotecnología.

*Our department is dedicated to understanding how microorganisms, plants, and arthropods interact with their environment and harnessing this knowledge for industrial, agricultural, environmental, and health applications. We design new microbial enzymatic biocatalysts and synthetic microbial cell factories for the production of metabolites and the sustainable and clean production of chemicals, materials, and fuels from biomass, waste, and pollutants, reducing the use of fossil resources and global warming, thereby contributing to economic circularity and environmental protection. We also address important challenges in agriculture, such as unraveling the mechanisms that determine plant interactions with abiotic and biotic factors and developing biotechnological applications for agroecosystem improvement. Our human health activities focus on beneficial and pathogenic microorganisms and allergy-producing arthropods.*

*The excellence of our R&D activities is reflected in the number of publications in prestigious journals and patents, extensive international collaborations, and participation in numerous EU projects and contracts with industry. Our commitment for the future is to make our department a stimulating environment for young scientists to develop careers in biotechnology.*

**Félix Ortego, Head of the Department until October 2023**

**Susana Camarero, Head of the Department from November 2023**

**Félix Ortego Alonso**Investigador Científico  
ortego@cib.csic.es

PhD, 1993, University of Arizona, Tucson, USA  
 Postdoctoral, 1994-1997, CIB, CSIC  
 Científico Titular, 1997, CIB, CSIC  
 Investigador Científico, 2003, CIB, CSIC  
 Vicedirector, 2008-2009 y 2012-2013, CIB, CSIC  
 Vocal Comisión de Ciencias Agrarias, CSIC, 2008-2012 y desde 2023

**Gema M<sup>a</sup> Pérez Farinós**Científica Titular  
gpfarinós@cib.csic.es

PhD, 2000, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 2001-2007, CIB, CSIC  
 Científica Titular, 2008, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Elena López Errasquín  
 Nuria Arranz de Pablo  
 José Cristian Vidal Quist  
 Carlos García Benítez  
 Mariola Silvestre Granda  
 Lidia Blanco Sánchez

Raúl Jiménez Coll  
 Ana Guillem Amat  
 Matías García García  
 Guillermo Cabezas Torrero  
 Javier Castells Sierra  
 Alexandra Pardo Domínguez

<https://cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/applied-entomology-human-and-plant-health>**Pedro Hernández Crespo**Científico Titular  
pedro@cib.csic.es

PhD, 1993, Universidad de Córdoba  
 Postdoctoral, 1994-1995, NERC Institute of Virology, Oxford, UK  
 Postdoctoral, 1997-1998, Univ. Montpellier, Francia  
 Postdoctoral, 1999-2000, CIB, CSIC  
 Científico Titular, 2001, CIB, CSIC  
 Colaborador Científico AEI (DGI), desde 2008

**Lucas Sánchez Rodríguez**Profesor de Investigación Ad honorem  
lsanchez@cib.csic.es

PhD, 1976, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1977-1979, University of Zürich, Switzerland  
 Research Associate, 1979-1981, University of Zürich, Switzerland  
 Group Leader, 1981-1984, EMBL, Heidelberg, Germany  
 Científico Titular, 1985, CIB, CSIC  
 Investigador Científico, 1989, CIB, CSIC  
 Profesor de Investigación, 2004, CIB, CSIC  
 Profesor Asociado, 1990-2003, Universidad de Alcalá de Henares  
 Director, 1991-1992, CIB, CSIC  
 Miembro Comisión del Área de Biología y Biomedicina, CSIC, 1993-1995

## Entomología Aplicada a la Agricultura y la Salud

**Nuestro objetivo es proporcionar el conocimiento y las herramientas necesarias para el manejo de artrópodos de interés agrícola y médico. La composición interdisciplinar del grupo (ecología, fisiología y biología molecular) nos permite realizar 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**

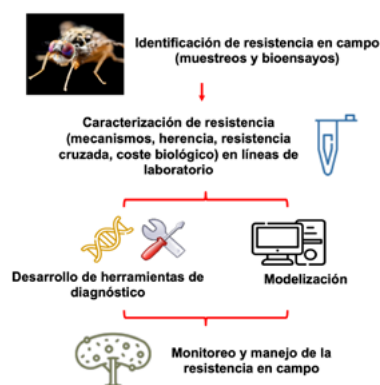
**(A) Resistencia de los taladros del maíz al maíz Bt.** Desde 1998 estudiamos la resistencia al maíz Bt de dos plagas clave, *Sesamia nonagrioides* y *Ostrinia nubilalis*, y hacemos el seguimiento de la resistencia en poblaciones de campo. Hemos modelizado la evolución de resistencia de *S. nonagrioides* y estamos analizando distintos parámetros biológicos y agronómicos relevantes para optimizar el modelo. Entre otros, estudiamos el posible impacto sobre la resistencia que podría tener la introducción de la mala hierba invasora teosinte, ancestro del maíz, en zonas donde se cultiva el maíz Bt.

**B) Efectos de insecticidas sobre los polinizadores silvestres.** Hemos evaluado la toxicidad aguda y crónica de insecticidas con distinto modo de acción sobre el abejorro *Bombus terrestris*. Además, investigamos en esta especie la sinergia que tiene lugar entre insecticidas (neonicotinoides y piretroides) y fungicidas SBI (inhibidores de la biosíntesis de esteroides), así como la variabilidad en la susceptibilidad a estos productos entre abejorros silvestres y comerciales.

**C) Resistencia a insecticidas en la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata*.** Evaluamos la evolución de la susceptibilidad de las poblaciones de campo a insecticidas comerciales. Asimismo, 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) 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 alérgenos en respuesta a los cambios en el entorno, y estamos desarrollando nuevos métodos para la estandarización de extractos alérgicos que se utilizan en inmunoterapia. Más información en <https://alergia.acaros.csic.es/>.

**Figure 1**

Strategy for the development of management plans for insecticide resistance in the Mediterranean fruit fly *Ceratitis capitata*.

**Financiación / Funding**

- PID2019-104578RB-I00 (AEI, 2020-2023)
- PID2022-1371420B-I00 (AEI, 2023-2026)
- Contrato de Apoyo Tecnológico (Bayer CropScience Schweiz AG, 2020-2025)
- Contrato de Apoyo Tecnológico (ALK-Abelló, 2016-2024)
- RED2028-102407-T (AEI, 2020-2022)

# Applied Entomology for Human and Plant Health

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

**A) Resistance of corn borers to Bt maize.** Since 1998 we have been studying resistance to Bt maize of two key pests, *Sesamia nonagrioides* and *Ostrinia nubilalis*, and conducting resistance monitoring in field populations. We have modeled the evolution of resistance of *S. nonagrioides* and are analyzing different relevant biological and agronomic parameters to optimize the model. Among others, we are studying the possible impact on the resistance of the introduction of the invasive weed teosinte, the ancestor of maize, in areas where Bt maize is grown.

**B) Impact of insecticides on wild pollinators.** We are studying the toxicity of insecticides with different modes of action on the bumblebee *Bombus terrestris*. Furthermore, we are investigating the synergy between insecticides (neonicotinoids and pyrethroids) and SBI fungicides (sterol-biosynthesis inhibitors) in this species, as well as the variability in susceptibility to these products between wild and commercial bumblebees.

**C) Insecticide resistance in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*.** We evaluated the evolution of the susceptibility of field populations to commercial insecticides. In addition, 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.

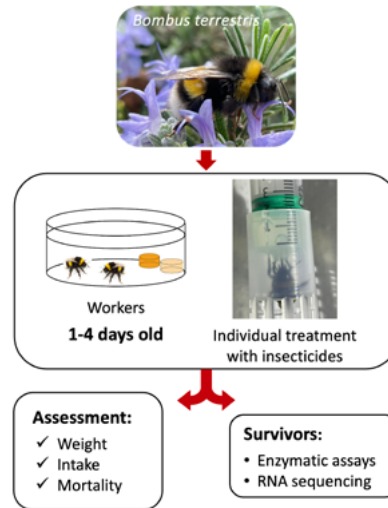
**D) Physiology and molecular biology of allergy-producing mites.** We have developed molecular tools for species identification of dust mites, we are studying allergen expression in mites in response to changes in the environment and we are developing new methods for the standardization of allergenic extracts used in immunotherapy. For more information see <https://alergia.acaros.csic.es/>

**Figure 2**

Differences in susceptibility to neonicotinoid and pyrethroid insecticides between wild and commercial *Bombus terrestris* workers have been determined by acute oral toxicity bioassays. The survivors of these bioassays will be used to study differences in detoxification enzyme activities and gene expression (by RNAseq) between wild and commercial bees.

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- García, M.; García-Benítez, C.; Ortego, F.; Farinós G. P. Monitoring insect resistance to Bt maize in the European Union: Update, challenges, and future prospects. *J Econ Entomol* **2023**, *116*, 275-288, doi:10.1093/jee/toac154.
- Vidal-Quist, J. C.; Declercq, J.; Vanhee, S.; Lambrecht, B. N.; Gómez-Rial, J.; Vidal, C.; Aydogdu, E.; Rombauts, S.; Hernández-Crespo, P. RNA viruses alter house dust mite physiology and allergen production with no detected consequences for allergenicity. *Insect Mol Biol* **2023**, *32*, 173-186, doi:10.1111/imb.12822.
- Castells-Sierra, J.; Guillem-Amat, A.; López-Erassquín, E.; Sánchez, L.; Ortego, F. First detection of resistance to deltamethrin in Spanish populations of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *J Pest Sci* **2023**, *96*, 1229-1242, doi: 10.1007/s10340-022-01578-1.
- Kaçar G.; Butrón A.; Kontogiannatos D.; Han P.; Peñafior, M. F. G.; Farinós G. P.; Huang F.; Hutchison W. D.; de Souza B. H. S.; Malvar, R. A.; Kourti A.; Ramirez-Romero R.; Smith J. L.; Sami Koca A.; Pineda M.; Haddi, K. Recent trends in management strategies for two major maize borers: *Ostrinia nubilalis* and *Sesamia nonagrioides*. *J Pest Sci* **2023**, *96*, 879-901, doi:10.1007/s10340-023-01595-8.
- Guillem-Amat, A.; López-Erassquín, E.; Castells-Sierra, J.; Sánchez, L.; Ortego, F. Current situation and forecasting of resistance evolution to lambda-cyhalothrin in Spanish medfly populations. *Pest Manag Sci* **2022**, *78*, 1341-1355, doi:10.1002/ps.6751.
- Cabezas, G.; Farinós, G. P. Sensitivity of buff-tailed bumblebee (*Bombus terrestris* L.) to insecticides with different mode of action. *Insects* **2022**, *13*, 184, doi:10.3390/insects13020184.
- García-Benítez, C.; García-García, M.; Ortego, F.; Farinós, G. P. Maíz modificado genéticamente resistente a insectos: situación actual, manejo de la resistencia y programas de seguimiento. En: *La mejora de la resistencia y/o tolerancia a plagas vegetales*. 2022, Cap. 1. pp. 1-27. Misión Biológica de Galicia, CSIC (ed.), ISBN: 978-84-09-44123-5.
- Vidal-Quist, J. C.; Ortego, F.; Hernández-Crespo, P. Contribution of cysteine and serine proteases to proteolytic digestion in an allergy-eliciting house dust mite. *J Insect Physiol* **2021**, *133*, 104285, doi:10.1016/j.jinsphys.2021.104285.
- Vidal-Quist, J.C.; Vidal, C.; Escolar, F.; Lambrecht, B.N.; Rombauts, S.; Hernández-Crespo, P. RNA viruses in the house dust mite *Dermatophagoides pteronyssinus*, detection in environmental samples and in commercial allergen extracts used for *in vivo* diagnosis. *Allergy* **2021**, *76*, 3743-3754, doi:10.1111/all.14884.
- Sancho, R.; Guillem-Amat, A.; López-Erassquín, E.; Sánchez, L.; Ortego, F.; Hernández-Crespo, P. Genetic analysis of medfly populations in an area of sterile insect technique applications. *J Pest Sci* **2021**, *94*, 1277-1290, doi:10.1007/s10340-021-01337-8.



## Susana Camarero Fernández

Investigadora Científica  
susanacam@cib.csic.es



PhD, 1995, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1996-1999, CCMA y CIB, CSIC  
Postdoctoral EU, 2000-2002, CIB, CSIC  
Investigador Ramón y Cajal, 2003-2008, CIB e ICP, CSIC  
Científico Titular, 2009, CIB, CSIC  
Jefa de grupo, 2022, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 2023, CIB, CSIC

## Ángel T. Martínez

Profesor de Investigación vinculado Ad  
honorem, desde enero 2022  
atmartinez@cib.csic.es



PhD, 1976, Universidad de Navarra  
Postdoctoral, 1977-1978, CNRS, Vandoeuvre-les-Nancy, Francia; 1978-1979, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Baarn y Delft, Países Bajos  
Científico Titular, 1981-1990, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 1990-2003, CIB, CSIC  
Miembro electo de la International Academy of Wood Sciences

## Francisco Javier Ruiz Dueñas

Científico Titular  
fjruiz@cib.csic.es



PhD, 1999, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1999-2000, Centro Risonanze Magnetiche, CERM, Universidad de Florencia, Italia  
Postdoctoral, 2000-2010, CIB, CSIC  
Investigador Ramón y Cajal, 2010-2016, CIB, CSIC  
Investigador Distinguido, 2016-2017, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2017, CIB, CSIC  
Jefe de Grupo, 2022, CIB, CSIC

### Otros miembros / Other members

Juan R. Carro Aramburu	Rodrigo A. Rincón Sanz
María Dolores Linde López	Gonzalo Molpeceres García
Elvira Romero Guzmán	Roberto Sevilla Ortega
Marta Pérez Boada	M <sup>a</sup> Isabel Sánchez Ruiz
Pablo Aza Toca	David Rodríguez Escribano
Ana Serrano Esteban	Rashid Babiker Sánchez
Juan Carral Sáez-Royuela	Ander Peña Gonzalo
José Manuel González Fornell	Alba Sáez Matía
Isabel Ocampos Crespo	



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

# Biotecnología para la Biomasa Lignocelulósica

Nuestro objetivo último es desarrollar herramientas biotecnológicas para obtener productos bio-basados a partir de recursos vegetales en procesos sostenibles, eficientes y limpios, contribuyendo a una (Bio)economía Circular. El conocimiento adquirido sobre la biodegradación de la lignocelulosa por hongos (pral. del polímero de lignina) y de sus enzimas oxidorreductasas, nos permite desarrollar biocatalizadores enzimáticos a la carta mediante técnicas de evolución dirigida, diseño computacional y biología sintética.

Para alcanzar nuestros objetivos científicos, desarrollamos líneas de investigación básica y aplicada:

- Las primeras se centran en conocer la composición y entender el funcionamiento de las maquinarias enzimáticas responsables de la transformación de la lignocelulosa por hongos especializados en su degradación (proyectos CSP15-1609, DOE-JGI; y GenoBioref, BIO2017-86559-R). Para ello realizamos estudios multiómicos, incluyendo análisis secretómicos, transcriptómicos y de genómica comparada de gran variedad de especies de hongos saprófitos, completados con análisis químicos de los sustratos degradados. Estos estudios son fundamentales para el descubrimiento de nuevas enzimas, tales como oxidorreductasas implicadas en la biodegradación del polímero de lignina y otros compuestos aromáticos, de gran interés biotecnológico, incluyendo: (i) oxidasas multicobre, (ii) hemo-peroxidasas, (iii) hemo-peroxigenasas, y (iv) flavo-oxidasas.
- Las líneas aplicadas se centran en la utilización de estos biocatalizadores en reacciones oxidativas de síntesis o degradación de interés industrial, como las investigadas en los proyectos WoodZymes (<https://woodzymes.eu>), SusBind (<https://susbind.eu>), FurenPol (PLEC2021-007690), OxyLipids (TED2021-129264B) y LIG2PLAST (PID2021-1263840B-I00), liderados por nuestro grupo. Estos proyectos parten de la expresión heteróloga de las oxidorreductasas más interesantes

desde un punto de vista biotecnológico, para después mejorar sus propiedades o conferirles nuevas funcionalidades (necesarias para su aplicación) mediante evolución dirigida y/o diseño racional, asistidos por diseño computacional. Participamos en la PTI+SusPlast del CSIC sobre "Plásticos Sostenibles para una Economía Circular", con el objeto de contribuir con soluciones biotecnológicas a la producción de plásticos bio-basados y la transformación y reciclaje de polímeros derivados del petróleo, siendo la Dra. Camarero responsable de la Planta Piloto de Diseño de Biocatalizadores Enzimáticos.

### Patentes / Patents

- David Rodríguez-Escribano, Rocío Pliego, Felipe de Salas, Pablo Aza, Gonzalo Molpeceres y Susana Camarero. 28 Octubre 2022 (fecha de prioridad 29.10.2021 EP), "Tailor-made extremophilic fungal laccases", PCT/EP2022/080219

### Financiación / Funding

- PID2021-1263840B-I00 (2022-2026)
- TED2021-129264B (MICINN, 2022-2024)
- PLEC2021-007690 (MICINN, 2021-2024)
- H2020-BBI-JU-2017-792070 (EC-BBI JU, 2018-2021)
- H2020-BBI-JU-2017-792063 (EC-BBI JU, 2018-2022)
- BIO2017-86559-R (MICINN, 2018-2021)

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Aza, P.; Linde, D.; Molpeceres, G.; Vind, J.; Medrano, F. J.; Camarero, S. Role and structure of the small subunit forming heterodimers with laccase-like enzymes. *Protein Sci* 2023, 32, e4734, doi:10.1002/pro.4734.
- Sierra-Patev, S.; Min, B.; Naranjo-Ortiz, M.; Looney, B.; Konkol, Z.; Slot, J. C.; Sakamoto, Y.; Steenwyk, J. L.; Rokas, A.; Carro, J.; Camarero, S.; Ferreira, P.; Molpeceres, G.; Ruiz-Dueñas, F. J.; Serrano, A.; Henrissat, B.; Drula, E.; Hughes, K. W.; Mata, J. L.; Ishikawa, N. K.; Vargas-Isla, R.; Ushijima, S.; Smith, C. A.; Donoghue, J.; Ahrendt, S.; Andreopoulos, W.; He, G.; LaButti, K.; Lipzen, A.; Ng, V.; Riley, R.; Sandor, L.; Barry, K.; Martínez, A. T.; Xiao, Y.; Gibbons, J. G.; Terashima, K.; Grigoriev, I. V.; Hobbett, D. A global phylogenomic analysis of the shiitake genus *Lentinula*. *Proc Natl Acad Sci* 2023, 120, e2214076120, doi:10.1073/pnas.2214076120.
- Aza, P.; Molpeceres, G.; Vind, J.; Camarero, S. Multicopper oxidases with laccase-ferroxidase activity: Classification and study of ferroxidase activity determinants in a member from *Heterobasidium annosum* s. l. *Comput Struct Biotechnol J* 2023, 21, 1041-1053, doi:10.1016/j.csbj.2023.01.030.
- Rodríguez-Escribano, D.; Pliego-Magán, R.; de Salas, F.; Aza, P.; Gentili, P.; Ihalainen, P.; Levée, T.; Meyer, V.; Petit-Conil, M.; Tapin-Lingua, S.; Lecourt, M.; Camarero, S. Tailor-made alkaliphilic and thermostable fungal laccases for industrial wood processing. *Biotechnol Biofuels* 2022, 15, 149, doi:10.1186/s13068-022-02247-2.
- Linde, D.; González-Benjumea, A.; Aranda, C.; Carro, J.; Gutiérrez, A.; Martínez, A. T. Engineering *Collariella virescens* peroxxygenase for epoxides production from vegetable oil. *Antioxidants* 2022, 11, 915, doi:10.3390/antiox11050915.

- Rencoret, J.; Gutiérrez, A.; Marques, G.; del Río, J. C.; Tobimatsu, Y.; Lam, P. Y.; Pérez-Boada, M.; Ruiz-Dueñas, F. J.; Barrasa, J. M.; Martínez, A. T. New insights on structures forming the lignin-like fractions of ancestral plants. *Front Plant Sci* 2021, 12, 740923, doi:10.3389/fpls.2021.740923.
- Sánchez-Ruiz, M. I.; Ayuso-Fernández, I.; Rencoret, J.; González-Ramírez, A. M.; Linde, D.; Davó-Siguero, I.; Romero, A.; Gutiérrez, A.; Martínez, A. T.; Ruiz-Dueñas, F. J. Agaricales mushroom lignin peroxidase: from structure–function to degradative capabilities. *Antioxidants* 2021, 10, 1446, doi:10.3390/antiox10091446.
- Peña, A.; Babiker, R.; Chaduli, D.; Lipzen, A.; Wang, M.; Chovatia, M.; Rencoret, J.; Marques, G.; Sánchez-Ruiz, M. I.; Kijpornyongpan, T.; Salvachúa, D.; Camarero, S.; Ng, V.; Gutiérrez, A.; Grigoriev, I. V.; Rosso, M.-N.; Martínez, A. T.; Ruiz-Dueñas, F. J. A multi-omic approach to understand how *Pleurotus eryngii* transforms non-woody lignocellulosic material. *J Fungi* 2021, 7, 426, doi:10.3390/jof7060426.
- Aza, P.; Molpeceres, G.; de Salas, F.; Camarero, S. Design of an improved universal signal peptide based on the  $\alpha$ -factor mating secretion signal for enzyme production in yeast. *Cell Mol Life Sci* 2021, 78, 3691-3707, doi:10.3390/jof7050359.

## Biotechnology for Lignocellulosic Biomass

**Our final goal is to develop biotechnological tools to obtain bio-based products from plant resources in sustainable, efficient, and clean processes, contributing to a (Bio)Circular economy. The knowledge acquired on lignocellulose biodegradation by fungi (mainly of the lignin polymer) and the oxidoreductase enzymes secreted by them, allows us to develop tailor-made enzymatic biocatalysts through directed evolution, computational design, and synthetic biology techniques.**

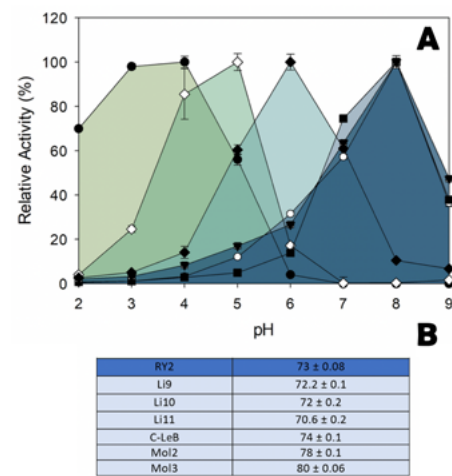
To achieve our scientific objectives, we develop basic and applied research lines:

- The former focuses on unveiling the composition and understanding the behavior of the enzymatic machinery responsible for the transformation of lignocellulose by fungi specialized in its degradation (projects CSP15-1609 from DOE-JGI and GenoBioref, BIO2017-86559-R). For this purpose, we perform multi-omic studies, including secretomic, transcriptomic, and comparative genomic analyses of a wide variety of saprophytic fungal species, complemented with chemical analyses of degraded substrates. These studies are key for the discovery of new enzymes, such as oxidoreductases of great biotechnological interest involved in the biodegradation of the lignin polymer and other compounds, including: (i) multi-copper oxidases, (ii) heme-peroxidases, (iii) heme-peroxygenases, and (iv) flavo-oxidases.
- The applied lines focus on the use of these biocatalysts in oxidative synthesis or degradation reactions of industrial interest, such

### Figure 2

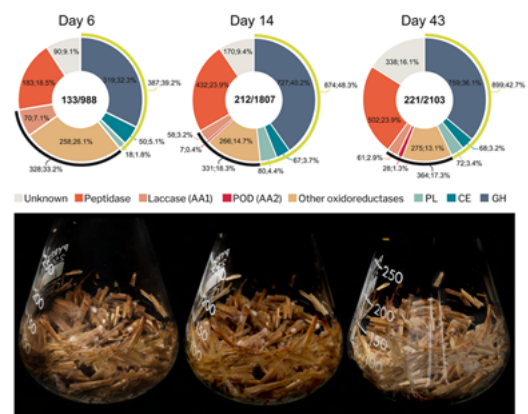
Secretomic study of *Pleurotus eryngii* grown on wheat straw. *Pleurotus eryngii* cultures on wheat straw after 6 (left), 14 (center) and 43 (right) days of culture, and abundance of the main protein types identified in the secretome (black and yellow arcs indicate oxidoreductases and CAZymes, respectively) [Peña et al. 2021].

as those investigated in the WoodZymes (<https://woodzymes.eu>), SusBind (<https://susbind.eu>), FurEnPol (PLEC2021-007690), OxyLipids (TED2021-129264B) and LIG2PLAST (PID2021-126384OB-I00) projects, led by our group. These projects start from the heterologous expression of the most interesting oxidoreductases from a biotechnological point of view, and then improve their properties or confer them new functionalities (required for their application) using directed evolution and/or rational design techniques, assisted by computational studies. We also participate in the SusPlast PTI+ of CSIC on "Sustainable Plastics for a Circular Economy", to contribute with biotechnological solutions to the production of bio-based plastics and the transformation and recycling of petroleum-derived polymers, being Dr. Camarero the responsible for the Pilot Plant for Enzymatic Biocatalyst Design.



**Figure 1**

Laccase engineering towards alkaliphilicity and thermophilicity. Shift of optimal pH (A) and improvement in thermal tolerance as T50 (10 min) values (B) through the in vitro evolution pathway. Parent laccase RY2 (white diamonds), LI9 (black diamonds), LI10 (white circles), LI11 (black squares), C-LeB (white squares), Mol2 (black circles) and Mol3 (black inverted triangles) [Rodríguez-Escribano et al. 2022].



**José Luis García López**

Profesor de Investigación  
jlgarcia@cib.csic.es



Licenciado en CC Químicas, 1977

Licenciado en Farmacia, 1978

PhD, 1980, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 1982-1986, Antibióticos S.A., University of Stonny Brook, New York, USA

Científico Titular, 1985, CIB, CSIC

Investigador Científico, 1990, CIB, CSIC

Profesor de Investigación, 2001, CIB, CSIC



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

**Beatriz Galán Sicilia**

Científico Titular  
bgalan@cib.csic.es



PhD, 2002, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 2003-2010, CIB, CSIC

Titulado Superior, 2011-2020, CIB, CSIC

Científico Titular, 2021, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Miguel García Acedos

Juan Ibero Caballero

Juan José Castro Carrillos

David Sanz Mata

María Castillo López

Gabriel Hernández Fernández

Paula Chacón Guisado

Eugenio Sanz García

Sara Baldanta Callejo

Wane Ousmane

Dina Kacar

Juan Gerardo Hernández Delgado

Marcos Mendieta Fernández

## Biotecnología Medioambiental

Nuestro trabajo se centra en la caracterización genética y bioquímica de rutas metabólicas (enzimas, reguladores) en diferentes células bacterianas, desarrollando organismos recombinantes para eliminar contaminantes ambientales o producir sustancias de interés industrial (fármacos, biocombustibles, biomateriales, enzimas, etc.) mediante procesos de fermentación o de biotransformación a partir de diferentes residuos y materias primas sostenibles.

En el grupo investigamos las capacidades metabólicas de las bacterias para desarrollar aplicaciones en el campo de la salud global abordando diversos desafíos en las áreas de la biorremediación, la biofabricación sostenible, la bioenergía y la farmacia.

Desde hace tiempo estudiamos las rutas de degradación de esteroides en bacterias tanto para producir sintonas farmacéuticas a partir de fitoesteroides como para degradar disruptores endocrinos. Para estos fines utilizamos *Mycolicibacterium smegmatis* y *Caenibius tardaugens* (proyecto FRONTTEST). En el sector farmacéutico estamos desarrollando herramientas de biología de sistemas y biología sintética para la producción de policétidos antitumorales y antivirales.

Trabajamos en proyectos europeos y nacionales para producir biocombustibles y diferentes productos químicos a partir de syngas o de CO<sub>2</sub> estamos utilizando bacterias (*Clostridium*, *Morella*, *Escherichia*, *Pseudomonas*) y levaduras (*Yarrowia*). Una parte del trabajo consiste en producir lípidos mediante microorganismos oleaginosos y otros compuestos (monómeros, bioplásticos) con bacterias recombinantes alimentados con el acetato que se obtiene de las fermentaciones anaeróbicas del CO<sub>2</sub> o del syngas (proyectos BIOSFERA, CO2SMOS, FUELPHORIA, CAPTUS). En este campo estamos trabajando también en la producción de lípidos a partir de residuos agrícolas por sacarificación y fermentación con *Rhodococcus* y *Yarrowia* (proyecto FRONTSHIP) y en la producción de biocombustibles mediante licuefacción hidrotermal (HTL) de residuos plásticos (proyecto THERMOBIOCHEM).

El grupo también está trabajando con cianobacterias para explorar su uso como nuevas soluciones medioambientales. Desarrollamos consorcios artificiales bacterianos utilizando un *Synechococcus elongatus* re-

combinante que secreta sacarosa y bacterias que utilizan la sacarosa para producir biopolímeros biodegradables como polihidroxialcanoatos (PHA) y/o polisacáridos extracelulares (EPS) (proyecto SYNECO).

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Acedos, M. G.; de la Torre, I.; Santos, V. E.; García-Ochoa, F.; García, J. L.; Galán, B. Modulating redox metabolism to improve isobutanol production in *Shimwellia blattae*. *Biotechnol Biofuels* 2021, 14, 8, doi:10.1186/s13068-020-01862-1.
- Kačar, D.; Cañedo, L. M.; Rodríguez, P.; González, E.G.; Galán, B.; Schleissner, C.; Leopold-Messer, S.; Piel, J.; Cuevas, C.; de la Calle, F.; García, J. L. Identification of trans-AT polyketide clusters in two marine bacteria reveals cryptic similarities between distinct symbiosis factors. *Environ Microbiol* 2021, 23, 2509-2521, doi:10.1111/1462-2920.15470.
- Felpeto-Santero, C.; Galán, B.; García, J. L. Production of 11 $\alpha$ -hydroxysteroids from sterols in a single fermentation step by *Mycolicibacterium smegmatis*. *Microb Biotechnol* 2021, 14, 2514-2524, doi:10.1111/1751-7915.13735.
- Ibero, J.; Galán, B.; García, J. L. Identification of the EdcR Estrogen-Dependent Repressor in *Caenibius tardaugens* NBRC 16725: Construction of a cellular estradiol biosensor. *Genes* 2021, 12, 1846, doi:10.3390/genes12121846.
- Kačar, D.; Schleissner, C.; Cañedo, L. M.; Rodríguez, P.; de la Calle, F.; Cuevas, C.; Galán, B.; García, J. L. *In vivo* production of pederin by labrenzin pathway expansion. *Metab Eng Commun* 2022, 14, e00198, doi:10.1016/j.mec.2022.e00198.
- García, J. L.; Galán, B. Integrating greenhouse gas capture and C1 biotechnology: a key challenge for circular economy. *Microb Biotechnol* 2022, 15, 228-239, doi:10.1111/1751-7915.13991.
- Hernández-Fernández, G.; Galán, B.; Carmona, M.; Castro, L.; García, J. L. Transcriptional response of the xerotolerant *Arthrobacter* sp. Helios strain to PEG-induced drought stress. *Front Microbiol* 2022, 13, 1009068, doi:10.3389/fmicb.2022.1009068.
- Hernández-Fernández, G.; Acedos, M. G.; García, J. L.; Galán, B. Identification of the aldolase responsible for the production of 22-hydroxy-23,24-bisnorchole-4-ene-3-one from natural sterols in *Mycolicibacterium smegmatis*. *Microb Biotechnol* 2023, doi:10.1111/1751-7915.14270.
- Kačar, D.; Cañedo, L. M.; Rodríguez, P.; Schleissner, C.; de la Calle, F.; García, J.L.; Galán, B. Tailoring modifications in labrenzin synthesis: a-la-carte production of pathway intermediates. *Microb Biotechnol* 2023, doi:10.1111/1751-7915.14355

**Patentes / Patents**

- Beatriz Galán, José Luis García y Juan Ibero. 20 Octubre 2021. "Biosensor de estrógenos". P202130984

**Financiación / Funding**

- ALGATEC. S2018/BBA-4532 (CAM)
- SETH. RTI2018-095584-B-C44 (AEI)
- FRONTTEST. PID2021-1253700B-I00 (AEI)
- THERMOBIOCHEM. TED2021-129747B-C22 (AEI)
- SynEco. TED2021-130689B-C3R (AEI)
- ApBIOcom. PDC2021-121381-I00 (AEI)
- IBISBA 1.0. H2020-EU.1.4.1.2. IN-FRAIA-02-2017 (H2020)
- PREP-IBISBA. H2020-INFRADEV-2019-2 (H2020)
- BIOSFERA. H2020-LC-SC3-2019-NZE-RES-CC (H2020)
- CO2SMOS. H2020-EU.3.2.4.2-2020 (H2020)
- FRONTSHIP. H2020-LC-GD-2020-3 (H2020)
- CAPTUS. HORIZON-CL5-2022-D3-02-05 (HE)
- FUELFHORIA. HORIZON-CL5-2022-D3-02-08 (HE)
- Mi-Hy. HORIZON-EIC-2022-PATHFINDER-CHALLENGES-01 (HE)
- Biomethane-2022 (Thenextpangea S.L.) (H2020)



# Environmental Biotechnology

*Our research is focused on the study of the genetic and biochemical characterization of metabolic pathways (enzymes, regulators) in different bacterial cells, developing recombinant organisms to degrade environmental pollutants or produce substances of industrial interest (pharmaceuticals, biofuels, biomaterials, enzymes, etc.) through fermentation or biotransformation processes from different waste and sustainable raw materials.*

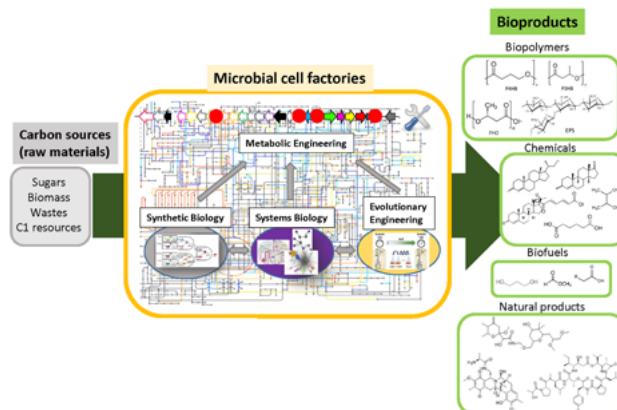
*Our research is focused on the study of the metabolic capabilities of bacteria to develop applications in the field of global health, addressing several challenges in the areas of bioremediation, sustainable biomanufacturing, bioenergy, and pharmacy.*

*For a long time, we have been studying the steroid degradation pathways in bacteria both to produce pharmaceutical synthones from phytosterols and to degrade endocrine disruptors. For these purposes, we use Mycolicobacterium smegmatis and Caenibius tardaugs (FRONTEST project).*

*In the pharmaceutical sector we are also developing systems biology and synthetic biology tools to facilitate the production of antitumor and antiviral polyketides by different marine bacteria.*

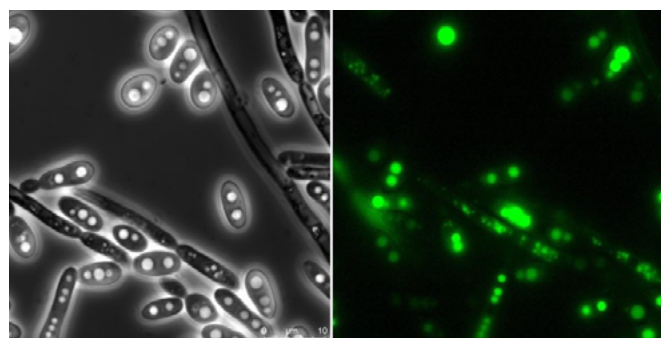
*We work on European and national projects to produce biofuels and different chemical products from syngas or CO<sub>2</sub>, using bacteria (Clostridium, Morella, Escherichia, Pseudomonas) and yeasts (Yarrowia). This work aims to produce lipids using oleaginous microorganisms and other compounds (monomers, bioplastics) using recombinant bacteria fed with the acetate obtained from anaerobic fermentations of CO<sub>2</sub> or syngas (BIOSFERA, CO2SMOS, FUELPHORIA, CAPTUS projects). In this field, we are also working on the production of lipids from agricultural waste by saccharification and fermentation using Rhodococcus and Yarrowia as cell factories (FRONTSHIP project) and on the production of biofuels through hydrothermal liquefaction (HTL) of plastic waste (THERMBIOCHEM project).*

*The group is also working with cyanobacteria to explore their use as new environmental solutions. We developed bacterial artificial consortia using a recombinant Synechococcus elongatus that secretes sucrose and bacteria that utilize sucrose to produce biodegradable biopolymers such as polyhydroxyalkanoates (PHA) and/or extracellular polysaccharides (EPS) (SYNECO project).*



**Figure 1**

**Obtaining bioproducts from different carbon sources by metabolically engineered microorganisms.** Systems metabolic engineering, which integrates tools and strategies of systems biology, synthetic biology, and evolutionary engineering with metabolic engineering, enables the successful development of efficient microbial cell factories. We are currently producing various types of bioproducts including polymers, chemicals, biofuels, and natural products for different applications using microbial cell factories developed by metabolic engineering.



**Figure 2**

**Microscopy images of Yarrowia lipolytica producing intracellular lipid droplets.** Left; observed by phase contrast microscopy, 100x. Right; observed by fluorescence microscopy after staining with BodipyTM. Intracellular lipid droplets can be observed in green.



**Eduardo Díaz Fernández**

Profesor de Investigación  
ediaz@cib.csic.es



PhD, 1991, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1992-1995, GBF-National Res. Center for Biotechnology, Braunschweig, Germany  
Científico Titular, 1999, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 2007, CIB, CSIC  
Jefe de Grupo, 2012, CIB, CSIC  
Profesor de Investigación, 2023, CIB, CSIC



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

**Manuel Carmona Pérez**

Científico Titular  
mcarmona@cib.csic.es



PhD, 1992, Universidad de Barcelona  
Postdoctoral, 1992-1996, MIT Biology Department  
Investigador Contratado, 1996-2000, CNB, CSIC  
Profesor Adjunto, 2000-2001, Universidad Europea de Madrid  
Ramón y Cajal, 2001-2008, CIB, CSIC  
Titulado Superior, 2008-2017, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2017, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Gonzalo Durante Rodríguez  
Carlos del Cerro Sánchez  
Helena Gómez Álvarez  
Ana Valencia Hernando  
Unai Fernández Arévalo

M<sup>a</sup> Elena Alonso Fernandes  
Sofía de Francisco de Polanco  
Cristina Serrano Pelejero  
Carla Sevilla Navarro  
Pablo Espada Núñez

## Microbiología Medioambiental

Nuestro trabajo se centra en la caracterización de las rutas metabólicas y los determinantes genéticos implicados en la detección, resistencia y/o degradación microbiana de compuestos aromáticos y metales/metaloideos, así como en nuevos mecanismos de energización y fijación de carbono en bacterias, a fin de desarrollar tecnologías sostenibles para la bioconversión de contaminantes y/o residuos biológicos en productos de interés industrial.

Nuestro grupo ha llevado a cabo la caracterización de nuevas rutas metabólicas y mecanismos de regulación implicados en la degradación aeróbica y anaeróbica de compuestos aromáticos, y en la detección/resistencia a metales/metaloideos en la bacteria anaerobia facultativa *Aromatoleum sp.* CIB. Todo ello ha permitido el diseño de nuevos biocatalizadores para la bioconversión de compuestos aromáticos y metales/metaloideos contaminantes (e.g., As, Te, Cd) en bioplásticos (polihidroxibutirato, PHB) o nanopartículas metálicas y puntos cuánticos, respectivamente. Los mecanismos de utilización de donadores de electrones inorgánicos (e.g., H<sub>2</sub>, arsenito, tiosulfato, nanopartículas metálicas) son también objeto de estudio para el desarrollo de nuevas estrategias de energización de biocatalizadores bacterianos.

También se utiliza la cepa modelo en biotecnología ambiental *Pseudomonas putida* KT2440 mediante enfoques de biología sintética y de sistemas para: (i) bioconversión de productos derivados de la lignina, uno de los principales excedentes agroindustriales, hacia la producción de compuestos de interés (e.g., ácidos piridín-dicarboxílicos) para la síntesis de plásticos bio-basados, (ii) detección y revalorización de plastificantes contaminantes (e.g., ésteres de ftalato), (iii) desarrollo de nuevas estrategias para la síntesis *de novo* de compuestos aromáticos de interés biotecnológico, (iv) desarrollo de estrategias pioneras en biominería y biodetección de tierras raras, y en bioproducción de nanopartículas de lantánidos.

