



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

**EL MIR106B FACILITA LA
REGENERACIÓN MUSCULAR DE
LOS MÚSCULOS DISTRÓFICOS
BALANCEANDO EL ESTATUS DE
LAS CÉLULAS MADRE
MUSCULARES**

Alumno/a: **Hernández Torres, Francisco**

Tutora: *Prof. Dña. Amelia Eva Aránega Jiménez*

Dpto: **Biología Experimental**

Marzo de 2018

1.- Resumen (250 palabras, máximo)	2
2.- Palabras clave y abreviaturas, si procede.	2
3.- Introducción	3
3.1. Miogénesis adulta	3
3.2. Bases moleculares y celulares de la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD)	5
3.3. Papel de los microARNs en los procesos de regeneración miogénica	9
4.- Objetivos	12
4.1. Objetivo general 1	12
4.1.1. Objetivo específico 1	12
4.1.2. Objetivo específico 2	12
4.2. Objetivo general 2	12
4.2.1. Objetivo específico 1	12
4.2.2. Objetivo específico 2	12
5.- Material y métodos	13
5.1. Animales de experimentación, tratamientos y procesamiento de muestras	13
5.2. Prueba de tolerancia al ejercicio (Treadmill)	14
5.3. Clonación regiones 3'UTR en vector pmiR-REPORT	14
5.4. Cultivos celulares.	16
5.4.1 Cultivo de fibras musculares.	16
5.4.2. Cultivo de CCS.	17
5.4.3. Cultivo de mioblastos Sol8.	17
5.4.4. Cultivo de mioblastos 293T.	18
5.4.5. Empaquetamiento, titulación y transducción de lentivirus.	18
5.4.6. Transfección mediante lipofectamina y análisis de niveles de luciferasa.	18
5.5. Extracciones de ARN, retrotranscripción y PCR cuantitativa a tiempo real.	19
5.6. Técnicas de inmunofluorescencia.	21
5.6.1. Inmunocitofluorescencia de CCS	21

5.6.2. Inmunohistofluorescencia	21
5.7. Técnicas de hibridación in situ.	23
5.7.1. Hibridación in situ sobre secciones histológicas.	23
5.7.2. Hibridación in situ sobre fibras musculares.	24
5.8. Tinción de hematoxilina-eosina	24
5.9. RNAseq y análisis bioinformático	24
5.10. Comisión de Bioética	25
6.- Resultados	26
6.1. El microARN 106b promueve el estado de quiescencia de las CCS	26
6.2. La desregulación a la baja del miR106b mediada por anti-miR induce un mejora de los procesos de miogénesis en el modelo murino distrófico C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J in vitro e in vivo .	28
6.3. La desregulación a la baja del miR106b in vivo mediada por anti-miR induce un profundo cambio del transcriptoma muscular durante el proceso de regeneración muscular en el modelo murino distrófico C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J.	34
7.- Discusión	41
8.- Fuentes de financiación	44
9.- Conclusiones.	45
10.- Bibliografía.	46
11.- Anexos	50

1.- Resumen

El músculo esquelético cumple funciones muy importantes dentro del organismo. Los procesos regenerativos de este tejido están dirigidos por un grupo de las células madre musculares denominadas células satélite. Como cualquier otro grupo de células madre, estas células satélite pueden dividirse mediante divisiones simétricas, que dan lugar a otras dos células madre musculares, o asimétricas, dando lugar a una célula madre que garantiza la continuidad del *pool* de células madre en el músculo, y a una célula satélite activada y con capacidad regenerativa. El balance entre las divisiones simétricas y asimétricas de las células satélite es fundamental para mantener el potencial regenerativo del tejido muscular.

Durante años se ha pensado que la el cuadro clínico que presentan los enfermos afectados por Distrofia Muscular de Duchenne es debido a que la falta de la proteína DISTROFINA que presentan estos enfermos desestabiliza la membrana citoplasmática de las fibras musculares. Sin embargo en los últimos años se ha demostrado que la DISTROFINA tiene un papel fundamental en los procesos de activación de las células satélite, promoviendo las divisiones asimétricas de las mismas. En los enfermos, la falta de DISTROFINA promueve fundamentalmente la división simétrica de las células satélite, disminuyendo así la disponibilidad de precursores miogénicos comprometidos con el proceso regenerativo, lo que complica la progresión de la enfermedad.

En este trabajo hemos demostrado que es posible aumentar la capacidad de división asimétrica de las células satélite distróficas modulando sus niveles endógenos del *miR106b*. Esta modulación tiene unos efectos muy positivos a nivel histológico y funcional en los ratones distróficos tratados, lo que nos proporciona nuevas herramientas moleculares con un importante potencial terapéutico para el tratamiento de esta y otras patologías musculares.

2.- Palabras clave

miR106b, anti-miR106b, células satélite, regeneración muscular, Distrofia Muscular de Duchenne, RNAseq

3.- Introducción

3.1. *Miogénesis adulta*

El músculo esquelético representa entre el 30% y el 38% de la masa del cuerpo humano (Janssen et al., 2000). Este tejido ejerce importantes funciones dentro del organismo, tales como el mantenimiento de la postura, el impulso locomotor o la ventilación pulmonar. Está ampliamente demostrado que las denominadas células satélite (CCS) constituyen la principal fuente de células madre del tejido muscular adulto (Yin et al., 2013). Estas células (CCS) se localizan entre la lámina basal y la membrana plasmática de las fibras musculares (Mauro, 1961), presentan un alto ratio núcleo/citoplasma, pocas organelas y una cromatina interfásica muy condensada. Esta morfología está en consonancia con el hecho de que, en un músculo sano, estas células se encuentran mitótica y transcripcionalmente muy poco activas (en fase G0) (Schultz et al., 1978). Este estado es denominado como estado de quiescencia. En quiescencia, las CCS se caracterizan molecularmente por la expresión del factor de transcripción PAX7 (Cornelison and Wold, 1997). En un contexto de estímulo fisiológico (ejercicio físico) o de condiciones patológicas (daño muscular), las CCS salen de su quiescencia, expresan el factor de transcripción MYF5 y empiezan a proliferar (proceso de activación de las CCS) como mioblastos. Estos mioblastos expresan el factor de transcripción MYOD1, migran hacia la zona dañada y comienzan a madurar y fusionarse entre sí para formar miotubos, coincidiendo con un aumento en la expresión del factor de transcripción MYOG. La expresión final de MYF6 permite la transición de miotubo hasta miofibra, que finalmente madura y regenera el área muscular dañada. Esta cascada molecular de activación de las CCS está bien documentada (Hernandez-Torres et al., 2017) (figura 1). Las CCS, como otras células madre, puede dividirse de manera simétrica y de manera asimétrica (Wang and Rudnicki, 2011; Yamashita, 2010). La naturaleza asimétrica del nicho celular de las CCS, entre la lámina basal y el sarcolema de la miofibra, determina el destino celular de estas células madre en función de la orientación del eje mitótico en relación a la fibra huésped. Durante la regeneración muscular in vivo, las divisiones celulares con orientación apicobasal dar lugar a una CS PAX7+/MYF5+ comprometida miogénicamente en contacto con la fibra muscular y otra CS PAX7+/MYF5- que permanece unida a lámina basal y que retiene la identidad de CS madre muscular. Por el contrario, las divisiones simétricas con orientación plana a lo largo de la fibra huésped, dan lugar a dos CCS PAX7+/MYF5- que permanecen en contacto con la miofibra y lámina basal y que mantienen la identidad de CSS madre (figura 2).