Por otro lado, se están desarrollando mecanismos más eficientes de fijación de CO<sub>2</sub>, principal gas de efecto invernadero, optimizando mediante biología sintética su transporte y metabolismo en *Cupriavidus*

*necator* H16, una bacteria ampliamente utilizada para la producción sostenible de PHB. Finalmente, se ha iniciado una nueva línea que persigue el desarrollo de un proceso consolidado de despolimerización y revalorización de lignina con levaduras recombinantes.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Dorado-Morales, P.; Martínez, I.; Rivero-Buceta, V.; Díaz, E.; Bähre H.; Lasa, I.; Solano, C. Elevated c-di-GMP levels promote biofilm formation and biodesulfurization capacity of *Rhodococcus erythropolis*. *Microb Biotechnol* 2021, 14, 923-937, doi:10.1111/1751-7915.13689.
- Fernández-Llamas, H.; Díaz, E.; Carmona, M. Motility, adhesion and c-di-GMP influence the endophytic colonization of rice by *Azoarcus sp.* CIB. *Microorganisms* 2021, 9, 554, doi:10.3390/microorganisms9030554
- Rouches, E.; Gómez-Alvarez, H.; Majira, A.; Martín-Moldes, Z.; Nogales, J.; Díaz, E.; Bugg, T. D. H.; Baumberg, S. Assessment strategy for bacterial lignin depolymerization: Kraft lignin and synthetic lignin bioconversion with *Pseudomonas putida*. *Bioresour Technol Rep* 2021, 15, 100742, doi:10.1016/j.biteb.2021.100742
- Gómez-Álvarez, H.; Iturbe, P.; Rivero-Buceta, V.; Mines, P.; Bugg, T.D.H.; Nogales, J.; Díaz, E. Bioconversion of lignin-derived aromatics into the building block pyridine 2,4-dicarboxylic acid by engineering a synthetic dibenzothiophene mineralization pathway. *Bioresour Technol* 2022, 346, 126638, doi:10.1016/j.biortech.2021.126638.
- Martínez, I.; El-Said Mohamed, M.; García, J. L.; Díaz, E. Enhancing biodesulfurization by engineering a synthetic dibenzothiophene mineralization pathway. *Front Microbiol* 2022, 13, 987084, doi:10.3389/fmicb.2022.987084
- Sanz, D.; Díaz, E. Genetic characterization of the cyclohexane carboxylate degradation pathway in the denitrifying bacterium *Aromatoleum sp.* CIB. *Environ Microbiol* 2022, 24, 4987-5004, doi:10.1111/1462-2920.16093
- Alonso-Fernandes, E.; Fernández-Llamas, H.; Cano, I.; Serrano-Pelejero, C.; Castro, L.; Díaz, E.; Carmona, M. Enhancing tellurite and selenite bioconversions by overexpressing a methyltransferase from *Aromatoleum sp.* CIB. *Microb Biotechnol* 2023, 16, 915-930, doi:10.1111/1751-7915.14162.
- Durante-Rodríguez, G.; Carmona, M.; Díaz, E. Novel approaches to energize microbial biocatalysts. *Environ Microbiol* 2023, 25, 161-166, doi:10.1111/1462-2920.16254.
- Carmona, M.; Poblete-Castro, I.; Rai, M.; Turner, R. J. Opportunities and obstacles in microbial synthesis of metal nanoparticles. *Microb Biotechnol* 2023, 16, 871-876, doi:10.1111/1751-7915.14254.
- Castro, L.; Gómez-Álvarez, H.; Carmona, M.; González, F.; Muñoz, J. A. Influence of biosurfactants in the recovery of REE from monazite using *Burkholderia thailandensis*. *Hydrometallurgy* 2023, 222, 106178, doi:10.1016/j.hydromet.2023.106178.

**Financiación / Funding**

- PID2019-110612RB-I00 (MICINN)
- PCI2019-111833-2 (MICINN)
- TED2021-132135B-I00 (MICINN)
- PID2022-1425400B-I00 (MICINN)
- Engicoin Project. No. 760994 (H2020-NMBP-BIO-2017, EU)
- Promicon Project No. 101000733 (H2020-FNR-2020, EU)
- Relay Project. Grant ComFuturo Third Edition. (FGCSIC).
- LINCGLOBAL 2023. LINCG23007 (CSIC)
- Contract 20232942 (Aleen SL)

# Environmental Microbiology

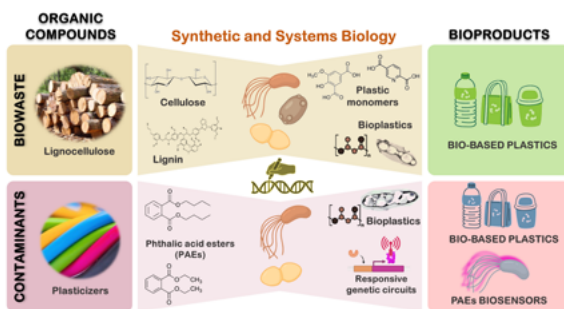
**Our research lines focus on the characterization of the metabolic pathways and the genetic determinants involved in microbial detection, resistance, and/or degradation of aromatic compounds and metals/metalloids, as well as in new mechanisms of energization and carbon fixation in bacteria, to develop sustainable technologies for the bioconversion of contaminants and/or biological waste into products of industrial interest.**

In our group, novel metabolic pathways and regulatory mechanisms involved in the aerobic and anaerobic degradation of aromatic compounds, as well as in the detection/resistance to metals/metalloids in the facultative anaerobic bacterium *Aromatoleum* sp. CIB, have been characterized. These studies paved the way for the design of novel biocatalysts for the bioconversion of aromatic compounds and toxic metals/metalloids (e.g., As, Te, Cd) into bioplastics (polyhydroxybutyrate, PHB) or metallic nanoparticles and quantum dots, respectively. The molecular mechanisms involved in the utilization of inorganic electron donors (e.g.,  $H_2$ , arsenite, thiosulfate, metal nano-

particles) are also the subject of research to develop new strategies for bacterial catalyst energization.

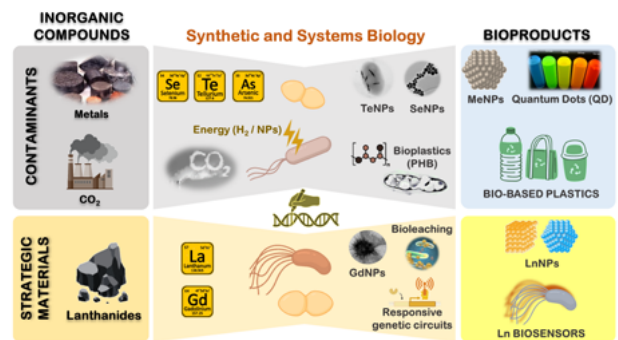
The environmental biotechnology model strain, *Pseudomonas putida* KT2440, is being used through systems and synthetic biology approaches for (i) bioconversion of products derived from lignin, a main agro-industrial waste, towards the production of compounds of interest (e.g., pyridine-dicarboxylic acids) for the synthesis of bio-based plastics, (ii) detection and bioconversion of contaminant plasticizers (e.g., phthalate esters), (iii) development of new-to-nature pathways for the de novo biosynthesis of aromatic compounds of biotechnological interest, (iv) development of pioneering strategies for biomining and biosensing of rare earths, and for bioproduction of lanthanide nanoparticles.

More efficient mechanisms for fixing  $CO_2$ , the main greenhouse gas, are also being developed, optimizing its transport and metabolism through synthetic biology in *Cupriavidus necator* H16, a bacterium widely used for the sustainable production of PHB. Finally, a recent line of research is devoted to the development of a consolidated process for lignin depolymerization and valorization by using recombinant yeasts.



**Figure 1**

Bioconversion processes of organic biowaste/contaminants in different bioproducts through synthetic and systems biology approaches in model microorganisms.



**Figure 2**

Bioconversion processes of inorganic contaminants/strategic materials in different bioproducts through synthetic and systems biology approaches in model bacteria. Abbreviations: NPs, nanoparticles; MeNPs, metallic nanoparticles; PHB, polyhydroxybutyrate.



**M<sup>a</sup> Jesús Martínez Hernández**

Profesora de Investigación  
mjmartinez@cib.csic.es



PhD, 1980, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1980-1986, Instituto Jaime Ferrán de Microbiología, CSIC  
Científico Titular, 1986, CIB, CSIC  
Investigador Científico, 2002, CIB, CSIC  
Jefe de grupo, 2006, CIB, CSIC  
Profesora Honorífica, 2014-2022, Universidad Complutense de Madrid  
Profesora de Investigación, 2018, CIB, CSIC

**Alicia Prieto Orzanco**

Científico Titular  
aliprieto@cib.csic.es



PhD, 1992, Universidad Complutense de Madrid  
Científico Titular, 2006, CIB, CSIC  
Jefe de grupo, 2023, CIB, CSIC  
Profesora Honorífica, 2023, Universidad Complutense de Madrid

**Jorge Barriuso Maicas**

Investigador Distinguido  
jbarriuso@cib.csic.es



PhD, 2006, Universidad San Pablo CEU  
Postdoctoral, 2007-2008, University of Calgary, Canada; 2009-2011, CNB, CSIC; 2012-2017, CIB, CSIC  
Junior PI, 2017-2021, CIB, CSIC  
Investigador Distinguido, 2021-2023, CIB, CSIC  
Jefe de grupo, 2023, CIB, CSIC  
Científico Titular, 2024 (aprobado en Noviembre 2023)

**Otros miembros / Other members**

Laura Isabel de Eugenio Martínez  
Felipe de Salas de la Cuadra  
Juan Antonio Méndez Lítez  
Ignacio Baquedano Mozos  
David Sanz Mata  
Isabel de la Torre Pascual  
Lara Bejarano Muñoz  
Ana Pozo Rodríguez  
Carlos Murguiondo Delgado

Diego Crespo Roche  
Alejandro García Miró  
Francisco Javier Molpeceres García  
Javier Guerrero Flores  
Irene Cano Sánchez  
Pablo González Navarro  
Valentina Acosta Barredos  
Jihen Benali



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

## Sistemas Microbianos e Ingeniería de Proteínas

**Nuestro objetivo es desarrollar bioprocesos sostenibles basados en el aprovechamiento de materias primas secundarias, p. ej., residuos agroindustriales y plásticos. Utilizamos microorganismos y sus enzimas, así como consorcios microbianos, para el aprovechamiento y reutilización de esos residuos, contribuyendo a un desarrollo sostenible, de acuerdo con los conceptos de biorrefinería y de economía circular.**

La experiencia del grupo en el descubrimiento, expresión heteróloga, y caracterización de hidrolasas fúngicas (celulasas, hemicelulasas y lipasas) ha permitido mejorar sus propiedades catalíticas, mediante ingeniería de proteínas, y aplicarlas como biocatalizadores de diferentes procesos biotecnológicos. Por otra parte, para realizar biotransformaciones complejas, se estudian diferentes consorcios microbianos (hongos y bacterias), para seleccionar los más adecuados, en función de su arsenal enzimático y metabólico, para degradar sustratos complejos y producir compuestos de valor añadido en bioprocesos consolidados. Todos estos estudios son cruciales para encontrar soluciones biotecnológicas a algunos de los grandes desafíos sociales a los que nos enfrentamos.

Nuestras aplicaciones más relevantes están relacionadas con la valorización de residuos (lignocelulosa, CO<sub>2</sub>, plásticos convencionales), para la producción de: (i) biocombustibles de segunda generación, (ii) compuestos de valor añadido en alimentación, como oligosacáridos prebióticos, derivados bioactivos de lípidos o azúcares, aromas y saborizantes, y (iii) bioplásticos (PLA, PHAs) a partir de fuentes renovables.

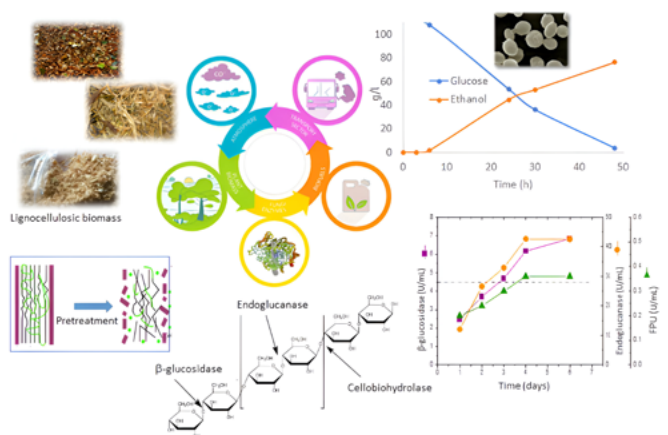
El grupo participa en dos Plataformas Temáticas Interdisciplinares del CSIC: (i) "Plásticos Sostenibles para una Economía Circular" (SusPlast), en la que estamos desarrollando distintos proyectos nacionales e internacionales y contratos con empresas, y (ii) "Transición energética"

(TransEner), en la que estamos construyendo una planta piloto para producir etanol de segunda generación a partir de residuos lignocelulósicos.

También participamos en IBISBA, una infraestructura europea con una red de laboratorios, para el desarrollo de la Biología Sintética y la Biotecnología Blanca en bioprocesos industriales.

**Financiación / Funding**

- CAPTUS, UE HORIZON-CL5-2022-D3-02-05 (EU, 2023-2027)
- FUELPHORIA, UE HORIZON-CL5-2022-D3-02-08 (EU, 2023-2027)
- MI-HY, UE HORIZON-EIC-2022-PATHFINDERCHALLENGES-01 101114746 (EU, 2023-2027)
- TED2021-130096B-I00 (MICINN, 2023-2024)
- VISCOFAN, Contrato I+D con empresa (VISCOFAN S.A., 2023-2024)
- LIA 5. H2V2105003 (Fondos estructurales EU, 2021-2025)
- CO2SMOS, H2020 101000790 (EU, 2021-2025)
- MICODE, PID2020-114210RB-I00 (MICINN, 2020-2024)
- RETO-PROSOST-2-CM, P2018/EMT4459, 2019-2022 (CM 2020-2023)
- IBISBA 1.0, H2020-INFRAIA-730976, 2017-22 (EU, 2020-2023)
- JGI Project CSP504782 (EEUU, 2019-2024)
- GLYSUS, RTI2018-093683-B-I00 (MICINN, 2019-2021)



**Figure 1**

*Lignocellulose biorefinery: transformation of lignocellulose in biofuels and other added-value products by fungal enzymes*

## Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Méndez-Líter, J. A.; de Eugenio, L. I.; Nieto-Domínguez, M.; Prieto, A.; Martínez, M. J. Hemicellulases from *Penicillium* and *Talaromyces* for lignocellulosic biomass valorization: A Review. *Biores Technol* 2021, 324, 124623, doi:10.1016/j.biortech.2020.124623.
- Murguiondo, C.; Mestre, A.; Méndez-Líter, J. A.; Nieto-Domínguez, M.; de Eugenio, L. I.; Molina-Gutiérrez, M.; Martínez, M. J.; Prieto, A. Enzymatic glycosylation of bioactive acceptors catalyzed by an immobilized fungal  $\beta$ -xylosidase and its multi-glycoligase variant. *Inter J Biol Macromol* 2021, 167, 245–254, doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.11.069.
- Rodríguez-Salarich, J.; García, M.; Prieto, A.; Martínez, M. J.; Barriuso, J. Versatile Lipases from the *Candida rugosa*-like Family: A mechanistic insight using computational approaches. *J Chem Inform Model* 2021, 12, 40–47, doi:10.1021/acs.jcim.0c01151
- Ruiz, A.; Herráez, M.; Costa-Gutiérrez, S. B.; Molina-Henares, M. A.; Martínez, M. J.; Espinosa-Urgel, M.; Barriuso, J. The Architecture of a Mixed Fungal-Bacterial Biofilm Is Modulated by quorum-sensing signals. *Environ Microbiol* 2021, 23, 2433–2447, doi:10.1111/1462-2920.15444.
- Méndez-Líter, J.; Pozo-Rodríguez, A.; Madruga, E.; Santana, G. Glycosylation of epigallocatechin gallate by engineered glycoside hydrolases from *Talaromyces amestolkiae*: Potential antiproliferative and neuroprotective effect of these molecules. *Antioxidants* 2022, 11, 1325, doi:10.3390/antiox11071325.
- Pozo-Rodríguez, A.; Méndez-Líter, J. A.; de Eugenio, L. I.; Nieto-Domínguez, M.; Calviño, E.; Cañada, F. J.; González Santana, A.; Díez, J.; Asensio, J. L.; Barriuso, J.; Prieto, A.; Martínez, M. J. A fungal versatile GH10 endoxylanase and its glycosynthase variant: Synthesis of xylooligosaccharides and glycosides of bioactive phenolic compounds. *Inter J Mol Sci* 2022, 23, 1383, doi:10.3390/ijms23031383.

## Microbial Systems and Protein Engineering

Our objective is to help the development of environmentally friendly bioprocesses based on the use of secondary raw materials, e.g., agro-industrial wastes and plastics. We use microorganisms and their enzymes, as well as microbial consortia, for the valorization of the above-mentioned residues, contributing to a sustainable development, according to the concepts of biorefinery and circular economy.

The group's expertise in discovering, characterizing, and expressing fungal hydrolases (including cellulases, hemicellulases, and lipases) has facilitated the enhancement of their catalytic properties through protein engineering. These improved biocatalysts have been applied in various biotechnological processes. On the other hand, we are also exploring the potential of microbial consortia (fungi and bacteria) to carry out complex biotransformations. The most suitable microorganisms are selected based on their enzymatic and metabolic arsenal, seeking the ideal conditions to establish stable consortia capable of degrading complex substrates and producing value-added compounds in consolidated bioprocess. These studies are essential to develop biotechnological solutions concerning some of the most important social challenges.

- Pozo-Rodríguez, A.; Méndez-Líter, J. A.; García-Villalba, R.; Beltrán, D.; Calviño, E.; Santana, A. G.; de Eugenio, L. I.; Cañada, F. J.; Prieto, A.; Barriuso, J.; Tomás-Barberán, F. A.; Martínez, M. J. Synthesis and characterization of a novel resveratrol xylobioside obtained using a mutagenic variant of a GH10 endoxylanase. *Antioxidants* 2022, 12, 85, doi:10.3390/antiox12010085.
- de Eugenio, L. I.; Murguiondo, C.; Galea-Outon, S.; Prieto, A.; Barriuso, J. Fungal-Lactobacteria consortia and enzymatic catalysis for polylactic acid production. *J. Fungi* 2023, 9, 342, doi:10.3390/jof9030342.
- Méndez-Líter, J. A.; De Eugenio, L. I.; Nieto-Domínguez, M.; Prieto, A.; Martínez, M. J. Expression and characterization of two  $\alpha$ -L-arabinofuranosidases from *Talaromyces amestolkiae*: Role of these enzymes in biomass valorization. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 11997, doi:10.3390/ijms241511997
- Santos-Pascual, R.; Campoy, I.; Sanz Mata, D.; Martínez, M. J.; Prieto, A.; Barriuso, J. Deciphering the molecular components of the quorum sensing system in the fungus *Ophiostoma Piceae*. *Microbiol Spectr* 2023, e0029023, doi:10.1128/spectrum.00290-23.

Some relevant applications addressed so far are related to the valorization of industrial wastes (lignocellulose, CO<sub>2</sub> or conventional plastics) for the production of: (i) second generation biofuels, (ii) other value-added products, such as prebiotic oligosaccharides, bioactive derivatives of lipids or sugars, aromas, and flavorings, and (iii) bioplastics (PLA, PHAs) from renewable sources.

The group participates in two interdisciplinary thematic platforms from CSIC: i) "Sustainable Plastics for a Circular Economy" (SusPlast), in which we are developing different national and international projects and contracts with companies, and (ii) "Energy transition" (TransEner), in which we are building a pilot plant to produce second generation ethanol from lignocellulosic wastes.

In addition, we participate in IBISBA, a European infrastructure with a network of laboratories, for the development of synthetic biology and white biotechnology in industrial bioprocesses.

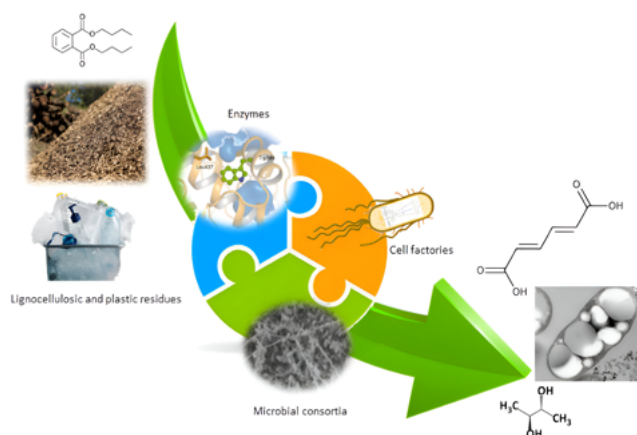


Figure 2

Plastic and lignocellulosic wastes conversion into bioplastics and their precursors, by using biocatalysts (enzymes, cell factories, or microbial consortia)



**Paloma López García**

Investigadora Científica  
plg@cib.csic.es



PhD, 1978, Universidad Complutense Madrid  
Postdoctoral, 1978-1979, Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Science, Varsovia, Poland  
Fullbright fellow, 1981; Research associated, 1983, Brookhaven National Laboratory, Upton, USA  
Científica Titular, 1985, CIB, CSIC  
Jefa de Grupo, 1987, CIB, CSIC  
Investigadora Científica, 1992, CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/molecular-biology-gram-positive-bacteria>

**Gloria del Solar Dongil**

Investigadora Científica  
gelsolar@cib.csic.es



PhD, 1991, Universidad Complutense de Madrid  
Científica Titular, 2002, CIB, CSIC  
Jefa de Grupo, 2003, CIB, CSIC  
Investigadora Científica, 2009, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Francisca Álvarez Juárez  
Lucía Martín Loarte  
Paula Chacón Guisado  
Iñaki Díez Ozaeta  
Ahmed Zeid  
Malek Lahmar

Angela Scauro  
Baraa Gharbi  
Annel Hernández Alcántara  
M<sup>a</sup> Luz Mohedano Bonillo  
José Ángel Ruiz-Masó

# Biología Molecular de Bacterias Gram-positivas

El grupo estudia diversos aspectos de la biología de bacterias lácticas (BAL) beneficiosas para la salud, como la replicación de sus plásmidos (con aplicación en la trazabilidad celular y el estudio de la regulación de la expresión génica), la síntesis y funcionalidad de ciertos metabolitos, así como su empleo en la elaboración de alimentos funcionales biofortificados en vitaminas y conteniendo dextrano con capacidad prebiótica e inmunomoduladora

El grupo ha trabajado en: (1) **La replicación de plásmidos promiscuos de la familia Rep<sub>2</sub>, usados como vectores en BAL.** Mediante análisis bioquímicos y cristalográficos se mostró cómo la proteína RepB reconoce el origen de replicación plasmídico y cómo RepB podría interaccionar con los diferentes elementos del origen para iniciar la replicación del DNA (Figura 1). El análisis del efecto de la acidez sobre la actividad de RepB demostró que la capacidad de replicación de estos plásmidos se mantiene hasta un pH de 5,0, lo que explica su éxito adaptativo en BAL. (2) **La caracterización del "riboswitch" (RS) del operón *rib* (biosíntesis de riboflavina).** Se seleccionaron mutantes espontáneos sobreproductores de riboflavina a partir de BAL, mediante tratamiento con roseoflavina, y se identificaron sus mutaciones, que afectan, en su mayoría, al aptámero del RS. Se evaluaron los niveles de expresión de los operones *rib* y se clonaron RSs wt y mutantes de diferentes BAL en un "promoter-probe" vector. Se mutagenizaron diversas regiones, tanto del aptámero como del dominio de expresión de los RSs. El análisis de la actividad reguladora de los distintos RSs permitió diferenciar entre mutantes constitutivos y sensibles al efector (FMN), así como corroborar el papel de diferentes elementos identificados en ambos dominios. (3) **La caracterización de la funcionalidad de homopolisacáridos de BAL.** Se mostró el efecto antiinflamatorio del O-2-sustituido (1-3)-β-D-glucano *in vitro*, en líneas celulares de macrófagos humanos, y *ex vivo*, en modelo de enfermedad de Crohn. Se realizaron estudios genómicos, proteómicos, metabólicos e *in silico* para analizar la regulación de la biosíntesis de dextrano y su impacto en los metabolismos de azúcares (Figura 2). (4) **La elaboración de panes funcionales con BAL productoras de dextrano y sobreproductoras de riboflavina.** Se elaboraron panes experimentales con harinas con y sin gluten fermentadas con las BAL y se demostró la síntesis *in situ* de los dos prebióticos

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Diez-Ozaeta, I.; Martín Loarte, L.; Mohedano, M. L.; Tamame, M.; Ruiz-Masó, J. A.; del Solar, G.; Dueñas, M. T.; López, P. A methodology for the selection and characterization of riboflavin-overproducing *Weissella cibaria* strains after treatment with roseoflavin. *Front Microbiol* 2023, 14, 1154130. doi:10.3389/fmicb.2023.1154130.
- Machón, C.; Ruiz-Masó, J. A.; Amodio, J.; Boer, D. R.; Bordanaba-Ruiseco, L.; Bury, K.; Konieczny, I.; del Solar, G.; Coll, M. Structures of pMV158 replication initiator RepB with and without DNA reveal a flexible dual-function protein. *Nucleic Acids Research* 2023, 51, 1458-1472. doi:10.1093/nar/gkac1271.
- Besrouer-Aouam, N.; de los Rios, V.; Hernández-Alcántara, A. M.; Mohedano, M. L.; Najjari, A.; López, P.; Ouzari, H. I. Proteomic and *in silico* analyses of dextran synthesis influence on *Leuconostoc lactis* AV1n adaptation to temperature change. *Front Microbiol* 2023, 13, 1077375. doi:10.3389/fmicb.2022.1077375.
- Hernández-Alcántara, A. M.; Chiva, R.; Mohedano, M. L.; Russo, P.; Ruiz-Masó, J. A.; del Solar, G.; Spano, G.; Tamame, M.; López, P. *Weissella cibaria* riboflavin-overproducing and dextran-producing strains useful for the development of functional bread. *Front Nutr* 2022, 9, 978831. doi:10.3389/fnut.2022.978831.
- Notararigo, S.; Varela, E.; Ota, A.; Antolín, M.; Guarner, F.; López, P. Anti-inflammatory effect of an O-2-substituted (1-3)-β-D-glucan produced by *Pediococcus parvulus* 2.6 in a Caco-2 PMA-THP-1 co-culture model. *Int J Mol Sci* 2022, 23, 1527. doi:10.3390/ijms23031527.
- Ripa, I.; Ruiz-Masó, J. A.; De Simone, N.; Russo, P.; Spano, G.; del Solar, G. A single change in the aptamer of the *Lactiplantibacillus plantarum* *rib* operon riboswitch severely impairs its regulatory activity and leads to a vitamin B2-overproducing phenotype. *Microbial Biotech* 2022, 15, 1253-1269. doi:10.1111/1751-7915.13919.
- Russo, P.; De Simone, N.; Capozzi, V.; Mohedano, M. L.; Ruiz-Masó, J. A.; del Solar, G.; López, P.; Spano, G. Selection of Riboflavin overproducing strains of lactic acid bacteria and riboflavin direct quantification by fluorescence. *Meth Mol Biol* 2021, 2280, 3-14. doi:10.1007/978-1-0716-1286-6\_1.
- Valdelvira, R.; Bordanaba-Ruiseco, L.; Martín-Huestamendía, C.; Ruiz-Masó, J. A.; del Solar, G. Acidic pH decreases the endonuclease activity of initiator RepB and increases the stability of the Covalent RepB-DNA intermediate while has only a limited effect on the replication of plasmid pMV158 in *Lactococcus lactis*. *Front Mol Biosci* 2021, 8, 634461. doi:10.3389/fmolb.2021.634461.
- Notararigo, S.; Varela, E.; Ota, A.; Cristobo, I.; Antolín, M.; Guarner, F.; Prieto, A.; López, P. Evaluation of an O-2-substituted (1-3)-β-D-glucan, produced by *Pediococcus parvulus* 2.6, in *ex vivo* models of Crohn's disease. *Front Microbiol* 2021, 12, 621280.
- Besrouer-Aouam, N.; Fhoula, I.; Hernández-Alcántara, A. M.; Mohedano, M. L.; Najjari, A.; Prieto, A.; Ruas-Madiedo, P.; López, P.; Ouzari H. I. The role of dextran production in the metabolic context of *Leuconostoc* and *Weissella* Tunisian strains. *Carbohydr Polym* 2021, 253, 117254. doi:10.1016/j.carbpol.2020.117254

**Financiación / Funding**

- RTI2018-097114-B-I00 (MICIU, 2019-2022)
- COOPA20488 (CSIC, 2022-2023)
- 2022AEP028 (CSIC, 2023)
- PDC2022-133562-I00 (MCIN/AEI /10.13039/501100011033 y Unión Europea)
- NextGenerationEU/PRTR, 2022-2024)
- CPP2021-008595 (MCIN/AEI /10.13039/501100011033 y Unión Europea)
- NextGenerationEU/PRTR, 2022-2025)
- COOPA22036 (CSIC, 2023-2024)

# Molecular Biology of Gram-positive Bacteria

The group studies various aspects of the biology of lactic acid bacteria (LAB) beneficial to health, such as the replication of their plasmids (with applications in cell tracking and the study of gene expression regulation), the synthesis and functionality of some metabolites, as well as their use in the production of functional foods biofortified with vitamins and containing dextrans with prebiotic and immunomodulatory capacity

The group has worked on: (1) **Replication of promiscuous plasmids of the Rep<sub>2</sub> family used as vectors in BAL.** Biochemical and crystallographic analyses have shown how the RepB protein recognizes the plasmid replication origin and how RepB can interact with the different elements of the origin to initiate DNA replication (Figure 1). Analysis of the effect of acidity on RepB activity showed that the replication capacity of these plasmids is maintained up to pH 5.0, which explains their adaptive success in BAL. (2) **Characterization of the riboswitch (RS) of the rib operon (riboflavin biosynthesis).** Spontaneous riboflavin-overproducing mutants from BAL were selected by treatment with roseoflavin and their mutations, mostly affecting the RS aptamer, were identified. The expression levels of the rib operons were evaluated, and wt and mutant RSs from different BAL were cloned into a promoter-probe vector. Different regions of both the aptamer and the expression domain of the RSs were mutagenized. The analysis of the regulatory activity of the different RSs allowed us to differentiate between constitutive and effector (FMN)-sensitive mutants, as well as to confirm the role of different elements identified in both domains. (3) **Characterization of the functionality of LAB homopolysaccharides.** The anti-inflammatory effect of O-2-substituted (1-3)- $\beta$ -D-glucan was demonstrated in vitro, in human macrophage cell lines, and ex vivo, in a model of Crohn's disease. Genomic, proteomic, metabolic, and in silico studies were performed to analyze the regulation of dextran biosynthesis and its impact on sugar metabolism (Figure 2). (4) **Production of functional breads with LAB that produce dextran and overproduce riboflavin.** Experimental breads were prepared with gluten-containing and gluten-free flours fermented with LAB and the in situ synthesis of the two prebiotics was demonstrated

Figure 2

Predicted LAB pathways for sugar transport and catabolism with concomitant dextran production. Predicted metabolic situation when maximum dextran production was detected in *Leuconostoc lactis* (A) and *Weissella confusa* (B). Only some pertinent transport systems, reactions, and enzymes involved in the pathways, as well as some of their encoding genes, are shown. The dotted lines indicate that several steps are involved in the synthesis of the compound shown.

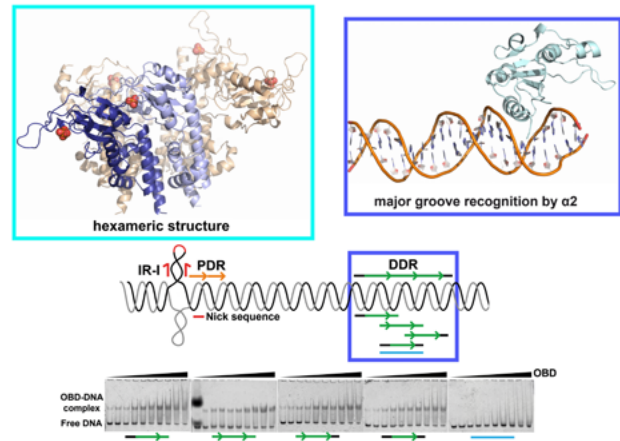
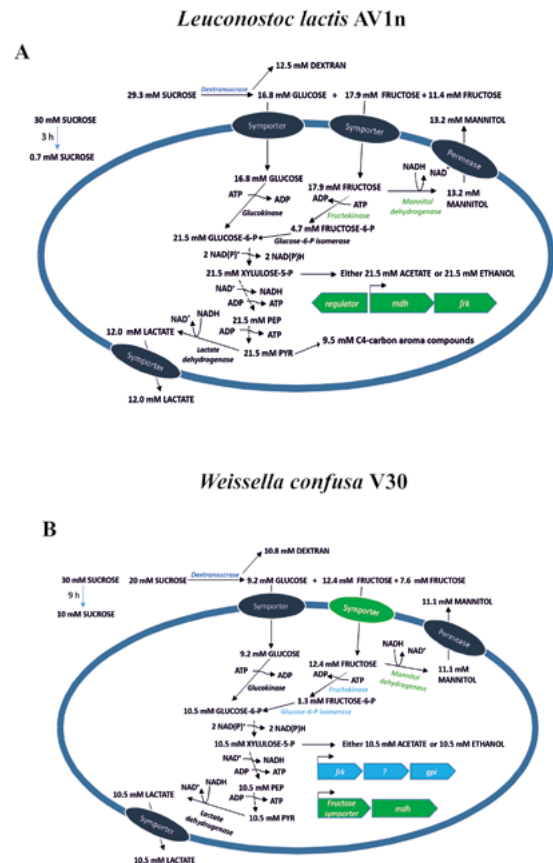


Figure 1

The hexameric structure of the plasmid initiator RepB6 (Rep<sub>2</sub> family) shows great flexibility between its origin binding (OBD) and oligomerization (OD) domains. We have biochemically characterized the binding of the OBD to the distal direct repeat (DDR) sequence (locus bind) and shown how the OBD interacts with the DDR through its  $\alpha 2$  helix. [Adapted from Machón et al. *Nucleic Acids Res.* 2023, created under Creative Commons CC BY License].



**Tomás Canto**

Científico Titular

tomas.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

**Otros miembros / Other members**

Hao Sun  
 Francisco Javier del Toro Serna  
 Francisco Hernández-Wallias  
 Raúl Herranz Barranco

**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



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/molecular-plantvirusvector-interactions>

## Interacciones moleculares planta/virus/vector

Las enfermedades virales en cultivos 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 en la relación de la planta con su medio ambiente posibilita 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 HCPro 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 subliminales 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 *in vivo* e *in vitro*, transformación genética de plantas, y genética reversa basadas en el silenciamiento génico inducido por virus.

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Necira, K.; Makki, M.; Sanz-García, E.; Canto, T.; Djilani-Khouadja, F.; Tenllado, F. Topical Application of Escherichia coli-Encapsulated dsRNA Induces Resistance in Nicotiana benthamiana to Potato Viruses and Involves RDR6 and Combined Activities of DCL2 and DCL4. *Plants* **2021**, *10*, 644, doi:10.3390/plants10040644.
- Makki, M.; del Toro, F. J.; Necira, K.; Tenllado, F.; Djilani-Khouadja, F.; Canto, T. Differences in Virulence among PVY Isolates of Different Geographical Origins When Infecting an Experimental Host under Two Growing Environments Are Not Determined by HCPro. *Plants* **2021**, *10*, 1086, doi:10.3390/plants10061086.
- Niño, A.; del Toro, F.; Tenllado, F.; Canto, T.; Franco-Lara, L. Molecular insights on potato yellow vein crinivirus infections in the highlands of Colombia. *J General Virol* **2021**, *102*, 001604, doi:10.1099/jgv.0.001604.
- Hou, W.; Singh, R. P.; Martins, V.; Tenllado, F.; Franklin, G.; Pires Dias, A. C. Transcriptional responses of *Hypericum perforatum* cells to *Agrobacterium tumefaciens* and differential gene expression in dark glands. *Functional Plant Biology* **2021**, *48*, 936-947, doi:10.1071/FP20292.
- Del Toro F.; Sun, H.; Robinson, C.; Jiménez, A.; Coviellas, E.; Higuera, T.; Aguilar, E.; Tenllado, F.; Canto, T. In planta vs viral expression of HCPro affects its binding of non-plant 21-22 nt small RNAs, but not its preference for 5'-terminal adenines, or its effects on small RNA methylation. *New Phytologist* **2022**, *233*, 2266-2281, doi:10.1111/nph.17935.
- Moreno, M.; Ojeda, B.; Hernández-Wallias, F. J.; Sanz-García, E.; Canto, T.; Tenllado, F. Water deficit improves reproductive fitness in *Nicotiana benthamiana* plants infected by Cucumber mosaic virus. *Plants* **2022**, *11*, 1240, doi:10.3390/plants11091240.
- Hernández-Wallias, F. J.; García, M.; Moreno, M.; Giannoukos, I.; González, N.; Sanz-García, E.; Necira, K.; Canto, T.; Tenllado, F. Transgenerational Tolerance to Salt and Osmotic Stresses Induced by Plant Virus Infection. *Int J Mol Sci* **2022**, *23*, 12497, doi:10.3390/ijms232012497.
- Sun, H.; del Toro, F.; Makki, M.; Tenllado, F.; Canto, T. Adaptation of a potyvirus chimera increases its virulence in a compatible host through changes in HCPro. *Plants* **2022**, *11*, 2262, doi:10.3390/plants11172262

### Financiación / Funding

- PID2022-1376910B-I00 (MICIN, 2023-2026)
- COOPA20465 (CSIC, 2020-2021)
- PID2019-109304RB-I00 (MICIN) 2020-2023



## Molecular plant/virus/vector interactions

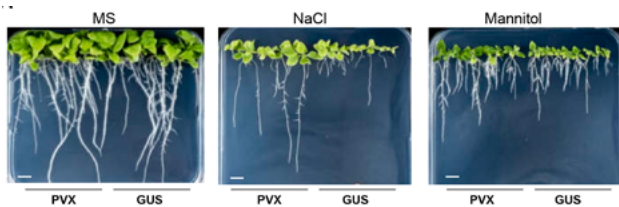
**Virus diseases in crops seriously affect the yield and the quality of food production. Research on interactions between plant factors, virus and the transmission vector, as well as on effects of viral infections on the interactions of plants with their surrounding environment is crucial to the design 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

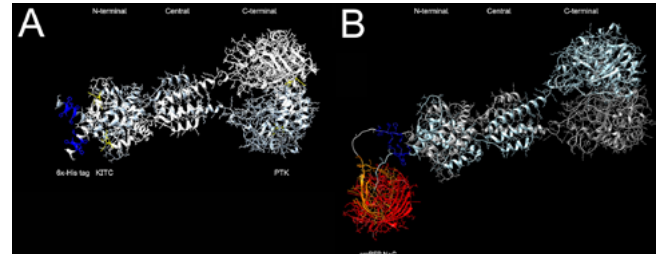
findings suggest a probable connection between responses of plants to viral infections and their enhanced tolerances to other biotic or abiotic stresses. The causes may relate to the fact that plants use networks of interconnected signaling pathways to respond to various ambient stresses, including viruses, 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.



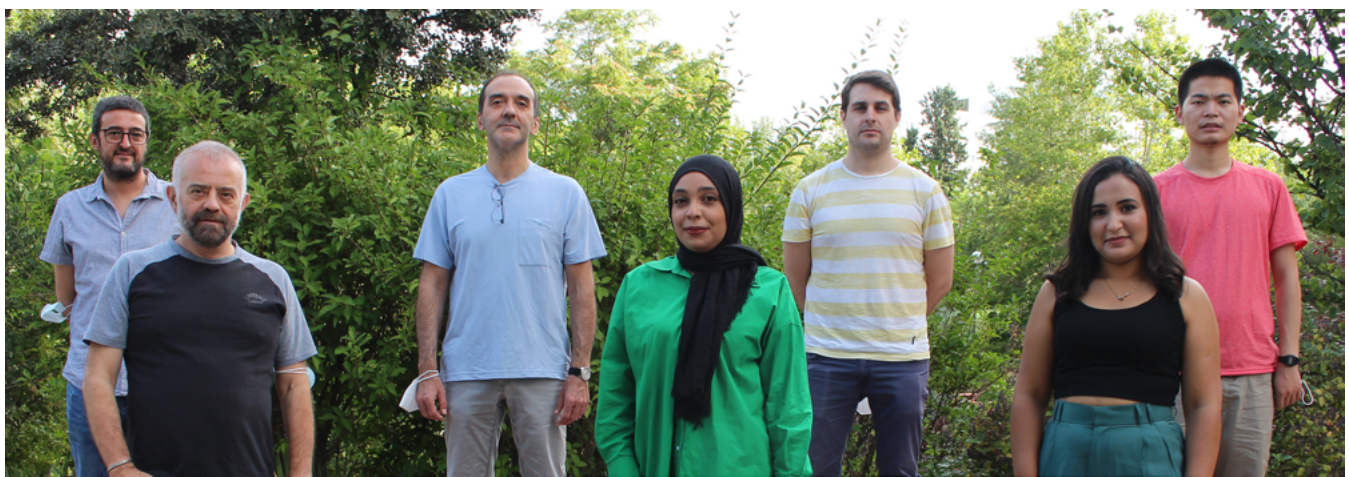
**Figure 1**

Tolerance to abiotic stress on the growth of progeny seedlings derived from Potato virus X (PVX)-infected *Nicotiana benthamiana* plants. Phenotype of seedlings derived from mock-inoculated plants (Gus) and plants infected with PVX germinated on MS medium for 7 days, and then transferred to MS medium alone (left) or supplemented with either 150 mM NaCl (middle) or 200 mM mannitol (right)



**Figure 2**

A structural prediction of the dimers of the potato virus Y non-structural protein HCPro: A, tagged with six histidines (6x-His), and B, with split monomeric red fluorescent protein (mRFP) and 6x-His. The N- Central- and C-terminal domains of HCPro are indicated. The reconstituted mRFP appears in orange, and the 6x-His tag in blue



**Francisco Javier Medina Díaz**Investigador Científico  
fjmedina@cib.csic.es

PhD, 1979, Universidad Complutense de Madrid  
 Profesor Ayudante, 1974-1976, Universidad Complutense de Madrid  
 Postdoctoral, 1979-1980, IBC, CSIC  
 Colaborador Científico/Científico Titular, 1981, CIB, CSIC  
 Jefe de grupo, 1997, CIB, CSIC  
 Investigador Científico, 2003, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Raúl Herranz Barranco  
 Malgorzata Ciska  
 Aránzazu Manzano Pérez  
 Alicia Villacampa Calvo



<http://cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/plant-cell-nucleolus-proliferation-microgravity>

# Nucleolo, Proliferación Celular y Microgravedad en Plantas

El cultivo de plantas fuera de la Tierra es esencial para el soporte vital humano en la exploración espacial, la cual genera evidentes expectativas sociales. Para ello necesitamos comprender cómo las plantas responden y se adaptan a las condiciones extraterrestres, como la gravedad alterada y la radiación. Investigamos los mecanismos biológicos de respuesta a estrés, de supervivencia y de adaptación de las plantas a estas condiciones ambientales.

Un desafío clave en la investigación sobre el cultivo de plantas en medio extraterrestre es identificar señales ambientales que compensen los efectos adversos de la microgravedad. La interacción entre las respuestas a la luz y a la gravedad fue estudiada en la Estación Espacial Internacional en el proyecto NASA-ESA "Seedling Growth" (2013-2018) cuyo análisis de resultados se ha completado en este período. Se germinaron semillas que crecieron iluminadas durante 4 días con luz blanca y luego con luz roja durante 2 días, en microgravedad, gravedad de Marte y gravedad terrestre. Las plántulas mostraron que la luz roja revirtió la reprogramación de genes y los efectos celulares adversos inducidos por la microgravedad. Dos líneas mutantes de una proteína nucleolar exhibieron respuestas diferenciales, lo cual estimula las estrategias de mutagénesis dirigida en el diseño de cultivos espaciales. En particular, se observó en microgravedad la expresión elevada del genoma de plastidios y mitocondrias asociada con una comunicación perturbada núcleo-orgánulos y la regulación positiva de las vías hormonales de auxina y citoquinina. Bajo la gravedad de Marte se activaron genes de vías hormonales de estrés y factores de transcripción asociados a aclimatación. En nuevos experimentos en simulación de gravedad alterada se ha investigado la relación entre microgravedad y radiación y el uso de especies de interés agrícola en estos estudios.

El Dr. Herranz ha liderado la participación europea en el proyecto GeneLab de la NASA, y en el consorcio internacional ISSOP para el intercambio y armonización de datos ómicos de experimentos espaciales, en cuyo marco ha co-editado la colección "Space Omics in Europe", formada por 13 publicaciones del grupo "Cell Press".

Por jubilación del Dr. Medina en julio de 2022, el Dr. Herranz pasó al grupo "Interacciones Moleculares Planta/Virus/Vector" con la línea Space Omics y Microgravedad Simulada, donde trabaja con ingenieros españoles en nuevos simuladores 3D y con colegas europeos en proyectos de simulación de la gravedad y radiación de Marte.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Manzano, A.; Pereda-Loth, V.; de Bures, A.; Sáez-Vásquez, J.; Herranz, R.; Medina, F. J. Light signals counteract alterations caused by simulated microgravity in proliferating plant cells. *Am J Bot* 2021, 108, 1775-1792, doi:10.1002/ajb2.1728.
- Medina, F. J.; Manzano, A.; Kamal, K. Y.; Ciska, M.; Herranz, R. Plants in space: novel physiological challenges and adaptation mechanisms. *Progress in Botany* 2021, 83, 29-64, doi:10.1007/124\_2021\_53.
- Villacampa, A.; Ciska, M.; Manzano, A.; Vandenbrink, J. P.; Kiss, J. Z.; Herranz, R.; Medina, F. J. From spaceflight to Mars g-levels: adaptive response of *A. thaliana* seedlings in a reduced gravity environment is enhanced by red-light photostimulation. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 899, doi:10.3390/ijms22020899.
- Deane, C. S.; Borg, J.; Cahill, T.; Carnero-Díaz, E.; Etheridge, T.; Hardiman, G.; Leys, N.; Madrigal, P.; Manzano, A.; Mastroleo, F.; Medina, F. J.; Fernández-Rojo, M. A.; Siew, K.; Szewczyk, N. J.; Villacampa, A.; Walsh, S. B.; Weging, S.; Bezdán, D.; Giacomello, S.; da Silveira, W. A.; Herranz, R. Space omics research in Europe: contributions, geographical distribution and ESA member state funding schemes. *iScience* 2022, 25, 103920, doi:10.1016/j.isci.2022.103920.
- Herranz, R.; da Silveira, W.; Bezdán, D.; Giacomello, S.; Szewczyk, N. Building the Space Omics Topical Team to boost European space researchers' role in the international consortia redefining spaceflight-generated datasets. *iScience* 2022, 25, 104868, doi:10.1016/j.isci.2022.104868.
- Herranz, R.; Valbuena, M. A.; Manzano, A.; Kamal, K. Y.; Villacampa, A.; Ciska, M.; van Loon, J. J. W. A.; Medina, F. J. Use of reduced gravity simulators for plant biological studies. In *Plant Gravitropism: Methods and Protocols*, 2nd Edition. Methods in Molecular Biology, Blancaflor, E., Ed. Humana-Springer Science: New York, NY, 2022, 2368, 241-265, doi:10.1007/978-1-0716-1677-2\_16.
- Manzano, A.; Carnero-Díaz, E.; Herranz, R.; Medina, F. J. Recent transcriptomic studies to elucidate the plant adaptive response to spaceflight and to simulated space environments. *iScience* 2022, 25, 104687, doi:10.1016/j.isci.2022.104687.
- Medina, F. J.; Manzano, A.; Herranz, R.; Kiss, J. Z. Red Light Enhances Plant Adaptation to Spaceflight and Mars g-Levels. *Life* 2022, 12, 1484, doi:10.3390/life12101484.
- Villacampa, A.; Fañanás-Pueyo, I.; Medina, F. J.; Ciska, M. Root growth direction in simulated microgravity is modulated by a light avoidance mechanism mediated by flavonols. *Physiologia Plantarum* 2022, 174, e13722, doi:10.1111/ppl.13722.
- De Micco, V.; Aronne, G.; Caplin, N.; Carnero-Díaz, E.; Herranz, R.; Horemans, N.; Legué, V.; Medina, F. J.; Pereda-Loth, V.; Schiefeloe, M.; De Francesco, S.; Izzo, L. G.; Le Disquet, I.; Kittang Jost, A.-I. Perspectives for plant biology in space and analogue environments. *npj Microgravity* 2023, 9, 67. doi:10.1038/s41526-023-00315-x.

**Financiación / Funding**

- RTI2018-099309-B-I00. (AEI-MICINN, 2019-2021, extended until July 2022 via 2021AEP135)
- 4000130341/20/NL/PG/pt (ESA, CORA-GBF Program, Projects "GIA-2", 2019-2024)
- 4000131202/20/NL/PG/pt (ESA, Topical Teams Program, Project "Space-Omics", 2020-2023)

## Plant Cell Nucleolus, Proliferation & Microgravity

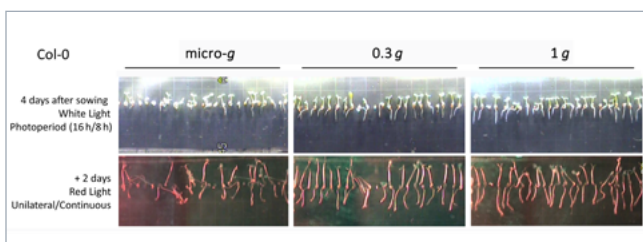
**Plant culture outside of Earth is essential for human life support in space exploration, which generates obvious social expectations. To do this we need to understand how plants respond and adapt to extraterrestrial conditions, such as altered gravity and radiation. We investigate the biological mechanisms of response to stress, survival, and adaptation of plants to these environmental conditions.**

A key challenge in research on extraterrestrial plant cultivation is to identify environmental signals that compensate for the adverse effects of microgravity. The interaction between responses to light and gravity was studied on the International Space Station in the NASA-ESA project "Seedling Growth" (2013-2018) whose analysis of results has been completed in this period. Seeds were germinated and grown illuminated for 4 days with white light and then with red light for 2 days, in microgravity, Mars gravity, and Earth gravity. The seedlings showed that red light reversed gene reprogramming and adverse cellular effects induced by mi-

crogravity. Two mutant lines of a nucleolar protein exhibited differential responses, which stimulates targeted mutagenesis strategies in space culture design. In particular, elevated plastid and mitochondrial genome expression associated with disturbed nucleus-organelle communication and upregulation of auxin and cytokinin hormonal pathways were observed in microgravity. Under the gravity of Mars, genes for stress hormonal pathways and transcription factors associated with acclimation were activated. In new experiments in altered gravity simulation, the relationship between microgravity and radiation and the use of species of agricultural interest in these studies have been investigated.

Dr. Herranz has led European participation in the NASA GeneLab project, and in the international ISSOP consortium for the exchange and harmonization of -omics data from space experiments, in the frame of which he has co-edited the collection "Space Omics in Europe", made up of 13 publications from the "Cell Press" group.

Due to Dr. Medina's retirement in July 2022, Dr. Herranz moved to the "Plant/Virus/Vector Molecular Interactions" group with the Space Omics and Simulated Microgravity line, where he works with Spanish engineers in new 3D simulators and with European colleagues in Mars gravity and radiation simulation projects.

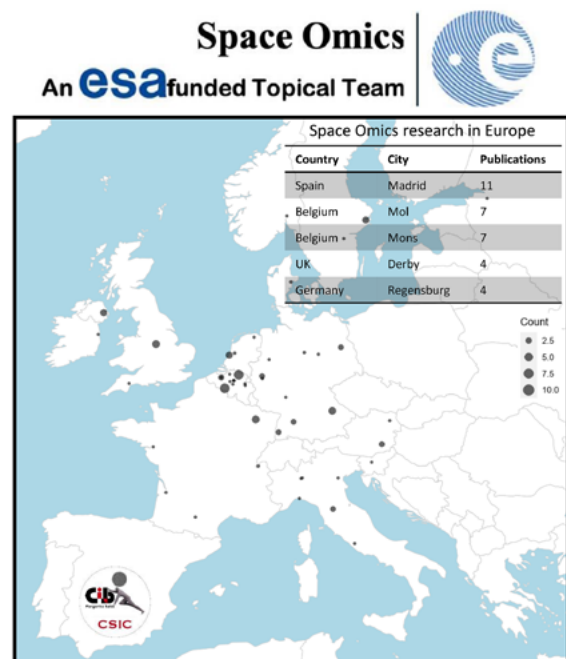


**Figure 1**

Images of seedlings grown on the ISS in the Seedling Growth experiment. Gravity levels: microgravity (micro-g), near-Mars gravity (0.3 g), and Earth gravity (1 g). White light determined hypocotyl orientation, but the orientation of roots depended on gravity. The red light did not induce the orientation of seedlings, as shown in the microgravity image, but Mars's gravity and Earth's gravity were sufficient to produce seedling orientation [Medina et al., 2022].

**Figure 2**

A map highlighting the European site of space omics publications between 2016 and the first semester of 2020. Graphical abstract from the first article in the collection "Space Omics in Europe" in "Cell Press" journals, co-edited by Dr. Herranz [Deane et al., 2022].



**Julio Salinas Muñoz**

Profesor de Investigación  
salinas@cib.csic.es



PhD, 1983, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 1983-1986, Institut Jacques Monod, Paris, Francia  
Investigador Científico, 1986-2006, INIA  
Visiting Scientist, 1989-1991, The Rockefeller University, New York, USA  
Profesor de investigación, 2006, CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/plant-molecular-biology-laboratory>

**Rafael Catalá Rodríguez**

Científico Titular  
catala@cib.csic.es



PhD, 2003, Universidad Complutense de Madrid  
Postdoctoral, 2005-2007, Rockefeller University, New York, USA  
Científico titular, 2021, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

María Fernanda Ruíz Lorenzo  
Ema Olate Rodríguez

Aleksandra Lazarova Lazarova  
Alejandra Fernández Hernández

## 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, lo que permitirá 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 y reproducirse en condiciones de estrés ambiental, las plantas activan respuestas adaptativas muy sofisticadas, la mayoría de las cuales están controladas a través de una extensa reprogramación de la expresión génica. Aunque ya se han identificado y caracterizado muchos genes cuya expresión está regulada por estrés abiótico, los mecanismos moleculares que subyacen a esas respuestas siguen siendo desconocidos en su mayor parte. Elucidar 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.

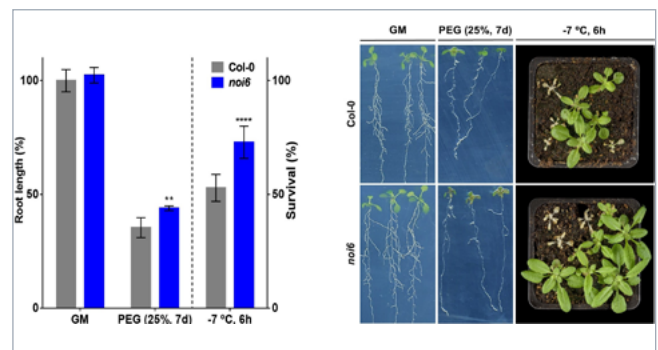
Nuestra línea de investigación tiene como objetivo identificar y caracterizar los mecanismos moleculares mediante los cuales las plantas toleran situaciones de estrés abiótico. Utilizando *Arabidopsis* como sistema modelo y un enfoque experimental multidisciplinar, hemos identificado reguladores moleculares 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.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Sánchez-Serrano, J.; Salinas J. (eds). Arabidopsis Protocols (Fourth Edition). *Methods in Molecular Biology Series*, Springer Nature, New York, NY, USA, 2021, doi:10.1007/978-1-0716-0880-7.
- Catalá, R.; López-Cobollo, R. M.; Barbís, A.; Jiménez-Barbero, J.; Salinas, J. Trimethylamine N-oxide is a new plant molecule that promotes abiotic stress tolerance. *Sci Adv* 2021, 7, eabd9296, doi:10.1126/sciadv.abd9296.
- Albertos, P.; Tatematsu, K.; Mateos, I.; Sánchez-Vicente, I.; Fernández-Arbaizar, A.; Nakabayashi, K.; Nambara, E.; Godoy, M.; Franco, J. M.; Solano, R.; Gerna, D.; Roach, T.; Stoggl, W.; Kranner, I.; Perea-Resca, C.; Salinas, J.; Lorenzo, O. Redox feedback regulation of ANAC089 signaling alters seed germination and stress response. *Cell Reports* 2021, 35, 109263, doi:10.1016/j.celrep.2021.109263.
- Ruiz-López, N.; Pérez-Sancho, J.; Esteban del Valle, A.; Haslam, R. P.; Vanneste, S.; Catalá, R.; Perea-Resca, C.; Van Damme, D.; Garda-Hernández, S.; Albert, A.; Vallarino, J.; Lin, J.; Frimi, J.; Macho, A. P.; Salinas, J.; Rosado, A.; Napier, J. A.; Amorim-Silva, V.; Botella M.A. Synaptotagmins at the endoplasmic reticulum-plasma membrane contact sites maintain diacylglycerol homeostasis during abiotic stress. *Plant Cell* 2021, 33, 2431-2453, doi:10.1093/plcell/koab122.
- Barrero-Gil, J.; Mouriz, A.; Piqueras, R.; Salinas, J.; Jarillo, J.A.; Piñero, M. A MRG-operated chromatin switch at SOC1 attenuates abiotic stress responses during the floral transition. *Plant Physiol* 2021, 187, 462-471. doi:10.1093/plphys/kiab275.
- Blanco-Touriñán, N.; Esteve-Bruna, D.; Serrano-Mislata, A.; Esquinas-Ariza, R.M.; Resentini, F.; Forment, J.; Carrasco-López, C.; Novella-Rausell, C.; Palacios-Abella, A.; Carrasco, P.; Salinas, J.; Blázquez, M. A.; Alabadi, D. A genetic approach reveals different modes of action of prefoldins. *Plant Physiol* 2021, 187, 1534-1550. doi:10.1093/plphys/kiab348.
- Luxán-Hernández, C.; Lohmann, J.; Tranque, E.; Chumova, J.; Binarova, P.; Salinas, J.; Weingartner, M. MDF is a conserved splicing factor and modulates cell division and stress response in *Arabidopsis*. *Life Science Alliance* 2022, 6, e202201507 doi:10.26508/lsa.202201507.

**Financiación / Funding**

- PID2019-106987RB-100 (AEI)
- TED2021-132141B-C21 (AEI)



**Figure 1**

*NO16* protein negatively regulates *Arabidopsis* tolerance to abiotic stress. *Arabidopsis* mutants deficient in *NO16* (*noi6*) show higher tolerance to water stress (25 % PEG, 7d) and freezing temperatures (-7 °C, 6h) than wild-type plants (*Col-0*). Data represent the mean of three independent biological replicates ( $n > 20$ ). Asterisks indicate significant differences between *noi6* and *Col-0* plants.

## Plant Molecular Biology

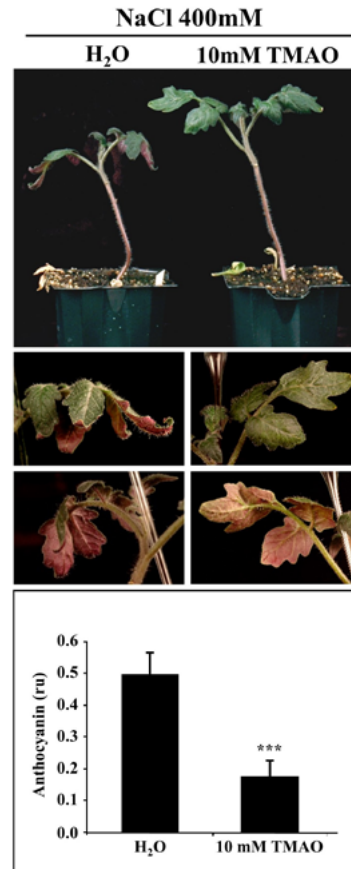
Plants have an extraordinary capacity to adapt to their surroundings. Understanding the molecular mechanisms controlling the relationship of plants with their environment is significant from both basic and practical points of view. The work in our laboratory aims to elucidate those mechanisms that, ultimately, will allow us 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 during 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 how our ecosystems evolve will be greatly affected.

To survive and reproduce in the stressful environmental conditions to which they are often exposed, plants have evolved sophisticated adaptive responses, most of them controlled through extensive reprogramming of gene expression. Although many stress-regulated genes have already been identified and characterized, the molecular mechanisms underlying those adaptive responses remain largely unknown. Elucidating these mechanisms, in addition to being a fundamental biological issue, is critical to improve stress tolerance in crops and thus to achieving 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 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 strategies, we have identified molecular regulators involved at different levels (chromatin/epigenetic, transcriptional, posttranscriptional, and protein activity) in plant adaptation to adverse environments. Current efforts are mainly dedicated

to understanding the way of action of these factors 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.



**Figure 2**

Trimethylamine N-oxide (TMAO) promotes plant tolerance to abiotic stress. Tomato plants show increased tolerance to salt stress (watering with 400 mM NaCl, 14 days) compared to control plants (watering with H<sub>2</sub>O) after being sprayed with 10 mM TMAO. Data represent the mean of at least three independent biological replicates ( $n > 30$ ). Asterisks indicate significant differences between treated and control plants.



**Pilar S. Testillano**Investigadora Científica  
testillano@cib.csic.es

PhD, 1991, Universidad Complutense de Madrid  
CNRS, Villejuif, Francia y CSHL, NY, USA  
Científica Titular, 1996, CBMSO; 1998, CIB, CSIC  
Investigadora Científica, 2008, CIB, CSIC  
Jefa de grupo, 2012, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Elena Carneros García  
Yolanda Pérez-Pérez  
Cristina Rueda Varela

Natalia Elena Expósito de La Paz  
Natalia García Sánchez  
César Castellanos Aguilar

W <https://www.cib.csic.es/research/microbial-and-plant-biotechnology/pollen-biotechnology-crop-plants>

## Biología del Polen de Plantas Cultivadas

La regeneración de plantas *in vitro* es un proceso biotecnológico clave en la mejora de variedades agrícolas y en reforestación, para obtener cultivos y árboles más resilientes al cambio climático, aunque en muchas especies de interés el proceso es muy ineficiente. Nuestro grupo estudia los mecanismos reguladores de la reprogramación celular y regeneración de plantas inducida *in vitro* y su transferencia al sector agrobiotecnológico y forestal.

Las plantas pueden regenerar individuos completos a partir de pocas células. Los sistemas de regeneración de plantas *in vitro*, basados en la inducción de reprogramación celular, son esenciales en las modernas técnicas de mejora ya que permiten propagar clonalmente genotipos élite (por embriogénesis somática), producir doble haploides (por embriogénesis de microsporas, precursoras del polen), y regenerar plantas tras edición génica o transformación. Sin embargo, la regeneración *in vitro* es muy poco eficiente en muchas especies. Nuestro objetivo es conocer las bases celulares y moleculares del proceso para identificar nuevas dianas y efectores y transferir el conocimiento al sector agrobiotecnológico y forestal. Estudiamos las especies modelo agrícolas y forestales colza, cebada y alcornoque. Empleamos un abordaje multidisciplinar e integrado que incluye modernas técnicas de biología celular, molecular, química, fisiología y genómica. Las principales líneas de investigación son: (1) **Identificar efectores moleculares positivos y negativos de la reprogramación celular de plantas**, entre ellos: (a) estrés oxidativo, autofagia y cisteína-proteasas, elementos clave del balance supervivencia-muerte celular, (b) regulación hormonal por auxina, citoquinina y brasinosteroides, (c) control epigenético de la reprogramación, mediado por metilación del DNA y modificaciones postranscripcionales de histonas, (d) papel de la remodelación de la pared celular, por PMEs y AGPs; (2) **Búsqueda de nuevos promotores químicos de reprogramación mediante cribado de pequeñas moléculas sintéticas**, para desarrollar nuevas estrategias biotecnológicas que mejoren la regeneración de plantas y diseño de innovaciones que incorporen compuestos seleccionados en los protocolos de regeneración; (3) **Transferencia e innovación al sector productivo agrícola y forestal**, para aplicaciones en especies no modelo de interés económico y medioambiental a través de contratos y colaboraciones con empresas del sector.

**Financiación / Funding**

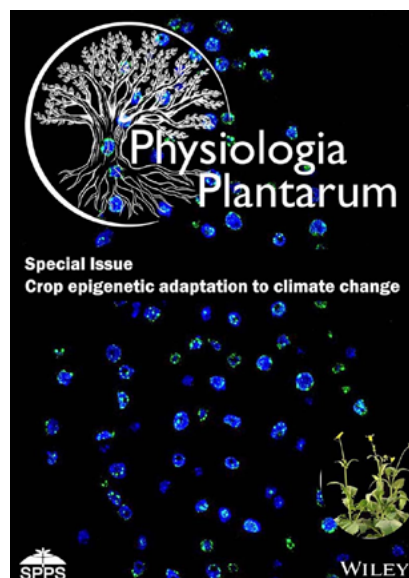
- PID2020-113018RB-I00 (MCIN/AEI, 2021-2024)
- TED2021-129633B-I00, (MCIN/AEI- Next Generation EU/PRTR, 2022-2024)
- CPP2021-008750 (MCIN/AEI- Next Generation EU/PRTR, 2022-2025)
- AGL2017-82447-R (MINECO, 2018-2021)
- COST Action CA21157, COPY-TREE (EU, 2022-2026)
- COST Action CA19125, EPI-CATCH (EU, 2020-2024)
- Contrato CSIC/Alcaliber N.20171981 (Alcaliber I+D+i, 2017-2021)

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Berenguer, E.; Carneros, E.; Pérez-Pérez, Y.; Gil, C.; Martínez, A.; Testillano, P. S. Small molecule inhibitors of mammalian GSK-3 $\beta$  promote *in vitro* plant cell reprogramming and somatic embryogenesis in crop and forest species. *J Exp Bot* 2021, 72, 7808-7825, doi:10.1093/jxb/erab365.
- Pérez-Pastrana, J.; Testillano, P. S.; Bárányi, I.; Canto-Flick, A.; Álvarez-López, D.; Pijeira-Fernández, G.; Avilés-Viñas, S. A.; Peña-Yam, L.; Muñoz-Ramírez, L.; Nahuat-Dzib, S.; Islas-Flores, I.; Santana-Buzzy, N. Endogenous auxin accumulation and localization during zygotic and somatic embryogenesis of Capsicum chinense Jacq. *J Plant Physiol* 2021, 258-259, 153333, doi:10.1016/j.jplph.2020.153333.
- Mladenov, V.; Fotopoulos, V.; Kaiserli, E.; Karalija, E.; Maury, S.; Miroslav, B.; Segal, N.; Testillano, P. S.; Vassileva, V.; Pinto, G.; Nagel, M.; Hponicka, H.; Miladinović, D.; Gallusci, P.; Vergata, C.; Kapazoglou, A.; Abraham, E.; Tani, E.; Gerakarí, M.; Sarri, E.; Avramidou, E.; Mašparović, M.; Martinelli, F. Deciphering the epigenetic alphabet involved in transgenerational stress memory in crops. *Int J Mol Sci* 2021, 22, 7118. doi:10.3390/ijms22137118.
- Kakoulidou, I.; Avramidou, E. V.; Baránek, M.; Brunel-Muguet, S.; Farrona, S.; Johannes, F.; Kaiserli, E.; Lieberman-Lazarovich, M.; Martinelli, F.; Mladenov, V.; Testillano, P. S.; Vassileva, V.; Maury, S. Epigenetics for crop improvement in times of global change. *Biology* 2021, 10, 766, doi:10.3390/biology10080766.
- Gómez-Mena, C.; Honys, D.; Datla, R.; Testillano, P. S. Advances in pollen research: biology, biotechnology and plant breeding applications. *Front Plant Sci* 2022, 13, 876502, doi:10.3389/fpls.2022.876502.
- Silva, A. C.; Ruiz-Ferrer, V.; Pellegrin, C.; Müller, S. Y.; Martínez-Gómez, A.; Gómez, A.; Abril, P.; Berenguer, E.; Testillano, P. S.; Andrés, M. F.; Fenoll, C.; Eves-Van Den Akker, S.; Escobar, C. The DNA-methylation landscape of the root-knot nematode-induced pseudo-organ, the gall, in Arabidopsis, is dynamic, contrasting over time, and critically important for successful parasitism. *New Phytol* 2022, 236, 1888-1907, doi:10.1111/nph.18395.
- Carneros, E.; Sánchez-Muñoz, J.; Pérez-Pérez, Y.; Pintos, B.; Gómez-Garay, A.; Testillano, P. S. Dynamics of endogenous auxin and its role in somatic embryogenesis induction and progression in cork oak. *Plants* 2023, 12, 1542, doi:10.3390/plants12071542.
- Agius, D. R.; Kapazoglou, A.; Avramidou, E. V.; Baránek, M.; Carneros, E.; Caro, E.; Castiglione, S.; Cicatelli, E. A.; Radanovic, A.; Ebejer, J. P.; Gackowski, D.; Guarino, F.; Gulyás, A.; Hidvégi, N.-T.; Hoenicka, H.; Inácio, V.; Johannes, F.; Karalija, E.; Lieberman-Lazarovich, M.; Martinelli, F.; Maury, S.; Mladenov, V.; Morais-Cecilio, L.; Pecinka, A.; Tani, E.; Testillano, P. S.; Todorov, D.; Valledor, L.; Vassileva, V. Exploring the crop epigenome: a comparison of DNA methylation profiling techniques. *Front Plant Sci* 2023, 14, 1181039, doi:10.3389/fpls.2023.1181039.

**Figure 1**

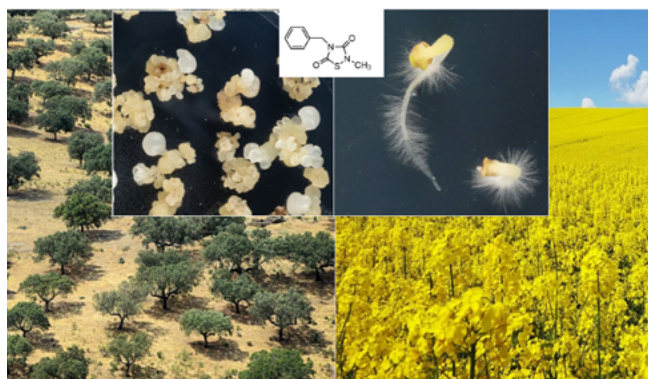
*Nuclear localization patterns of DNA methylation in microspore-derived embryo of Brassica napus developed in vitro. Microscopy confocal image of methylated cytosines (green) and DAPI staining, for DNA (blue). Cover picture of Physiologia Plantarum special issue on Crop Epigenetic Adaptation to Climate Change (2023). Cover in open access.*



## Pollen Biotechnology of Crop Plants

**In vitro plant regeneration is a key biotechnological process in the improvement of agricultural varieties and reforestation. It permits to obtain crops and trees that are more resilient to climate change, although the process is very inefficient in many species of interest. Our group studies the regulatory mechanisms of induced plant cell reprogramming and regeneration and its transfer to the agrobiotechnology and forestry sectors.**

Plants can regenerate whole individuals from just a few cells. In vitro plant regeneration systems, based on the induction of cellular reprogramming, are essential in modern breeding techniques since they allow clonally propagating elite genotypes (by somatic embryogenesis), producing double haploids (by embryogenesis of microspores, precursors of pollen), and regenerate plants after gene editing or transformation. However, in vitro regeneration is very inefficient in many species. Our



objective is to understand the cellular and molecular basis of the process to identify new targets and effectors and to transfer this knowledge to the agrobiotechnology and forestry sectors. We study the crop and forestry model species rapeseed, barley, and cork oak. We use a multi-disciplinary and integrated approach that includes modern techniques of cell biology, molecular biology, biological chemistry, physiology, and genomics. The main lines of research are: (1) **Identify positive and negative molecular effectors of plant cell reprogramming**, among them: (a) oxidative stress, autophagy and cysteine proteases, key elements of the survival-cell death balance, (b) hormonal regulation by auxin, cytokinin, and brassinosteroids, (c) epigenetic control of cell reprogramming, mediated by DNA methylation and post-transcriptional modifications of histones, (d) role of cell wall remodeling, by PME and AGPs; (2) **Search for new chemical promoters of cell reprogramming through screening of small molecules**, to develop new biotechnological strategies, that improve plant regeneration, and to design innovations by incorporating selected compounds in regeneration protocols; (3) **Transfer and innovation to the agricultural and forestry productive sectors**, for applications in non-model species of economic and environmental interest through contracts and collaborations with companies.

**Figure 2**

**Technological innovation with small synthetic molecules that promote in vitro embryogenesis and regeneration for crop and forestry plant improvement.** Small molecule inhibitors of mammalian GSK-3 $\beta$  (center) enhance in vitro cell reprogramming, embryo development and plant regeneration in rapeseed (right) and cork oak (left).

### Patentes / Patents

- Pilar S. Testillano, Ana Martínez, Carmen Gil, Eduardo Berenguer, Elena Carneros y Yolanda Pérez-Pérez. "Mammal kinase inhibitors to promote in vitro embryogenesis induction of plants". 28 Noviembre 2020 PCT/EP2020/083316, 26 Mayo 2022 US20230025843. Licensed 06-06-2022, Hudson River Biotechnology (Wageningen, NL) and Seeds for Innovation (Almería, ES)
- Pilar S. Testillano, Ana Martínez, Carmen Gil, Elena Carneros, Yolanda Pérez-Pérez, Klaus Palme, Ralf Welsch y Saurabh Pandey. "Phosphodiesterases inhibitors to promote in vitro plant cell reprogramming towards plant embryogenesis or microcallus formation". 9 Diciembre 2022. PCT/EP2022/085208



**M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez**Profesora de Investigación  
auxi@cib.csic.es

PhD, 1995, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 1996-1998, Institute of Biotechnology, ETH Zürich, Switzerland,

Jefa de Grupo, 2012, CIB, CSIC

Coordinadora de la Plataforma Interdisciplinar de Plásticos Sostenibles para una Economía Circular (PTI SusPlast), 2019, CSIC

Profesora de Investigación, 2021, CIB, CSIC

<https://cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/polymer-biotechnology>

## Biotecnología de Polímeros

La producción y degradación sostenibles de los bioplásticos como alternativa a los plásticos de origen petroquímico son un reto para la sociedad. Nuestro grupo se centra en desarrollar ambas estrategias: producimos biopolímeros como los PHAs y la celulosa, y desarrollamos biocatalizadores capaces de degradarlos. Además, estamos interesados en la valorización biológica de plásticos derivados del petróleo usando enzimas y bacterias mejoradas.

La economía circular sostenible de los plásticos requiere establecer un equilibrio entre su producción y su reciclaje. Los bioplásticos o plásticos generados a partir de polímeros de origen biológico ofrecen una alternativa sostenible a los plásticos derivados del petróleo. Paralelamente, se requieren soluciones para el tratamiento de los residuos plásticos de origen petroquímico. En nuestro grupo trabajamos principalmente con dos tipos de bioplásticos: los polihidroxialcanoatos (PHAs) y la celulosa bacteriana (BC). Estos se producen vía fermentativa por microorganismos como *Pseudomonas putida*, *Cupriavidus necator*, *Rhodospirillum rubrum* (PHAs) y *Komagataeibacter medellinensis* (BC). Generamos PHAs y BC mediante la revalorización de residuos procedentes de la industria agrícola y de residuos urbanos y la producción a gran escala en biorreactores. Aplicamos biología sintética e ingeniería metabólica para producir cepas mejoradas para el bioproceso y para la generación de polímeros cuya composición/estructura química han sido modificadas. Generamos materiales avanzados mediante la incorporación de agentes bioactivos (bacterias depredadoras o productoras de PHAs) y el anclaje de péptidos antibióticos o enzimas. Aplicamos herramientas de ingeniería de proteínas e ingeniería metabólica para mejorar el procesamiento de la biomasa y la liberación de bioproductos (PHAs) empleando enzimas y agentes vivos, como la bacteria depredadora *Bdellovibrio bacteriovorus*. Diseñamos enzimas para la biodegradación de estos materiales y para la producción de intermediarios monoméricos. Además, estudiamos la valorización biológica de plásticos derivados del petróleo usando enzimas y bacterias mejoradas. Para ello, tomamos ventaja del "embudo metabólico" de bacterias de suelo para convertir mezclas complejas de residuos plásticos en un único producto de interés, como biomoléculas que puedan usarse como precursores para nuevos bioplásticos sostenibles.

### Patentes / Patents

- Virginia Rivero-Buceta y María Auxiliadora Prieto "Chemically modified bacterial cellulose coreshell microparticles and their use for the encapsulation of bioactive elements" 12 Septiembre 2022 EP22382844.3

### Otros miembros / Other members

Oliver Drzyzga  
Cristina Campano Tiedra  
Ana María Hernández Arriaga  
Natalia Hernández Herreros  
María-Tsampika Manoli  
Isabel Pardo Mendoza  
Marco Antonio Pereyra Camacho  
María Virginia Rivero Buceta  
Alberto Rodríguez Martín  
Manuel Santiago Godoy  
Lara Serrano Aguirre  
Francisco Blanco Parte  
Alba Calonge García  
Susana Capel Navarro

Álvaro Castellanos Caro  
José Daniel Jiménez Santos-García  
Marina Rodríguez Carreiro  
Santiago Roque de Miguel Sanz  
Sergio Salgado Briegas  
Pedro Miñarro Hernández  
Karina Schann  
Sergio Vivo Filardi  
Sandra Herrera Alarcón  
Laura López Mérida  
Melissa Méndez González  
Elena Ramos Serrano  
Paula Llamas Guerrero

### Publicaciones seleccionadas / Selected Publications

- Rodríguez, A.; Hernández-Herreros, N.; García, J. L.; Prieto, M. A. Enhancement of biohydrogen production rate in *Rhodospirillum rubrum* by a dynamic CO-feeding strategy using dark fermentation. *Biotechnology for Biofuels* **2021**, 14, 168, doi:10.1186/s13068-021-02017-6.
- Campano, C.; Rivero-Buceta, V.; Fabra, M. J.; Prieto, M. A. Gaining control of bacterial cellulose colonization by polyhydroxyalkanoate-producing microorganisms to develop bioplasticized ultrathin films. *Int J Biol Macromol* **2022**, 223, 1495-1505, doi:10.1016/j.ijbiomac.2022.11.120.
- Manoli, M. T.; Nogales, J.; Prieto, M. A. Synthetic Control of Metabolic States in *Pseudomonas putida* by Tuning Polyhydroxyalkanoate Cycle. *Mbio* **2022**, 13, e01794-21, doi:10.1128/MBIO.01794-21.
- Blázquez, B.; Torres-Bacete, J.; San Leon, D.; Kniewel, R.; Martínez, I.; Sordon, S.; Wilczak, A.; Salgado, S.; Huszcza, E.; Poptoński, J.; Prieto, M. A.; Nogales, J. Golden Standard: A complete standard, portable, and interoperable MoClo tool for model and non-model bacterial. *Nucleic Acids Res* **2022**, 51, e98-e98, doi:10.1093/nar/gkad758.
- Godoy, M. S.; de Miguel, S. R.; Prieto, M. A. Aerobic-anaerobic transition boosts poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) synthesis in *Rhodospirillum rubrum*: the key role of carbon dioxide. *Microb Cell Fact* **2023**, 22, 1-16, doi:10.1186/s12934-023-02045-x.
- Godoy, M. S.; de Miguel, S. R.; Prieto, M. A. A singular PpaA/AerR-like protein in *Rhodospirillum rubrum* rules beyond the boundaries of photosynthesis in response to the intracellular redox state. *mSystems* **2023**, 8, e00702-23, doi:10.1128/msystems.00702-23.
- Blanco, F. G.; Machatschek, R.; Keller, M.; Hernández-Arriaga, A. M.; Godoy, M. S.; Tarazona, N. A.; Prieto, M. A. Nature-inspired material binding peptides with versatile polymer affinities and binding strengths. *Int J Biol Macromol* **2023**, 253, 126760-126774, doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.126760.
- Blanco, F. G.; Vázquez, R.; Hernández-Arriaga, A. M.; García, P.; Prieto, M. A. Enzybiotic-mediated antimicrobial functionalization of polyhydroxyalkanoates. *Front Bioeng Biotechnol* **2023**, 11, 1220336-1220347, doi:10.3389/fbioe.2023.1220336.
- Hernández-Herreros, N.; Rivero-Buceta, V.; Pardo, I.; Prieto, M. A. Production of poly(3-hydroxybutyrate)/poly(lactic acid) from industrial wastewater by wild-type *Cupriavidus necator* H16. *Water Research* **2023**, 249, 120892-120906, doi:10.1016/j.watres.2023.120892.