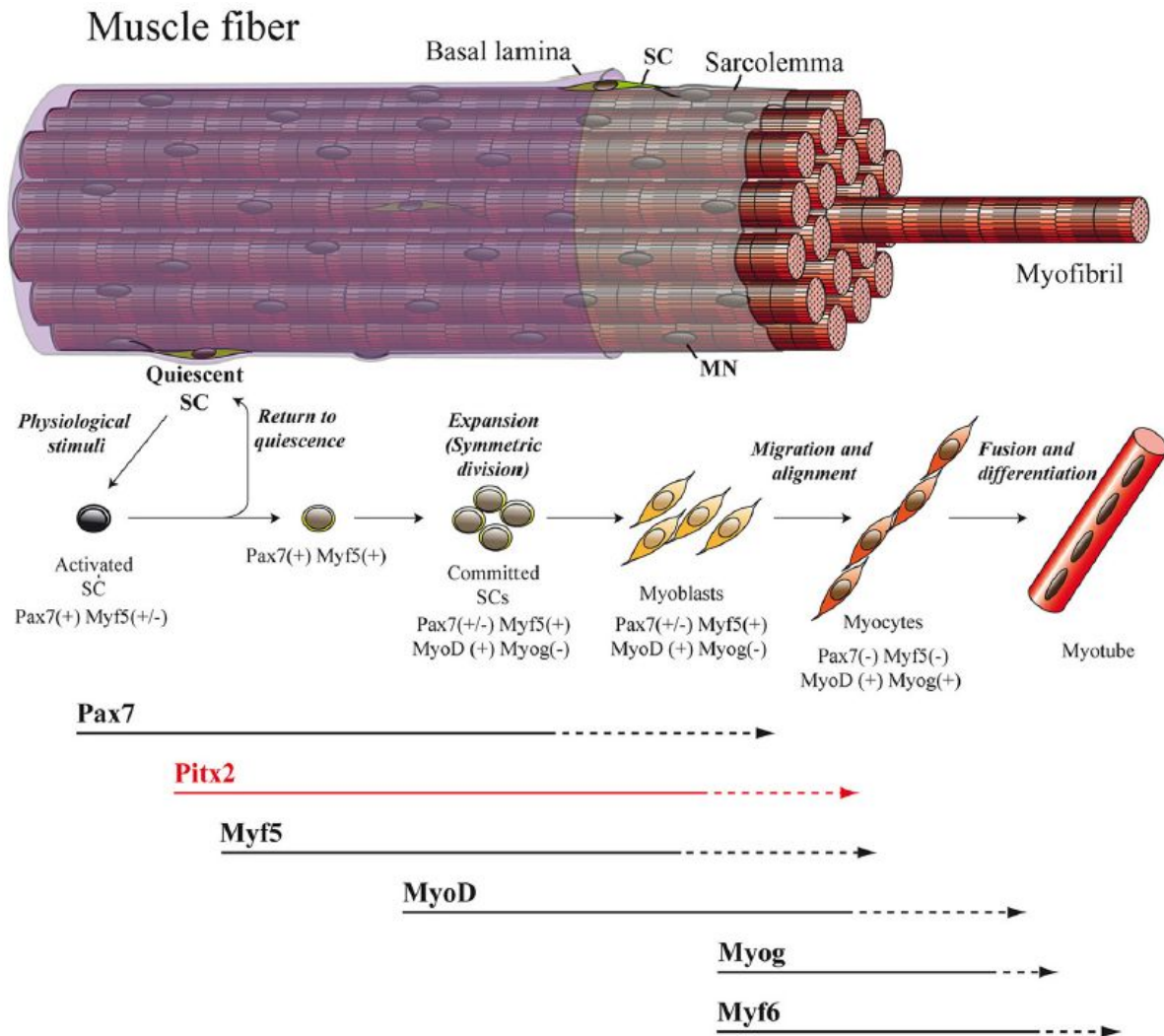


Figura 1.- Esquema del proceso de miogénesis en individuos adultos. El proceso de diferenciación miogénica incluye las fases de activación de las CCS, de compromiso hacia la diferenciación, de proliferación, de fusión para la formación de miotubos y la maduración final para formar la fibra. **SC**, Célula satélite; **MN** mionúcleo (Hernandez-Torres et al., 2017).

La capacidad de las CCS para elegir entre una división simétrica o asimétrica permite a estas células coordinar su actividad con las necesidades fisiológicas y regenerativas del músculo adulto. Así, un aumento de las divisiones asimétricas promovería la generación de de precursores miogénicos comprometidos con el proceso de regeneración miogénica, al mismo tiempo que permitiría el mantenimiento del pool de CCS madre. Por otro lado, un aumento de las divisiones simétricas promovería, en caso de necesidad, la expansión del pool de CCS madre presente en el músculo adulto. Debe existir un equilibrio dinámico entre ambos tipos de división para que el proceso regenerativo concluya satisfactoriamente. Sin

embargo los mecanismos moleculares implicados en elección de uno u otro destino siguen siendo ampliamente desconocidos.

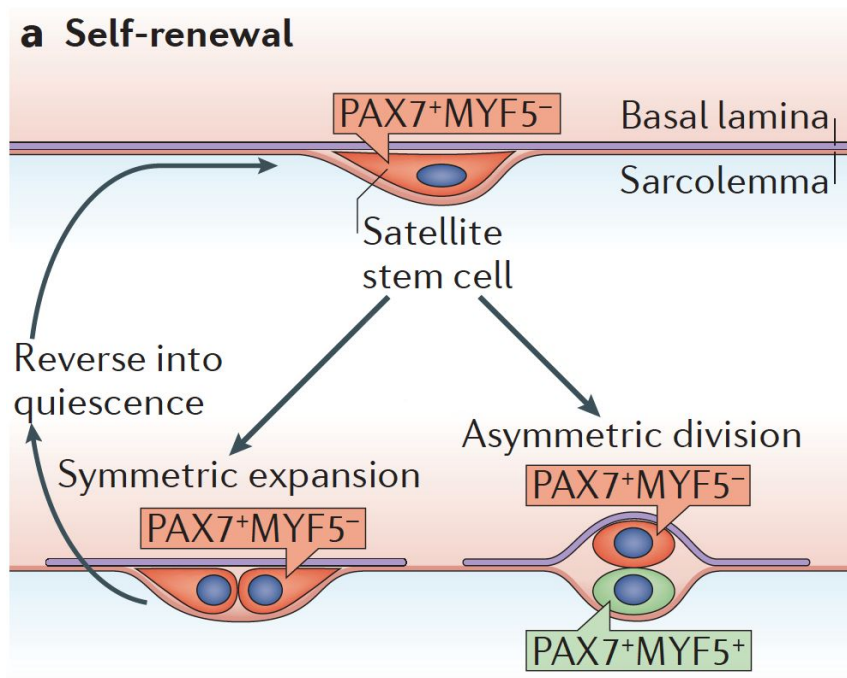


Figura 2.- Esquema del proceso de miogénesis en individuos adultos (Wang and Rudnicki, 2011).

3.2. Bases moleculares y celulares de la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD)

Existen una gran cantidad de patologías que pueden afectar al músculo esquelético de manera importante. En este sentido, no hay más que realizar una búsqueda dentro de la base de datos OMIN (Online Mendelian Inheritance in Man) introduciendo el término “skeletal muscle disease” para obtener 280 entradas, a las que habría de sumar otras 79 si la búsqueda se amplía a la base de datos OMIA (Online Mendelian Inheritance in Animals) (Kasper, 2011a). En su mayoría, este tipo de anomalías genéticas dan lugar a una modificación afuncional, cuando no a la desaparición física, de proteínas importantes dentro de la función muscular, lo que genera una pérdida de la integridad estructural del músculo y, en definitiva, una merma de la capacidad contráctil del mismo. Esto, en el ser humano, se traduce en un menoscabo importante de la capacidad de movimiento y la capacidad respiratoria, con el consecuente impacto en la morbilidad y la mortalidad (Kasper, 2011b).

Entre todas las afecciones musculares cabe destacar, por su impacto y número de afectados, a la Distrofia Muscular de Duchenne (DMD). La DMD es la enfermedad genética muscular más frecuente de la infancia, con una incidencia estimada de 1:3.500 varones (Emery, 1991). Está causada por mutaciones dentro del gen DMD localizado en el brazo corto del cromosoma X en humanos y que codifica la proteína DISTROFINA (Davies et al.,

1983). Esta proteína se expresa principalmente en la musculatura estriada, tanto esquelética como cardíaca, y en menor medida en el musculatura lisa y el cerebro (Hoffman et al., 1987). Se dispone próxima a la membrana interna de las fibras y forma parte del Complejo oligomérico DISTROFINA-GLUCOPROTEÍNA (DGC) que une el citoesqueleto interno de actina de la fibra a la matriz extracelular a través del sarcolema (Campbell and Kahl, 1989; Ervasti et al., 1990) (figura 3).