### Financiación / Funding

- CYBELE - 2022-T1/BIO-23939 (Programa de Atracción de Talento de la Comunidad de Madrid, 2023-2028)
- deCYPhar - 10108178 (EU HORIZON-CL6-2022-CIRCBIO-02-05-two-stage, 2023-2027)
- AgriLoop - 101081776 (EU HORIZON-CL6-2022-CIRCBIO-01-05, 2022-2026)
- BIOPHUN - TED2021-130850A-I00 (MICINN-AEI y Unión Europea NextGenerationEU/PRTR, 2022-2024)
- TED - 2021-130689B-C32 (MICINN/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Union's NextGenerationEU/PRTR, 2022-2024)
- ReCREA - 20210510 (Fundación Reina Sofía y CSIC, 2021-2024)
- BIOCIR - PID2020-112766RB-C21 (MICINN/AEI/10.13039/501100011033, 2021-2024)
- FERMENTA - EQC2021-006941-P (MICINN/AEI/10.13039/501100011033 and by the EU NextGenerationEU/PRTR, 2021-2024)
- REVOLUZION - PLEC2021-008188 (MICINN/AEI/10.13039/501100011033 and by the EU NextGenerationEU/PRTR, 2021-2024)
- AppBioCom/BioDriven - PDC2021-121381-100 (MICINN/AEI/10.13039/501100011033 and by the European Union's NextGenerationEU/PRTR, 2021-2024)
- MIX-UP - 870294 (EU H2020-NMBP-TR-IND-2018-2020, 2020-2024)
- NANOBIOCARGO - CM - P2018/NMT4389 (CAM, 2019-2022)
- SinFonia - 814418 (EU- H2020-NMBP-BIO-2018, 2019-2023)
- ENGICOIN - 760994 (EU- H2020-NMBP-BIO-2017, 2018-2022)
- AFTERLIFE - 745737 (EU- H2020-BBI-JTI-2016-R01, 2017-2022)
- TECMABIO - BIO2017-83448-R (MINECO, 2018-2021)
- NANOBIOCARGO - CM - P2018/NMT4389 (CAM, 2019-2022)



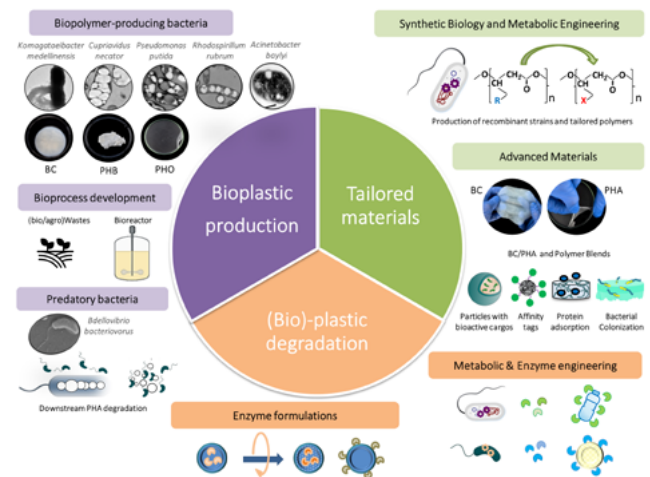
# Polymer Biotechnology

**The sustainable production and degradation of bioplastics as an alternative to petrochemical plastics are a challenge for society. Our projects focus on developing both strategies: producing biopolymers such as PHAs and cellulose, and developing biocatalysts capable of degrading them. In addition, we are interested in the biological valorization of petroleum-derived plastics using engineered enzymes and bacteria.**

A sustainable circular economy of plastics requires a balance between their production and recycling. Bioplastics, or plastics made from bio-based polymers, offer a sustainable alternative to petroleum-based plastics. Additionally, solutions are needed for the treatment of petrochemical plastic waste. In our group, we mainly work with two types of bioplastics: polyhydroxyalkanoates (PHAs) and bacterial cellulose (BC). These biopolymers are produced via fermentation by microorganisms such as *Pseudomonas putida*, *Cupriavidus necator*, *Rhodospirillum rubrum* (PHAs) and *Komagataeibacter medellinensis* (BC). We generate PHAs and BC through the revalorization of agricultural and municipal waste and the large-scale production in bioreactors. We apply synthetic biology and metabolic engineering to produce improved strains for bioprocessing and for the generation of polymers whose composition/chemical structure has been modified. We generate value-added materials by

incorporating bioactive agents (predatory or PHA-producing bacteria) and anchoring antibiotic peptides or enzymes. We apply protein and metabolic engineering tools to improve biomass processing and the release of bioproducts (PHAs) using enzymes and live agents, such as the predatory bacterium *Bdellovibrio bacteriovorus*. We design enzymes for the biodegradation of these materials and the production of monomeric intermediates.

We are also interested in the biological valorization of petrochemical plastics into new value-added products using engineered enzymes and bacteria. To this end, we leverage the "metabolic funneling" ability of soil bacteria to convert complex mixtures of plastic wastes into a single product of interest, such as biomolecules that can be used as precursors for new sustainable bioplastics



**Figure 1**

Research lines of the Polymer Biotechnology group. We focus our research on the production of bioplastics like PHA and BC polymers to produce high-value-added biomaterials from renewable sources. We apply in the process natural and engineered producing bacteria to design tailored materials. We also engineer bioplastic degrading enzymatic systems and downstream processes to isolate the polymers. In addition, we engineer enzymes and bacteria for the degradation of petroleum-derived plastic to obtain new added-value products.



**Jesús Miguel Sanz Morales**

Científico Titular

jmsanz@cib.csic.es



PhD, 1991, Universidad Complutense de Madrid

Postdoctoral, 1992-1994, Centre for Protein Engineering; Universidad de Cambridge, Cambridge, UK

Postdoctoral, 1994-1997, CIB, CSIC

Profesor Titular de Universidad, 1997-2016, Universidad Miguel Hernández

Catedrático de Universidad, 2016-2018, Universidad Miguel Hernández

Científico Titular, 2018, CIB, CSIC



<https://www.cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/protein-engineering-against-antimicrobial-resistance>

**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

Científico Titular, 1986, CIB, CSIC

Investigador Científico, 2002, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Beatriz Maestro García-Donas

Roberto Vázquez Fernández

María Isabel Torices Gómez

Beatriz Pasero García

Javier Sebastián Caballero

Alicia Rodríguez Bernabé

Susana Ruiz García

## Ingeniería de proteínas frente a la resistencia a antimicrobianos

El grupo emplea técnicas de ingeniería molecular y nanotecnología para el estudio del plegamiento y la estabilidad de proteínas de interés biomédico y biotecnológico. El objetivo fundamental es el diseño de nuevos antimicrobianos para afrontar los problemas actuales de resistencia a antibióticos (AMR), así como desarrollar nuevos métodos de inmovilización de proteínas recombinantes en sistemas multivalentes.

El fenómeno de multivalencia química describe el incremento exponencial de la fortaleza de una interacción entre dos entidades moleculares cuando una de ellas, o las dos, se encuentran dispuestas en multicopia en una única especie macromolecular. Nuestro grupo pretende estudiar este proceso químico en interacciones proteína-ligando, tanto desde el punto de vista básico como en su aplicación en biomedicina y biotecnología. El objetivo fundamental es el desarrollo de nuevos antimicrobianos con los que luchar frente al creciente problema de las resistencias a antibióticos (AMR), empleando como diana la envuelta bacteriana (membrana y pared celular). Tradicionalmente, el grupo se ha centrado en patógenos respiratorios como *Streptococcus pneumoniae* (neumococo) y *Pseudomonas aeruginosa*, aunque más recientemente ha comenzado estudios sobre patógenos orales como *Streptococcus mutans*. En todos los casos, el sistema molecular objetivo del estudio son las proteínas con plegamiento beta-beta solenoide, una familia de polipéptidos que reconocen sustratos macromoleculares naturales con gran afinidad gracias a la multivalencia química. El laboratorio emplea técnicas biofísicas de estructura, estabilidad e ingeniería de proteínas para desarrollar pequeñas moléculas orgánicas, péptidos, polipéptidos y enzimas líticas ("enzibióticos") con capacidad antimicrobiana. Además, los compuestos más prometedores se utilizan para la funcionalización de diversas nanoestructuras (dendrimeros, nanopartículas magnéticas, polímeros de benceno-tricarboxamida, etc.) con objeto de multiplicar su potencia gracias a sus propiedades multivalentes. Por otro lado, el grupo posee una segunda línea de investigación consistente en el empleo de proteínas beta-beta solenoides y otros polipéptidos multivalentes como "etiquetas" de afinidad para la inmovilización de proteínas de interés biotecnológico en diferentes soportes, desde nanopartículas a resinas cromatográficas.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Vleugels, M. E. J.; Varela-Aramburu, S.; de Waal, B. F. M.; Schoenmakers, S. M. C.; Maestro, B.; Palmans, A. R. A.; Sanz, J. M.; Meijer, E. W. Choline-functionalized supra-molecular copolymers: toward antimicrobial activity against *Streptococcus pneumoniae*. *Biomacromol* 2021, 22, 5363-5373, doi:10.1021/acs.biomac.1c01293.
- Maestro, B.; Zamora-Carreras, H.; Jiménez, M. A.; Sanz, J. M. Inter-hairpin linker sequences determine the structure of the  $\beta$ -solenoid fold: a "bottom-up" study of pneumococcal LytA choline-binding module. *Int. J. Biol. Macromol* 2021, 190, 679 - 692, doi:10.1016/j.ijbiomac.2021.08.223.
- Vázquez, R.; García, E.; García, P. Sequence-function relationships in phage-encoded bacterial cell wall lytic enzymes and their implications for phage-derived products design. *J Virol* 2021, 95, e00321-21. doi:10.1128/JVI.00321-21.
- Vázquez, R.; Blanco-Gañán, S.; Ruiz, S.; García, P. Mining of Gram-negative surface-active enzymatic candidates by sequence-based calculation of physicochemical properties. *Front Microbiol* 2021, 12, 660403, doi:10.3389/fmicb.2021.660403.
- Vázquez, R.; Seoane-Blanco, M.; Rivero-Buceta, V.; Ruiz, S.; van Raaij, M. J.; García, P. Monomodular *Pseudomonas aeruginosa* phage JG004 lysozyme (Pae87) contains a bacterial surface-active antimicrobial peptide-like region and a possible substrate-binding subdomain. *Acta Cryst. Section D* 2022, 78, 435-454, doi:10.1107/S2059798322000936.
- Vázquez, R.; Díez-Martínez, R.; Domingo-Calap, P.; García, P.; Gutiérrez, D.; Muniesa, M.; Ruiz-Ruigómez, M.; Sanjuán, R.; Tomás, M.; Tormo-Mas, M. A.; García, P. Essential topics for the regulatory consideration of phages as clinically valuable therapeutic agents: a perspective from Spain. *Microorganisms* 2022, 10, 717, doi:10.3390/microorganisms10040717.
- Vázquez, R.; Doménech-Sánchez, A.; Ruiz, S.; Sempere, J.; Yuste, J.; Albertí, S.; García, P. Improvement of the antibacterial activity of phage lysin-derived peptide P87 through maximization of physicochemical properties and assessment of its therapeutic potential. *Antibiotics* 2022, 11, 1448, doi:10.3390/antibiotics11101448.
- Ortiz-Miravalles, L.; Sánchez-Angulo, M.; Sanz, J. M.; Maestro, B. Drug repositioning as a therapeutic strategy against *Streptococcus pneumoniae*: cell membrane as potential target. *Int J Mol Sci* 2023, 24, 5831, doi:10.3390/ijms24065831.
- Hernández-Rocamora, V. M.; Molina, R.; Alba, A.; Carrasco-López, C.; Rojas-Altuve, A.; Panjikar, S.; Medina, A.; Usón, I.; Alfonso, C.; Galán, B.; Rivas, G.; Hermoso, J. A.; Sanz, J. M. Structural characterization of PaaX, the main repressor of the phenylacetate degradation pathway in *Escherichia coli* W: A novel fold of transcription regulator proteins. *Int J Biol Macromol* 2023, 254, 127935, doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.127935.

**Patentes / Patents**

- Jesús Miguel Sanz, Beatriz Maestro y Laura Ortiz-Miravalles. 28 Enero 2021. "Antimicrobials against *Streptococcus* pathogens". PCT/ES2022/070042

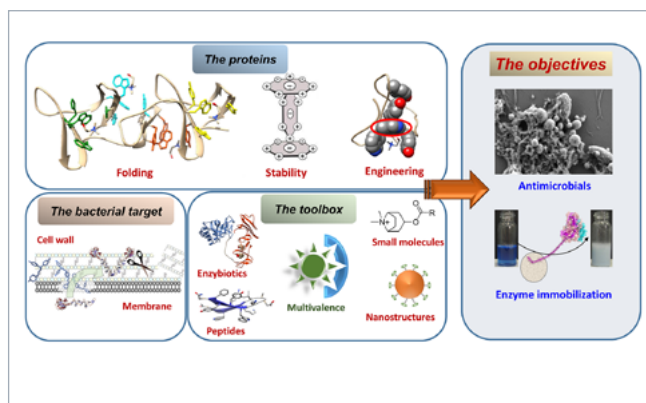


Figure 1

The biophysical study of the folding and stability of proteins that target the bacterial envelope (cell wall and membrane) allows the design of novel molecules to fight antimicrobial resistance (AMR) and the development of enzyme immobilization procedures, using a variety of tools from protein engineering to nanotechnology.

## Protein engineering against antimicrobial resistance

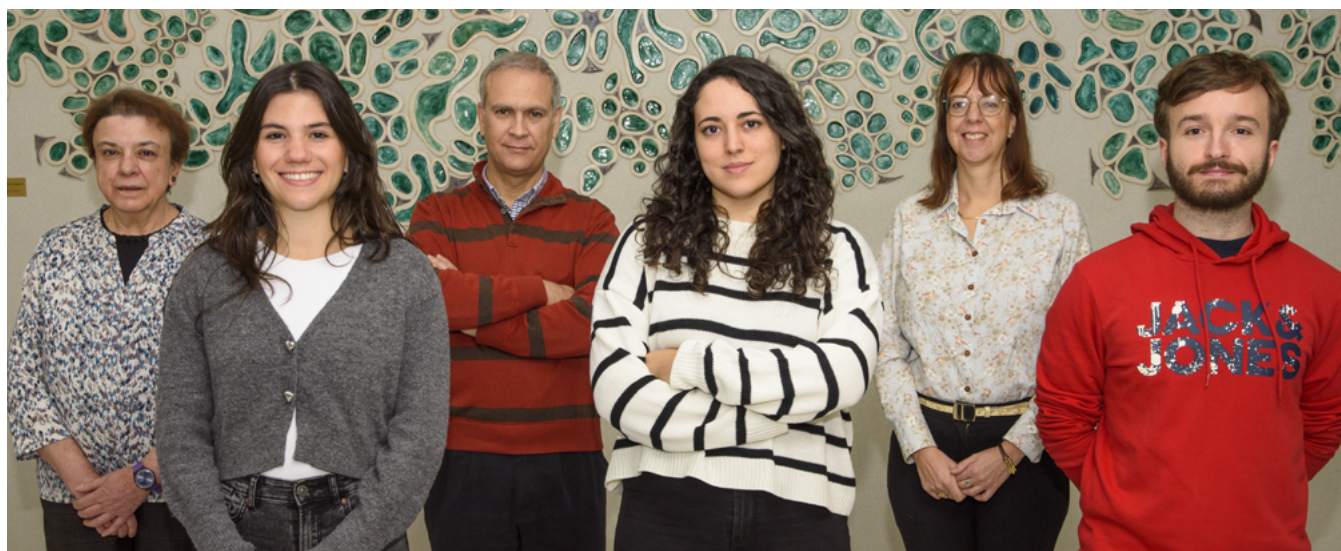
The group employs nanotechnological and molecular engineering techniques for the study of the stability and folding of proteins with biotechnological and biomedical interests. The main objective is the design of novel antimicrobials to tackle current antimicrobial resistance (AMR) issues, as well as the development of new methods for recombinant protein immobilization in multivalent systems.

Chemical multivalence describes the exponential increase in the strength of the interaction between two molecular entities when one or the two of them are displayed in multicopy on a single macromolecular species. Our group aims to study this chemical process applied to protein-ligand interactions, both from the basic point of view as well as for its application in biotechnology and biomedicine. Our main objective is the development of new antimicrobials to fight against the increasingly worrying problem of antimicrobial resistance (AMR), focusing on the bacterial envelope (membrane and cell wall) as the target. Traditionally, the group has been centered on respiratory pathogens such as *Streptococcus pneumoniae* (*pneumococcus*) and *Pseudomonas aeruginosa*, and more recently we have expanded our studies to oral pathogens such as *Streptococcus mutans*. In all cases, our molecular systems are the proteins with the beta-beta solenoid fold, a family of proteins that re-

cognize natural macromolecular substrates with high affinity thanks to chemical multivalence. The laboratory employs biophysical techniques of protein structure, stability, and engineering to develop small organic molecules, peptides, polypeptides, and lytic enzymes ("enzybiotics") with antimicrobial activity. Moreover, the most promising compounds are used to functionalize diverse nanostructures (dendrimers, magnetic nanoparticles, benzene-tricarboxamide polymers, etc.) to multiply their activity thanks to their multivalent properties. On the other hand, the group holds a second research line regarding the use of beta-beta solenoid proteins and other multivalent polypeptides as affinity tags for the immobilization of proteins with biotechnological interest in different supports, from nanoparticles to chromatographic resins.

### Financiación / Funding

- PID2019-105126RB-I00 (AEI)
- PID2022-1392090B-C21 (AEI)
- TED2021-129747B-C22 (AEI)



**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, CIB, CSIC

Jefe de Grupo, 2012, CIB, CSIC

Investigador Científico, 2015, CIB, CSIC

**Otros miembros / Other members**

Irene Guzmán Benito

Malgorzata Ciska

Carmen Robinson Pastor

Montserrat Llorente de Mingó

<https://cib.csic.es/research/microbial-plant-biotechnology/stress-and-gene-regulation>

## Regulación génica y estrés

Las infecciones virales provocan numerosas alteraciones en la célula huésped. Estos cambios son una manifestación de cómo la planta acomoda su metabolismo y activa sus defensas inmunes con el fin de restringir la infección y contrarrestar sus efectos adversos. En nuestro grupo estudiamos los mecanismos de regulación que modulan las respuestas de un huésped frente a la infección viral.

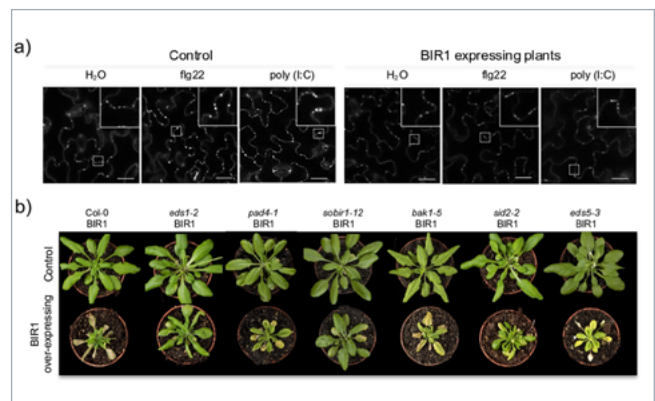
En nuestro grupo investigamos la interacción entre la infección por virus y la inmunidad innata de las plantas. En la naturaleza, las interacciones virus-planta se mantienen en un equilibrio en el que la infección se logra sin causar daño al huésped. Pero si este equilibrio se altera, los virus pueden causar enfermedades devastadoras. En este escenario, la inmunidad de las plantas permite detectar potenciales patógenos y montar respuestas defensivas. Los virus provocan este tipo de respuestas inmunes, que presumiblemente permiten a la planta combatir las infecciones virales. En los últimos años, hemos estudiado el papel de varios (co)receptores y reguladores inmunes en esta respuesta antiviral. Entre ellos, BIR1 es un receptor-quinasa de la membrana celular que actúa como regulador negativo de la inmunidad antiviral. La infección estimula la acumulación de ácido salicílico (SA), y el SA desencadena la activación transcripcional de BIR1. Nuestro trabajo reciente se ha centrado en estudiar la homeostasis de BIR1. La metilación del ADN regula la transcripción de BIR1, mientras que el silenciamiento postranscripcional elimina el exceso de transcritos de BIR1, lo que demuestra que el silenciamiento es un punto de control de la respuesta inmune. La inducción de BIR1 a niveles fisiológicos modula negativamente la inmunidad de las plantas, quizás ayudando a mantener el equilibrio huésped-patógeno. Sin embargo, la expresión no fisiológica de BIR1 provoca fenotipos de crecimiento y muerte celular, y una mala regulación de la inmunidad. Estos fenotipos involucran además a varios reguladores clave de la cascada de señalización inmune, lo que sugiere que BIR1 está protegido por proteínas de resistencia tipo TNL. Recientemente, buscamos nuevas proteínas que interactúen con BIR1 en plantas infectadas y estudiamos cómo los receptores inmunes extracelulares perciben los virus de las plantas y cómo la percepción se conecta con las vías de señalización inmune posteriores.

**Publicaciones seleccionadas / Selected Publications**

- Guzmán-Benito, I.; Robinson, C.; Hua, C.; Sede, A.; Elvira-González, L.; Punzón, I.; Heinlein, M.; Nürnberger, T.; Llave, C. The receptor-like kinase BIR1 inhibits elicitor-induced plasmodesmata callose deposition and PTI gene expression and requires EDS1 and SOBIR1 to cause dose-dependent cell-death in *Arabidopsis*. *BioRxiv* 2023, doi:10.1101/2023.06.23.546234

**Financiación / Funding**

- LINKA20415 (CSIC)
- PID2021-127982NB-I00 (MICINN)
- TED2021-131408B-I00 (MICINN-FEDER)

**Figure 1**

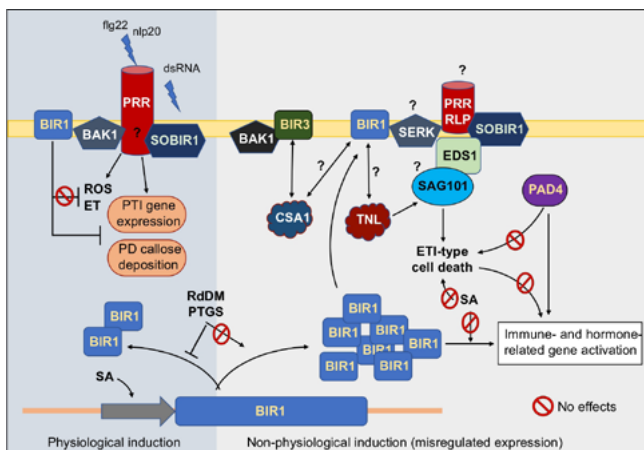
Working model for BIR1 homeostasis. SA-mediated transcription of BIR1 is tuned by RNA-directed DNA methylation (RdDM) and post-transcriptional RNA silencing (PTGS). Regulated BIR1 induction alters pattern-triggered immunity (PTI) gene expression and plasmodesmata (PD) callose deposits triggered by elicitors. BIR1 misregulation causes EDS1- and SOBIR1-dependent cell death and immune over-activation. CSA1 is a candidate TNL receptor sensing BIR1 integrity.

## Stress and gene regulation

**A compatible virus infection causes significant changes in the host physiology. These alterations are a primarily manifestation of how the cell accommodates its metabolism and activates plant immune defenses to counteract the adverse effects caused by the virus. In our group, we try to understand the underlying mechanisms regulating virus-induced responses in plants.**

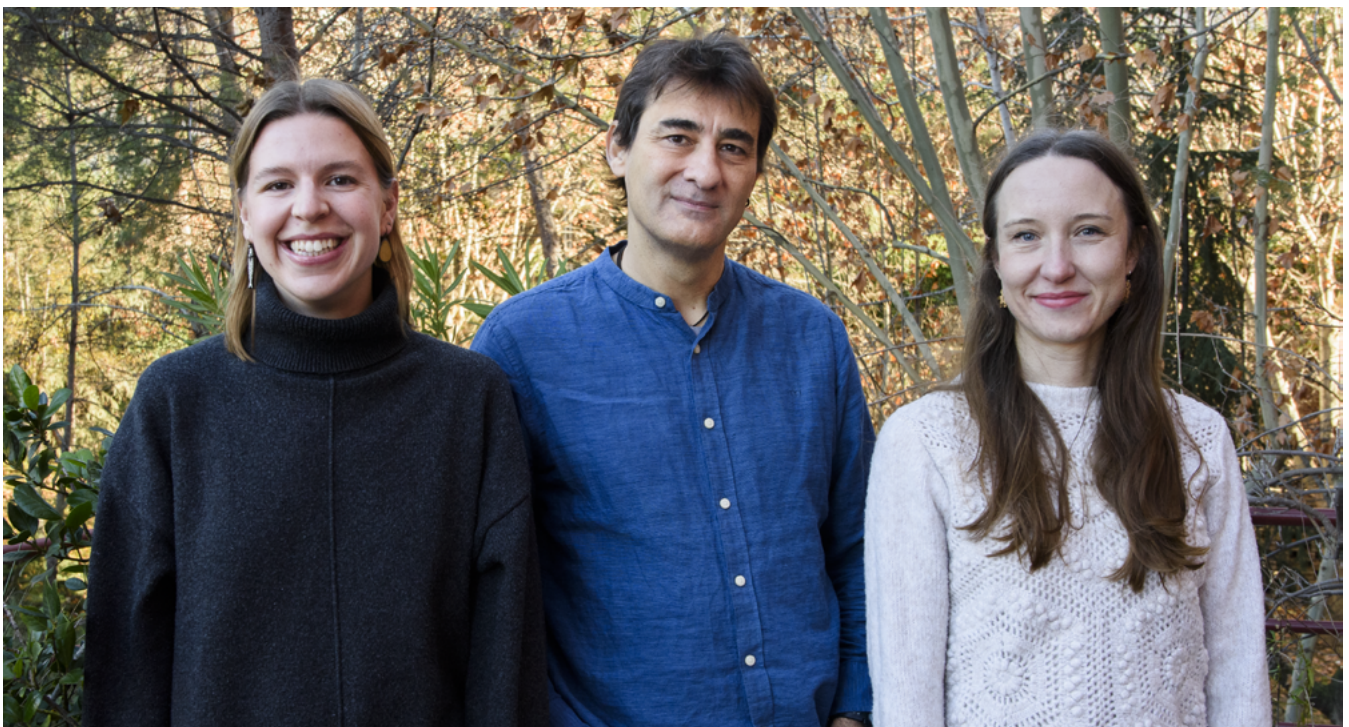
In our group, we investigate the crosstalk between virus infection and plant innate immunity. While normal, coevolved interactions of viruses with the host plant are optimally balanced such that infection is achieved without causing damage to the host, but viruses may cause dangerous outbreaks and disease if this subtle equilibrium is disturbed. Plant immunity allows us to perceive non-self and mount responses to keep microbes in check. Viruses elicit immune responses in plants, which presumably also contribute to combat viral infections. In the last few

years, we used reverse genetics to study the role of multiple immune (co)receptors and immune regulators in this antiviral response. Among them, we identified the cell-surface receptor-like kinase BIR1 as a negative regulator of antiviral immunity. Virus infection stimulates the accumulation of salicylic acid (SA), and SA triggers transcriptional activation of BIR1. Since BIR1 is important for immune attenuation, our recent work studied the mechanisms of BIR1 homeostasis. We found that DNA methylation regulates BIR1 transcription, while post-transcriptional RNA silencing removes the excess of BIR1 transcripts, proving that RNA silencing is a checkpoint of the immune response. We further explored the consequences of BIR1 induction. BIR1 induction at physiological levels modulates plant immunity, perhaps helping to maintain a host-pathogen equilibrium. Non-physiological expression of BIR1, however, causes growth and cell death phenotypes, and misregulation of immunity. These phenotypes further involve several key regulators of the immune signaling cascade, which suggests that BIR1 is guarded by unknown TNL-type resistant proteins. Recently, we searched for novel BIR1-interacting proteins in infected plants and studied how plant viruses are perceived by extracellular immune receptors and how the perception of plant viruses connects to the downstream immune signaling pathways.



**Figure 2**

Phenotypes associated with BIR1 induction at physiological (a) and non-physiological levels (b) in transgenic Arabidopsis. BIR1 expression reduced callose deposition at the plasmodesmata triggered by bacterial flg22 and dsRNA-analog poly (I:C), relative non-expressing controls (a). BIR1 overexpression caused cell death that is partially suppressed in loss-of-function eds-12 and sobir1-12 mutants (b).



**Servicios científicos**

*Scientific facilities*

- 134 Cultivo de Células Animales /  
*Cell Culture*
- 135 Animalario /  
*Animal Facility*
- 136 Bioinformática y Bioestadística /  
*Bioinformatics and Biostatistics*
- 137 Cromatografía y Espectrometría de Masas /  
*Chromatography and Mass Spectrometry*
- 138 Diagnóstico Genético Molecular  
de Complemento /  
*Complement Genetics and Molecular  
Analysis Laboratory*
- 139 Microscopía Electrónica /  
*Electron Microscopy*
- 140 Citometría de Flujo /  
*Flow Cytometry*
- 141 Invernadero /  
*Glasshouse*
- 142 IBISBA-Biotecnología industrial /  
*IBISBA-Industrial Biotechnology*
- 143 Microscopía Láser Confocal y  
Multidimensional *in vivo* /  
*Confocal Laser and in vivo  
Multidimensional Microscopy*
- 144 Biblioteca y Documentación /  
*Library and Documentation*
- 145 Cristalografía de Macromoléculas /  
*Macromolecular Crystallography*
- 146 Interacciones Moleculares /  
*Molecular Interactions*
- 147 Resonancia Magnética Nuclear /  
*Nuclear Magnetic Resonance*
- 148 Fotografía y medios audiovisuales /  
*Photography and audiovisual media*
- 149 Química de Proteínas /  
*Protein Chemistry*
- 150 Proteómica y Genómica /  
*Proteomics and Genomics*
- 151 Protección Radiológica (SPR) /  
*Radiation Safety (RS)*
- 152 Espectroscopía /  
*Spectroscopy*
- 153 Esterilización, Cocina de Medios y  
Limpieza de Material /  
*Sterilization, Culture Media  
Preparation and Labware Washing*

**Responsable Científico / Head Scientist**

Teresa Suárez González

**Responsables Técnicos / Head Technicians**

M. Carmen Doñoro Vázquez

**Otros miembros / Other members**

Zahira Corrales del Villar  
 Laura Benito de Benito  
 Sandra Serrano del Hoyo  
 Carolina Navas Jiménez



**W** <http://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/animal-cell-culture>  
<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/servicio-de-cultivo-de>

## Cultivo de Células Animales

El Servicio de Cultivo de Células Animales del CIB Margarita Salas presta apoyo científico-técnico tanto a grupos del centro como a grupos externos. Las dependencias generales del Servicio se encuentran en la planta sótano, sala S-29. En ella, los usuarios tienen a su disposición los equipos básicos necesarios para el cultivo de células animales: cabinas de flujo laminar, incubadores de CO<sub>2</sub>, centrifugas, microscopios, baños, etc. Para el cultivo de microorganismos existen dos laboratorios específicos en la tercera planta. Las tres instalaciones son laboratorios de nivel dos de contención biológica (NCB2). El personal del Servicio se encarga de supervisar las instalaciones de cultivos, seleccionar la reserva de suero fetal bovino para el almacén general del centro y, bajo petición, puede, por ejemplo, detectar/eliminar contaminaciones por micoplasmas, mantener en cultivo distintas líneas celulares y crecer hibridomas para obtener sobrenadantes. Además, se ofrece acceso a los analizadores XF HS Mini y XFe24 (Agilent-Seahorse) para la caracterización bioenergética de líneas celulares donde se pueden realizar experimentos en condiciones estándar y/o conforme a las especificaciones definidas por los usuarios.

Para consultar disponibilidad del Servicio contactar con: [cclulas@cib.csic.es](mailto:cclulas@cib.csic.es) / extensión 442796

## Animal Cell Culture

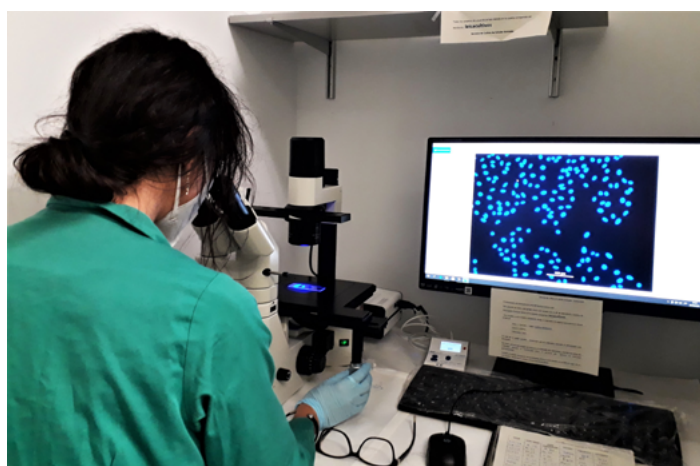
*The CIB Animal Cell Culture Facility gives scientific and technical support to both CIB Margarita Salas and external groups.*

*The Animal Cell Culture Facility is located on the basement floor, room S-29, where all users have the basic equipment needed for cell culture: laminar flow cabinets, CO<sub>2</sub> incubators, centrifuges, microscopes, baths, etc.*

*There are also two microorganism culture facilities located on the third floor. All of them are laboratories with level two of biological containment.*

*The staff of the CIB Cell Culture Facility is in charge of the supervision of the whole area, the selection of the fetal bovine serum batch for general use, and, under request, they provide detection/elimination of mycoplasma contamination; keep different cell lines in culture and can grow hybridomas to obtain supernatants. In addition, the Facility offers access to the analyzers XF HS Mini and XFe24 (Agilent-Seahorse) for the bioenergetic characterization of cell lines and perform experiments under standard conditions and/or according to the users' specifications.*

*To check the availability of the Service, contact [cclulas@cib.csic.es](mailto:cclulas@cib.csic.es) / extension 442796*



*Observation of a Hoechst 33258 staining with the fluorescence microscope Leica DMIL LED to check the absence of contamination by mycoplasma.*



**Responsable Científico / Head scientist**

Catalina Hernández Sánchez

**Responsable Técnico / Head technician**

Angélica Horrillo Ledesma  
 María Herrera Hernández

**Veterinaria Designada / Official Veterinarian**

Angélica Horrillo Ledesma

**Otros miembros / Other members**

Esther Sánchez Jiménez	Aroa Carnero Almeida
Francisco Casado Robledillo	Óscar Montes Carrasco
Carolina Navas Jiménez	María Tijero Martín
Marta Cereceda Díaz	Arantxa Manso Torres
Montse Manzanás Cortés	Jessica Gaspar Navarro
Laura García-Ubero Marcos	Neera Barneto Mata



<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/animal-facility>

## Servicio de Animalario

Los animales de experimentación contribuyen de modo decisivo al avance de la ciencia, utilizándose en casi todos los campos de investigación ya que sirven como modelos de numerosas enfermedades humanas, aportando información clave sobre sus procesos genéticos y fisiopatológicos. Entre las numerosas especies animales que se utilizan destaca el ratón (*Mus musculus*) que presenta una gran similitud genética y fisiológica con el ser humano, existiendo herramientas para editar su genoma que permiten el estudio genético y de diversas morbilidades humanas.

La Unidad de Animalario del CIB Margarita Salas es una unidad multidisciplinar responsable del mantenimiento de diversas líneas murinas y de la realización de procedimientos englobados en el marco de proyectos de experimentación animal. La Unidad realiza actividades científico-técnicas de apoyo tanto a grupos de investigación del centro como a grupos externos, asegurando en todo momento la aplicación del Principio de las 3Rs (reducción, refinamiento, reemplazo) y respetando siempre la legislación vigente en materia de cuidado de los animales.

## Animal Facility

*Experimental animals contribute decisively to the advancement of science, being used in almost all fields of research since they serve as models of numerous human diseases, providing key information about their genetic and pathophysiological processes. Among the multiple animal species used, the mouse (*Mus musculus*) stands out, as it has a great genetic and physiological similarity to humans and there are tools to edit its genome, that allow the genetic study and the study of various human morbidities.*

*The CIB Animal Facility is a multidisciplinary unit responsible for the maintenance of various murine lines and the performance of procedures included within the framework of animal experimentation projects. The Facility carries out scientific-technical activities to support both the Center's research groups and external groups, ensuring the application of the 3Rs Principle (reduction, refinement, replacement) and always respecting the current legislation on animal care.*

**Responsable Científico / Head scientist**

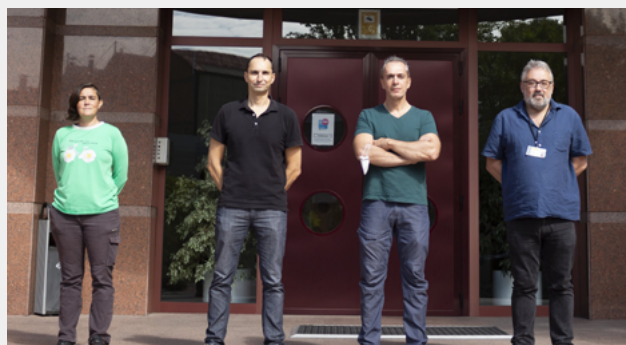
Fernando Díaz Pereira

**Responsable Técnico / Head technician**

Mario García de Lacoba

**Otros miembros / Other members**Ruth Matesanz Rodríguez  
Guillermo Padilla Alonso

**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/bioinformatics-and-biostatistics>  
<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/bioinformatica-y>



## 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 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 de los conceptos básicos del experimento (unidad experimental, muestras, réplicas, fuentes de variación, etc.).
- Análisis estadístico de datos con apoyo teórico de su interpretación, usando preferentemente el software estadístico R en entorno GNU/Linux.

### D. Soporte a los usuarios en el acceso a los recursos de computación científica: clúster Citron (CIB Margarita Salas), clúster Drago (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*).

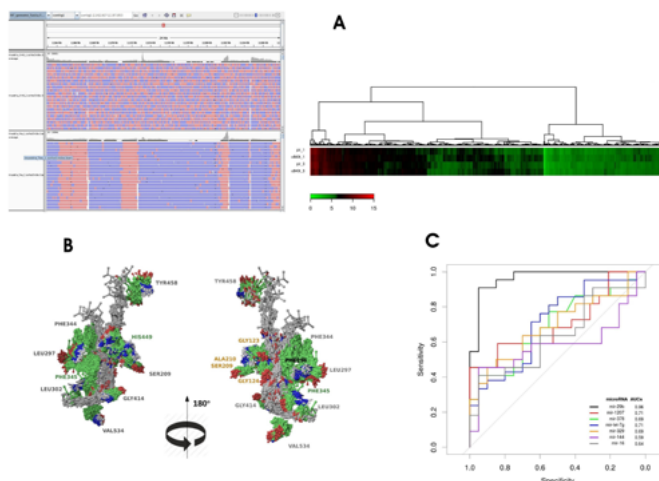
### B. Sequence Analysis and Structure prediction service

- Analysis of biological sequences.
- Microarray data analysis and functional enrichment.
- 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.).
- Statistical analysis of data with theoretical support and interpretation of its results, preferably using the R statistical software for Linux computing platforms.

### D. Supporting users to access the scientific computational resources: Accessing the Citron (CIB Margarita Salas) and Drago (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.

**Responsible Científico / Head scientist**

Alicia Prieto Orzanco

**Responsables Técnicos / Head Technicians**Leonor Rodríguez Sánchez  
Virginia Rivero Buceta**Otros miembros / Other members**Mercedes Sánchez Carmona  
Irene Muñoz Aragón  
Irene Sánchez de Rojas Juaristi  
Rosa María Peces Pérez<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/chromatography-and-mass-spectrometry><https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/cromatografia-y>

## Cromatografía y Espectrometría de Masas

Desde noviembre de 2023, el anterior Servicio de Cromatografía de Gases pasa a denominarse Servicio de Cromatografía y Espectrometría de Masas del CIB Margarita Salas (CEM-CIB), al ampliarse la oferta de prestaciones a usuarios internos o externos con nuevas técnicas de HPLC y HPLC/MS.

Equipos:

Cromatógrafos de gases (GC) Agilent.

- GC INTUVO 9000 con FID.
- 7890A con automuestreador de espacio de cabeza 7697A, detectores FID y TCD.

Sistemas GC-MS Agilent.

- INTUVO-MS5977B Inert Plus MSD Turbo.
- 7980A-5975C

GPC/SEC Agilent para análisis en cloroformo.

2D-LC/Q-TOF Agilent 1260 INFINITY II-6546 LC/Q-TOF.

HPLC preparativa. Agilent 1260 INFINITY II y ÄKTA pure 150M (Cytiva).

## Chromatography and Mass Spectrometry

Since November 2023, the former Gas Chromatography facility has been renamed as the Chromatography and Mass Spectrometry facility, as the offer of services to internal or external users is expanded with new HPLC and HPLC/MS techniques.

Instruments:

Gas chromatographs (GC) Agilent.

- GC INTUVO 9000 with FID.
- 7890A with 7697A headspace autosampler, FID, and TCD detectors.

GC-MS Systems Agilent.

- INTUVO-MS5977B Inert Plus MSD Turbo.
- 7980A-5975C.

GPC/SEC Agilent for analysis in chloroform.

2D-LC/Q-TOF Agilent 1260 INFINITY II-6546 LC/Q-TOF.

Preparative HPLC. Agilent 1260 INFINITY II and ÄKTA pure 150M (Cytiva).

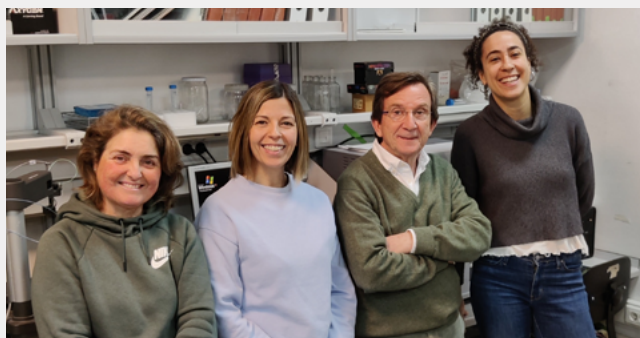


**Responsable Científico / Head Scientist**

Santiago Rodríguez de Córdoba

**Otros miembros / Other members**Andrea Reparaz Suevos  
Asunción Díaz Carrasco

**W** <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 con un valor estratégico dentro del Sistema Nacional de Salud.

D-COM realiza estudios genéticos y moleculares completos del sistema de complemento solicitados por médicos de instituciones públicas o privadas, dentro y fuera de España. Estos estudios incluyen el cribado de todos los genes del complemento mediante secuenciación masiva paralela de ADN (NGS) y secuenciación de ADN por 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 se realiza 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.

The figure represents the genetic risks of developing aHUS (penetrance) throughout life for individuals carrying different pathogenic loads: 1 or 2 mutations in complement genes, with and without risk polymorphisms (MCPggaac or CFH-H3) added.

[Adapted from "The familial risk of developing atypical Hemolytic Uremic Syndrome". Arjona E., Huerta A., Goicoechea de Jorge E., and Rodríguez de Córdoba S. *Blood*. doi.org/10.1182/blood.2020006931]

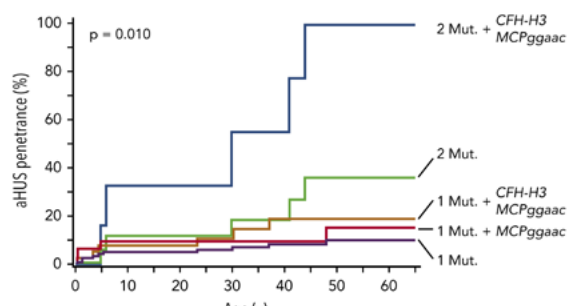
## Complement Genetics and Molecular Analysis Laboratory

The Complement Genetics and Molecular Analysis Laboratory (D-COM) is an international reference laboratory in the physiopathology of complement with 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) using 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 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 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 an assessment of the case is made, 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.



**Responsible Científico / Head Scientist**

Ernesto Arias Palomo

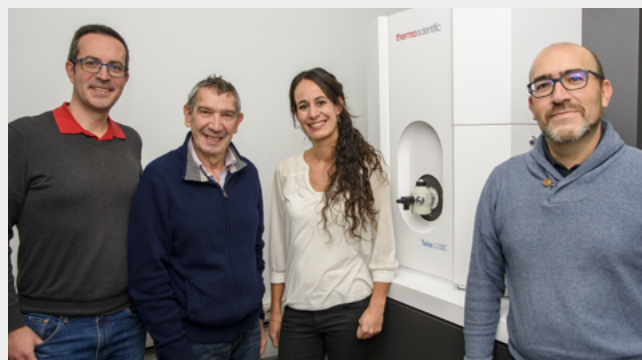
**Responsible Técnico / Head Technician**

José Fernando Escolar Antúnez

**Otros miembros / Other members**

Begoña Pou Alonso

Rafael Núñez Ramírez

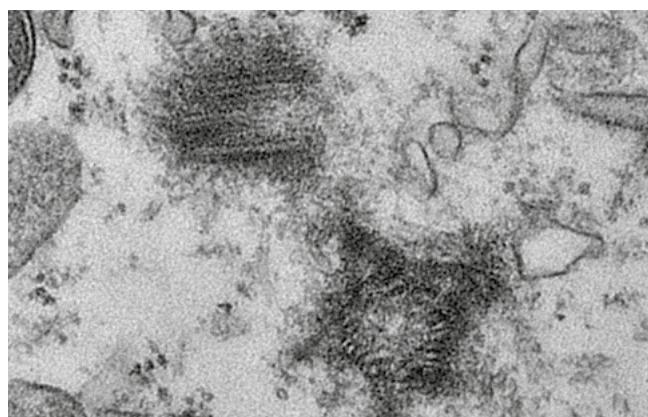
<http://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/electron-microscopy>

## Microscopía Electrónica

El Servicio de Microscopía Electrónica (SME) proporciona apoyo científico-técnico para realizar el análisis estructural de muestras biológicas. El SME está equipado con dos microscopios electrónicos de transmisión (TEM), un JEOL JEM-1230 de 120kV con una cámara digital CMOS TemCam-F416 TVIPS y un Thermo Fisher Talos L120C con una cámara CETA-F. El SME también cuenta con un equipo de vitrificación FEI Vitrobot™, tres crioportamuestras GATAN (modelos 626 y 910 multi espécimen), un equipo Glow Discharge Quorum GloQube de doble cámara, así como el equipamiento necesario para llevar a cabo el procesamiento y análisis de muestras por técnicas convencionales y de criomicroscopía.

El SME procesa todo tipo de muestras biológicas, tanto celulares como tisulares, para su preparación por ultramicrotomía y su estudio ultraestructural. También permite el análisis de complejos macromoleculares y nanopartículas por tinción negativa y criomicroscopía electrónica.

Además, el SME forma parte del Servicio de Crio-Microscopía Electrónica (CryoEM), una plataforma iniciada por el Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) junto con el Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas. Este servicio está especializado en la preparación de muestras y toma de datos de alta resolución por criomicroscopía electrónica. Entre otro equipamiento, 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.



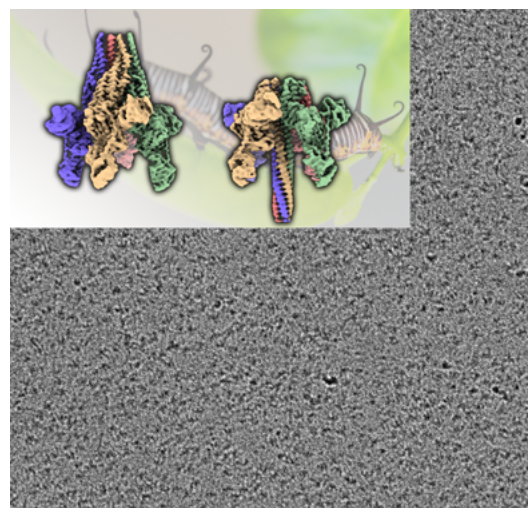
*Diplosome: a pair of centrioles arranged perpendicularly (sample processed by the EMF).*

## Electron Microscopy

The electron Microscopy Facility (EMF) provides scientific and technical support to analyze the ultra-structure of biological samples. The EMF is equipped with two transmission electron microscopes, a 120kV JEM-1230 JEOL with a CMOS TemCam-F416 TVIPS digital camera, and a Thermo Fisher Talos L120C with a CETA-F camera. The EMF is also equipped with a Vitrobot™ FEI cryo plunge, three GATAN cryo holders (626 and multi specimen 910), a Glow Discharge Quorum GloQube, as well as all the equipment required for the analysis of the samples by conventional and cryo-electron microscopy techniques.

The EMF has experience in processing a broad variety of biological materials, such as multiple types of cells and tissues, using ultramicrotomy sectioning and ultrastructural analysis. Moreover, the EMF can analyze nanoparticles and macromolecular complexes by negative stain and cryo-electron microscopy.

In addition, the EMF belongs to the Cryo-Electron Microscopy (CryoEM) Service, a joint effort between the Centro Nacional de Biotecnología (CNB-CSIC) and CIB Margarita Salas, which is particularly focused on sample preparation and image collection for CryoEM. The facility hosts, among other equipment, a 200kV FEI Talos Arctica equipped with an autoloader and a Falcon III direct electron detector, which is ideally suited for the collection of large amounts of high-resolution data.



*Cryo-EM image of the B. thuringiensis insecticidal protein Vip3Aa (sample provided by Ernesto Arias).*

**Responsable Científico / Head Scientist**

Pedro Lastres Varo

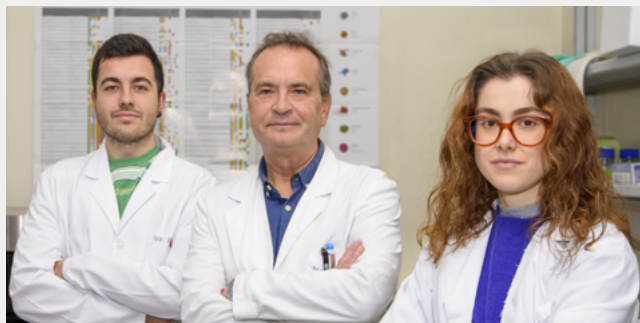
**Otros miembros / Other members**

Patricia Yagüe Fernández

Rodrigo Sánchez Tarjuelo

**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/flow-cytometry>

<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/citometria-de-flujo-0>



## 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 los siguientes equipos:

- 1- Analizador CYTOFLEX-S (Beckman-Coulter): excitación violeta, azul, amarillo-verde y rojo; emisión fluorescente en el rango 450-800 nm (trece detectores). Instalado en enero de 2019
- 2- Analizador espectral AURORAL 4L (Cytek): excitación violeta, azul, amarillo-verde y rojo; emisión fluorescente en el rango 450-800 nm (capacidad máxima de detección de 30 fluorocromos). Este analizador es la última adquisición instalada en el servicio, en marzo de 2022, como complemento a la citometría "convencional" en la que se basa el equipo mencionado más arriba (Cytoflex-S)
- 3- Separador (*cell sorter*) FACSAria Fusion (Becton-Dickinson): excitación violeta, azul, amarillo-verde y rojo; emisión fluorescente en el rango 450-800 nm (dieciséis detectores). Instalado en diciembre de 2020

Además de estos equipos, el Servicio está dotado de las herramientas informáticas de uso más común en instalaciones similares: FlowJo, Kaluza, Diva, Cytexpert y Flowlogic.

Este servicio es utilizado de forma rutinaria por veinte grupos de trabajo aproximadamente (tanto del CIB Margarita Salas como externos). Algunas de las aplicaciones en análisis y/o separación que se llevan a cabo son:

- Inmunofenotipaje (básico y paneles).
- Caracterización de transfectantes.
- Estudios de ciclo y proliferación celular.
- Ensayos de viabilidad y muerte celular (apoptosis y necrosis).
- Ensayos funcionales: Producción de ROS, estudios del potencial mitocondrial, flujos de  $Ca^{2+}$ , etc.
- Diferentes tipos de estudios estructurales, funcionales o biotecnológicos con microorganismos (bacterias, levaduras, protozoos, etc.)

## Flow Cytometry

*Flow Cytometry Facility is focused on giving support to the research groups employing this technique in their work. To achieve this objective, we work in the Facility at three different levels:*

- 1- *Experimental design of analytic assays and cell sorting experiments*
- 2- *User training for the management of analytical cytometer*
- 3- *Data analyses*

*The service is currently equipped with the following equipment:*

- 1- *CYTOFLEX-S Analyzer (Beckman-Coulter): excitation violet, blue, yellow-green, and red; fluorescent emission in the 450-800 nm range (thirteen detectors). Installed in January 2019*
- 2- *AURORA 4L Analyzer (Cytek): excitation violet, blue, yellow-green, and red; able to analyze simultaneously more than thirty fluorescent signals. This analyzer is the latest acquisition installed in the facility, in March 2022, as a complement to the Cytoflex-S (mentioned above) which is based on "conventional" cytometry.*
- 3- *Separator (cell sorter) FACSAria Fusion (Becton-Dickinson): excitation violet, blue, yellow-green, and red; fluorescent emission in the 450-800 nm range (sixteen detectors). Installed in December 2020*

*In addition to this equipment, the service has the most common computer tools used in similar facilities: FlowJo, Kaluza, Diva, Cytexpert and Flowlogic.*

*This service is used routinely by approximately twenty research groups, (both from the CIB Margarita Salas and other institutions). Some of the applications in analysis and/or separation that are carried out are:*

- *Immunophenotyping (basic and panels).*
- *Characterization of transfectants.*
- *Cell cycle and proliferation studies.*
- *Cellular death and viability assays (apoptosis and necrosis).*
- *Functional experiments: ROS production, mitochondrial potential studies,  $Ca^{2+}$  fluxes, etc.*
- *Structural, functional, or biotechnological studies with microorganisms (bacteria, yeasts, protozoa, etc.).*

**Responsable Científico / Head Scientist**

Tomás Canto Ceballos

**Responsable Técnico / Head Technician**

Luis Guaita (hasta diciembre de 2023)

Álvaro Rainero (desde enero de 2024)

<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/glasshouse>*External view of the CIB's glasshouse facility*

## Invernadero

El invernadero del CIB Margarita Salas consta de ocho cubículos para el mantenimiento de plantas, además de un área común de trabajo y de control situada en su entrada. 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.

Información adicional sobre el Servicio, así como sobre tarifas aplicables está disponible en la web.

## Glasshouse

*The glasshouse at CIB Margarita Salas 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 authorized to work 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.*

*Further information on the Service, as well as on applicable charges for its use are available at the web.*

**Responsable Científico / Head Scientist**

José Luis García López

**Responsable Técnico / Head Technician**

Jorge Barriuso Maicas

<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/ibisba-industrial-biotechnology>

<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/ibisba-biotecnologia-industrial-cib>



## Servicio IBISBA-Biotecnología Industrial

El servicio IBISBA-Biotecnología Industrial tiene como objetivo proporcionar herramientas de diseño y fabricación avanzadas para acelerar el desarrollo de la biotecnología industrial para la producción sostenible de productos de interés. En particular ofrece el diseño *in vivo* de microorganismos de interés industrial mediante ingeniería genética y metabólica, así como el diseño de proteínas a la carta. El servicio IBISBA-Biotecnología Industrial ofrece las siguientes prestaciones:

1. Consultoría y diseño integral: asesoramiento para la mejora del desarrollo de microorganismos y proteínas de interés.
2. Construcción de cepas como biofactorías: microorganismos a la carta para la producción biotecnológica de compuestos de interés industrial mediante tecnologías de modificación genética.
3. Test de microorganismos productores: optimización de las condiciones de fermentación con el microorganismo productor a escala de laboratorio, así como la producción, extracción y purificación del compuesto de interés industrial.
4. Desarrollo de procesos de biotransformación con biocatalizadores: desarrollo de procesos biotecnológicos de producción de compuestos de interés basados en procesos de biotransformación.

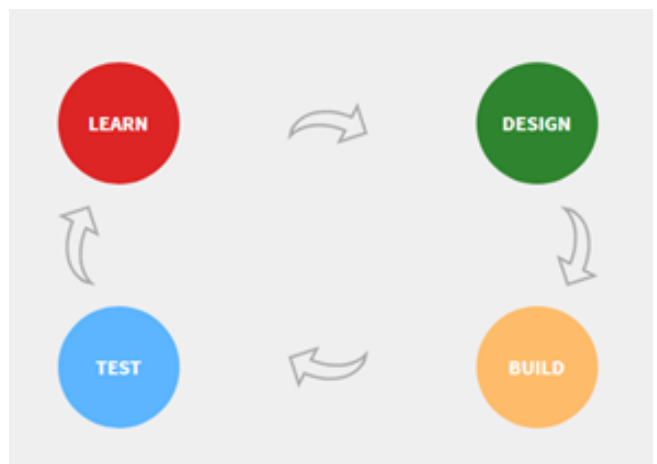


A circular bioeconomy enabled by low carbon, low environmental footprint biobased technologies addressing the needs of a large cross-section of market sectors.

## IBISBA-Industrial Biotechnology Facility

The IBISBA-Industrial Biotechnology facility aims to provide advanced design and manufacturing tools to accelerate the development of industrial biotechnology for the sustainable production of value-added products of interest. In particular, it offers the *in vivo* design of microorganisms of industrial interest through genetic and metabolic engineering, as well as custom protein design. The IBISBA-Industrial Biotechnology service offers the following services:

1. Consulting and integral design: advice for the improvement and development of microorganisms and proteins of interest.
2. Construction of strains as biofactories: à la carte microorganisms for the biotechnological production of compounds of industrial interest through genetic modification technologies.
3. Test of producing microorganisms: optimization of the fermentation conditions on a laboratory scale, as well as the production, extraction and purification of the compound of industrial interest.
4. Development of biotransformation processes with biocatalysts: development of biotechnological processes for the production of compounds of interest based on biotransformation processes.



DBTL-cycle in Synthetic Biology



**Responsable Científico / Head Scientist**

Miguel Angel Peñalva Soto

**Responsable Técnico / Head Technician**M<sup>a</sup> Teresa Seisdedos Domínguez**Otros miembros / Other members**M<sup>a</sup> Gema Elvira Serrano

**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/laser-confocal-and-multidimensional-vivo-microscopy>  
<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/microscopia-laser>



## Microscopía Confocal y Multidimensional *in vivo*

**Equipamiento del Servicio:**

- Microscopio confocal Láser (CLSM) LEICA TCS SP8 STED 3X.
- Microscopio Laser Confocal espectral (CLSM) Leica TCS SP5
- Microscopio de campo ancho DMi8 de Leica con cámara Orca-Flash 4.0 LT Digital CMOS, equipada con un divisor de haz (W-View Gemini) y con un tándem de filtros para GFP y mCherry.
- Sistema multidimensional de microscopía avanzada de fluorescencia de alta velocidad para observación *in vivo* Leica AF6000 LX.
- Microscopio THUNDER *imager 3D Tissue*. Microscopio directo para escanear muestras de tejidos en 3D. Aclaramiento computacional instantáneo y algoritmos de deconvolución específicos para muestras finas y gruesas.
- Sistema de microfluídica CELLASIC ONIX2
- Cámara CCD Leica DFC350 FX sobre MO Zeiss Axioplan
- Estereomicroscopio de fluorescencia Leica MZ16 FA con cámara en color Leica DFC490
- Estación de trabajo de análisis y procesamiento de imagen con distintos programas, incluido Metamorph offline y Huygens para deconvolución y análisis de colocalización. Sistema de almacenamiento de datos centralizado, accesible desde la Intranet del Centro.

En 2013 el laboratorio fue certificado conforme a la norma ISO 9001 por AENOR: "La asistencia técnica en la adquisición de imágenes de microscopía confocal mediante los equipos Leica TCS SP5 y TCS SP8 STED 3X"

El Servicio ha colaborado en la formación de personal técnico especializado en mantenimiento, manejo de los equipos y programas de análisis de imagen, habiendo participado en diversos cursos de doctorado y de especialización, y muy especialmente en la organización de actividades para acercamiento a las múltiples posibilidades de estas técnicas de biología analítica. Igualmente se ha colaborado con el Gabinete de formación del CSIC con la impartición de los cursos "Microscopía Confocal y Multidimensional *in vivo*: Fundamentos y aplicaciones" y "Curso básico de procesamiento de imágenes para microscopía ImageJ/Fiji", anualmente.

El laboratorio pertenece a la Red Española de Microscopía Óptica Avanzada (REMOA) y a la Red de Laboratorios e infraestructuras de la Comunidad de Madrid: <https://mcyt.educa.madrid.org/laboratorios/busquedas/comun/FichLab.asp?Clabo=332>

## Confocal and *in vivo* Multidimensional Microscopy

**Equipment available in the facility:**

- *Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM) LEICA TCS SP8 STED 3X*
- *Confocal Laser Scanning Microscope (CLSM) LEICA TCS SP5*
- *Widefield Microscope DMi8 Leica with Orca-Flash 4.0 LT Digital CMOS camera, this one fitted with image splitting optics (W-VIEW GEMINI), which provides one pair of dual wavelengths (GFP/mCherry)*
- *Widefield Multidimensional Microscopy System Leica AF6000 LX for live cell imaging (epifluorescence and transmitted light).*
- *THUNDER Imager 3D Tissue microscope. Directed microscope with scanning stage for fluorescent imaging of 3D tissue sections. Real-time computational clearing and specific deconvolution algorithms for thick and thin samples.*
- *CellASIC™ ONIX Microfluidic Platform*
- *Leica CCD camera DFC350 FX on an LM Zeiss Axioplan.*
- *Stereo Microscope Leica MZ16 FA with color camera Leica DFC490*
- *The facility also hosts an independent image workstation equipped with different software, including Metamorph offline and Huygens for image analysis and data output.*

*In 2013 this Facility was granted with the ISO 9001 by AENOR: "Technical assistance in the acquisition of confocal microscopy images using microscope equipment Leica TCS SP5 and TCS SP8 STED 3X".*

*The facility has contributed to the training of technicians in the maintenance and handling of equipment and the use of image analysis software packages. The facility also contributes to the organization of courses for Ph.D. students and specialists, and to lectures aimed at promoting techniques of analytical biology. We collaborate with the Training Department of CSIC in the courses "Confocal Microscopy and Multidimensional *in vivo*: Fundamentals and Applications" and "Basic Microscopy Image Processing Course by ImageJ/Fiji", which are held every year.*

*The facility belongs to the Spanish Network for Advanced Optical Microscopy (REMOA) and the laboratory network of the Community of Madrid:*

*<https://mcyt.educa.madrid.org/laboratorios/busquedas/comun/FichLab.asp?Clabo=332>*

**Responsable Científico / Head scientist**

Pedro García González (hasta junio 2022)  
Ernesto Arias Palomo (desde junio 2022)

**Responsable Técnico / Head technician**

Elena Tomé Sanz

**Otros miembros / Other members**

Milagros Rodríguez Bueno  
Miguel Soto Estébanez

 <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/library>



## Biblioteca y Documentación

La Biblioteca del Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas está considerada como una referencia en Biología y Biomedicina en España por la calidad y extensión de su colección multidisciplinar (13.000 libros y 1.400 revistas). Está integrada en la Red de Bibliotecas del CSIC y su actividad prioritaria es el apoyo a la investigación en el CIB mediante la prestación de servicios a nuestra comunidad científica.

**Servicios:**

- Préstamo personal e interbibliotecario.
- Gestión de la colección impresa y electrónica en la Biblioteca Virtual del CSIC.
- Gestión y depósito de la producción científica del CIB Margarita Salas en el Repositorio Institucional Digital.CSIC mediante el Servicio de Archivo Delegado (SAD).
- Servicio de Bibliometría como apoyo a la Dirección del CIB Margarita Salas y a los investigadores del centro, mediante la herramienta Gesbib.
- Difusión e información en redes sociales: X, Instagram y Facebook.
- Reprografía y encuadernación.
- Preservación y restauración de fondos.
- Sala de lectura.

**Otras actividades:**

- Legado Dr. Marañón: consulta, reproducción y préstamo para investigación y exposiciones.
- Visitas guiadas externas en la Semana de la Ciencia, Ciencia en el barrio (CSIC) y privadas.
- Celebración del Día del Libro y Día de la Biblioteca.
- Taller formativo impartido en el Máster en Biología Sintética Integrativa (MISB, CSIC-UIMP).
- Custodia del archivo científico de la SEBBM.

## Library and documentation

The CIB Margarita Salas Library is considered as the reference library in Spain in Biology and Biomedicine for its multidisciplinary collection (13,000 books and 1,400 journals). It is part of the CSIC Libraries Network and its activity is focused on the support to research at the CIB by providing service to our scientific community.

**Services:**

- Personal and interlibrary loan.
- Collection management, both printed and e-collection, contributing to the CSIC Virtual Library.
- Management and deposit of the CIB Margarita Salas' scientific production in the CSIC Digital Institutional Repository DIGITAL.CSIC through the Delegated Archive Service (SAD).
- Bibliometrics service to support the CIB management and researchers with GesBib as a support tool.
- Information dissemination on social networks (X, Instagram, and Facebook).
- Reprographics and binding.
- Preservation and restoration of documents.
- Reading room.

**Other activities:**

- Legacy of Dr. Marañón: consultation, reproduction and loan for research and exhibitions.
- External guided tours during Science Week, Science in the neighbourhood (CSIC program) and private visits.
- Book Day and Library Day Commemorations.
- Training workshop given at the Master's Degree on Integrative Synthetic Biology (CSIC-UIMP).
- Custody of the SEBBM scientific archive.



Reading room with book exhibition during Science Week

**Responsable Científico / Head Scientist**

Antonio Romero Garrido

**Responsable Técnico / Head Technician**F<sup>o</sup> Javier Medrano Martín

**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/macromolecular-crystallography>  
<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/servicios/cristalizacion-de-macromoleculas>

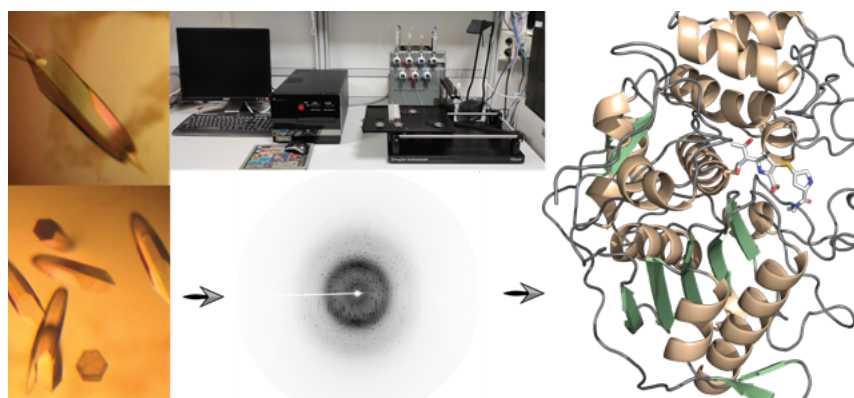


## Cristalografía de Macromoléculas

Este servicio realiza labores de apoyo para la cristalización de macromoléculas (proteínas y ácidos nucleicos) y la resolución de su estructura tridimensional. El servicio cuenta con dos robots: un Cartesian HoneyBee (Genomic Solutions) y un Oryx4 (Douglas Instruments) para la preparación de las placas de cristalización. Además, disponemos de un dispensador de líquidos Freedom EVO (Tecan). Existen cámaras termostatazadas a 22 °C y a 4 °C para la incubación de las placas y lupas para la observación de los cristales. La cristalografía de macromoléculas es una técnica que permite resolver la estructura tridimensional de estas macromoléculas. El tipo de macromoléculas con las que se trabaja son: proteínas, complejos proteicos, complejos proteína-ligando y proteína-inhibidor, y complejos proteína-ácidos nucleicos. Realizamos medidas de difracción de rayos-X en sincrotrones europeos y, posteriormente, tratamos los datos y resolvemos la estructura tridimensional de estas macromoléculas. Estas estructuras nos permiten obtener información sobre la función y la relación estructura-función de las macromoléculas en estudio.

## Macromolecular Crystallography

*This service carries out support tasks for crystallizing macromolecules (proteins and nucleic acids) and the resolution of their three-dimensional structure. The service has two robots: a Cartesian HoneyBee (Genomic solutions) and an Oryx4 (Douglas Instruments) for the preparation of the crystallization plates. In addition, we have a Freedom EVO (Tecan) liquid dispenser. There are thermostated chambers at 22 °C and 4 °C for the incubation of the plates and microscopes for observing the crystals. Macromolecular crystallography is a technique that allows us to solve the three-dimensional structure of these macromolecules. The types of macromolecules that we work on are proteins, protein complexes, protein-ligand and protein-inhibitor complexes, and protein-nucleic acid complexes. We perform X-ray diffraction measurements at European synchrotrons and subsequently process the data and solve the three-dimensional structure of these macromolecules. These structures allow us to obtain information about the function and structure-function relationships of the macromolecules under study.*



**Workflow in the resolution of the protein structure by X-ray diffraction.** After the obtention of crystals (left panel), we collect the X-ray diffraction data (central panel, down). With these data, we can solve the structure of the protein (right panel). Central panel, up, the crystallization robot Oryx4 used to set the crystallization plates.

**Responsable Científico / Head Scientist**

Carlos Alfonso Botello

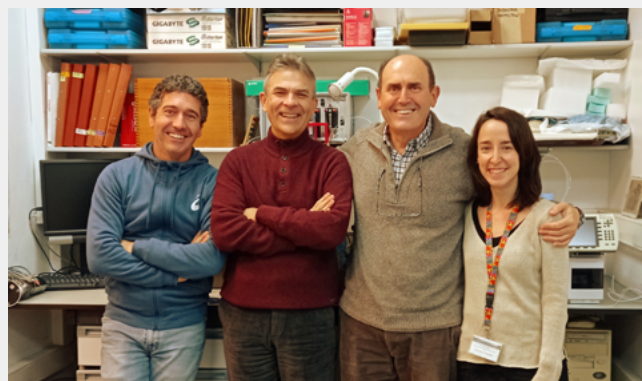
**Responsable Técnico / Head Technician**

Juan Román Luque Ortega

**Otros miembros / Other members**

Óscar M. Nuero García  
Marta Sobrinos Sanguino  
Pedro José Jiménez Carpio

**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/molecular-interactions>  
<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/ unidades-de-servicio/interacciones>



## Interacciones Moleculares

Nuestro laboratorio está especializado en la caracterización biofísica cuantitativa de interacciones macromoleculares reversibles en disolución. 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), un interferómetro de biocapa BLItz (Pall), un lector de placas de intensidad/anisotropía de fluorescencia Spark® Multimode (Tecan) y un microscopio confocal de fluorescencia resuelta en el tiempo MicroTime 200 (PicoQuant).

La ultracentrifugación analítica permite la detección y cuantificación de macromoléculas y el análisis (estequiometría, reversibilidad y afinidad) de interacciones del tipo proteína-proteína, ADN-proteína y receptor-ligando. Los métodos de dispersión de luz y fluorescencia resuelta en el tiempo aportan información complementaria de tamaño, forma, masa, evolución con el tiempo y en el equilibrio. La interferometría de biocapa y la anisotropía de fluorescencia proporcionan información sobre afinidades de unión y cinética de asociación y disociación a concentraciones nanomolares.

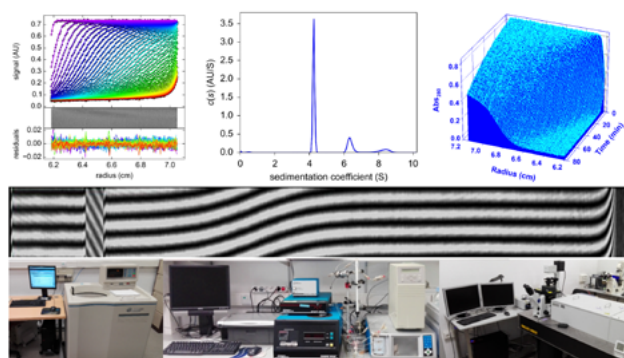
El laboratorio cuenta desde 2009 con la certificación **ISO9001**.

## Molecular Interactions

*Our laboratory 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, a BLItz biolayer interferometer (Pall), a Spark® Multimode microplate reader (Tecan) and a MicroTime 200 (PicoQuant) time-resolved confocal fluorescence microscope.*

*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 and fluorescence correlation spectroscopy methods provide complementary information (size, shape, and mass) for the characterization of reversible interactions evolving with time and at equilibrium. Biolayer interferometry and fluorescence anisotropy provide direct binding affinities and rates of association and dissociation of macromolecules, at nanomolar concentration.*

*Since 2009, the facility has been certified according to **ISO9001** standards.*



**Study of protein association state by sedimentation velocity and Facility instrumentation.** The upper part, raw data and fitting, species distribution  $c(s)$ , and spatio-temporal data representation. The central part, Raleigh interference fringe pattern. The lower part, XLI analytical ultracentrifuge, dynamic and static multiangle light scattering SEC-MALS-QELS, and time-resolved confocal fluorescence microscope.

**Responsible Científico / Head Scientist**

Francisco Javier Cañada Vicinay

**Responsible Técnico / Head Technician**

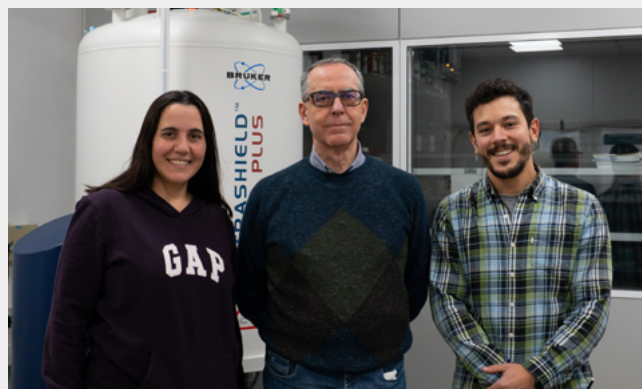
Eva Calviño Vanegas

**Otros miembros / Other members**

José Daniel Martínez Ordoñez

**W** <https://cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/nuclear-magnetic-resonance>

<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/resonancia-magnetica-2>

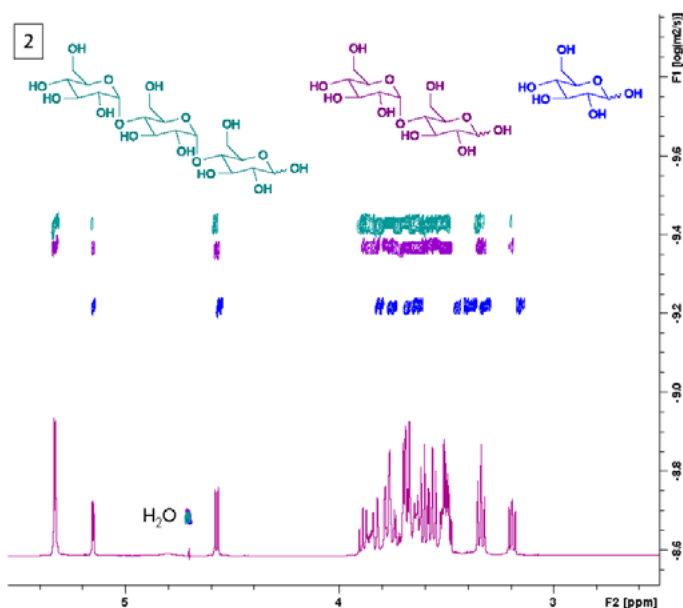


## Resonancia Magnética Nuclear

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 ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ , etc.), puede utilizarse en la investigación en química, biología, biomedicina y ciencia de materiales, así como para el control de calidad de productos de investigación y/o comerciales. Comprende un versátil conjunto de técnicas dirigidas a la elucidación estructural, determinación conformacional de ligandos, caracterización estructural y dinámica 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 Facility 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 ( $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{19}\text{F}$ , etc.), it 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 and dynamical 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.



(1) Technical Equipment available at the NMR Facility. From top to bottom: AV 500 MHz (left), AV III 600MHz with Sample Case for 24 samples (right) and AV 600MHz with cryoprobe. (2) Example of DOSY (Diffusion Ordered Spectroscopy) of glucose (blue); maltose, a disaccharide formed by two glucose units (violet), and maltotriose, a trisaccharide of three glucose molecules (green).

**Responsable Científico / Head Scientist**

Rafael Catalá Rodríguez

**Responsable Técnico / Head Technician**

Mónica Fontenla Lago



<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/photography-and-audiovisual-media>

<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/fotografia>

## Fotografía y medios audiovisuales

El servicio de **Fotografía y medios audiovisuales** del CIB Margarita Salas presta apoyo a los científicos del centro facilitándoles el material fotográfico necesario para sus tareas de investigación y para la divulgación de sus resultados. Asesora y provee de soporte técnico en fotografía digital, macrofotografía digital, digitalización de imagen, así como en la grabación, edición y publicación de actos, jornadas, conferencias, etc. Dentro de su catálogo de servicios se incluye la impresión de gran formato (pósteres).

Este servicio también es responsable de la gestión y mantenimiento de los equipos audiovisuales e informáticos del salón de actos y las distintas salas de seminarios del centro, y de la procesadora de películas de rayos X Curix 60.

## Photography and audiovisual media

*The **Photography and audiovisual media service** of the CIB Margarita Salas provides support to the center's scientists by supplying the photographic material required for their research activity and for the dissemination of their results. Advises and provides technical support in digital photography, digital macro photography, and image digitization, as well as in the recording, editing, and publication of events, workshops, conferences, etc. Its service catalog includes large-format printing (posters).*

*This service is also responsible for the management and maintenance of the audiovisual and computer equipment in the conference hall, and the various seminar rooms of the center, as well as the Curix 60 x-ray film processor.*

**Responsable Científico / Head Scientist**

Carlos Fernández Tornero

**Responsable Técnico / Head Technician**

José Javier Varela Espinosa

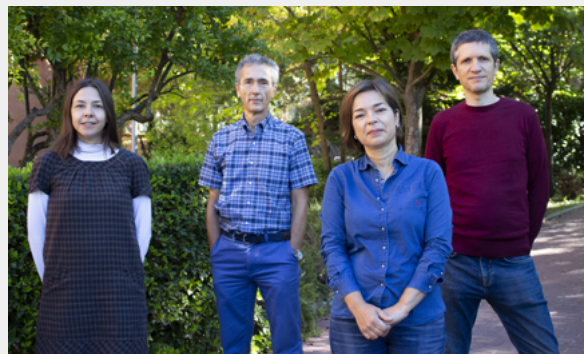
**Otros miembros / Other members**

Emilia Aporta Sosa

Cristina Quevedo Sierra

<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/protein-chemistry>

<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/quimica-de-proteinas>



## Química de Proteínas

El servicio de Química de Proteínas tiene como función principal prestar apoyo científico-técnico en el estudio de las proteínas a todos los laboratorios de investigación que lo soliciten, tanto de carácter público como privado. En el Servicio se puede realizar la separación, cuantificación, identificación y caracterización de péptidos y proteínas mediante la utilización combinada de técnicas cromatográficas, análisis de aminoácidos, secuenciación amino terminal, LC-MS y calorimetría de titulación isotérmica. Además, el Servicio ofrece la posibilidad de sintetizar péptidos en diversas escalas y con diversas modificaciones. Para ello cuenta con el siguiente equipamiento:

- Secuenciador de proteínas (Applied Biosystems, Procise 494). Permite 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.
- Analizador de aminoácidos (Biochrom 30). Con este equipo se puede determinar cualitativa y cuantitativamente la composición de aminoácidos de péptidos y proteínas.
- Sistemas de cromatografía líquida de alta presión: ÄKTA basic (Amersham Pharmacia Biotech) y Agilent serie 1200 preparativo. Estos equipos pueden trabajar a flujos de hasta 10 ml/min y 200 ml/min respectivamente, y a presiones de hasta 25 MPa.
- Calorímetro de titulación isotérmica MicroCal PEAQ-ITC (Malvern Panalytical). Permite determinar cuantitativamente las constantes de unión, la relación estequiométrica, la entalpía y la entropía asociadas a un proceso de interacción entre dos moléculas.
- LC-MS. Detector de masas triple cuadrupolo con fuente ESI (Agilent, MSD XT) acoplado a sistema cromatográfico Prime 1260 Infinity II (Agilent) con bomba cuaternaria, muestreador automático termostatzado y detector de diodos.