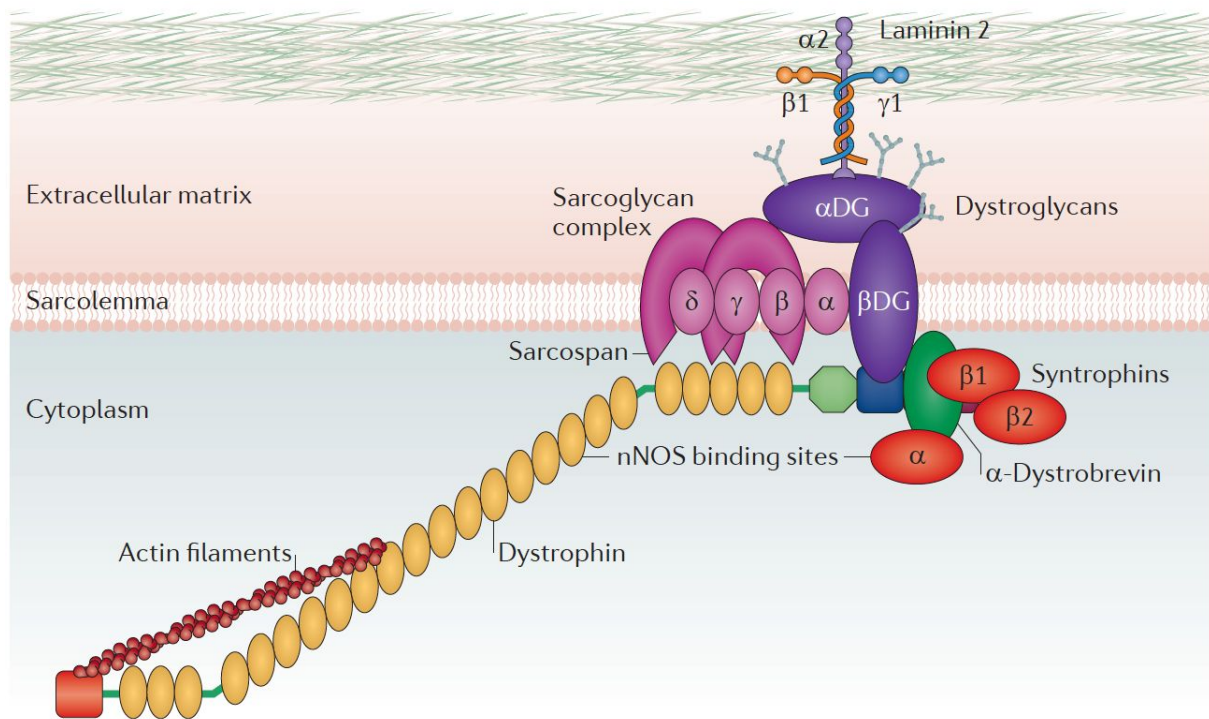


Figura 3.- Esquema del complejo DGC. La DISTROFINA actúa como conexión entre el citoesqueleto de actina de la miofibra y la matriz extracelular (Fairclough et al., 2013)

En ausencia de DISTROFINA el complejo DGC se desestabiliza, lo que hace a las fibras ser muy susceptibles al daño durante el proceso de contracción muscular. Esto provoca continuos ciclos de degeneración y regeneración en las fibras, acompañados de inflamación crónica a nivel muscular, una degeneración muscular progresiva y a una sustitución del tejido muscular por adiposo (Blat and Blat, 2015; Kharraz et al., 2014; Petrof et al., 1993). Como consecuencia, los pacientes afectados por DMD pierden la capacidad ambulatoria aproximadamente a los trece años y, generalmente, mueren debido a fallos respiratorios entre el final del segundo decenio y el comienzo del tercer decenio de la vida (Blat and Blat, 2015). La DMD es una enfermedad crónica y debilitante, con una carga económica muy alta tanto para las familias como para las instituciones públicas. Los pacientes están sometidos a

revisiones médicas y sesiones de fisioterapia periódicas, así como a eventuales ingresos hospitalarios ante reagudizaciones o procesos intercurrentes. Además, habitualmente precisan ayudas técnicas y ortopédicas. En este sentido un estudio reciente (Landfeldt et al., 2014) realizado en varios países europeos y EEUU demuestra el fuerte impacto económico que la DMD tiene sobre la sociedad, estimado entre 80.120-120.910 dólares por paciente y año. Este gasto se desglosa en gastos directos por paciente, gastos indirectos por pérdida de productividad laboral del paciente o del cuidador y, por último, en costes intangibles, entendidos como pérdida de calidad de vida. En este escenario, el desarrollo de terapias que puedan, no solo mejorar la calidad de vida de los pacientes y cuidadores, sino también minimizar el impacto que esta enfermedad tiene en la economía social se hacen completamente necesarias.

La contribución precisa de las CCS al mecanismo de la DMD aún está por determinar. Está ampliamente aceptada la idea de que, a pesar de los continuos ciclos de degeneración y regeneración muscular, la demanda regenerativa de los músculos de los afectados por DMD es tan alta que finalmente se produce una depleción en el número de CCS, probablemente debido a un acortamiento de los telómeros inducido por la alta tasa de división celular, que finalmente genera una pérdida de la capacidad regenerativa de los músculos (Blau et al., 1983; Sacco et al., 2010). En este sentido, en el año 2010 Sacco y colaboradores (Sacco et al., 2010) modificaron genéticamente los ratones C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J, ampliamente utilizados como modelo animal de la DMD, eliminando la actividad Telomerasa de dichos animales. Esto empeoró considerablemente el fenotipo distrófico, que se hacía más severo con el tiempo coincidiendo con la pérdida de la capacidad regenerativa de las CCS, como ocurre en humanos. Este trabajo demostró por primera vez que la progresión de la DMD estaba relacionada directamente capacidad autónoma de las CCS para reparar el daño inducido en los músculos, aunque el papel de la DISTROFINA en este proceso estaba aún por determinar. Fue posteriormente cuando Dumont, N y colaboradores (Dumont et al., 2015b) demostraron que la expresión de la Distrofina es también bastante alta en las CCS, donde tiene un papel fundamental promoviendo la polarización de las proteínas MARK2 y PARD3 en polos opuestos de la CS activada. Esto, a su vez, provoca la acumulación de la proteína MYF5 en uno de los polos celulares de la CS en división, lo que finalmente induce una división asimétrica de la misma (figura 4). En resumen, en los últimos años se ha demostrado que la progresión de la DMD, independientemente del papel mecánico que la DISTROFINA pueda jugar en la fibra adulta, se ve agravado por la incapacidad de las CCS de los pacientes en promover su división

asimétrica, disminuyendo así el número de precursores miogénicos con capacidad regenerativa (Chang et al., 2016).

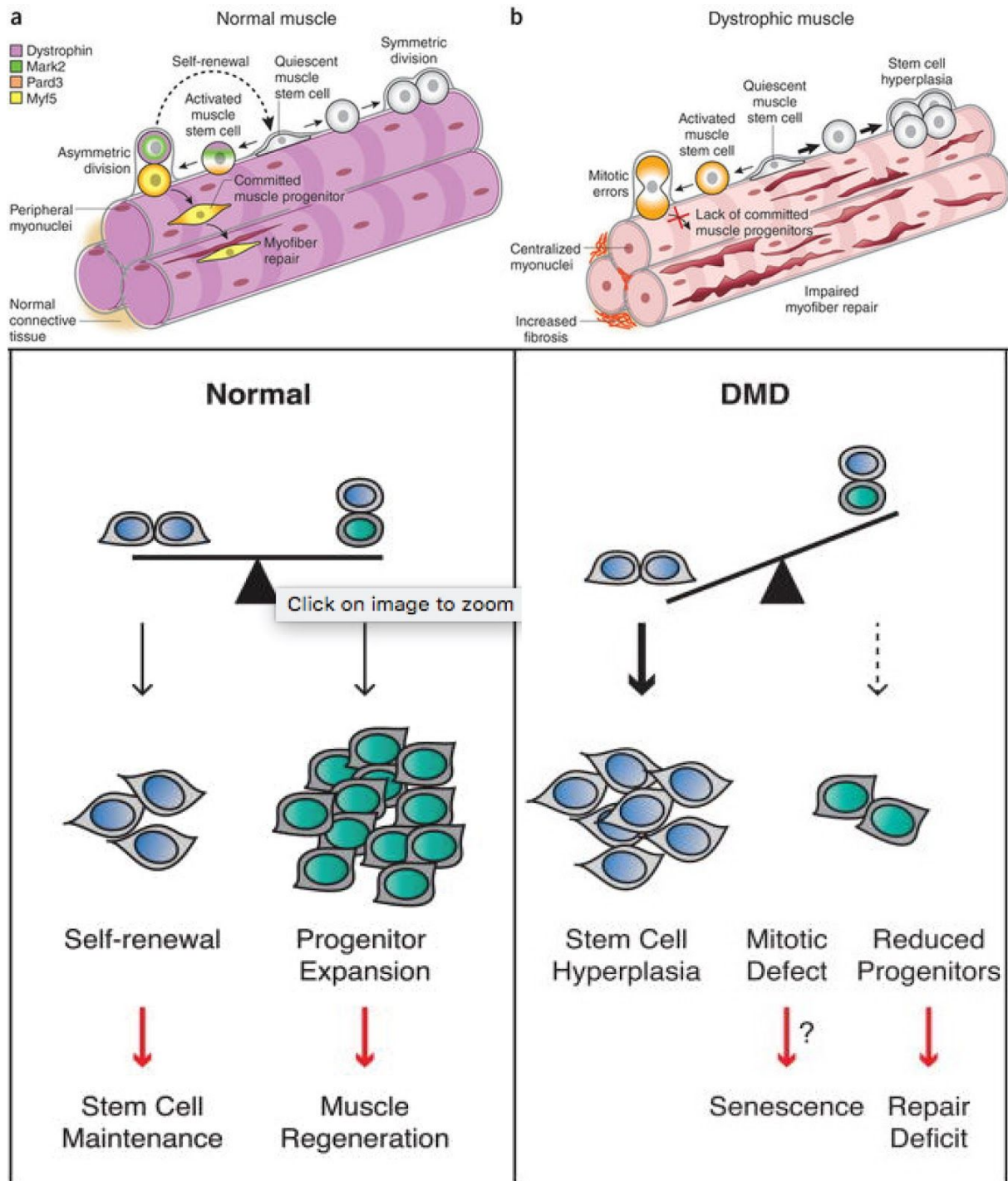


Figura 4.- Papel de la DISTROFINA en los procesos de división celular de las CCS de músculos normales (a) y distróficos (b) (Chang et al., 2016; Dumont et al., 2015b).

3.3. Papel de los microARNs en los procesos de regeneración miogénica

Los microARNs (miRs) son pequeñas moléculas (19-25 nucleótidos) de ARN no codificante capaces de unirse a las regiones 3' no traducidas (3'UTR) de los ARN mensajeros (ARNm) interfiriendo así su estabilidad y/o traducción (Jonas and Izaurralde, 2015). Constituyen, por tanto, una nueva vía de control de la expresión génica a nivel post-transcripcional.

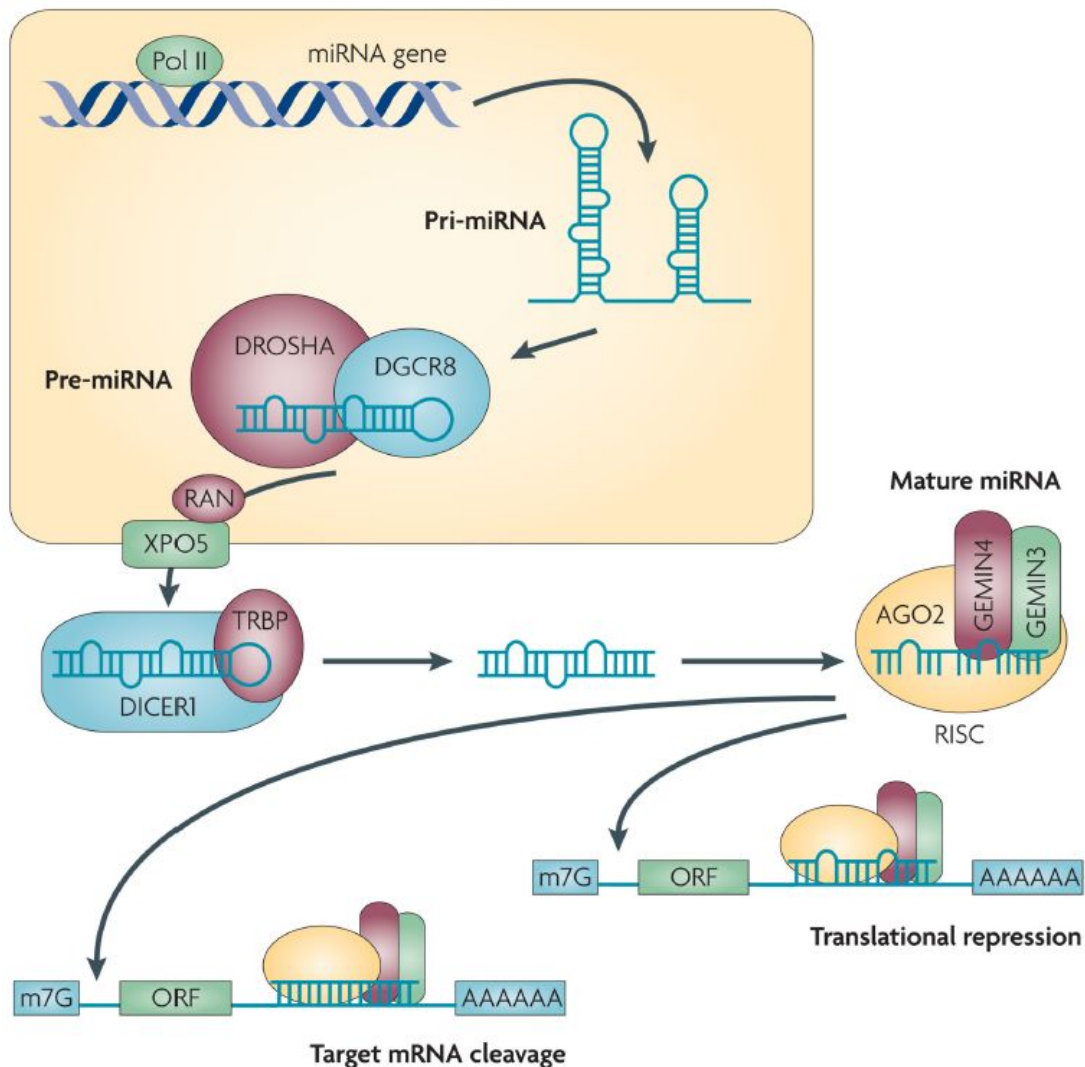


Figura 5.- Biogénesis de los microARN. La ARN polimerasa II genera un transcrito de ARN denominado pri-miR que es procesado por el complejo DROSHA para dar lugar a una horquilla de ARN denominada pre-miR. Este es exportado al citoplasma por el complejo RAN-Exportina 5 donde es procesado por DICER1 para producir dos hebras de ARN. Una de ellas constituye el miR maduro que es incorporado al complejo RISC para unirse a la región 3'UTR del ARNm diana (Ryan et al., 2010)

La intensa investigación llevada a cabo en los últimos años ha demostrado la participación de estos miRs en el control de casi todos los aspectos relacionados con el desarrollo y la

regeneración muscular (Ge and Chen, 2011). En el contexto de la biología de las CCS de la musculatura esquelética adulta, trabajos recientes han puesto de manifiesto cómo los miRs son capaces de modular sus estados de quiescencia y proliferación (Sato et al., 2014; Zhang et al., 2015b). De entre estos, es interesante destacar el trabajo de Crist, C y colaboradores (Crist et al., 2012) que demuestra cómo, durante el proceso de activación de las CCS, la disminución del *miR31* es capaz de inducir un aumento de los niveles del ARNm de *Myf5*. Todos estos estudios demuestran claramente que los microARNs ejercen un papel, hasta ahora desconocido, regulando los procesos de proliferación, especificación y diferenciación de las CCS de la musculatura adulta. En este sentido, nuestro grupo ha demostrado que el *miR-106b* muestra un patrón de expresión muscular compatible con la expresión de este miR en CCS, siendo capaz de unirse a la región 3'UTR del ARNm de *Myf5* y modular *in vitro* el número de células *Myf5*⁺ en poblaciones de CCS recién aisladas (Lozano-Velasco et al., 2015). Experimentos posteriores desarrollados en nuestro laboratorio han demostrado que es necesaria una desregulación a la baja de este miR durante los primeros estadios de regulación muscular. Esta regulación es máxima a D3, coincidiendo con el momento de activación de las CCS en el contexto regenerativo muscular (Bentzinger et al., 2013) y coincidiendo con los picos de expresión de ARNm de *Myf5* y del resto de miembros de la familia de los MFR (figura 6). A la luz de estas evidencias, y dado el papel fundamental de MYF5 en los procesos de división asimétrica de las CCS y en definitiva el aumento del potencial regenerativo muscular, es necesario un análisis más profundo de cuál es el papel del *miR106b* durante el proceso regenerativo de este tejido y estudiar si su modulación puede tener algún efecto positivo en patologías como la DMD, en cuya progresión falta de divisiones asimétricas de las CCS tienen un papel fundamental.