El Servicio también oferta una prestación de expresión y purificación de proteínas de interés general como son las proteasas TEV y 3C.

Durante el periodo 2021-2023 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".

El Servicio está integrado en la RED de laboratorios de la Comunidad de Madrid.

Desde marzo de 2011 el laboratorio posee la certificación conforme a la norma ISO9001 con el código ER-0286/2009.

## Protein chemistry

The Service of Protein Chemistry offers scientific and technical support in the protein investigation to any research laboratory from public research organisms or private companies. In the facility, separation, quantification, identification, and characterization of proteins by chromatography techniques can be performed, as well as amino acid analysis, amino-terminal sequencing, LC-MS, and isothermal titration calorimetry. Additionally, the facility provides peptide synthesis and purification. The Service has the following equipment:

- Protein sequencer (Applied Biosystems, Procise 494). The Procise 494 Protein Sequencer performs automated Edman sequencing chemistry
- Peptide synthesizer (AAPPtec, Focus XC). The Focus XC can synthesize up to six peptides simultaneously at scales from 0.05-5 mmol, using Fmoc chemistry.
- Amino acid analyzer (Biochrom 30). It determines quantitatively the amino acid composition of peptide and protein hydrolysates.
- Liquid chromatography. ÄKTA basic (Amersham Pharmacia Biotech) and Agilent 1200 preparative purification platform.
- MicroCal PEAQ-ITC isothermal titration calorimeter (Malvern Panalytical). This technique enables quantitative determination of binding constants, reaction stoichiometry, enthalpy, and entropy when two molecules interact.
- LC-MS. Single quadrupole mass analyzer (Agilent, MSD XT) with on-line HPLC Prime 1260 Infinity II (Agilent) equipped with a quaternary pump, vial autosampler with integrated sample thermostat, and photo diode array detector.

In addition, the facility offers a Protein Expression and Purification service for frequently used proteins such as proteases TEV and 3C.

In the years 2021-2023 we collaborated with the training department of the CSIC in the course "Introduction to protein purification and characterization methods".

The service is a part of the laboratory network of the Community of Madrid.

Since 2011 this Facility has been certified according to ISO9001 with ER-0286/2009 AENOR Certification code.

**Responsable Científico / Head Scientist**

María Jesús Martínez Hernández

**Responsable Técnico / Head Technician**

Vivian de los Ríos Benítez

**Otros miembros / Other members**Francisco García Tabares  
Tamar San Hipólito Marín

**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/proteomics-and-genomics>

<https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/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 ARN y/o ADN (Tapestation [Agilent]); ii) PCR cuantitativa (iQ5, BIO-RAD; LightCycler96, Roche). En Proteómica: i) geles mono y bi-dimensionales; 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; proteómica cuantitativa diferencial (TMT, label-free), y experimentos de proteómica cuantitativa dirigida de proteínas y péptidos (SIM y PRM), todo ello mediante nHPLC-MS/MS (QExactive y Orbitrap Exploris 240, Thermo).

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 Margarita Salas offers the following services. In Genomics: i) determination of RNA and DNA sample quality (Tapestation [Agilent]); ii) Quantitative PCR (iQ5, Bio-Rad; LightCycler 96, Roche). In Proteomics: i) mono and bi-dimensional gels, ii) molecular mass determination in peptides and proteins; iii) protein identification by peptide mass fingerprinting, both using MALDI-TOF-TOF mass spectrometry (Autoflex III, Bruker); iv) protein identification in complex proteomes, post-translational modification analysis and differential quantitative proteomics (TMT, label-free) as well as targeted quantitative proteomics experiments of proteins and peptides (SIM and PRM), all of them using nHPLC-MS/MS (QExactive y Orbitrap Exploris 240 Thermo).

Since 2012 the laboratory has been certified according to ISO9001 with ER-0286/2009 AENOR ISO9001 Certification code.

**SERVICIO DE PROTEÓMICA Y GENÓMICA**



**MALDI-TOF-TOF**



**EASY-nLC 1000  
Q Exactive**



**UHPLC Vanquish  
Orbitrap Exploris 240**



**TapeStation 4150**



**PCR cuantitativa en tiempo real**



**Responsable Científico / Head Scientist**Luisa M<sup>ª</sup> Botella Cubells**Responsable Técnico / Head Technician**

Marta Cebrián Echarrí

**Otros miembros / Other members**

Zahira Corrales del Villar

[www.cib.csic.es/facilities/internal-services/radioprotection](http://www.cib.csic.es/facilities/internal-services/radioprotection)

## Servicio de protección radiológica (SPR)

La función principal del Servicio de Protección Radiológica (SPR) 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 Margarita Salas (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 personal del CIB Margarita Salas 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  $\beta$  y  $\gamma$ , cultivos celulares, electroforesis, incubadores para hibridaciones con sondas radiactivas, contadores de centelleo, etc.; laboratorios autorizados para la manipulación de cantidades limitadas de compuestos marcados radiactivamente y dos aparatos productores de radiaciones ionizantes: equipo de RX y difractor de Rayos X.

El CIB Margarita Salas posee autorización para trabajar con los siguientes radioisótopos:  $^{14}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{45}\text{Ca}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{86}\text{Rb}$  y sales de uranio.

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 (RS)

*The principal function of the Radiation Safety Facility (RS) is to ensure the manipulation and use of ionizing radiation 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 at CIB Margarita Salas (entry, manipulation, and waste management), the use of X-ray equipment 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 for manipulation of  $\beta$  and  $\gamma$  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 equipment.*

*CIB Margarita Salas is authorized to perform techniques with  $^{4}\text{C}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{33}\text{P}$ ,  $^{45}\text{Ca}$ ,  $^{35}\text{S}$ ,  $^{32}\text{P}$ ,  $^{125}\text{I}$ ,  $^{51}\text{Cr}$ ,  $^{86}\text{Rb}$  and  $^{235}\text{U}$ -labeled radiochemicals.*

*There is a comprehensive Radiological Protection Guide for users of the Center. Once a year, the CSN supervises the Radiation Safety Facility management.*



Central hot room: specific areas for manipulation of  $\beta$  and  $\gamma$  emitters.

**Responsable Científico / Head Scientist**

José Fernando Díaz Pereira

**Responsable Técnico / Head Technician**

Ruth Matesanz Rodríguez

<https://www.cib.csic.es/facilities/scientific-facilities/spectroscopy>  
[www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/idades-de-servicio/espectroscopia](http://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/idades-de-servicio/espectroscopia)



## Espectroscopía

El servicio de espectroscopía dispone de un abanico de instrumentos (espectrofotómetros UV-VIS, espectrofotómetro FT-IR, dicrógrafos, fluorímetros -en conformaciones L y T, este último con polarizadores-, equipo modular de *stopped-flow*) que permiten la obtención de los datos analíticos necesarios para el desarrollo de los proyectos de investigación.

Entre los posibles análisis se cuentan:

-Análisis estructurales: asignación de grupos funcionales en pequeñas moléculas, análisis de estructuras secundarias de proteínas.

-Análisis de composición y concentración.

-Análisis de reacciones químicas:

o Seguimiento de procesos enzimáticos,

o Unión de distintos ligandos a sus dianas,

o Cálculo de parámetros que describen los procesos: constantes de unión, velocidades de reacción, estudio de interacciones macromoleculares y ligando/macromolécula tanto con proteínas como con ácidos nucleicos.

## Spectroscopy

*The wide variety of equipment available at the Spectroscopy Laboratory (UV-VIS or FT-IR spectrophotometers, dichrographs, fluorimeters - L or T conformations, with polarizers - modular stopped-flow system) are useful to get analytical data needed for the progress of research projects.*

*Some feasible analysis:*

*-Structural analysis: small molecules functional group assignment, protein secondary structure analysis.*

*-Composition and concentration analysis.*

*-Chemical reactions analysis:*

*o Enzymatic processes tracking*

*o Ligand binding to targets*

*o Calculation of parameters describing processes: binding constants, reaction rates, macromolecular and ligand/macromolecule interaction studies for both proteins or nucleic acids.*



**Responsable Científico / Head Scientist**

Eduardo Díaz Fernández

**Responsable Técnico / Head Technician**M<sup>a</sup> Rosa Díaz López**Otros miembros / Other members**

César Carroza Utrero

Lillian Gallego Menacho

Mónica Cipitria Rodríguez

Raquel López Mansó

Elena Gala Fernández

<https://www.cib.csic.es/facilities/internal-services/sterilization-culture-media-preparation-and-labware-washing><https://www.csic.es/es/investigacion/catalogo-de-servicios-cientifico-tecnico/unidades-de-servicio/esterilizacionmedios-de>

## Esterilización, Cocina de Medios y Limpieza de Material

El Servicio de Esterilización del CIB Margarita Salas 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 limpieza y reposición del material a los diferentes grupos de investigación. Asimismo, realiza la recogida de los residuos biológicos de los laboratorios y de los diferentes cuartos de cultivo, y su traslado al Servicio de Esterilización.

## Sterilization, Culture Media Preparation and Labware Washing

*The Sterilization Service of the CIB Margarita Salas is devoted to sterilize, through dry (160°C/230°C) or wet (120°C/110°C) heat, 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 with 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 cleaning and delivering the laboratory material to the different research groups. They also perform the collection of biological waste from laboratories, cell culture rooms, and its transfer to the Sterilization Service.*

# Servicios generales

## *General Services*

155 Gerencia / *General Management*

156 Servicio de Informática / *Information Technology (IT) Service*

157 Transferencia de Conocimiento /  
*Knowledge Transfer*

158 Comisión de Seguridad en el Trabajo /  
*Occupational Safety Commission*

159 Calidad / *Quality Assurance*

160 Unidad de Recursos / *Funding & Resources Unit*

161 Servicios Técnicos e Infraestructuras /  
*Technical Services and Infrastructures Unit*

## Personal de Gerencia / Management Team

### Gerente / General Manager

Pérez Redondo, Irene (Gerente titular / Chief Manager)

### Gestión económico-administrativa / Finance & Administration

González Baena, Juan Carlos (Responsable)  
Garabito Seco, María Jesús  
Esteban Espinosa, Santiago  
Fernández García, Margarita  
Fraile Fernández, Beatriz  
Martínez Vivas, M<sup>a</sup> Teresa  
Moirón García, M<sup>a</sup> del Milagro  
Fernández Castillo, Álvaro  
Rodríguez de Santos José Francisco  
Anades Besnard, Julia

### Gestión de Dietas y Viajes/Travel & Subsistence Management

De la Flor Hernández, Javier (Responsable)  
Melgarejo Moreno, Valena  
Onofa Grefa, Allison Gissel  
Gutierrez García, Rosa M<sup>a</sup>

### Gestión de Personal / Human Resources

Rodríguez-Palancas Corrales, María del Carmen (Responsable)  
Esteban de Antonio, Luis María  
Jaro Narrillos, M<sup>a</sup> Jesús  
Gómez Jaro, Belén

### Gestión de Proyectos / Project Management

Varón Crespo, Isabel (Responsable)  
Barrio Villa, Isabel  
Caumel Nicolás, Marta  
Díaz Martín, Jesús Daniel  
Gómez Pulido, José Luis  
Alonso Gil, Sandra  
Vargas Pintor, M<sup>a</sup> José

### Gestión de Compras / Procurement

García Canals, Alberto (Responsable)  
Chimeno Llorat, Domingo  
Guaita Beneit, Luis  
Serrano Coronado, Francisco  
Jiménez Ballina, Marta  
Pérez Fernández, Javier

Rada Izaguirre, José Gregorio  
Muñoz Carreño, Ramón José  
Carrasco Alarcón, M<sup>a</sup> Jesús  
Ballesteros Villamayor, Elisa  
Mateos Moya, Dolores

### Gestión Patrimonial / Assets Management

Hernández Paradelo, M<sup>a</sup> José  
Sánchez Sánchez, Fernando

### Apoyo a la Prevención de Riesgos Laborales / Workplace Hazard Prevention Support

González Manchón, Consuelo

### Recepción / Reception

Arellano Herrero, José Javier

<https://www.cib.csic.es/es/general-management>



## Gerencia

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 Margarita Salas la Gerencia está integrada actualmente por las siguientes Unidades Departamentales:

- Gestión económico-administrativa
- Gestión de Proyectos
- Gestión de Personal
- Gestión de Compras
- Gestión Patrimonial y Contratación Pública
- Gestión de dietas y viajes
- Apoyo a la prevención de riesgos
- Recepción

Cada una de estas Unidades está compuesta por un responsable y personal de apoyo que actúan bajo la supervisión de la Gerencia y, en última instancia, de la Dirección del Centro. Asimismo, dependen de Gerencia el Servicio de portero-recepcionista, el Servicio de limpieza, y el Servicio de cafetería-comedor del Campus.

## General Management

The CSIC Center's and Institutions' Management, through their General Manager, oversees the public resources dedicated to scientific and technical research. In the Margarita Salas Center for Biological Research, the Management integrates the following Departmental Units:

- Finance & Administration
- Project Management
- Human Resources
- Procurement
- Assets Management
- Travel & Subsistence Management
- Workplace Hazard Prevention Support
- Reception

Each one of these Units includes responsible and support personnel working under the supervision of the General Manager and ultimately under the Center's Director. The Caretaker/Receptionists, the Cleaning Service and the Canteen Staff also report to the General Manager.

**Responsable técnico / Head Technician:**

Ramón Manuel Toro Monsalve

**Otros miembros / Other members**

Miguel Ángel Martín Mazuelo  
 Ligia Hernández Mora  
 Gemma Ramírez Sanz  
 Fernando García Villarrubia  
 Óscar Mateo Bodas



<https://www.cib.csic.es/facilities/internal-services/it-service>

## Servicio de Informática

Los servicios informáticos del CIB Margarita Salas se encuentran dentro de la estructura de la Secretaría General Adjunta de Informática (SGAI) del CSIC, ofreciendo respaldo a las actividades científicas en Tecnologías de la Información y las Comunicaciones de la institución. En estrecha colaboración con la Secretaría General de Administración Digital (SGAD), se enfocan aspectos de seguridad junto al Centro Criptológico Nacional (CCN) y el Centro de Operaciones de Ciberseguridad (COCS) de la Administración General del Estado y sus Organismos Públicos.

Este servicio se organiza en dos áreas principales:

Área de Comunicaciones y Servicios cuyas tareas son:

- Soporte y apoyo TIC.
- Gestión de la red electrónica (WAN del campus de la Complutense del CSIC, LAN, WLAN).
- Implementación y vigilancia de medidas de seguridad (Firewall del campus, políticas VDOM).
- Mantenimiento de servicios como la infraestructura administrativa, archivos y páginas web de servicios, integrados en el CIB.
- Gestión de servicios integrados en el CSIC.
- Gestión de sistemas de telefonía.

Área de Atención a Usuarios (realizado por personal externo a través de contrata) cuyas tareas son:

- Integración de nodos y microinformática.
- Desarrollo de soluciones de red.
- Instalación y mantenimiento de software corporativo y aplicaciones específicas, entre otros servicios.

## Information Technology (IT) Service

*The Information Technology (IT) service of the CIB Margarita Salas falls under the General Undersecretariat for Information Technology (SGAI in Spanish) of the CSIC, providing technological and communications support for the institution's scientific activities. In close collaboration with the General Secretariat for Digital Administration (SGAD), security aspects are managed in tandem with the National Cryptologic Center (CCN) and the Cybersecurity Operations Center (COCS) of the General State Administration and its Public Bodies.*

*This service is organized in two main areas:*

*Communications and Services Area whose role encompasses:*

- ICT Support.
- Management of the electronic network (WAN of the CSIC's Complutense campus, LAN, WLAN).
- Security measure implementation and monitoring (Campus Firewall, VDOM policies).
- Maintenance of services such as administrative infrastructure, files, and the web pages of CIB Margarita Salas' integrated services.
- Management of integrated services at CSIC.
- Management of telephony systems.

*User Support Area (carried out by external personnel under contract) whose role encompasses:*

- Integration of nodes and microcomputing.
- Development of networking solutions.
- Installation and maintenance of corporate software and specific applications, among other services.



**Responsable de la Unidad / Head Unit**

Marta García del Barrio

**Personal Administrativo / Administrative Staff**

Begoña Castro Vidal


 <http://www.cib.csic.es/ip-portfolio>

## Transferencia de Conocimiento

La unidad estratégica de Transferencia del CIB Margarita Salas está integrada en la Vicepresidencia Adjunta de Transferencia de Conocimiento (VATC) del CSIC. Tiene como principal objetivo promover la innovación, por un lado, fomentando y gestionando la transferencia de los resultados y conocimientos generados por los grupos de investigación de nuestro centro a las empresas, y por otro, cubriendo las demandas tecnológicas de estas.

Principales servicios o actividades:

- Negociación, revisión y tramitación de contratos: apoyo tecnológico, I+D, licencia, donación, MTAs, CDAs, acuerdos de agrupación, etc.
- Diseño de estrategias de comercialización de la cartera tecnológica. Publicidad de activos, asistir y organizar eventos de promoción de la transferencia de conocimiento. Firma de contratos de licencia de derechos de explotación comercial con empresas y fomento de que las mejoras y desarrollo de las tecnologías se lleven a cabo a través de investigadores del CIB Margarita Salas mediante la firma de contratos de I+D con estas empresas licenciadoras.
- Colaboración con la Unidad de Protección de Resultados de la VATC, en el asesoramiento de los investigadores sobre la mejor forma de proteger sus resultados y sobre su posible patentabilidad.
- Seguimiento de las patentes solicitadas y emisión de informes de comercialización para el Comité de Patentes de la VATC.
- Cubrir las demandas tecnológicas de las empresas con la oferta tecnológica del CIB Margarita Salas mediante la firma de contratos de licencia, de I+D y de apoyo tecnológico.
- Promover el emprendimiento y junto a la Unidad de Protección de Resultados y Promoción de EBTs de la VATC asistir a los investigadores en todo lo que necesitan para montar sus *spin-offs*. Publicitar nuestras *spin-offs* y promover y tramitar los contratos que permitan la colaboración con ellas.

## Knowledge Transfer

The CIB Margarita Salas Strategic Transfer Unit belongs to the Deputy Vice-Presidency for Knowledge Transfer (VATC) of the CSIC. Its main objective is to promote innovation, on the one hand, by encouraging and managing the transfer of the results and knowledge generated by the center's research groups to companies, and on the other hand, by covering their technological demands.

Main services or activities:

- Negotiation, review and management of contracts: technological support, R&D, license, donation, MTAs, NDAs, consortium agreements, etc.
- Design marketing strategies for the technology portfolio. Advertise assets, attend and organize events to promote knowledge transfer. Signing of commercial exploitation rights license agreements with companies and encouraging that the improvements and developments of the technology are carried out by researchers of the CIB Margarita Salas by signing R&D contracts with these licensing companies.
- In collaboration with the VATC's Results Protection Unit, advising researchers on the best way to protect their results and on their patentability.
- Follow-up on the patent applications and issue commercialization reports for the Patent Committee of the VATC.
- Covering the technological demands of companies with the technological portfolio of CIB Margarita Salas by signing licensing, R&D and technological support agreements.
- Promoting entrepreneurship and together with the Unit for the Protection of Results and Promotion of EBTs of the VATC, assisting researchers with everything they need to set up their *spin-offs*. Advertising our *spin-offs* and promoting and managing the contracts that allow us to collaborate with them.

**Responsable Científico/Head Scientist**

Consuelo González Manchón

**Responsable Técnico/Head Technician**

Ángel Fernández Expósito

**Otros miembros/Other members**

Carmen Doñoro Vázquez

Rosa Díaz López

Noemí Álvarez Lindo



## Comisión de seguridad en el trabajo

El objetivo de la Unidad es cumplir con los principios marcados en la política preventiva del CSIC para garantizar la máxima eficacia en la gestión de la prevención de riesgos laborales.

Nuestras tareas, entre otras, son:

- Mantener actualizada la documentación preventiva del Centro establecida por la Ley de Prevención de Riesgos Laborales 31/1995.
- Presentación del Plan de Acogida al personal de nueva incorporación.
- Gestión de la Coordinación de actividades empresariales (CAE).
- Asesoramiento y gestión de la documentación preventiva en actividades y campañas de campo.
- Gestionar la actualización del Plan de Autoprotección e Implantación del Plan (simulacro).
- En colaboración con el Servicio de Vigilancia de la Salud, gestión de reconocimientos médicos, actuaciones en caso de accidentes, evaluación de puestos de trabajo de personal sensible y embarazadas.
- Difusión de cursos y actividades formativas.
- Recogida de residuos químicos peligrosos y gestión de su retirada del Centro.

## Occupational safety commission

The objective of the Unit is to comply with the principles established by the CSIC's preventive policy to ensure maximum effectiveness in the management of occupational risk prevention.

Our tasks, among others, are:

- Keep updated the preventive documentation of the center, as established by the Occupational Risk Prevention Law 31/1995.
- Present the Reception Plan to newly incorporated personnel.
- Management of the Coordination of business activities (CAE).
- Advice and management of preventive documentation for in-field campaigns.
- Manage the update of the Self-Protection Plan and its implementation (Evacuation Drill).
- In collaboration with the CSIC's Health Surveillance Service: management of annual medical examinations, coordination of actions in case of accidents, and evaluation of jobs for sensitive personnel and pregnant women.
- Announcement of courses and training activities.
- Collection and elimination of hazardous chemical waste.



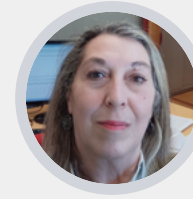


**Responsable Científico del Servicio / Head Scientist**

Francisco Javier Cañada Vicinay

**Responsable Técnico / Head Technician**

María José Hernández Paradelo



<https://www.cib.csic.es/facilities/internal-services/quality-assurance>

## Calidad

La Unidad de Calidad del CIB Margarita Salas 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 ISO9001, renovada en 2023 hasta 2027. El alcance de la certificación abarca las siguientes técnicas:

### Servicio de Interacciones Moleculares:

- 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 técnica de dispersión de luz dinámica (DLS).

### Servicio de Química de Proteínas:

- Análisis automático de aminoácidos mediante derivatización post-columna con ninhidrina.
- Secuenciación automática de proteínas mediante degradación química de Edman.

### Servicio de Proteómica y Genómica:

- Determinación de la masa molecular por espectrometría de masas.

### Servicio de Microscopía Láser Confocal y Multidimensional *in vivo*

- Asistencia técnica en la adquisición de imágenes de microscopía confocal mediante los equipos Leica TCS SP5 y TCS SP8 STED 3X

## Quality Assurance

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 standards renewed in 2023 until 2027. Currently the certification includes the following techniques:

### Molecular Interactions Facility

- Determination of the size, shape, state association and degree of homogeneity of proteins and other (biological) macromolecules by analytical ultracentrifugation.
- User support in dynamic light scattering (DLS) applications.

### Protein Chemistry Facility

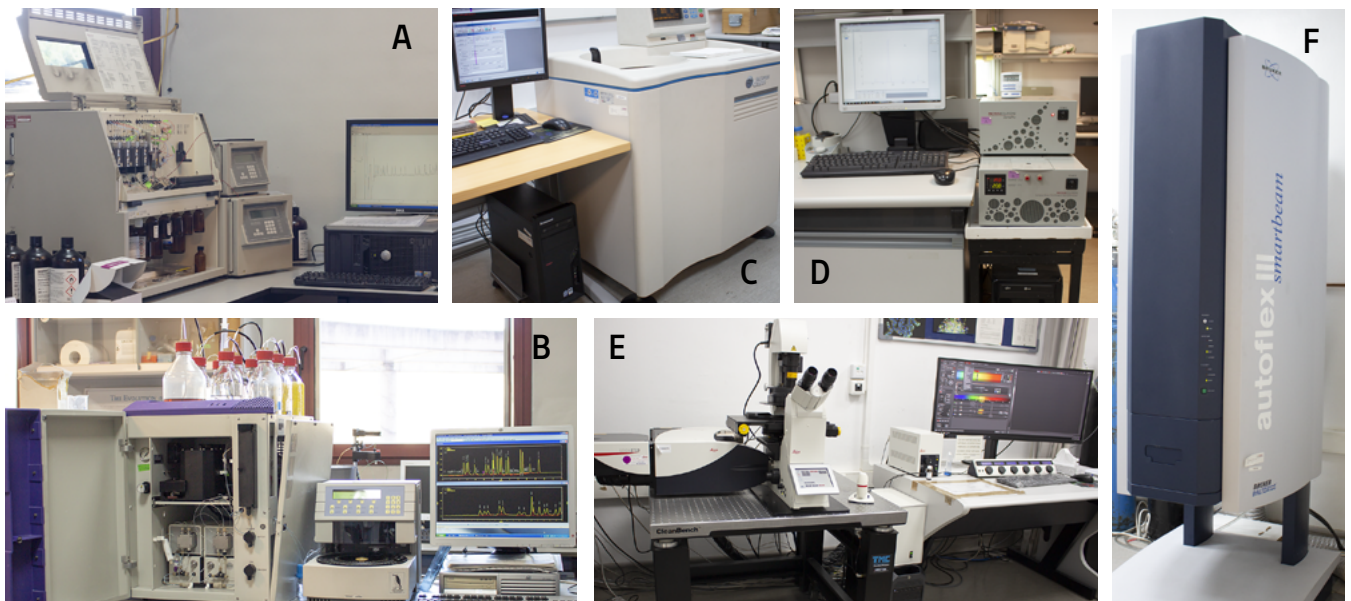
- Automatic amino acid analysis with ninhydrin post column derivatization.
- Automatic protein sequencing using Edman's sequential degradation.

### Proteomics and Genomics Facility

- Determination of molecular mass by mass spectrometry.

### Confocal Laser and Multidimensional Microscopy *in vivo* Facility

- Technical assistance in the acquisition of confocal microscopy images using the Leica instruments TCS SP5 and TCS SP8 STED 3X.



A: Edman's degradation protein sequencer; B: Amino acid analyser; C: Analytical Ultracentrifuge; D: Dynamic Light Scattering; E: Confocal laser microscope; F: MALDI-TOF Molecular mass determination.

**Responsable Científico/Head Scientist**

José Luis García

**Head Unit / Responsable de la Unidad**

Francisco Javier Sánchez Gómez



**W** <https://www.cib.csic.es/facilities/internal-services/funding-resources-unit>

## Unidad de Recursos

La Unidad de Recursos del CIB Margarita Salas es una Unidad Estratégica de Apoyo Científico dependiente de la Dirección del centro. Comprometida con la progresión científica, se encarga de catalizar el potencial de los grupos de investigación que acoge el centro, y de este modo, incrementar la atracción de recursos económicos destinados a la investigación, en beneficio tanto de los propios grupos de investigación como del centro en su conjunto.

El objetivo principal de la Unidad de Recursos es transformar la excelencia investigadora del centro en mayores recursos humanos y financieros. Para ello, nos proponemos las siguientes funciones básicas:

- Traducir el excepcional potencial investigador de los grupos del CIB Margarita Salas en una mayor participación en convocatorias de proyectos y otras ayudas a la investigación de naturaleza regional, nacional e internacional.
- Promover la participación de los investigadores del centro en actividades clave para el desarrollo de la política científica como, por ejemplo, comités científicos, agencias de financiación, sociedades, fundaciones, etc.
- Estimular la generación de un entorno creativo que fomente la investigación en la frontera del conocimiento y resalte el prestigio del centro.

Con ese fin, la Unidad de Recursos desempeña las siguientes actividades:

- Identificar y diseccionar las convocatorias de proyectos y ayudas a la I+D+I regionales, nacionales e internacionales para informar a la Dirección y a los investigadores sobre los posibles nichos de financiación y promover su participación en estas convocatorias.
- Proporcionar apoyo científico-técnico en la preparación de las solicitudes de proyectos y ayudas a la I+D+I mediante la interpretación de los requisitos de las convocatorias, la intermediación con las instituciones financiadoras y la orientación en la preparación de las propuestas.
- Fomentar la participación de la comunidad científica del CIB Margarita Salas en paneles nacionales e internacionales de expertos donde se evalúen los proyectos y las ayudas a la I+D+I, así como en los comités científicos donde se generan los criterios que orientan la política científica.

**OBJECTIVES**

- Improving national and international Grants and Funds
- CIB Margarita Salas National and International positioning

**CALLS**

- National public and private
  - AEI: New and/or funded by Plan de Recuperación: PDC, Líneas Estratégicas, Transición Eco-Dig, Consolidación Investigadora, R3, Equipamiento Científico, Severo Ochoa
  - Foundations: BBVA, LaCaixa, ComFuturo, Arecos, Pasqual Maragall, Astra Zeneca, ...
- CSIC: ILINK, ICOOP, LINGGLOBAL, Fullbright-CSIC, IMOVE, Cooperación con Ucrania, ...
- International
  - Horizon Europe: ERC, Marie Curie, Research Infrastructures; Clusters Pilar II; EIC Pathfinder...
  - NIH...

**ACTIVITIES**

- Prospection, mentoring and training in European funding Opportunities: MSCA, ERC, Clusters (consortia for Societal Challenges Pillar II) and EIC (consortia-SME for innovative technologies):
- Identify national and International calls
  - Research lines analysis and promotion of the participation
  - Promotion of participation in scientific policy making fora
  - Provide scientific-technical support: documentation, funding agencies consultancy
  - Guidance with tips and personalized consultancy for proposal preparation

**CONNECTIONS**

- Coordination with CIB Proyectos and CIB Transference Unit
- VRI, VICYT (CSIC)
- AEI (MICINN)
- FECYT European Office
- Madri+d-EEN (Enterprise Europe Network)

Summary of the Funding & Resources Unit activities.

## Funding & Resources Unit

The CIB Margarita Salas Funding & Resources Unit is a Strategic Scientific Support Unit organically and directly dependent on the center's Direction. Committed to scientific progression, it is responsible for catalyzing the potential of the research groups homed in the center to increase the funding resources devoted to the investigation, and therefore, nurture both the groups and the whole Institute.

- The main objective of the Funding & Resources Unit is to transform the center's research excellence into increased human and financial resources. To reach this objective, we propose the following basic functions:
- To translate the exceptional research potential of the CIB Margarita Salas groups into greater participation in calls for projects and other regional, national, and international research grants.
- Promote the participation of CIB researchers in key activities for the development of scientific policy (e.g., scientific committees, funding agencies, scientific societies, foundations, etc.)
- To stimulate the generation of a creative environment that fosters research at the frontier of knowledge and enhances the prestige of the center.

To fulfill these objectives, the Resources Unit carries out the following activities:

- Identify and dissect regional, national, and international calls for R&D&I projects and grants to inform center's Direction and researchers about potential funding niches and promote their participation in these calls.
- Provide scientific-technical support in the preparation of applications for R&D&I projects and grants by interpreting the requirements of the calls for proposals, liaising with funding institutions, and providing guidance in the preparation of proposals.
- Promote the participation of the scientific community of the CIB Margarita Salas in national and international panels of experts where projects and R&D&I grants are evaluated, as well as in scientific committees where the criteria that guide scientific policy are generated.

**Responsable Científico / Head scientist:**

Francisco Javier Cañada Vicinay (Vicedirector técnico), hasta octubre 2023  
Antonio Romero Garrido (Vicedirector técnico, desde octubre 2023)

**Otros miembros / Other members:**

Alejandro Ayuda Pascual (DM)  
Ángel Arranz Bombín (MI)  
Ionut Catalin Busica (JF-AD)  
Ángel Guerrero Rivero (MI)  
Antonio Pérez Pardo (MI)  
Javier Olmos Quilón (EI)  
Álvaro Rainero Martín (MI)  
Juan Miguel Tijero Paramo (EI)



<https://www.cib.csic.es/facilities/internal-services/technical-support>



## Servicios Técnicos e Infraestructuras

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 al soporte especializado a los distintos grupos de investigación y servicios del Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas, asumiendo también tareas relacionadas con el mantenimiento de algunas infraestructuras del campus del CSIC en la Ciudad Universitaria de Madrid.

La Unidad es responsable administrativo de los equipos de uso general no asignados a otros servicios y, en algunos casos, del control de uso y soporte a usuarios finales.

Los servicios que integran la Unidad de Servicios Técnicos e Infraestructuras son:

- Servicio de Diseño y Mecánica (DM)
- Servicio de Electrónica e Instrumentación (EI)
- Servicio de Mantenimiento e Instalaciones (MI)

La coordinación y gestión administrativa se realiza a través de la Jefatura y Administración de Servicios Técnicos e Infraestructuras (JF-AD).

## Technical Services and Infrastructures

*The Technical Services and Infrastructures Unit, consists of a multi-disciplinary 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 Margarita Salas Center for Biological Research 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.*

*The Unit has administrative responsibility over the general equipment not assigned to other services and, in some cases, supervises equipment use, as well as support to end users.*

*The services that integrate the Technical Services and Infrastructure Unit are the following:*

- *Design and Mechanical service (DM)*
- *Electronics and Instrumentation service (EI)*
- *Maintenance and Facilities service (MI)*

*Coordination and management is carried out in conjunction with the Head Office and Administration of the Technical Services and Infrastructures unit (JF-AD).*

### Servicios prestados / Services

- Gestión técnica de concursos públicos | *Technical management of public tenders*
- Asesoramiento técnico | *Provision of technical advice*
- Reparación, limpieza y calibración de pipetas automáticas | *Repair, cleaning and calibration of automatic pipettes*
- Adecuación de laboratorios | *Refurbishment of laboratories*
- Mantenimiento preventivo y correctivo de equipos frigoríficos | *Preventive and corrective maintenance of refrigerating equipment*
- Diseño y realización de prototipos, actualización de equipos | *Designing and making of equipment prototypes, up-dating 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 of x-ray equipments*
- Jardinería | *Gardening*
- Reparación de equipamiento básico de laboratorio | *Repair of basic laboratory equipment*
- Mantenimiento de cuadros eléctricos | *Maintenance of electrical switchboards*
- Reparación y calibrado de equipamiento especializado de laboratorio | *Repair and calibration of specialized laboratory equipment*

# Spin-offs

## *Spin-offs*

163 Secugen

164 Ankar Pharma

165 Abvance Biotech

166 PROALT

167 A4Cell

168 Altenea Biotech

169 Helprarebiotech SL

169 Biodriven Technologies



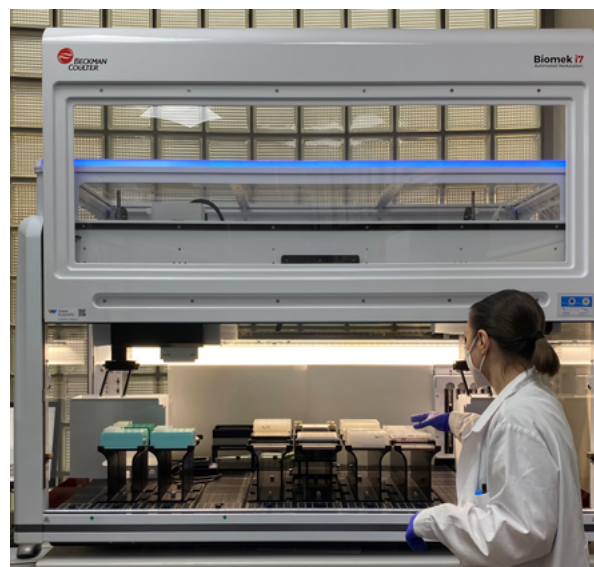
## Secugen

Secugen S.L. es una compañía especializada en tecnologías de secuenciación y análisis de ADN. En actividad desde el año 2006, 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 da servicio a varias compañías farmacéuticas, a las que también da asistencia en el área de inmunoensayos.

Secugen ofrece una amplia cartera de servicios que van desde la secuenciación Sanger hasta el diagnóstico genético en humanos. Entre ellos, la generación e identificación de marcadores microsatélites, la identificación varietal de vegetales y la identificación de hongos y bacterias, ensayos de qPCR, y cualquier desarrollo a medida que demanden nuestros clientes. Secugen ha incorporado recientemente la tecnología de secuenciación de ADN basada en nanoporos que permite hacer estudios de biodiversidad, metagenómica y de genomas y transcriptomas completos de manera muy flexible. Merece la pena mencionar el aumento de capacidad de manejo y procesamiento de muestras con la reciente adquisición de un robot Biomek i7 de manejo de líquidos que suma sus capacidades a las del Biomek NX, ya disponible en el servicio anteriormente, lo que permite procesar miles de muestras al día. Además, se ofrecen servicios de inmunoensayos (ELISA y CLIA) para proyectos de investigación externos.

Secugen, reconocida como PYME Innovadora por el Ministerio de Economía y Competitividad, está certificada como empresa que desarrolla I+D.

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 specializing in DNA sequencing and analysis technologies. Active since 2006, Secugen is today a reference in the field of DNA sequencing and analysis and genetic diagnosis. Secugen has more than 400 client centers in the sequencing field that benefit from continuous improvement in processes and the direct attention provided by its technicians. In the area of molecular diagnostics, Secugen collaborates with around one hundred hospitals and provides services to several pharmaceutical companies, to which it also assists with immunoassays.*

*Secugen offers a broad portfolio of services ranging from Sanger sequencing to genetic diagnosis in humans. Among them, are the generation and identification of microsatellite markers, the varietal identification of plants and the identification of fungi and bacteria, qPCR assays, and any development that can be demanded by our clients. Secugen has recently incorporated nanopore-based DNA sequencing technology, which allows a very flexible way to do studies of biodiversity, metagenomics, and whole genomes and transcriptomes. It is worth mentioning the increase in sample handling and processing capacity with the recent acquisition of a Biomek i7 liquid handling robot that adds its capabilities to those of the Biomek NX that we previously had, allowing thousands of samples to be processed per day. In addition, as mentioned above, we offer immunoassay services (ELISA and CLIA) for external research projects.*

*Secugen is recognized as an Innovative SME by the Ministry of Economy and Competitiveness and is certified as a company that develops R&D.*

*As a commitment to quality, Secugen has ISO 9001:2015 certification and is authorized by the Community of Madrid as a center for "Analytical Diagnosis with a Genetics Unit".*



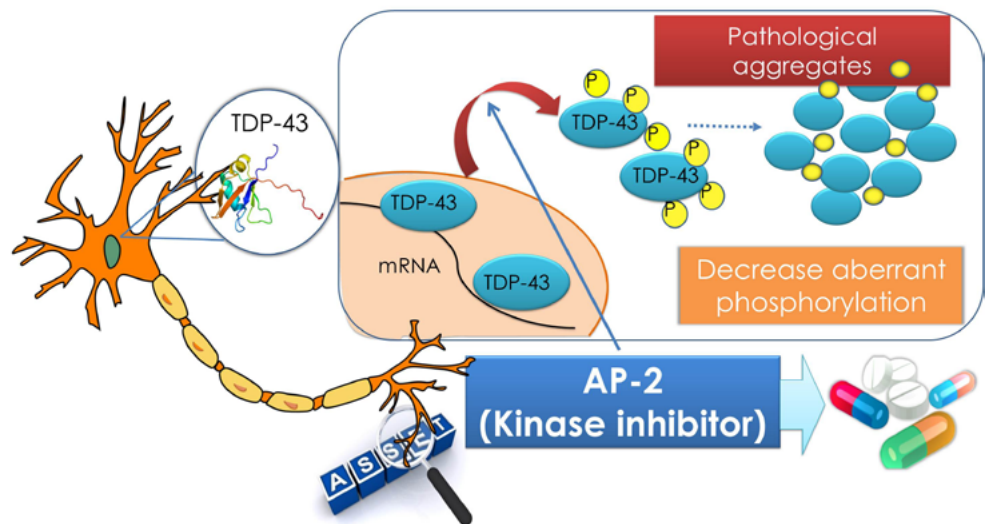
**Equipo fundador / Founder team**

Ana Martínez (Investigador / Scientist)  
 Carmen Gil (Investigador / Scientist)  
 Michael de José (Presidente ejecutivo / Executive president)

## Ankar Pharma

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. Actualmente, está enfocada en la búsqueda de un tratamiento para la esclerosis lateral amiotrófica. La hipótesis de trabajo es la modulación de la proteína TDP-43 con moléculas pequeñas, en concreto con inhibidores de quinasas capaces de reducir la fosforilación de TDP-43. Todas las moléculas cuentan con una sólida protección industrial. Desde el año 2020 se trabaja en el desarrollo preclínico de AP-2, contando con el apoyo de Kaudal y desde 2023 también con Arquimea Research Center.