Recolección de muestras

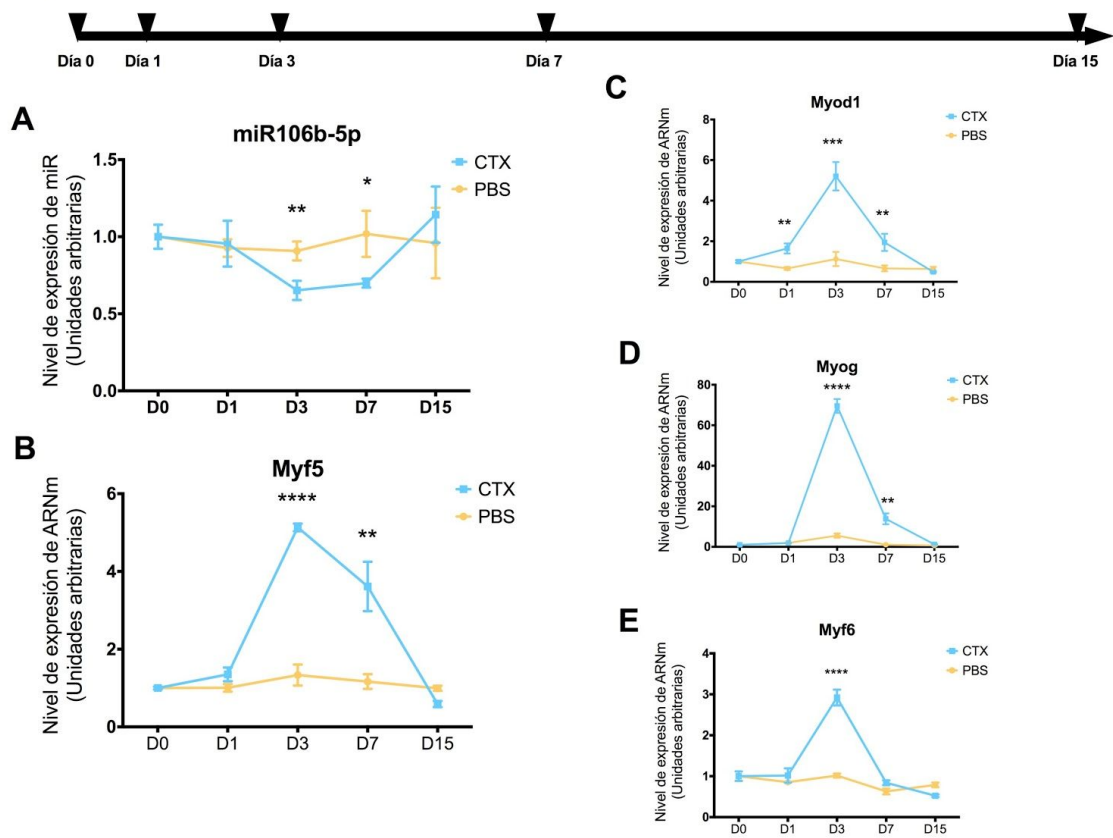


Figura 6.- Perfiles de expresión del miR-106b-5p (A), Myf5 (B), Myod1 (C), MyoG (D) y Myf6 (E) en ratones C57BL/6J durante el proceso de regeneración muscular tras daño inducido con cardiotoxina (CTX) respecto a un control inyectado con tampón fosfato salino o PBS a Día 0, día 1, día 3, día 5, día 7 y día 15. Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas. Cada punto experimental corresponde a un $n=3$. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$.

4.- Objetivos

Ante los precedentes anteriormente expuestos, para el presente trabajo se proponen los siguientes objetivos generales y específicos:

4.1. Objetivo general 1

Analizar el papel que ejerce el *miR106b* controlando el potencial miogénico de las CCS durante el proceso de regeneración muscular.

4.1.1. Objetivo específico 1

Analizar el impacto de modulación de los niveles endógenos del *miR106b* sobre el potencial miogénico de las CCS distróficas *in vitro*.

4.1.2. Objetivo específico 2

Analizar los cambios histológicos derivados de la modulación de los niveles endógenos del *miR106b* *in vivo*.

4.2. Objetivo general 2

Estudiar de las posibles aplicaciones terapéuticas derivadas de la modulación de los niveles endógenos del *miR106b* en la patología distrófica.

4.2.1. Objetivo específico 1

Analizar el efecto de la modulación de los niveles endógenos del *miR106b* sobre la capacidad funcional de ratones distróficos.

4.2.2. Objetivo específico 2

Analizar el impacto sobre el transcriptoma derivado de la modulación de los niveles endógenos del *miR106b* *in vivo* en un contexto distrófico.

5.- Material y métodos

5.1. Animales de experimentación, tratamientos y procesamiento de muestras

El presente trabajo ha sido llevado a cabo mediante el uso de dos cepas de ratón, la cepa C57BL/6J (<http://jaxmice.jax.org/strain/000664.html>) y la cepa C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J (<http://jaxmice.jax.org/strain/001801.html>). La cepa C57BL/6J constituye el fondo genético en el que se desarrolló la cepa distrófica C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J. La mutación mdx es producto de una transición de C a T (que resulta en un codón de terminación) en la posición 3185 en el exón 23 del gen de la distrofina ubicado en el cromosoma X, causante de la distrofia muscular (Dmd). Estos ratones mutantes han sido utilizados rutinariamente como un modelo animal de la Distrofia Muscular de Duchenne humana, aunque la miopatología resultante es mucho menos severa en comparación con las características de la enfermedad humana. Ambas cepas fueron compradas a la suministradora The Jackson Laboratory. Los animales fueron mantenidos dentro de las instalaciones del Centro de Producción y Experimentación Animal de la Universidad de Jaén, estuvieron acondicionados con un fotoperiodo día/noche de 12 horas, con una temperatura ambiente entre 20-25 °C y disponiendo de comida y bebida *ad libitum*. Todos los animales utilizados en este trabajo estaban en un rango de edad comprendido entre los 5 y 6 meses de edad.

Para los experimentos de hibridación *in situ*, cultivo de fibras o extracción de CCS los animales C57BL/6J o C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J fueron sacrificados por dislocación cervical y las muestras procesadas como se explicará más adelante.

Para los experimentos de RT-qPCR en tiempo real, tinción de Hematoxilina-Eosina y técnicas de inmunohistofluorescencia se procedió en grupos de 3 animales. A a cada animal C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J se les inyectó en el músculo Tibialis Anterior (TA) de la pata izquierda una mezcla de 50 µl de cardiotoxina (Cardiotoxina de Naja mossambica mossambica C9759 SIGMA) a una concentración de 10 mM junto a 11,55 µg totales de la molécula inhibidora del *miR106b* mirVana® miRNA inhibitor (ThermoFisher Scientific 4464084). En la pata contralateral derecha se procedió de igual manera pero añadiendo un control negativo Anti-miR™ miRNA Inhibitor Negative Control #1 (ThermoFisher Scientific 4464076). Posteriormente los animales fueron sacrificados por dislocación cervical a día 1, 3, 7 y 15 tras la inyección. Los tibiales destinados a técnicas histológicas se extrajeron y se congelaron directamente sumergiendolos durante 20 segundos en isopentano atemperado a -150 °C con nitrógeno líquido. Posteriormente se guardaron a -80°C. De estas piezas se obtuvieron secciones histológicas de un grosor de 10 µm mediante el uso de criostato (Leica

CM1915). Posteriormente se guardaron a -20°C hasta el momento de su utilización. Los tibiales destinados a la extracción de ARN fueron procesados como se explicará en el apartado 5.5.

Para los experimentos de prueba de esfuerzo mediante treadmill se procedió en grupos de cuatro. Cada animal C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J fue inyectado en ambas patas bien con la molécula molécula inhibidora del *miR106b* mirVana® miRNA inhibitor o con el control negativo Anti-miR™ miRNA Inhibitor Negative Control #1. La prueba de tolerancia al ejercicio se llevó a cabo 30 días después del daño inducido y el inicio del tratamiento.

5.2. Prueba de tolerancia al ejercicio (Treadmill)

Para realizar la prueba de tolerancia al ejercicio se utilizó el cinta andadora LE8708 single mouse, Treadmill, PanLab, Harvard Apparatus y se procedió según Benchaouir, R y colaboradores (Benchaouir et al., 2007). La cinta se hizo funcionar a una inclinación de 0° a 5 m/min durante 5 minutos, después la velocidad fue aumentada 1 m/min por cada minuto. La prueba se dio por concluida cuando el ratón se mantuvo en la placa de choque eléctrico durante 20 segundos sin ningún intento de volver a correr en la cinta. En ese momento se midió la distancia recorrida (metros) por los ratones y el tiempo (minutos) de permanencia de cada ratón en la cinta.

5.3. Clonación regiones 3'UTR en vector pmiR-REPORT

Para clonar y analizar las posibles dianas del *miR106b* presente en las regiones 3'UTR utilizamos el sistema pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector System (ThermoFisher Scientific, AM5795). Este sistema consiste en dos plásmidos. El primero es el pMIR-REPORT™ Luciferasa miRNA Expression Reporter Vector, un plásmido que contiene un promotor CMV que controla la expresión de la proteína Luciferasa, cuya secuencia codificante se continúa con una secuencia de clonación múltiple donde se clona la región 3'UTR de interés. El segundo vector es el pMIR-REPORT™ Beta-galactosidase Reporter Control Vector que es utilizado como normalizador del proceso de transfección (figura 7).

Las secuencias 3'UTR fueron amplificadas desde ADN genómico de ratón mediante una PCR anidada. Las amplificaciones fueron llevadas a cabo mediante la polimerasa iProof™ High-Fidelity DNA Polymerase (Bio-Rad, 172-5300) mediante primera y segunda ronda siguiendo las instrucciones del fabricante, utilizando el programa de amplificación para ambas rondas especificado en la tabla 1 y los cebadores especificados en la tabla 2.

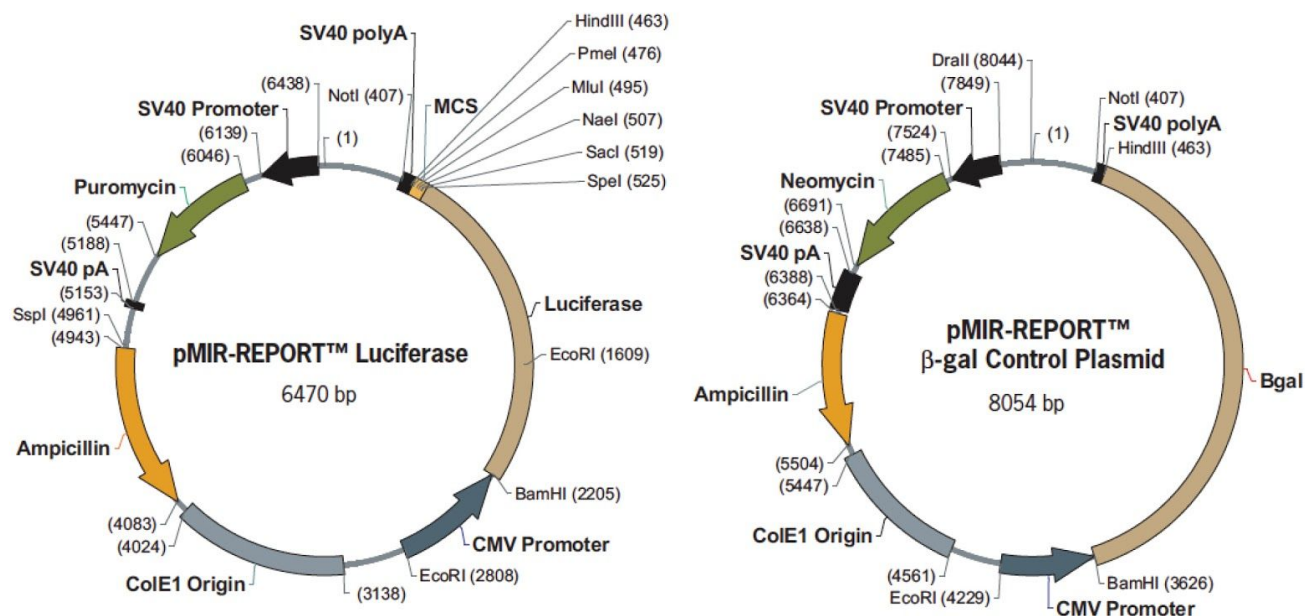


Figura 7.- Plásmidos utilizados en el sistema pMIR-REPORT™ miRNA Expression Reporter Vector System. Las regiones 3'URT de los transcritos a testar son clonadas en el multicloning site (MCS) del plásmido pMIR-REPORT™ Luciferase.

Los cebadores directos y reversos de la segunda ronda se diseñaron introduciendo las secuencias diana MluI (ACGCGT) y HindIII (AAGCTT) respectivamente. Los amplicones fueron digeridos posteriormente con dichas enzimas y clonados en los sitios MluI/HindIII del plásmido pMIR-REPORT™ Luciferase, previamente digerido, mediante una T4 DNA Ligase (5 U/μL) (ThermoFisher Scientific, EL0014) siguiendo las instrucciones del fabricante.

Programa de PCR para amplificación de 3'URT (1ª y 2ª ronda)		
Desnaturalización	98°C	30 s
Amplificación	98°C	10 s
	60°C	30 s
	72°C	1 min 30 s
Extensión final	72°C	10 min
Mantenimiento	4°C	∞

Tabla 1.- Programa utilizado para llevar cabo las PCRs anidadas de las regiones 3'UTR.

Primera Ronda		
Transcrito amplificado	Nombre de cebadores	Secuencias
Sfrp2 (NM_009144.2)	MmSfrp2_F_3UTR_1ºR	ATCAACGCTCCGTATCTGGT
	MmSfrp2_R_3UTR_1ºR	GGCTGAAATGTGGGGTACAT
Nt5dc2 (NM_027289.1)	MmNt5dc2_F_3UTR_1ºR	ACCGCGTAGACTTCACCTTC
	MmNt5dc2_R_3UTR_1ºR	GGCAGAAGATAATGCAGACGA
Tnc (NM_011607.3)	MmTnc_F_3UTR_1ºR	GGACACAGACTCAGCCATCA
	MmTnc_R_3UTR_1ºR	CTGCCTATGTTGCCAATCCT
Hmox1 (NM_010442.2)	MmHmox1_F_3UTR_1ºR	CCCCAGATCAGCACTAGCTC
	MmHmox1_R_3UTR_1ºR	TCACACAGAAGTTAGAGACCAAGG
Mfap4 (NM_001347545.1)	MmMfap4_F_3UTR_1ºR	CCTCTTCGTGCAGAACTGTG
	MmMfap4_R_3UTR_1ºR	ATTTTGGGGTTGGGGTAAA
Segunda Ronda		
Transcrito amplificado	Nombre de cebadores	Secuencias
Sfrp2 (NM_009144.2)	MmSfrp2_F_3UTR_2ºR	ggtgggACGCGTgagagttcaagcgcatctcc
	MmSfrp2_R_3UTR_2ºR	ggtgggGCGGCCGCaatgacagagctccctccaa
Nt5dc2 (NM_027289.1)	MmNt5dc2_F_3UTR_2ºR	ggtgggACGCGTaccctttcttggtgacatgg
	MmNt5dc2_R_3UTR_2ºR	ggtgggGCGGCCGCgagctggaatgaagcagagg
Tnc (NM_011607.3)	MmTnc_F_3UTR_2ºR	ggtgggACGCGTatctggaaggcaggcgtaag
	MmTnc_R_3UTR_2ºR	ggtgggGCGGCCGCccctcatcccttgttctga
Hmox1 (NM_010442.2)	MmHmox1_F_3UTR_2ºR	ggtgggACGCGTtgggtcctcactctcagctt
	MmHmox1_R_3UTR_2ºR	ggtgggGCGGCCGCcaccacccctcaaaagata
Mfap4 (NM_001347545.1)	MmMfap4_F_3UTR_2ºR	ggtgggACGCGTcccctctcctatgccaat
	MmMfap4_R_3UTR_2ºR	ggtgggGCGGCCGCagccaggtgctcatatttg