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 selling to pharmaceutical companies the rights to develop the drug into the clinical stages and market development. Currently, the company is focused on the search and development of innovative candidates for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis. The working hypothesis is the modulation of TDP-43 pathology by small molecules, specifically protein kinase inhibitors able to decrease TDP-43 phosphorylation. All the molecules have solid patent protection. Since 2020, the preclinical development of AP-2 is ongoing. Kaudal and, since 2023, Arquimea Research Center have supported this project.



AP-2 mechanism of action



### Equipo fundador / Founder team

M. Cristina Vega (Investigadora | *Scientist*)  
 Santiago Rodríguez de Córdoba (Investigador | *Scientist*)  
 Francisco J. Fernández (Director Ejecutivo | *Executive Director*)

 <https://www.abvance.com/>



## Abvance Biotech SL

Fundada en 2016 como *spin-off* del CSIC, Abvance está a la vanguardia en el desarrollo de fármacos basados en anticuerpos de próxima generación. Nuestro enfoque se centra en el objetivo selectivo de proteínas y complejos críticos dentro de los sistemas del complemento y coagulación. En Abvance, aprovechamos una combinación única de experiencia en varios campos de vanguardia. Esto incluye la expresión y la ingeniería de proteínas, un conocimiento profundo de los sistemas del complemento e inmunidad, y técnicas avanzadas en la producción de anticuerpos monoclonales y de dominio único. Estamos a la vanguardia en la creación de modelos computacionales sofisticados para simular el sistema de complemento en estados de salud y enfermedad. Estos modelos están diseñados para ser herramientas valiosas en la práctica médica diaria y en la ejecución de amplios ensayos clínicos centrados en tratamientos dirigidos al complemento. Nuestro enfoque combina rigor científico con un compromiso para abordar necesidades médicas no satisfechas, impulsando el progreso en el ámbito de terapias dirigidas.

Abvance se dedica a fomentar una cultura de avance científico y educación en emprendimiento. Ponemos un fuerte énfasis en promover no solo los resultados de investigación sino también el desarrollo científico y profesional de todos nuestros empleados. Indicadores clave de nuestra dedicación incluyen nuestro apoyo a programas de doctorado industrial, fomentando asociaciones público-privadas y subvenciones colaborativas. Además, nuestra participación activa en consorcios Marie Skłodowska-Curie subraya nuestro compromiso con la colaboración internacional y la excelencia en la investigación. También estamos orgullosos de contribuir al programa de Máster en Biología Sintética Integrativa, una iniciativa conjunta del CSIC y la Universidad Internacional Menéndez Pelayo.

Abvance capitaliza su amplio conocimiento científico y técnico para proporcionar una gama de productos y servicios avanzados a la comunidad científica. Trabajamos en estrecha colaboración con nuestros clientes para comprender sus desafíos únicos, lo que nos permite personalizar y ejecutar experimentos que satisfacen precisamente sus requisitos. Nos especializamos en la expresión y purificación de biológicos de alto valor, incluidos anticuerpos para estudios preclínicos en modelos animales y en el desarrollo de plataformas de *phage display* para la identificación y selección basada en *biopanning* de compuestos líderes, mostrando nuestro compromiso con soluciones pioneras en biotecnología.

*Abvance Biotech SL specializes in creating antibody-based diagnostics and therapies for immune and auto-inflammatory diseases. Our services encompass biologics development, production, and validation (top). Grateful for the support of our funding agencies (2021-2023) (bottom).*

*Founded in 2016 as a spin-off of CSIC, Abvance is at the forefront of developing advanced, next-generation antibody drugs. We selectively target critical proteins and complexes within the complement and coagulation systems. At Abvance, we harness a unique blend of expertise spanning several cutting-edge fields. This includes protein expression and engineering, in-depth knowledge of the complement and immune systems, and advanced monoclonal and single-domain antibody production techniques. We are at the forefront of creating sophisticated computational models to simulate the complement system in both healthy and diseased states. By leveraging cutting-edge technology and in-depth biological insights, our simulations aim to enhance understanding and improve the efficacy of medical interventions. Our approach combines scientific rigor with a commitment to addressing unmet medical needs, driving progress in the realm of targeted therapeutics.*

*Abvance is dedicated to fostering a culture of scientific advancement and entrepreneurial education. We place a strong emphasis on promoting not just research outcomes but also the scientific and professional development of all our employees. Key indicators of our dedication include our support for industrial Ph.D. programs, fostering private-public partnerships, and collaborative grants. Furthermore, our active participation in Marie Skłodowska-Curie consortia underscores our commitment to international collaboration and excellence in research. We are also proud contributors to the Master in Integrative Synthetic Biology program, a joint initiative by CSIC and the Menéndez Pelayo International University.*

*Abvance capitalizes on its extensive scientific and technical knowledge to provide an array of advanced products and services to the scientific community. We engage closely with our clients to grasp their unique challenges, allowing us to tailor and execute experiments that precisely meet their requirements. We specialize in the expression and purification of high-value biologics, including antibodies for preclinical studies in animal models and the development of phage display platforms for the identification and biopanning-based selection of lead compounds, showcasing our commitment to pioneering solutions in biotechnology.*

# PROALT


PROTEIN ALTERNATIVES

## Equipo fundador / Founder team

José Ignacio Casal Álvarez  
Jorge Luis Martínez Torrecuadrada

## Director / Director

Juan Ignacio Imbaud

 [www.proteinalternatives.com](http://www.proteinalternatives.com)



## PROALT



Protein Alternatives SL (PROALT), empresa biotecnológica fundada en 2006 por investigadores del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), desarrolla productos innovadores para la detección temprana del cáncer en sangre o saliva, métodos para pronóstico y seguimiento de la enfermedad, y anticuerpos terapéuticos únicos contra nuevas dianas de interés para el tratamiento eficaz de tumores metastásicos. La entidad, con sede en el municipio de Tres Cantos en Madrid, viene desarrollando desde 2010 patentes del CSIC en el campo del diagnóstico del cáncer, habiendo desarrollado COLODETECT®, un prototipo de test diagnóstico del cáncer colorrectal (CCR) basado en la detección temprana de autoanticuerpos en el suero de los pacientes. La misma tecnología está siendo actualmente utilizada en un proyecto análogo denominado PROFILUX, cuyo objetivo es la detección del cáncer de pulmón a partir de muestras de saliva y/o sangre de los pacientes. Desde 2014, y fruto de la estrecha colaboración con el grupo de "Mecanismos de Metástasis Tumoral" del Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), se han desarrollado conjuntamente una serie de anticuerpos monoclonales específicos frente a las dianas CDH17-RGD e IL13R $\alpha$ 2, implicadas en procesos de metástasis tumorales y asociadas a un peor pronóstico de estos pacientes. Así, se han patentado nuevos anticuerpos terapéuticos que la empresa ha licenciado y continúa desarrollando para tratamiento del CCR metastásico. En 2023 la empresa ha licenciado otra patente del CSIC que protege COLOPROOF, un método para estratificación de pacientes en estadios II-III de CCR por asignación de un índice de riesgo de recurrencia y para guiar el tratamiento.

*Protein Alternatives SL (PROALT), a biotechnology company founded in 2006 by researchers from the Spanish National Research Council (CSIC) and the National Center for Oncology Research (CNIO), dedicates its R&D to the design of innovative diagnostic tests for the early detection of cancer, methods for recurrence prognosis and treatment guidance, and the development of unique antibodies against new therapeutic targets for the effective treatment of metastatic tumors. The entity, based in Tres Cantos city in Madrid, has been developing CSIC patents in the field of cancer diagnosis since 2010, having developed COLODETECT®, a prototype of colorectal cancer (CRC) diagnostic test based on the early detection of autoantibodies in the serum of patients. The same autoantibody technology is currently being applied to a similar project called PROFILUX, whose objective is the detection of lung cancer from saliva or blood samples of patients. From 2014, and as a result of the close collaboration with the "Mechanisms of cancer metastasis" group of the Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CSIC), a panel of specific monoclonal antibodies against CDH17-RGD and IL13R $\alpha$ 2 targets have been developed, two proteins involved in metastasis formation and tumor progression, that are associated to a worse prognosis. These new therapeutic antibodies were patented, and licensed by ProAlt and are under development for the treatment of metastatic CRC. In 2023, the company licensed a new patent from CSIC that protects COLOPROOF, a method for stratification of stage II-III CRC patients by determining a recurrence risk score and also useful for guiding treatment.*







W [www.a4cell.com](http://www.a4cell.com)  
[www.icaro-project.eu](http://www.icaro-project.eu)  
<https://www.youtube.com/watch?v=Zhsi3cFPf346t=18s>

### Equipo fundador / Founder team

José A. Plaza (IMB-CNM-CSIC - Profesor de investigación | Research professor)  
 Jaume Esteve Tintó (IMB-CNM-CSIC - Profesor de investigación | Research professor)  
 Marta Duch (IMB-CNM-CSIC - Investigadora | Head researcher)  
 Juan Pablo Agusil (IMB-CNM-CSIC - Investigador postdoctoral | Postdoc researcher)  
 Alberto M. Hernández Pinto (CIB - Investigador postdoctoral | Postdoc researcher) (director científico | CSO)  
 Elena C. Rivas Pérez (directora ejecutiva | CEO)

### Personal científico y técnico / Scientific and technical Staff

Francisco Sánchez Sancho (director técnico | CTO)  
 Marina Martínez (Científica senior | Senior scientist)  
 Antonio Quílez Álvarez (jefe de aplicaciones | head of applications)  
 Irene Palacios (especialista de biovalidación | biovalidation lab specialist)  
 David García Soriano (especialista químico | chemical specialist)  
 Laura Montalvillo (especialista química | chemical specialist)  
 Goretti Aranaz (especialista en biología molecular | molecular biology specialist)  
 María Palomares (técnico de producción | production technician)  
 Rubén Míguez (técnico en química, estudiante predoctoral | chemical technician, PhD student)

## A4Cell

Arrays for Cell Nanodevices S.L. (A4Cell) es una *spin-off* del CSIC que nació en 2018 como iniciativa de un grupo de investigadores del Instituto de Microelectrónica de Barcelona (IMB-CNM-CSIC) y del Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), apoyados por el grupo de inversión BeAble Capital. A4Cell desarrolla la tecnología SPACHIP®, protegida bajo patente, que aspira a superar las limitaciones existentes en las técnicas usadas para el estudio de la biología celular *in vivo* y, en particular, en el terreno del análisis de célula única. Los SPACHIPS® son microdispositivos de óxido de silicio que, gracias a técnicas avanzadas de nanolitografía, pueden ser multiplexados con sondas fluorescentes de diversa naturaleza para monitorizar en el tiempo parámetros biológicos de interés desde el citosol de las células sin alterar su viabilidad. A4Cell desarrolla una amplia gama de ensayos celómicos, llamados CytoCHECK SPACHIP® Detection Kits, compatibles con la mayoría de las plataformas de análisis de imagen usadas en investigación, desarrollo y cribado de nuevos fármacos. A4Cell está desarrollando varios proyectos de investigación aplicada en biomedicina y biología celular, entre los que destaca ICARO ([www.icaro-project.eu](http://www.icaro-project.eu)), un proyecto Pathfinder del marco Horizonte Europa en colaboración con Imec (Bélgica), CNRS (Francia) y dos grupos del CSIC, uno en el CBM Severo Ochoa y otro en el CIB Margarita Salas.

*Arrays for Cell Nanodevices S.L. (A4Cell) is a CSIC's spin-off founded in 2018 as an initiative from a group of researchers at the Institute of Microelectronics of Barcelona (IMB-CNM-CSIC) and Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas (CIB-CSIC), supported by the venture capital fund BeAble Capital. A4Cell develops the "SPACHIP" technology, protected under patent, which aims to overcome the existing limitations in single-cell techniques used in Cell Biology, specially in the field of Single-Cell Analysis. SPACHIPS® are silicon oxide microdevices that, by advanced nanolithography techniques, are multiplexed with diverse and varied fluorescent probes to monitor biological parameters of interest over time from the cell cytosol without altering cell viability. A4Cell develops a wide range of cellomic assays, named CytoCHECK SPACHIP® Detection Kits, compatible with the majority of image analysis platforms used for research, development and screening of new drugs. A4Cell is developing various applied research projects in biomedicine and cell biology, among which ICARO ([www.icaro-project.eu](http://www.icaro-project.eu)), a Pathfinder project of the Horizon Europe framework, stands out, in collaboration with Imec (Belgium), CNRS (France), and two CSIC groups, one at the CBM Severo Ochoa, and another at the CIB Margarita Salas.*





#### Equipo fundador / Founder team

Nuria E. Campillo (Investigador/Scientist)  
 Ramon Gomez-Arrayas (Investigador/Scientist)  
 Pablo Talavante (Data Science)  
 Roi Naveiro (Data Science)  
 Shin- Ho Kim Lee (CSO)



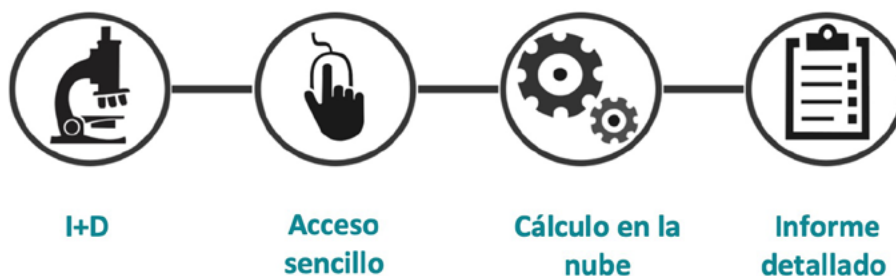
## Altenea Biotech

Altenea Biotech es una empresa de biotecnología, con el sello de Pyme Innovadora desde 2023, que surge como una *spin-off* del CSIC, CONICET y de la Universidad Nacional Sur (Argentina), dedicada al desarrollo de soluciones basadas en inteligencia artificial (IA) para el diseño y desarrollo eficaz y sostenible de compuestos químicos. Altenea tiene su embrión en la colaboración científica que varios grupos de investigación mantienen desde hace años para el desarrollo de modelos predictivos basados en herramientas de IA. Estos modelos permiten predecir tanto cualquier propiedad fisicoquímica, toxicológica y/o farmacológica de moléculas, diseño *de novo*, así como las mejores rutas y condiciones de síntesis y catálisis. El equipo se encuentra en España, donde se desarrolla la actividad tecnológica de la empresa. Esta experiencia y el carácter multidisciplinar del equipo proporcionan a Altenea Biotech tanto la capacidad de identificar problemas concretos como la de dar solución a los mismos en el menor tiempo y con la mayor eficacia posibles. Para ello utilizamos nuestra tecnología propietaria basada en algoritmos y redes neuronales artificiales con capacidad de autoaprendizaje. El proyecto ya ha dado lugar a dos publicaciones científicas, “AI in drug development: a multidisciplinary perspective” [Mol Divers 2021, 25, 1461-1479, doi:10.1007/s11030-021-10266-8] y “Design of new dispersants using machine learning and visual analytic” [Polymers 2023, 15, 1324, doi:10.3390/polym15051324], y una patente con Repsol. Recientemente Altenea ha conseguido un proyecto NEOTEC (SNEO-20222073).

*Altenea Biotech is a biotechnology company, with the Innovative Pyme Seal since 2023, that emerged as a spin-off of the CSIC, CONICET, and the Universidad Nacional Sur (Argentina), dedicated to the development of solutions based on artificial intelligence (AI) for design and effective and sustainable development of chemical compounds.*

*Altenea has its embryo in the scientific collaboration that several research groups have maintained for years for the development of predictive models based on AI tools. These models allow us to predict any physicochemical, toxicological, or pharmacological properties of molecules, de novo design, as well as the best routes and conditions for synthesis and catalysis. The team is located in Spain, where the company's technological activity is carried out. This experience, and the multidisciplinary nature of the team, provide Altenea Biotech with both the ability to identify specific problems and to provide solutions to them in the shortest time and with the greatest efficiency possible. To do this, we use our proprietary technology based on algorithms and artificial neural networks with self-learning capacity. The project has already given rise to two scientific publications: “AI in drug development: a multidisciplinary perspective” [Mol Divers 2021, 25, 1461-1479, doi:10.1007/s11030-021-10266-8], and “Design of new dispersants using machine learning and visual analytics” [Polymers 2023, 15, 1324, doi:10.3390/polym15051324], and a patent with Repsol. Recently Altenea has obtained a NEOTEC project (SNEO-20222073)*


### PLATAFORMA CLOUD





### Equipo fundador / Founder team

Ángel Cuesta Martínez      Virginia Albiñana Cuesta  
 Martín Jiménez Fernández      Eunate Gallardo Vara  
 Rebeca Andradás Rivas      Luisa-María Botella Cubells  
 Lucía Recio Poveda

 www.helprarebiotech.com

## Helprarebiotech SL

Nuestro equipo de trabajo cuenta con más de 30 años de experiencia en investigación científica y aplicada. Hemos desarrollado seis patentes y cuatro medicamentos huérfanos designados por la EMA. Nos avalan más de un centenar de publicaciones en revistas científicas y más de 75 contribuciones a congresos nacionales e internacionales. Mantenemos una relación estrecha con asociaciones nacionales e internacionales de pacientes y sociedades médicas y científicas. Ofrecemos un diagnóstico genético temprano, fiable y comprensible en enfermedades raras. Facilitamos toda la información necesaria para una comprensión total del resultado obtenido, para el manejo de la enfermedad y para el conocimiento de las opciones actualizadas de tratamiento en vanguardia. Nos encontramos altamente especializados en enfermedades raras vasculares. Incluimos los siguientes servicios:

- Diagnóstico genético en enfermedades raras.
- Cultivos celulares de pacientes para tratamientos en medicina personalizada.
- Cultivos celulares para investigación y búsqueda de reposicionamiento terapéutico.
- Análisis personalizado del exoma de tumores raros.
- Consejo genético.


*Our team has more than 30 years of experience in scientific and applied research. We have developed six patents and four orphan drugs designated by the EMA. We have more than a hundred publications in scientific journals and more than 75 contributions to national and international congresses. We maintain a close relationship with national and international patient associations and medical and scientific societies. We offer an early, reliable, and understandable genetic diagnosis of rare diseases. We provide all the information necessary for a full understanding of the result obtained, for disease management, and for the knowledge of state-of-the-art treatment options. We are highly specialized in vascular rare diseases. We include the following services:*

- Genetic diagnosis in rare diseases.
- Cell cultures of patients for personalized medicine treatments.
- Cell cultures for research and search for therapeutic repositioning.
- Personalized exome analysis of rare tumors.
- Genetic counseling.



### Equipo fundador / Founder team

María Auxiliadora Prieto Jiménez  
 José Luis García López  
 Eduardo Díaz Fernández  
 Amparo López Rubio  
 Juan Nogales Enrique

 www.biodriventech.com

## Biodriven Technologies

Biodriven Technologies es una *spin-off* del CSIC que desarrolla materiales innovadores adaptados a las necesidades de sus clientes. Contamos con más de 30 años de experiencia en investigación en el campo de los biopolímeros, la ingeniería metabólica y química de procesos. Damos la oportunidad a nuestros clientes de desarrollar su propio material, garantizamos que los mismos tienen un origen biobasado, son biodegradables y/o compostables y cumplen con las nuevas normativas referentes al plástico.

*Biodriven Technologies is a CSIC spin-off that develops innovative materials adapted to the needs of its customers. We have more than 30 years of research experience in the field of biopolymers, metabolic engineering, and process chemistry. We allow our clients to develop their materials, we guarantee that they are bio-based, biodegradable, and/or compostable and comply with the new regulations concerning plastics.*



*Bacterial Cellulose, a highly versatile and biodegradable biopolymer, finds innovative applications in sectors such as regenerative medicine, the textile industry, and tissue engineering.*



*Production of blends: we scale up formulations of bio-based materials in the range of 20 to 80 kg. We process biodegradable polymers, such as PHA or PBAT, with residues from various industries, which we revalue to develop a final biodegradable/compostable bio-based material that can be used to replace conventional plastics in many applications.*



*Prototyping and 3D printing: we prototype our bio-based materials and the final product in 3D printing.*

# Actividades y Datos

## *Activities and Data*

171 Divulgación / *Outreach*

173 Formación / *Training*

174 Tesis Doctorales / *PhD Thesis*

176 Trabajos Fin de Máster (TFM) y Fin de Grado (TFG) /  
*Master's Thesis and Final Degree Projects*

178 Visitantes Extranjeros / *Foreign Visitors*

180 Mujer y Ciencia / *Women in Science*

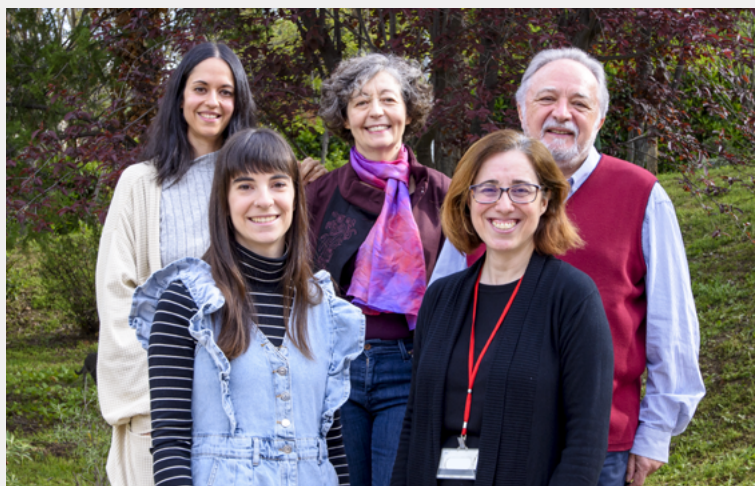
181 Directorio CIB / *CIB Directory*

183 Localización CIB / *CIB Location*

183 Otros Teléfonos del Centro / *Other CIB Telephone Numbers*

**CIB's Research & Society Commission**

Enrique J. de la Rosa (Responsible)  
 María del Carmen Fernández Alonso  
 Mercedes Jiménez Sarmiento  
 Begoña García Sastre  
 Yolanda González Pérez



## Divulgación / Outreach

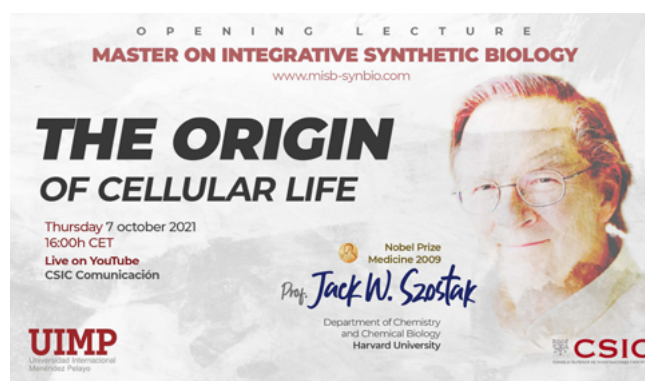
CIB Margarita Salas is strongly committed to the dissemination of our research activity, as well as other newsworthy content, to both the scientific community and citizenships, to help promote early scientific vocations, and, in summary, bring research closer to society to increase awareness of the need to invest in cutting edge science.

First, we are organizing on an annual basis a wide variety of state-of-the-art research seminars, workshops, colloquiums, and similar scientific events opened to the international scientific community, thanks to the fact that they are offered in a hybrid format including online streaming. The most important within the 2021-2023 period are briefly described below:

- Anja Groth, Novo Nordisk Foundation Center for Protein Research, University of Copenhagen
- Felipe Cava, Umeå University
- Boris Pfander, Max Planck Institute of Biochemistry
- Patrick Aloy, Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona)
- Achillefs Kapanidis, Clarendon Laboratory, Oxford University
- Arlene Sharpe, Harvard Medical School
- Jack W. Szostak, Harvard University
- Sebastian Maerkl, École Polytechnique Fédérale de Lausanne.
- Tobias Erb, MPI-Microbiology, Marburg
- Yuval Elani, Imperial College London
- Víctor de Lorenzo, Centro Nacional de Biotecnología (CSIC)
- Evan Spruijt, Institute for Molecules and Materials, Faculty of Science, Radboud University
- Joachim Spatz, MPI for Medical Research & University of Heidelberg
- Bert Poolman, University of Groningen
- Peter Bieling, Max Planck Institute of Molecular Physiology
- Petra Schwille, MPI Biochemistry, Martinsried
- Siddharth Deshpande, Wageningen University
- Karlene Cimprich, University of Standford
- Guadalupe Sabio, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC)
- Andrés Hidalgo, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares

(CNIC)

- Corentin Claeys Bouuaert, UCLovain
- Jesús Jiménez Barbero, CIC BioGune
- Gregg Beckham, National Renewable Energy Laboratory
- Guillermo Montoya, Novo Nordisk Foundation Center of Protein Research
- Bert Meijer, University of Groningen
- María José Alonso, Universidad de Santiago de Compostela
- Christophe Danelon, TU-Delf (The Netherlands) & Biotech Institute (France)
- Pablo Nikel, Novo Nordisk Foundation Center for Biosustainability (Denmark)
- César Muñoz-Fontela, Bernhard-Noch-Institute for Tropical Medicine (WHO Collaborating Center)
- Ohad Medalia, University of Zurich
- Alessandro Costa, Francis Crick Institute London
- Helle Ulrich, Institute for Molecular Biology Mainz (Johannes Gutenberg University)
- Victoria Sanz-Moreno, Barts Cancer Institute, Queen Mary University of London
- Peter Seeberger, Max Plank Institute of Colloids
- Katsuhiko Shirahige, Tokyo University
- Javier García, Universidad de Alicante



The CIB's Research & Society Commission organizes a whole range of activities to reach out to the general public, which are organized continuously. Some of the most remarkable events during the period included in this Scientific Report are:

### Science Week (*Semana de la Ciencia*), Night of the Researchers, and *Feria Madrid es Ciencia*

Yearly promotional activities organized by the Community of Madrid in which CIB Margarita Salas is participating through scientific presentations, publicity booths, and informal visits of high-school students to our research Center. Hands-on demonstrations are organized on different topics such as the use of microbial enzymes for the production of high added-value products, obesity as a problem of energetic efficiency, NMR of commonly-used molecules, and paracetamol synthesis.



### Guided Tours

We regularly host throughout the year guided visits of secondary schools, universities, and the general public to our center to show our installations, and facilities and explain our main research lines.

### Outreach gatherings in local pubs

CIB researchers organize talks in public places in which the best professionals deal with current scientific affairs, in an informal and affordable language, favoring the generation of debates in an environment distended. Between 2021-2023, talks were organized within the cycles *Ciencia en Pangea* (Dr. Enrique J. de la Rosa), and *Ciencia con 3Encantos* (Dr. Nuria Campillo).

### Participation in outreach books

There is a continuous obligation for our scientists to keep in contact with society, explaining what research is about in different formats. In the context of books, in 2021 Drs. Nuria Campillo, Carmen Fernández, and Mercedes Jiménez published *Nuevos usos para viejos medicamentos*, edited by CSIC and *Los Libros de la Catarata*. Within the same collection, in 2022, Mercedes Jiménez, and Nuria Campillo published *Las vacunas*.

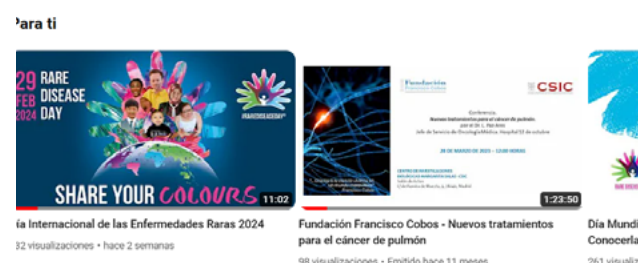
### Other ways of disseminating CIB's research

In the period 2021-2023 new issues of our newsletter, created in December 2019, have been published summarizing the main results of the center in the considered period and focused on Biotechnology, Fundamental Biology, and Biology for Global Well-being.

We used our profiles on social networks (Facebook, Twitter, LinkedIn, and Instagram) as well as our YouTube channel to disseminate our main scientific results and activities in different formats.

Our researchers participate in many events in different locations giving talks in conference cycles such as *Qué sabemos de*, or the DICMA Catalogue addressed to schools, lecture clubs, and workshops within the CSIC's programs *Ciencia en el Barrio* and *Ciudad Ciencia*, and talks at prisons in collaboration with the ONG Solidarios.

Additionally, our scientists participated in press, TV, and radio programs which are compiled in a dedicated web page (<https://divulgacion.cib.csic.es/>).



# Formación / Training

One of our pillars towards scientific excellence is training the next generation of researchers and other stakeholders. Over time, the CIB Margarita Salas has been developing continued efforts to promote Master's degrees and other specialized training courses in topics in cutting-edge biology.

Following is a brief report of achievements within the 2021-2023 period.

## 1. Master's Degree in Integrative Synthetic Biology (MISB)



MISB is a two-year (120 ECTS) advanced research school coorganized by the Spanish Research Council (CSIC) and the International University Menéndez Pelayo (UIMP) to provide graduate students (from life and physicochemical sciences to technology and engineering) with an integrated program of advanced training, research, and innovation on synthetic biology in a cutting-edge scientific environment. The mission of MISB, the first graduate school on synthetic biology in Spain, is to prepare the next generation of synthetic biologists, which requires novel ways of exploring living systems: engineering to understand and master biological complexity.

Starting in 2021, the third edition is running for 2023-2024.

Next to scientific seminars, MISB is also organizing a range of 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, and outreach

## 2. Master's Degree in Pandemics, Global Health and COVID-19

Promoted by the CSIC Interdisciplinary Thematic Platform Global Health and co-organized together with the UIMP, this master's degree aims to provide specific and multidisciplinary training related to pandemics and global health, with a focus on the generated by COVID-19, and to provide an adequate response to the health and social needs and demands of professionals (technicians, managers, analysts, trainers or planners) who are faced with complex scenarios daily. It consists of 60

ECTS divided into three modules, which may also be taken independently, as an expert title:

- Expert in Biology of Pandemic Viruses: SARS-COV-2
- Expert in Transmission and Prevention of Pandemic Diseases: COVID-19
- Expert in Population, Health, and Pandemics.

## 3. Training courses for CSIC staff

Every year the CIB staff engages in various specialized courses open to all CSIC personnel and coordinated by the CSIC's Training Office. Some of the topics that have been lectured within this period are related to covering the requirements defined by legislation on the use of animals in research, theoretical and practical courses in electron microscopy, confocal and *in vivo* microscopy, image processing using FIJI and ImageJ software, and flow cytometry, among others.



## 4. Training for High School teachers, health professionals and students

In collaboration with the governmental authorities of the Community of Madrid and the CSIC, the CIB has been organizing for years courses for professionals who are involved in biology-related topics.

Additionally, we participate annually in training programs aimed at students such as the CM's programs 4ESO+Empresa, Biology Olympics, and Educational Enrichment Program for students with high abilities (PEAC), and CSIC's *Científic@s en prácticas*, among others.

## 5. Doctorate Program in Science and Technology

Organized under the agreement signed by UIMP and CSIC, this Program is intended to be an important tool for training researchers according to the criteria of scientific and technical excellence and adaptation to the needs of society. The CIB proposal for the Biosciences area included three fields of research, in which 15 scientists of the center are engaged:

- Structural and Molecular Biology
- Cellular and Molecular Basis of the Physiopathology
- Biotechnology

# Tesis Doctorales / PhD Thesis

## BIOLÓGIA CELULAR Y MOLECULAR / CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY

- Ignacio Bravo Plaza**  
*Mecanismos reguladores de tráfico en la interfaz retículo endoplásmico/Golgi*  
 Universidad Complutense de Madrid (Noviembre de 2021)  
 Director: Miguel Á. Peñalva Soto
- Irene Picazo Domínguez**  
*Coordinación de los mecanismos reguladores que median en Aspergillus nidulans la respuesta a la alcalinización extracelular*  
 Universidad Complutense de Madrid (Diciembre de 2023)  
 Director: Eduardo A. Espeso Fernández
- Petra Teresak**  
*Papel de la mitofagia en la neurogénesis y la neurodegeneración*  
 Universidad Complutense de Madrid (Julio de 2022)  
 Directora: Patricia Boya
- Sandra Edith Benito Santiago**  
*Determinación del comportamiento electroquímico de recubrimientos de base Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, CeO<sub>2</sub> and ErGO sobre la aleación AZ31 para su potencial uso en implantes médicos temporales.*  
 Instituto Politécnico Nacional de México (Agosto de 2023)  
 Directores: Rosa M<sup>a</sup> Lozano y Edgard Onofre
- Sandra Serrano del Hoyo**  
*Estudio del requerimiento RING1B y la implicación de sus distintos dominios en el proceso de inmortalización de progenitores hematopoyéticos*  
 Universidad Autónoma de Madrid (Diciembre de 2022)  
 Directores: Miguel Ángel Vidal Caballero y Carmela Calés Bourdet
- Natalia Giner Laguarda**  
*Repertorio de potenciadores transcripcionales en progenitores normales y leucémicos y alteraciones inducidas por la inactivación de genes Ring1A y Ring1B*  
 Universidad Autónoma de Madrid (Diciembre de 2023)  
 Directores: Miguel Ángel Vidal Caballero y Florian Grebien
- María García García**  
*The mechanosensitive caveolar interactome identifies a nuclear transport pathway linked to caveolae and YAP*  
 Universidad Autónoma de Madrid (Junio de 2022)  
 Directores: Asier Echarri Aguirre y Miguel Ángel del Pozo (CNIC)
- Arturo González de la Aleja**  
*LIVER X receptors (LXR) command the transcriptional and functional polarization of human macrophages*  
 Universidad Complutense de Madrid (Marzo de 2022)  
 Directores: Ángel L. Corbí López y Antonio Castrillo Viguera
- Miriam Simón Fuentes**  
*Mecanismos moleculares de la respuesta antiinflamatoria de macrófagos humanos*  
 Universidad Complutense de Madrid (Mayo de 2022)  
 Directores: Ángel L. Corbí López y Ángeles Domínguez Soto

## BIOLÓGIA ESTRUCTURAL Y QUÍMICA / STRUCTURAL AND CHEMICAL BIOLOGY

- Andrea Canal Martín**  
*Dynamic Combinatorial Chemistry: Reversible Chemistry optimization and application in Drug Discovery*  
 Universidad Complutense de Madrid (Enero de 2023)  
 Directora: Ruth Pérez Fernández
- Mariola Ferreras Gutiérrez**  
*Structure-function of the alpha subunit of the human trimeric G-protein i3 (Gai3)*  
 Universidad del País Vasco (Diciembre de 2023)  
 Director: Francisco José Blanco Gutiérrez
- Vanesa Nozal**  
*Modulación de la neurodegeneración con nuevas aproximaciones multidiana: diseño y síntesis de compuestos innovadores*  
 Universidad Complutense de Madrid (Abril de 2022)  
 Directores: Ana Martínez y Valle Palomo
- Carlota Tosat**  
*Biosensors to evaluate drug efficacy in neurodegenerative diseases*  
 Universidad Complutense de Madrid (Marzo de 2023)  
 Directores: Ana Martínez y Valle Palomo
- Elena Gómez Rubio**  
*Receptors of the innate immunity and bacterial infection. Computational approaches for molecular recognition studies and drug design*  
 Universidad Complutense de Madrid (Octubre de 2022)  
 Directora: Sonsoles Martín Santamaría
- Alejandra Matamoros Recio**  
*Computational approaches to molecular mechanisms of the innate immune system*  
 Universidad Complutense de Madrid (Diciembre de 2022)  
 Directora: Sonsoles Martín Santamaría
- Paula Martínez de Iturrate Sanz**  
*Inhibidores de proteín-quinasa como potenciales fármacos leishmanicidas*  
 Universidad Complutense de Madrid (Enero de 2021)  
 Directores: Carmen Gil y Luis I. Rivas López
- José Daniel Martínez Ordoñez**  
*Metodologías innovadoras basadas en <sup>19</sup>F-RMN de ligando y técnicas computacionales para el estudio de procesos de reconocimiento molecular azúcar-lectina*  
 Universidad Complutense de Madrid (Junio de 2021)  
 Directores: Jesús Jiménez-Barbero (CIC bioGUNE) y Francisco Javier Cañada
- Álvaro Viedma Poyatos**  
*Cysteine modifications of glial fibrillary acidic protein and impact in Alexander disease*  
 Universidad Autónoma de Madrid (Diciembre de 2021)  
 Directora: Dolores Pérez-Sala Gozalo
- Sergio Navas Yuste**  
*Caracterización estructural y funcional de enzimas de interés biomédico: catalasas y he-xosaminidasas fúngicas y factores de inmunoevasión del sistema del complemento de Leptospira interrogans*  
 Universidad Complutense de Madrid (Abril de 2023)  
 Directora: M<sup>a</sup> Cristina Vega Fernández
- Eduardo de la Usada Molinero**  
*Caracterización bioquímica y estructural de enzimas bacterianas y fúngicas implicadas en el metabolismo de azúcares: N-acetil-β-hexosaminidasas, α-glucuronidasas y meta-lo-β-lactamasas*  
 Universidad Complutense de Madrid (Abril de 2023)  
 Directores: M<sup>a</sup> Cristina Vega Fernández y Sara Gómez Quevedo (Universidad Europea)
- Ahmed Soliman**  
*Impact of small molecules and peptides on Tau-Microtubule interaction and Tau aggregation in primary peripheral neurons and models of Alzheimer and Parkinson's disease*  
 Universidad Internacional Menéndez Pelayo / Universidad de Osnabrück (Marzo de 2023)  
 Directores: José Fernando Díaz Pereira y María Ángela Oliva Blanco
- Francesca Bonato**  
*Effect of microtubule-targeting agents on structural signaling and chemical transport in cells*  
 Universidad Internacional Menéndez Pelayo / Universidad de Milán (Diciembre de 2023)  
 Directores: José Fernando Díaz Pereira y María Ángela Oliva Blanco.
- Quoq Phong Nguyen**  
*Structural insights into Ty1 yeast retrotransposon DNA integration mechanism at genes transcribed by RNA Polymerase III*



Université de Marseille Aix (Marzo de 2022)

Directores: Carlos Fernández Tornero y Juan Reguera (Université de Marseille Aix)

• **Miguel Ángel Robles Ramos**

*Systems biochemistry of macromolecular interactions involved in the regulation of the division ring stability in bacteria*

Universidad Complutense de Madrid. (Diciembre de 2022)

Directores: Germán Rivas Caballero y Silvia Zorrilla López

• **Loreto Martínez González**

*Modulación de TDP-43: Una estrategia terapéutica para la esclerosis lateral amiotrófica*

Universidad Complutense de Madrid (Mayo de 2021)

Directores: Ana Martínez y Ángeles Martín Requero

• **Rocío Benítez Fernández**

*Descubrimiento de nuevas terapias y técnicas de diagnóstico no invasivas en esclerosis múltiple*

Universidad Complutense de Madrid. (Septiembre de 2021)

Directores: Ana Martínez y Fernando de Castro

• **Inés Maestro Inarejos**

*Moduladores de mitofagia como fármacos innovadores en enfermedades neurodegenerativas*

Universidad Complutense de Madrid. (Junio de 2022)

Directores: Ana Martínez y Patricia Boya

## BIOMEDICINA MOLECULAR / MOLECULAR BIOMEDICINE

• **Odei Barreñada Taleb**

*Dinámica de expresión de piRNAs y miRNAs en células gonadales embrionarias de ratón e impacto por la exposición a compuestos disruptores endocrinos en la línea femenina.*

Universidad Autónoma de Madrid (Julio de 2023)

Directores: Jesús del Mazo y Miguel A. Briño-Enríquez (University of Pittsburgh)

• **Elena Madrazo Béjar**

*Papel de la metilación de H3K9 en la mecánica nuclear y la migración de la leucemia linfoblástica aguda*

Universidad Complutense de Madrid (Marzo de 2023)

Director: Javier Redondo Muñoz

• **Raquel González Novo**

*Cambios epigenéticos y nucleares inducidos por el microambiente 3D que controlan la disminución de la leucemia linfoblástica aguda*

Universidad Complutense de Madrid (Noviembre de 2023)

Director: Javier Redondo Muñoz

• **Rocío Villena Gutiérrez**

*Modulación de la autofagia por restricción de grasas en el desarrollo de insuficiencia cardíaca*

Universidad Autónoma de Madrid (Enero de 2023)

Directores: Borja Ibáñez (CNIC) y Eduardo Oliver

• **Agustín Clemente Moragón**

*Estudio traslacional y mecanístico sobre la modulación del receptor  $\beta$ 1adrenérgico como terapia del daño cardiovascular agudo*

Universidad Autónoma de Madrid (Febrero de 2023)