Tabla 2.- Cebadores directos y reversos utilizados en las PCRs anidadas de las regiones 3'UTR

5.4. Cultivos celulares.

5.4.1 Cultivo de fibras musculares.

A los animales C57BL/6J, una vez sacrificados mediante dislocación, se les extrajo el músculo Extensor Digitorum Longus (EDL) y se procedió según Pasut, A y colaboradores (Pasut et al., 2013). Resumidamente, los músculos fueron sometidos a una digestión en una solución de Colagenasa tipo I al 0.2% en DMEM high glucose (Dulbecco's modified Eagle's medium; 4500 mg/L glucosa, con L-glutamina y 110 mg/ml piruvato sódico). Mediante una pipeta se fue insuflando medio sobre el músculo para que las fibras fuesen liberándose poco a poco. Las fibras liberadas se transfirieron a placas de cultivo de 35 mm (Ibidi μ -Dish 35

mm, low 80136) previamente tratadas con Matrigel y cultivadas en medio DMEM suplementado con suero fetal bovino (FBS) al 20% , extracto de embrión de pollo al 1% y un Penicilina/Estreptomicina al 1%, a una temperatura de 37° C y 5% CO₂. Para inducir los procesos de activación de las CCS la concentración de FBS se bajó al 5%, manteniendo el resto de condiciones de cultivo

5.4.2. Cultivo de CCS.

A los animales C57BL/6J o C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J, una vez sacrificados mediante dislocación, se les extrajeron los músculos Tibialis Anterior (TA), Extensor Digitorum Longus (EDL), Extensor Digitorum Lateralis (EDLA), Peroneus Longus (PLO) Soleus (SO), Plantaris (PLA) y Gastrocnemius (GA) de ambas extremidades posteriores y se cortaron en pequeñas porciones de aproximadamente 1 mm³ mediante unas tijeras. Posteriormente se sometieron a una digestión de Colagenasa tipo II al 0.2% en DMEM suplementado con FBS al 10% durante una hora y se hicieron pasar de manera sucesiva por dos tamices de 100 y 40 µm respectivamente. Los glóbulos rojos se eliminaron mediante un tratamiento con Red Blood Cell Lysis Solution (Miltenyi. 130-094-183.). Finalmente las CCS fueron purificadas mediante MACS (Magnetic-activated cell sorting) mediante dos rondas consecutivas. Durante la primera ronda las muestras fueron incubadas con un cóctel de anticuerpos comerciales denominado Satellite Cell Isolation Kit mouse (Miltenyi. 130-104-268). Este cóctel permite que las células que no sean CCS queden pegadas a la columna de purificación. El eluido se somete a una segunda ronda de incubación con anticuerpos específicos frente a CCS mediante el kit Anti-Integrin α-7 MicroBeads mouse (Miltenyi 130-104-261). Todo el proceso se hizo según las especificaciones del fabricante en cuanto a tiempos de incubación y lavados de las columnas. Las CCS purificadas fueron posteriormente transferidas a placas de cultivo de 35 mm (Ibidi µ-Dish 35 mm, low 80136) previamente tratadas con gelatina al 0,1% y cultivadas en medio DMEM GlutaMAX™: DMEM-F12 (1:1) suplementado con FBS al 20%, UltrosorG al 2% y Penicilina/Estreptomicina al 3%, a una temperatura de 37° C y 5% CO₂. Para inducir los procesos de activación de las CCS la concentración de FBS se bajó al 2%, manteniendo el resto de condiciones de cultivo

5.4.3. Cultivo de mioblastos Sol8.

La línea celular de Sol8 fue adquirida directamente de la casa comercial ATCC (ATCC® CRL-2174™). 2x10⁴ células fueron sembradas por cada pocillo de placa M-24 y cultivadas en DMEM high glucose suplementado con FBS al 20% y Penicilina/Estreptomicina al 1%, a una temperatura de 37° C y 5% CO₂ hasta llevarlas a una confluencia entre el 60-80%.

5.4.4. Cultivo de mioblastos 293T.

La línea de células epiteliales de riñón embrionario 293T fue adquirida directamente de la casa comercial ATCC (ATCC® CRL-3216™). 1,5x10⁶ células fueron sembradas por cada placa P-100 y cultivadas durante 48 h en DMEM high glucose suplementado con FBS al 10%, a una temperatura de 37° C y 5% CO₂ hasta llevarlas a una confluencia entre el 80%, momento en el cual se procedió al empaquetamiento lentiviral

5.4.5. Empaquetamiento, titulación y transducción de lentivirus.

El empaquetamiento viral se llevó a cabo mediante el kit Lenti-Pac HIV Expression Packaging Kit (Genecopoeia, HPK-LvTR-20) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se realizaron 3 empaquetamientos con plásmidos comerciales que portaban los genes para expresar un miR control (Genecopoeia, CmiR-AN0001-AM03), un *pre-miR106b* (Genecopoeia, HmiR0111-MR11) y un *anti-miR106b* (Genecopoeia, HmiR-AN0029-AM03).

Los sobrenadantes se recogieron a las 48 horas de cultivo. Su carga viral se tituló mediante PCR cuantitativa con el kit Lenti-Pac HIV qRT-PCR Titration Kits (Genecopoeia, HPR-LTK-050). Finalmente las partículas virales se añadieron sobre los cultivos de CCS a un MOI (Multiplicity of infection, o ratio de partículas virales por células sembradas) de 200.

5.4.6. Transfección mediante lipofectamina y análisis de niveles de luciferasa.

Las transfecciones iniciales sobre CCS se llevaron a cabo con 120 pmoles de molécula *pre-miR106b* mirVana® miRNA mimic (ThermoFisher Scientific 4464066), anti-miR106b mirVana® miRNA inhibitor (ThermoFisher Scientific 4464084) o un control negativo Anti-miR™ miRNA Inhibitor Negative Control #1 (ThermoFisher Scientific 4464076) sobre cada placa Ibidi, mediante el kit de Lipofectamine™ 2000 Transfection Reagent (ThermoFisher Scientific 11668019) siguiendo las instrucciones del fabricante

Para el estudio de la interacción física entre el *miR106b* y las regiones 3'UTR de los genes candidatos, se transfectaron 900 ng de cada plásmido *pmiR-Report*, *pmiR-Report_Hmox1*, *pmiR-Report_Tnc*, *pmiR-Report_Nt5dc2*, *pmiR-Report_Sfrp2* o *pmiR-Report_Mfap4*, junto a 100 ng de plásmidos *pmiR-ReportβGal* (usado como control interno) y 15 pmoles de molécula *pre-miR106b* mirVana® miRNA mimic (ThermoFisher Scientific 4464066) o un control negativo Anti-miR™ miRNA Inhibitor Negative Control #1 (ThermoFisher Scientific 4464076) sobre cada pocillo de m24, conteniendo células Sol8 a un 80% de confluencia, mediante el kit de Lipofectamine™ 2000 Transfection Reagent (ThermoFisher Scientific 11668019) siguiendo las instrucciones del fabricante. Tras 24 h de cultivo los pellet

celulares se lisaron y los contenidos de luciferasa y β gal se midieron mediante los kits Luciferase Assay Systems (Promega, E1483) y β -Galactosidase Enzyme Assay System with Reporter Lysis Buffer (Promega, E2000) respectivamente

5.5. Extracciones de ARN, retrotranscripción y PCR cuantitativa a tiempo real.

El ARN total de los músculos TA se extrajo mediante el kit Direct-zol™ RNA MiniPrep Kit (Zymo Research, R206), mientras que el ARN total de CCS se extrajo mediante el kit RNAqueous™-Micro Total RNA Isolation Kit (ThermoFisher Scientific AM1931), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las retrotranscripciones para amplificar transcritos de ARNm se llevaron a cabo mediante el kit Maxima First Strand cDNA Synthesis Kit for RT-qPCR (ThermoFisher Scientific, K1641) partiendo de 1 μ g de ARN total para las muestras de TA, o de 50 ng de ARN total para las muestras de CCS, y siguiendo las instrucciones del fabricante. Las retrotranscripciones para amplificar miRs se llevaron a cabo mediante el kit miRCURY LNA™ Universal RT microRNA PCR (Exiqon, 203300), partiendo de 10 ng de ARN total y siguiendo las instrucciones del fabricante.