Directores: Borja Ibáñez (CNIC) y Eduardo Oliver

• **Álvaro Sahún Español**

*Regulation of vascular smooth muscle cell proliferation by the protease MT4-MMP in developmental and adult arteriogenesis*

Universidad Autónoma de Madrid (Marzo de 2021)

Directora: Alicia G. Arroyo

• **Ricardo Santamaría Adame**

*Caracterización e impacto de la remodelación vascular por poda capilar en el corazón post-natal de ratón*

Universidad Autónoma de Madrid (Septiembre de 2021)

Directora: Alicia G. Arroyo

• **Marta Jaén Castaño**

*Nuevas terapias en cáncer colorrectal metastásico*

Universidad Complutense de Madrid (Julio de 2022)

Director: José Ignacio Casal Álvarez

• **Adrián Martín Ambrosio-Doménech**

*Caracterización funcional y estructural de la proteína Factor H-Related B (FHR-B) del sistema del Complemento del ratón.*

Universidad Complutense de Madrid (Mayo de 2022)

Director: Santiago Rodríguez de Córdoba

• **Héctor Martín Merinero**

*Caracterización funcional de variantes en genes del sistema del complemento asociadas con patología.*

Universidad Complutense de Madrid (Julio de 2023)

Director: Santiago Rodríguez de Córdoba

• **Mónica Uceda**

*Contribución de MAM a la regulación del metabolismo neuronal*

Universidad Autónoma de Madrid (Septiembre de 2023)

Directora: Estela Area Gómez

• **Elvira Arroyo**

*El papel de MAM en la patología de ELA*

Universidad de Sevilla (Enero de 2024)

Directoras: Estela Area Gómez y Carmen Paradas (IBIS)

• **Carla Espinós Estévez**

*Generation and characterization of preclinical models to study premature aging and cardiovascular disease in Hutchinson-Gilford progeria syndrome*

Universidad Autónoma de Madrid (Noviembre de 2023)

Directores: Ignacio Benedicto y Vicente Andrés (CNIC)

• **Ana Barettoni Grediaga**

*Vascular cell heterogeneity in Hutchinson-Gilford progeria syndrome: from pathological mechanisms to therapy*

Universidad Autónoma de Madrid (Abril de 2023)

Directores: Ignacio Benedicto y Vicente Andrés (CNIC)

## BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y DE PLANTAS / MICROBIAL AND PLANT BIOTECHNOLOGY

• **Javier Castellés Sierra**

*Resistance to deltamethrin in Spanish populations of the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*: Detection, characterization, and management.*

Universidad Politécnica de Madrid (Mayo de 2023)

Director: Félix Ortego Alonso

• **Guillermo Cabezas Torrero**

*Polinizadores silvestres en cultivos extensivos: toxicidad de insecticidas con distinto modo de acción usando como modelo el abejorro *Bombus terrestris*.*

Universidad Complutense de Madrid (Abril de 2022)

Directora: Gema M. Pérez Farinós

• **Pablo Aza Toca**

*Oxidasas multicobre de hongos que degradan la lignocelulosa: expresión heteróloga, caracterización e ingeniería*

Universidad Complutense de Madrid (Julio de 2023)

Directora: Susana Camarero Fernández

• **Juan Ibero Caballero**

*Estudio de la degradación de esteroides en *Novosphingobium tardaugens* NBRC 16725 y sus aplicaciones biotecnológicas*

Universidad Complutense de Madrid (Marzo de 2022)

Directores: José Luis García y Beatriz Galán

• **Dina Kacar**

*Characterization of labrenzin biosynthesis in marine alphaproteobacterium *Labrenzia* sp. PHM005*

Universidad Autónoma de Madrid (Marzo de 2021)

Directores: José Luis García y Beatriz Galán

- **Javier Nicolás Garay Novillo**  
*Ingeniería de vectores plasmídicos para bacterias ácido lácticas*  
Universidad Nacional de Córdoba, Argentina (Julio de 2023)  
Directores: José Luis Barra (UNC) y Gloria del Solar Dongil
- **Norhane Besrouer Aouam**  
*Caractérisation des biopolymères synthétisés par les bactéries lactiques.*  
Faculté des Sciences de Tunis, Université Tunis El Manar (Junio de 2021)  
Directores: Ouzari Cherif Hadda-Imene (Université Tunis El Manar) y Paloma López
- **Kholoud Necira**  
*Étude de la résistance variétale de la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) aux virus phytopathogènes PVY et PVX*  
University of El Manar (Mayo de 2023)  
Directores: Fattouma Kijilani-Khouadja (University of El Manar) y Francisco Tenllado
- **Taban Safarzadeh Khosroshahi**  
*Molecular characterization and transient expression in plants of a *Mirabilis jalapa* antiviral protein (MAP), and its use in functional studies*  
Islamic Azad University, Science and Research Branch, Teheran (Junio de 2022)  
Directores: Farshad Rakhshandehroo (Islamic Azad University) y Tomás Canto
- **Alicia Villacampa Calvo**  
*Effects of microgravity and partial gravity and the influence of photostimulation on plant adaptation to spaceflight*  
Universidad Autónoma de Madrid (Septiembre de 2021)  
Directores: Francisco Javier Medina Díaz y Malgorzara Ciska
- **Eduardo Tranque Montes**  
*Las proteínas PAT1: nuevos reguladores multifuncionales del procesamiento de los ARNm en Arabidopsis thaliana*  
Universidad Complutense de Madrid. (Abril de 2023)  
Directores: Julio Salinas Muñoz y Rafael Catalá Rodríguez
- **Eduardo Berenguer Peinado**  
*Papel de la autofagia, cisteín proteasas y modificaciones postraduccionales de histonas en la inducción por estrés de embriogénesis de microsporas de plantas cultivadas.*  
Universidad Complutense de Madrid (Octubre de 2020)  
Directora: Pilar Sánchez Testillano
- **Mario Luis da Costa**  
*Quercus suber embryo development and characterization: A molecular and cellular functional approach.*  
Universidad de Oporto (Diciembre de 2021)  
Directoras: Pilar Sánchez Testillano y Silvia Coimbra
- **Yolanda Pérez Pérez**  
*Efectores positivos y negativos de la embriogénesis somática y de microsporas de especies cultivadas y forestales: regulación hormonal, pared celular y muerte celular*  
Universidad Complutense de Madrid (Noviembre de 2021)  
Directora: Pilar Sánchez Testillano
- **Natalia Hernández Herreros**  
*Tecnologías de vanguardia para la producción de bioplásticos a partir de residuos complejos*  
Universidad Complutense de Madrid (Marzo de 2022)  
Directora: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez
- **Francisco Germán Blanco Parte**  
*Application of polymer biotechnology to design new antimicrobial materials*  
Universidad Complutense de Madrid (Noviembre de 2023)  
Directores: M. Auxiliadora Prieto Jiménez y Ana M. Hernández Arriaga
- **Roberto Vázquez Fernández**  
*New strategies for the design and development of protein antimicrobials based on phage products.*  
Universidad Complutense de Madrid (Julio de 2021)  
Director: Pedro García González

## Trabajos Fin de Máster (TFM) / *Master's Thesis*

### BIOLÓGIA CELULAR Y MOLECULAR / *CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY*

- **Sergio Fandiño González**  
Investigador responsable: Miguel Ángel Peñalva Soto
- **Paula Polonio García**  
Investigadores responsables: Miguel Ángel Peñalva Soto y Eduardo A. Espeso Fernández
- **Laura Guerra Fernández de Velasco**  
Investigador responsable: Eduardo A. Espeso Fernández
- **Belén Merás**  
Investigador responsable: Raquel Gómez-Sintes.
- **Laura de Marcos Maeso**  
Investigador responsable: Rodrigo Bermejo
- **Miguel Curto Duarte**  
Investigador responsable: Rodrigo Bermejo
- **Álvaro Gómez Morón**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Aleksandra Norczyk Simón**  
Investigadores responsables: Asier Echarrri Aguirre y Miguel Ángel del Pozo (CNIC)
- **Horacio Sosa Galeano**  
Investigadores responsables: María José Fernández Nestosa (FP-UNA) y Dora B Krimer

### BIOLÓGIA ESTRUCTURAL Y QUÍMICA / *STRUCTURAL AND CHEMICAL BIOLOGY*

- **Noelia Morales Benítez**  
Investigador responsable: Ruth Pérez Fernández
- **Natalia Esteban Pérez**  
Investigadores responsables: Ruth Pérez Fernández y Sonsoles Martín-Santamaría
- **Antonio Jurado Campos**  
Investigador responsable: Ruth Pérez Fernández
- **Marta González Jiménez**  
Investigador responsable: Francisco José Blanco Gutiérrez.
- **Carmen Pérez de la Lastra Aranda**  
Investigador responsable: Valle Palomo
- **Karen Díaz Palacios**  
Investigador responsable: Daniel Lietha
- **Carmen Gómez García**  
Investigador responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Gonzalo Ligeró Martín**  
Investigador responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Irene Caro Campos**  
Investigador responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Aitor Corcuera Ruiz**  
Investigadores responsables: Alejandra Matamoros Recio y Sonsoles Martín Santamaría
- **Lucía Reglero Fernández**  
Investigadores responsables: Lidia Araújo Bazán y Ernesto Arias Palomo
- **Beatriz Fernández del Río**  
Investigador responsable: Francisco Javier Cañada
- **Francisco Javier Alonso Martínez**  
Investigador responsable: Francisco Javier Cañada
- **Raúl Gómez García**  
Investigador responsable: Francisco Javier Cañada
- **Andrea Benito Martínez**  
Investigador responsable: Dolores Pérez-Sala Gozalo
- **Sofía Schaelekens**  
Investigador responsable: María Ángela Oliva Blanco
- **Soumia Elfazazi**  
Investigador responsable: María Ángela Oliva Blanco
- **Óscar Fernández Blanco**  
Investigador responsable: Fernando Díaz Pereira
- **Héctor Leal Lasalle**  
Investigadores responsables: Carlos Fernández Tornero y Germán Rivas Caballero
- **Carolina Muñoz Núñez**  
Investigadores responsables: Carlos Fernández Tornero y Federico M. Ruiz
- **Gianfranco Paccione**  
Investigadores responsables: Germán Rivas Caballero y Begoña Monterroso Marco
- **Laura Guzmán Rey**  
Investigadores responsables: Begoña Monterroso Marco y Silvia Zorrilla López
- **Marcella Sammartino**  
Investigadores responsables: Begoña Monterroso Marco y Silvia Zorrilla López
- **Elena Caballero Sánchez**  
Investigadores responsables: Ana Martínez y Carmen Gil
- **James Kevin Bradshaw**  
Investigador responsable: Ana Martínez

**BIOMEDICINA MOLECULAR / MOLECULAR BIOMEDICINE**

- **Ana Fernández Escribano**  
Investigador responsable: Teresa Suárez
- **Noelia Pimentel Mayordomo**  
Investigador responsable: Catalina Hernández Sánchez
- **Javier Ruiz Navarro**  
Investigador responsable: Consuelo González Manchón
- **David Rodríguez Jiménez**  
Investigador responsable: Catalina Hernández Sánchez
- **Lilíbeth Cárdenas Paredes**  
Investigador responsable: Catalina Hernández Sánchez
- **Lucía Álvaro Aranda**  
Investigador responsable: Javier Redondo Muñoz
- **Cándido Ortiz Placín**  
Investigador responsable: Javier Redondo Muñoz
- **Irene Cáceres Estévez**  
Investigador responsable: Javier Redondo Muñoz
- **Andrea Nicole Reyes Flores**  
Investigador responsable: Eduardo Oliver
- **Bertha García León**  
Investigador responsable: Eduardo Oliver
- **Anabel Díaz-Guerra**  
Investigadores responsables: Borja Ibáñez (CNIC) y Eduardo Oliver
- **Ignacio González López-Cepero**  
Investigador responsable: Joaquín Teixidó Calvo
- **Alberto Tagliaferro Quiñonero**  
Investigador responsable: Joaquín Teixidó Calvo
- **Sara Alonso Pinillos**  
Investigador responsable: Joaquín Teixidó Calvo
- **Mar Fernández Monzón**  
Investigador responsable: Faustino Mollinedo García
- **Sandra Pardo Valencia**  
Investigador responsable: Faustino Mollinedo García
- **María González Álvarez**  
Investigador responsable: Alicia G. Arroyo
- **Javier Cruz Caballero**  
Investigador responsable: Alicia G. Arroyo
- **Laura Cuesta Ramos**  
Investigador responsable: Alicia G. Arroyo
- **Marina Ortega Zaperó**  
Investigador responsable: José Ignacio Casal Álvarez
- **María Antonia Febrer**  
Investigadores responsables: Aurora Gómez-Durán y María Luisa Botella
- **Nerea González García**  
Investigadores responsables: Aurora Gómez-Durán y Estela Area-Gómez
- **Diego González-Pérez**  
Investigador responsable: Aurora Gómez-Durán
- **Virginia García-Calvo**  
Investigador responsable: Aurora Gómez-Durán
- **Ignacio Monar**  
Investigador responsable: Aurora Gómez-Durán
- **Mónica Uceda**  
Investigador responsable: Estela Area Gómez
- **Laura Llorente**  
Investigadores responsables: Luisa-María Botella y Virginia Albiñana
- **Gonzalo García Aguilera**  
Investigador responsable: María Montoya González
- **Juncal Sánchez Alonso**  
Investigador responsable: María Montoya González
- **Federica Pedrucci**  
Investigador responsable: María Montoya González
- **Federico Gattini**  
Investigador responsable: María Montoya González

**BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y DE PLANTAS / MICROBIAL AND PLANT BIOTECHNOLOGY**

- **Manuel García-Cervigón Plaza**  
Investigador responsable: Francisco Javier Ruiz Dueñas
- **Rodrigo Ángel Rincón Sanz**  
Investigadores responsables: Francisco Javier Ruiz Dueñas y Ángel T. Martínez Ferrer
- **Juan Carral Sáez-Royuela**  
Investigador responsable: Susana Camarero
- **Benjamin Enogieru**  
Investigador responsable: Beatriz Galán
- **Irene Cano Sánchez**  
Investigadores responsables: Manuel Carmona Pérez y Gonzalo Durante Rodríguez
- **Cristina Serrano Pelejero**  
Investigadores responsables: Manuel Carmona Pérez y Eduardo Díaz Fernández
- **Carla Sevilla Navarro**  
Investigadores responsables: Gonzalo Durante Rodríguez y Eduardo Díaz Fernández
- **Lara Bejarano Muñoz**  
Investigadores responsables: María Jesús Martínez y Alicia Prieto
- **Belén Morales Lahera**  
Investigador responsable: Jorge Barriuso
- **Sandra Galea Outón**  
Investigadores responsables: Jorge Barriuso y Alicia Prieto
- **Sara Galindo Morales**  
Investigadores responsables: Jorge Barriuso y Alicia Prieto
- **Inés Julia Herrera Gómez**  
Investigador responsable: Jorge Barriuso
- **Paula Chacón Guisado**  
Investigadores responsables: Gloria del Solar Dongil y José Ángel Ruiz Masó
- **Francisca Álvarez Juárez**  
Investigadores responsables: Gloria del Solar Dongil y José Ángel Ruiz Masó
- **Lucía Martín**  
Investigador responsable: Paloma López García
- **Hao Sun**  
Investigador responsable: Tomás Canto
- **Víctor García**  
Investigadores responsables: Julio Salinas Muñoz y Rafael Catalá
- **Jorge Sánchez Muñoz**  
Investigadores responsables: Pilar S. Testillano y Elena Carneros
- **César Castellanos Aguilar**  
Investigadores responsables: Pilar S. Testillano y Elena Carneros
- **Sergio Mateo Rojas**  
Investigadores responsables: Pilar S. Testillano y Yolanda Pérez Pérez
- **Karina Schann**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez y Manuel Santiago Godoy
- **Marina Rodríguez Carreiro**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez y Alberto Rodríguez
- **Santiago Roque de Miguel Sanz**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez y Manuel Santiago Godoy
- **José Daniel Jiménez Santos-García**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez y Manuel Santiago Godoy
- **Sergio Vivo Filardi**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez e Isabel Pardo
- **Alba Calonge García**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez e Isabel Pardo Mendoza
- **Pedro Miñarro Hernández**  
Investigador responsable: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez
- **Paula Antón Sánchez**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro
- **Sergio Cibantos Casamayón**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro

**Trabajos de Fin de Grado (TFG) / Final Degree Projects****BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR / CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY**

- **Laura Tabuena**  
Investigador responsable: Daniel Bachiller
- **Sara Fajardo Elena**  
Investigador responsable: Eduardo A. Espeso Fernández
- **Ángela Franco Fernández**  
Investigadores responsables: Miguel Ángel Peñalva Soto y Eduardo A. Espeso Fernández
- **Raúl García Marín**  
Investigador responsable: Beatriz Villarejo-Zori.
- **Natalia Chávarri Santiago**  
Investigador responsable: Alicia Bravo
- **Laura de Marcos Maeso**  
Investigador responsable: Rodrigo Bermejo
- **Esther Solano Pérez**  
Investigador responsable: Rodrigo Bermejo
- **Samuel Vives Mora**  
Investigador responsable: Rodrigo Bermejo
- **Roberto García Egido**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Clara Esteban Sánchez**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Rubén García León**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Alicia Velasco Sanz**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Alba Sanz Aparicio**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Lucía Rodríguez Calleja**  
Investigador responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Paul Nicholas Holmes Antón**  
Investigadores responsables: Asier Echarri Aguirre y Miguel Ángel del Pozo (CNIC)

**BIOLÓGIA ESTRUCTURAL Y QUÍMICA / STRUCTURAL AND CHEMICAL BIOLOGY**

- **Fernando Jiménez del Moral**  
Investigador responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Sergio Cubillas González**  
Investigador responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Ángela Gutiérrez Gutiérrez**  
Investigador responsable: Luis I. Rivas López
- **Marina Lozano Rendal**  
Investigador responsable: Luis I. Rivas López
- **Teresa Pérez Blanco**  
Investigador responsable: Luis I. Rivas López
- **Alba García Gómez**  
Investigador responsable: Eduardo Rial
- **Inés Julia Herrera Gómez**  
Investigador responsable: Antonio Romero Garrido
- **Santiago Pleite Fernández**  
Investigador responsable: Antonio Romero Garrido
- **Elena Hernández Caballero**  
Investigador responsable: María Ángela Oliva Blanco
- **Enrique Marcos Peral**  
Investigador responsable: José Fernando Díaz Pereira
- **Jaime Más Gómez Pavón**  
Investigador responsable: Vicente Larraga Rodríguez de Vera
- **Elena Carlota Moreno Quiroga**  
Investigador responsable: Vicente Larraga Rodríguez de Vera
- **Clara Gordillo**  
Investigador responsable: Ana Martínez
- **María Martín Redolar**  
Investigador responsable: Ana Martínez

**BIOMEDICINA MOLECULAR / MOLECULAR BIOMEDICINE**

- **Lucía García García**  
Investigador responsable: Teresa Suárez
- **Darío González Menéndez**  
Investigador responsable: Catalina Hernández Sánchez
- **Carlos Sánchez Flórez**  
Investigador responsable: Consuelo González Manchón
- **Silvana Ruiz Medina**  
Investigador responsable: Ángeles Martín Requero
- **Noelia González Guijarro**  
Investigador responsable: Eduardo Oliver
- **Janine ter Haar**  
Investigador responsable: Faustino Mollinedo García
- **Carlota Ramos Corral**  
Investigador responsable: Faustino Mollinedo García
- **Alberto Jiménez Montiel**  
Investigador responsable: Alicia G. Arroyo
- **Mercedes Peñalva Sánchez**  
Investigadores responsables: Luisa-María Botella y Virginia Albiñana
- **Marina Muñoz Muñoz**  
Investigador responsable: Ignacio Benedicto
- **Gonzalo García Aguilera**  
Investigador responsable: María Montoya González
- **Enrique Díaz Ros**  
Investigador responsable: María Montoya González

**BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y DE PLANTAS / MICROBIAL AND PLANT BIOTECHNOLOGY**

- **Gloria Gómez Montesinos**  
Investigador responsable: Beatriz Galán
- **Belén Fernández de Caleyá Ramiro**  
Investigador responsable: José Luis García
- **Fernando Ruiz Cobo**  
Investigador responsable: José Luis García
- **Paula Carril Núñez**  
Investigador responsable: José Luis García
- **Pablo Espada Núñez**  
Investigadores responsables: Gonzalo Durante Rodríguez y Eduardo Díaz Fernández
- **Irene Fernández Antigüedad**  
Investigador responsable: Alicia Prieto
- **Iván Belinchón Esteban**  
Investigadores responsables: Gloria del Solar Dongil y José Ángel Ruiz Masó
- **Erika Marlen Cabanillas Oscco**  
Investigadores responsables: Gloria del Solar Dongil y José Ángel Ruiz Masó
- **Natalia González Castellano**  
Investigador responsable: Francisco Tenllado
- **Ioannis Giannoukos**  
Investigador responsable: Francisco Tenllado
- **Belén Ojeda Martín**  
Investigador responsable: Francisco Tenllado
- **Lorenzo Contreras Lucas**  
Investigador responsable: Francisco Tenllado
- **Víctor Vázquez Vilrales**  
Investigadores responsables: Aránzazu Manzano Pérez y F. Javier Medina Díaz
- **Sara Atienza Sanz**  
Investigadores responsables: Julio Salinas Muñoz y Rafael Catalá
- **Paula Llamas Guerrero**  
Investigadores responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto Jiménez y María Tsampika Manoli
- **Raquel García Álvarez**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro
- **Patricia de Obesso Cintas**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro
- **Teresa Espinosa González**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro
- **Miguel Saturio Hornillos**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro
- **Weronika Kinga Zarychta Drabik**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Beatriz Maestro
- **Antonio Jesús García Cívico**  
Investigadores responsables: Jesús M. Sanz y Pedro García González
- **Isabel Punzón Fernández**  
Investigador responsable: César Llave
- **Marta Vergara Torres**  
Investigador responsable: César Llave

**Visitantes Extranjeros\* / Foreign Visitors\*\***

\* Visitantes Extranjeros (estancia mínima de dos meses; incluye estudiantes de programa ERASMUS) / \*\* Foreign Visitors (minimum stay of two months; includes ERASMUS program students)

**BIOLÓGIA CELULAR Y MOLECULAR / CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY**

- **Georgia Nikoudi**  
País: Grecia  
Responsable: Eduardo A. Espeso
- **Isabelle Hanna**  
País: USA  
Responsable: Eduardo A. Espeso
- **Natalia Soledad Fagali**  
País: Argentina  
Responsables: Rosa M<sup>a</sup> Lozano y Marcela Lieblich
- **Sandra Edith Benito Santiago**  
País: México  
Responsables: Rosa M<sup>a</sup> Lozano y Edgard Onofre
- **Lena Milanowska**  
País: Polonia  
Responsable: Rodrigo Bermejo
- **Hatice Ayyildiz**  
País: Turquía  
Responsable: Rodrigo Bermejo
- **Celia Siles**  
País: Francia  
Responsable: Rodrigo Bermejo
- **Sofía Kadiri**  
País: Francia  
Responsable: Rodrigo Bermejo
- **Kataryna Tripska**  
País: Chequia  
Responsables: José Luis Rodríguez Fernández y Carmelo Bernabé Quirante
- **Bojan Kuridža**  
País: Croacia  
Responsable: José Luis Rodríguez Fernández
- **Miguel Ángel Solís Barbosa**  
País: México  
Responsables: Ángel L. Corbí y Carmen Sánchez Torres (CINVESTAV)

## BIOLOGÍA ESTRUCTURAL Y QUÍMICA / STRUCTURAL AND CHEMICAL BIOLOGY

- **Teddy Potez**  
País: Francia  
Responsable: Ruth Pérez
- **Maria Bakogianni**  
País: Grecia  
Responsable: Ruth Pérez
- **Quentin Bellito**  
País: USA  
Responsable: Ruth Pérez
- **Tina Izard**  
País: USA  
Responsable: Daniel Lietha
- **Tania Gerpe**  
País: Italia  
Responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Stanislav Dubrovín**  
País: Polonia  
Responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Haruki Yamaura**  
País: Japón  
Responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Molly Dorothy Pither**  
País: Italia  
Responsable: Sonsoles Martín Santamaría
- **Imen Rabhi**  
País: Túnez  
Responsable: Luis I. Rivas
- **Mayra Y. Antúnez Mojica**  
País: México  
Responsable: Francisco Javier Cañada
- **Martin Kurfirt**  
País: República Checa  
Responsable: Francisco Javier Cañada
- **Israel Mares Mejías**  
País: México  
Responsable: M<sup>a</sup> Cristina Vega Fernández
- **Azam Ghazi**  
País: Irán  
Responsable: Vicente Larraga Rodríguez de Vera
- **Sofía Schaeerlaekens**  
País: Bélgica  
Responsable: María Ángela Oliva Blanco
- **Lorenzo Suigo**  
País: Italia  
Responsables: Germán Rivas, Silvia Zorrilla y Begoña Monterroso
- **Marcella Sammartino**  
País: Italia  
Responsables: Silvia Zorrilla, Begoña Monterroso y Germán Rivas
- **Savumiga Shanmugamani**  
País: Alemania  
Responsable: Carmen Gil Ayuso-Gontán
- **Ilenia Grieco**  
País: Italia  
Responsable: Ana Martínez Gil
- **Maia Zeni**  
País: Uruguay  
Responsable: Ana Martínez Gil
- **Luke Merrigan**  
País: Irlanda  
Responsable: Ana Martínez Gil
- **Daniela Malafaia**  
País: Portugal  
Responsable: Ana Martínez Gil
- **Ricardo Moreno**  
País: Polonia  
Responsable: Ana Martínez Gil
- **Thomas Emmerich**  
País: Reino Unido  
Responsable: Ana Martínez Gil

## BIOMEDICINA MOLECULAR / MOLECULAR BIOMEDICINE

- **Joanna Buczkowska**  
País: Polonia  
Responsable: Javier Redondo Muñoz
- **Silvana Ruiz Medina**  
País: Reino Unido  
Responsable: Ángeles Martín Requero
- **Elisa Rossi**  
País: Francia  
Responsable: Carmelo Bernabéu
- **Petr Nachtigal**  
País: República Checa  
Responsable: Carmelo Bernabéu
- **Janine ter Haar**  
País: Holanda  
Responsable: Faustino Mollinedo García
- **Aleksandra Bytniewska**  
País: Polonia  
Responsable: Alicia G. Arroyo
- **Gloria Patricia Cardona**  
País: Colombia  
Responsable: Estela Area Gómez
- **Federico Gattini**  
País: Italia  
Responsable: María Montoya González

## BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y DE PLANTAS / MICROBIAL AND PLANT BIOTECHNOLOGY

- **Dairon Antonio Ojeda Martínez**  
País: Cuba  
Responsable: Félix Ortego Alonso
- **Benjamin Enogieru**  
País: Alemania  
Responsable: Beatriz Galán
- **Elodie Vlaemink**  
País: Bélgica  
Responsable: José Luis García
- **Carla Solange Gárate Castro**  
País: Chile  
Responsables: Eduardo Díaz y Gonzalo Durante Rodríguez
- **Marli Camassola**  
País: Brasil  
Responsables: María Jesús Martínez y Alicia Prieto
- **Paula Cavión**  
País: Brasil  
Responsables: María Jesús Martínez y Alicia Prieto
- **Piotr P. Hapeta**  
País: Reino Unido  
Responsables: Jorge Barriuso y María Jesús Martínez
- **Jihen Benali**  
País: Túnez  
Responsable: María Jesús Martínez
- **Ahmed Zeid**  
País: Argelia  
Responsable: Paloma López
- **Malek Lahmar**  
País: Túnez  
Responsable: Paloma López
- **Angela Scauro**  
País: Italia  
Responsable: Gloria del Solar Dongil
- **Baraa Gharbi**  
País: Túnez  
Responsable: Gloria del Solar Dongil
- **Erato Zafeiratou**  
País: Grecia  
Responsable: Paloma López
- **Khouloud Necira**  
País: Túnez  
Responsables: Francisco Tenllado y Tomás Canto
- **Mongia Makki**  
País: Túnez  
Responsables: Francisco Tenllado y Tomás Canto
- **Daniela Cordeiro**  
País: Portugal  
Responsable: Pilar Sánchez Testillano
- **Stavros Vraggalas**  
País: Alemania  
Responsable: Pilar Sánchez Testillano
- **Karina Schann**  
País: Alemania  
Responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto y Manuel Santiago Godoy
- **Sophia Mihalyi**  
País: Austria  
Responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto, Alberto Rodríguez, Natalia Hernández y Cristina Campano
- **Noémie Jouffe**  
País: Francia  
Responsables: M<sup>a</sup> Auxiliadora Prieto y Cristina Campano
- **Jacqueline Alejandra Vásquez Navarrete**  
País: Chile  
Responsable: Isabel Pardo Mendoza

# Mujer y Ciencia / Women in Science



El 55% del personal del CIB Margarita Salas somos mujeres

**IGUALDAD EN EL CIB MARGARITA SALAS**

**ESTADÍSTICAS DESAGREGADAS**

**PERSONAL INVESTIGADOR**

**PERSONAL TÉCNICO**

**PROYECTOS**

**MEDIDAS FUTURAS**

CIB Margarita Salas is strongly committed to the advancement and promotion of the careers of women in science and feels a strong responsibility to inspire and nurture female vocations in disciplines within the STEM (Science, Technology, Engineering, Mathematics, and Medicine).

For more than 15 years, CIB Margarita Salas has presented sex-disaggregated statistics of women scientists in the institute. All committees and selection boards at CIB meet parity criteria. CIB has implemented a specific protocol against sexual harassment. It complies with the current regulation for maternity/paternity leave, supporting the optimal conditions for pregnant women at work and offering a private breastfeeding room. Many female researchers at CIB-CSIC actively participate in STEM and mentoring programs, annual campaigns for visibility of women scientists (February 11, International Day of Women and Girls in Science, and March 8, International Women's Day), presenting lectures in schools and institutes and participating in events specifically designed to celebrate these commemorations.

In February 2021 the Equality Commission of the center was constituted to consolidate all the strategies that have been carried out in the field of Gender Equality. The commission is made up of 10 members of different scientific and technical scales, trained in equality issues, in a ratio of men and women of 50%, and chaired by the director of the CIB Margarita Salas, Pilar S. Testillano.

The Commission aims to promote and encourage measures to achieve real equality, establishing equal opportunities between women and men, and focusing on the following objectives:

- To ensure compliance with the principle of equal treatment and opportunities and non-discrimination based on sex/gender in the CIB.
- To prepare statistical data on the center's personnel with a gender perspective, always disaggregated.

- Promote the presence of women in the research laboratories, with active recruitment policies for young women scientists who are group leaders, and in the center's governing bodies (management team, department heads).
- Promote an inclusive and non-sexist use of language.
- Carry out a diagnosis of the center's situation regarding equality, to propose corrective actions.
- Promote active policies for the reconciliation of work, personal, and family life for all CIB employees.
- To carry out information campaigns on the protocols of harassment, discrimination, or any other inappropriate behavior, and to serve as a channel to help possible victims in a strictly confidential manner.
- Promote the integration of gender analysis in research when appropriate.
- Design specific mentoring actions aimed at girls and young women researchers.
- Design scientific dissemination activities with special attention to encouraging scientific vocations in girls.

The CIB Margarita Salas participated in 2023 in the III CSIC Meeting of Equality in Granada. In addition, it has been involved in the creation of a network of equality committees in Madrid, which has culminated with its constitution in February 2024 under the name of RIDMAD-CSIC (Equality and Diversity Network of Madrid) and will be coordinated in its first year by our center

<https://cib.csic.es/women-in-science>

# Directorio CIB / CIB Directory

APellidos, Nombre / LAST NAME, NAME	CORREO ELECTRÓNICO / E-MAIL	PÁGINA / PAGE
<b>BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR / CELLULAR AND MOLECULAR BIOLOGY</b>		
Bachiller Pérez, Daniel	d.b@csic.es	12
Barbero Esteban, José Luis	jbarbero@cib.csic.es	22
Bermejo Moreno, Rodrigo	rodrigo.bermejo@csic.es	24
Boya, Patricia	pboya@cib.csic.es / patricia.boya@unifr.ch	16
Bravo García, Alicia	abravo@cib.csic.es	18
Calzada García, Jose Arturo	arturo.calzada@csic.es	24
Carballo, Jesus A.	j.carballo@cib.csic.es	32
Colmenares Brunet, María Isabel	maria.colmenares@cib.csic.es	34
Corbí López, Angel Luis	acorbi@cib.csic.es	34
Echarri Aguirre, Asier	asier.echarri@cib.csic.es	30
Espeso Fernández, Eduardo Antonio	eespeso@cib.csic.es	14
Espinosa Padron, Manuel	mespinosa@cib.csic.es	18
Hernández Valenzuela, Pablo	p.hernandez@cib.csic.es	32
Krimer Smunis, Dora Beatriz	dbkrimer@cib.csic.es	32
Lozano Puerto, Rosa María	rlozano@cib.csic.es	20
Peñalva Soto, Miguel Angel	penalva@cib.csic.es	14
Rodríguez Fernández, José Luis	rodrifer@cib.csic.es	28
Vega Palacios, Miguel Angel	mavega@cib.csic.es	34
Vidal Caballero, Miguel Angel	mvidal@cib.csic.es	26
<b>BIOMEDICINA MOLECULAR / MOLECULAR BIOMEDICINE</b>		
Area Gómez, Estela	estela.area@cib.csic.es	64
Benedicto Español, Ignacio	ignacio.benedicto@cib.csic.es	68
Bernabeu Quirante, Carmelo	bernabeu.c@cib.csic.es	44
Botella Cubells, Luisa María	cibluisa@cib.csic.es	66
Casal Álvarez, José Ignacio	icasal@cib.csic.es	56
De la Rosa Cano, Enrique J.	ejdelarosa@cib.csic.es	38
del Mazo Martínez, Jesús	jdelmazo@cib.csic.es	38
García Arroyo, Alicia	agarroyo@cib.csic.es	54
García Sanz, José Alberto	jasanz@cib.csic.es	-
Gómez-Durán, Aurora	aurora.gomez@cib.csic.es / aurora.gomez@usc.es	58
González Manchon, Consuelo	cgmanchon@cib.csic.es	38
Hernández Sánchez, Catalina	chernandez@cib.csic.es	38
Martín Requero, María Angeles	amrequero@cib.csic.es	42
Mollinedo García, Faustino	fmollin@cib.csic.es	52
Montoya González, María	maria.montoya@cib.csic.es	70
O'Loghlen, Ana	ana.ologhlen@cib.csic.es	46
Oliver, Eduardo	eduardo.oliver@cib.csic.es	48
Redondo Muñoz, Javier	javier.redondo@cib.csic.es	40
Rodríguez de Cordoba, Santiago	srdecordoba@cib.csic.es	60
Rojo Hernández, José María	jmrojo@cib.csic.es	62
Sánchez Ayuso, Matilde	msayuso@cib.csic.es	42
Suarez González, M <sup>a</sup> Teresa Margarita	teresa@cib.csic.es	38
Teixidó Calvo, Joaquín	joaquin@cib.csic.es	50
<b>BIOLOGÍA ESTRUCTURAL Y QUÍMICA / STRUCTURAL AND CHEMICAL BIOLOGY</b>		
Alcolea Alcolea, Pedro José	pjalcolea@cib.csic.es	96
Alfonso Botello, Carlos	carlosa@cib.csic.es	100
Arias Palomo, Ernesto	earias@cib.csic.es	84
Blanco Gutiérrez, Francisco José	fj.blanco@cib.csic.es	76
Campillo Martín, Nuria Eugenia	nuria.campillo@csic.es	102
Cañada Vicinay, Francisco Javier	jcanada@cib.csic.es	88

## Directorio CIB / CIB Directory

APELLIDOS, NOMBRE / LAST NAME, NAME	CORREO ELECTRÓNICO / E-MAIL	PÁGINA / PAGE
Díaz Pereira, José Fernando	fer@cib.csic.es	96
Fernández Tornero, Carlos	cftornero@cib.csic.es	98
Gil Ayuso-Gontan, Carmen	carmen.gil@csic.es	102
Giménez Abian, Juan Francisco	gimenezjf@cib.csic.es	96
Jiménez Sarmiento, María Mercedes	enoe@cib.csic.es	100
Larraga Rodríguez de Vera, Vicente E.	vlarraga@cib.csic.es	96
Lietha, Daniel	daniel.lietha@cib.csic.es	80
Martin Santamaria, Sonsoles	smsantamaria@cib.csic.es	82
Martínez Gil, Ana	ana.martinez@csic.es	102
Oliva Blanco, María Ángela	marian@cib.csic.es	96
Pajares Tarancon, María de los Angeles	mapajares@cib.csic.es	90
Palomo Ruiz, María del Valle	vpalomo@cib.csic.es / valle.palomo@imdea.org	78
Perez Fernandez, Ruth	ruth.perez@csic.es	74
Pérez-Sala Gozalo, Dolores	dperezsala@cib.csic.es	90
Rial Zueco, Eduardo	rial@cib.csic.es	86
Rivas Caballero, Germán	grivas@cib.csic.es	100
Rivas López, Luis Ignacio	luis.rivas@cib.csic.es	86
Romero Garrido, Antonio	romero@cib.csic.es	94
Sánchez-Puelles González-Carvajal, José María	jmspuelles@cib.csic.es	86
Vega Fernández, María Cristina	cvega@cib.csic.es	92
Zorrilla López, Silvia	silvia@cib.csic.es	100

### BIOTECNOLOGÍA MICROBIANA Y DE PLANTAS / MICROBIAL AND PLANT BIOTECHNOLOGY

Barriuso Maicas, Jorge	jbarriuso@cib.csic.es	114
Camarero Fernández, Susana	susanacam@cib.csic.es	108
Canto Ceballos, Tomás	tomas.canto@cib.csic.es	116
Carmona Pérez, Manuel	mcarmona@cib.csic.es	112
Catalá Rodríguez, Rafael	catala@cib.csic.es	122
del Solar Dongil, Gloria	gdelsolar@cib.csic.es	116
Díaz Fernández, Eduardo	ediaz@cib.csic.es	112
Galán Sicilia, Beatriz	bgalan@cib.csic.es	110
García González, Pedro Aurelio	pgarcia@cib.csic.es	128
García López, José Luis	jlgarcia@cib.csic.es	110
Hernández Crespo, Pedro	pedro@cib.csic.es	106
Llave Correas, César	cesarlave@cib.csic.es	130
López Garcia, Paloma	plg@cib.csic.es	116
Martínez Ferrer, Ángel Tomás	atmartinez@cib.csic.es	108
Martínez Hernández, María Jesús	mjmartinez@cib.csic.es	114
Medina Díaz, Francisco Javier	fjmedina@cib.csic.es	120
Ortego Alonso, Félix	ortego@cib.csic.es	106
Pérez Farinós, Gema María	gpfarinos@cib.csic.es	106
Prieto Jiménez, María Auxiliadora	auxi@cib.csic.es	126
Prieto Orzanco, Alicia María	aliprieto@cib.csic.es	114
Ruiz Dueñas, Francisco Javier	fjrui@cib.csic.es	108
Salinas Muñoz, Julio	salinas@cib.csic.es	122
Sánchez Rodríguez, Lucas	lsanchez@cib.csic.es	106
Sánchez Testillano, Pilar	testillano@cib.csic.es	124
Sanz Morales, Jesus Miguel	jmsanz@cib.csic.es	128
Tenllado Peralo, Francisco	tenllado@cib.csic.es	116



## Localización CIB / CIB Location



### CIB Centro de Investigaciones Biológicas Margarita Salas

Ramiro de Maeztu, 9  
28040 Madrid - SPAIN  
Teléfono: (34) 918 373 112

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	DESPACHO / OFFICE	TELÉFONO / TELEPHONE
Biblioteca	Elena Tomé Sanz	S21	442699
Compras y almacén	Alberto García Canals	B46	442852
Secretaría de Dirección	Noemí Álvarez Lindo	173	442650
Gerencia	Irene Pérez Redondo	B43	442654
Gestión Económica-Administrativa	Juan Carlos González Baena	B42	442682
Gestión de Personal	Carmen Rodríguez Palancas	B43	442820
Gestión de Proyectos	Isabel Varón Crespo	175	442714
Servicio Técnico (secretaría)	Noemí Álvarez Lindo	173	442650
Emergencias en el edificio	Javier Cañada	B00	442844

Memoria Científica  
*Scientific Report*  
2021-2023