Las PCRs cuantitativas a tiempo real se llevaron a cabo mediante los kits SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad 172-5202) y GoTaq® qPCR Master Mix (Promega, A6001) para amplificar transcritos de ARNm y miR respectivamente, siguiendo las instrucciones de los fabricantes. Como genes *housekeeping* o normalizadores se utilizaron cebadores frente a *Gapdh* y *Gusb*, para para la amplificación transcritos de ARNm, y frente al ARN nuclear pequeño *U6* y el ARN ribosómico 5S para la amplificación transcritos de miR. Los programas utilizados para el proceso de amplificación se encuentran detallados en la tabla 3. La descripción de cada uno de los cebadores utilizados se encuentra detallada en las tablas 4 y 5. Para el análisis y cuantificación se procedió según Vandesompele, J y colaboradores (Vandesompele et al., 2002)

Programa de PCR para amplificación de transcritos de ARNm		
<i>Desnaturalización</i>	95°C	30 s
<i>Amplificación y lectura x45 ciclos</i>	95°C	10 s
	60°C	10 s
	75°C	7 s
<i>Análisis melting</i>	95°C	10 seg
	65 -> 95 °C (0,5 °C/s)	Lectura cada 5s

Programa de PCR para amplificación de transcritos de miR		
<i>Desnaturalización</i>	95°C	10 min
<i>Amplificación y lectura x45 ciclos</i>	95°C	10 s
	60°C	1 min
<i>Análisis melting</i>	95°C	10 seg
	65 -> 95 °C (0,5 °C/s)	Lectura cada 5s

Tabla 3.- Programas utilizados para los experimentos de RT-PCR cuantitativa a tiempo real para cuantificación de transcritos de ARNm y miR respectivamente

Transcrito amplificado	Nombre de cebadores	Secuencias	Tª de annealing	Tamaño amplicón
Cd34 (NM_001111059.1)	MmCd34_F01	GAACCTCCCAGCAAACCTCCA	60°C	143
	MmCd34_R01	ACTCCAGAGGTGACCAATGC		
Myf5 (NM_008656.5)	MmMyf5F	TGAGGGAACAGGTGGAGAAC	60°C	198
	MmMyf5R	AGCTGGACACGGAGCTTTTA		
Myod1 (NM_010866.2)	MmMyod1F	GGCTACGACACCGCCTACTA	60°C	210
	MmMyod1R	TCCCTGTTCTGTGTCGCTTA		
Myog (NM_031189.2)	MmMyogF	CTACAGGCCTTGCTCAGCTC	60°C	221
	MmMyogR	ACGATGGACGTAAGGGAGTG		
Myf6 (NM_008657.2)	MmMyf6F	GGGCCTCGTGATAACTGCTA	60°C	181
	MmMyf6R	CCTGCTGGGTGAAGAATGTT		
Gusb (NM_010368.1)	MmGusbF	ACGCATCAGAAGCCGATTAT	60°C	212
	MmGusbR	ACTCTCAGCGGTGACTGGTT		
Sfrp2 (NM_009144.2)	MmSfrp2_F01	CGACATCATGGAAACCCTTT	60°C	107
	MmSfrp2_R01	TGCTCTTTGTCTCCAGGATG		
Nt5dc2 (NM_027289.1)	MmNt5dc2_F01	CTGGCTACCTGGATGAAGGA	60°C	146
	MmNt5dc2_R01	GCCATGTAGAGGTCGGAGAA		
Tnc (NM_011607.3)	MmTnc_F01	AACCTGATGGGCAGATATGG	60°C	79
	MmTnc_R01	GAGTACTCATGGCCCTTCCA		
Hmox1 (NM_010442.2)	MmHmox1_F01	CAGGTGATGCTGACAGAGGA	60°C	147
	MmHmox1_R01	TCTGGGATGAGCTAGTGCTG		
Mfap4 (NM_001347545.1)	MmMfap4_F01	AGTGCTGAGGAGGATGGCTA	60°C	136
	MmMfap4_R01	CACAGTTCTGCACGAAGAGG		

Tabla 4.- Cebadores directos y reversos utilizados en las RT-PCRs cuantitativas a tiempo real para la detección de transcritos de ARNm.

ARN amplificado	Referencia
U6 snRNA (hsa, mmu) PCR primer set, UniRT	203907
5S rRNA (hsa,mmu) PCR primer set, UniRT	203906
hsa-miR-106b-5p LNA™ PCR primer set, UniRT	205884

Tabla 5.- Cebadores utilizados en las RT-PCRs cuantitativas a tiempo real para la detección de transcritos de miR. La secuencia de estos cebadores es desconocida y se compran directamente al proveedor Exiqon a través del número de referencia especificado en esta tabla

5.6. Técnicas de inmunofluorescencia.

5.6.1. Inmunocitofluorescencia de CCS

Las CCS fueron fijadas con PFA 4%-PBS, permeabilizadas con PBS-50 mM NH₄Cl y 0'2% Triton-X100, bloqueadas con una solución bloqueadora de gelatina al 0,2% en PBS e incubadas con el anticuerpo primario diluido a 5 µg/ml en solución bloqueadora. Posteriormente se incubaron con el correspondiente anticuerpo secundario diluido a 5 µg/ml en solución bloqueadora. Finalmente, los núcleos se contra-tiñeron con DAPI (Sigma D9542-1MG) diluido 1/5000 en PBS desde una solución stock 1 mg/ml de y las muestras se montaron con Hydromount (National Diagnosis, HS-106). Las imágenes se tomaron con el microscopio confocal de Leica TCS SPE LAS AF. El anticuerpo primario utilizado para esta técnica fue el Mouse Anti-Miogenin. Los anticuerpos secundarios fueron el Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 o el Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 546 según conviniera. Las referencias y casas comerciales de cada uno de los anticuerpos están detalladas en la tabla 6.

5.6.2. Inmunohistofluorescencia

Las secciones de TA de ratones C57BL/6J o C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J, procesadas a criostato como se explicó en los apartados anteriores, se atemperaron durante 5 minutos, fueron fijadas con PFA al 4% en PBS durante 20 minutos*□ y bloqueadas en TBSA-BSAT (Tris-HCl 1mM pH 7.4-7.6, conteniendo NaCl 150 mM, BSA 2%, Tritón-X100 0.1%, Azida sódica 0.02%) e incubadas con los correspondientes anticuerpos primarios diluidos a 10 µg/ml en TBSA-BSAT durante toda la noche a 4 ° C. Posteriormente se incubaron con los correspondientes anticuerpos secundarios diluidos a 5 µg/ml en TBSA-BSAT durante 2 horas a temperatura ambiente. Finalmente, los núcleos se contra-tiñeron con DAPI (Sigma

D9542-1MG) diluido 1/5000 en PBS desde una solución stock 1 mg/ml de y las muestras se montaron con Hydromount (National Diagnosis, HS-106). Las imágenes se tomaron con el microscopio confocal de Leica TCS SPE LAS AF. Los anticuerpo primarios utilizado para esta técnica fueron el Mouse Anti-Pax7*, Mouse Anti-MyoD*, Rabbit Anti-Ki67*, Rabbit Phospho-S6 Ribosomal Protein*, Rabbit Anti-Myf5, Rabbit Anti-Laminin, Mouse Anti-eMyHC y Mouse Anti-Miogenin. Los anticuerpos secundarios fueron el Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488, el Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 546, el Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488 o el Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 546 según conviniera. Las referencias y casas comerciales de cada uno de los anticuerpos están detalladas en la tabla 6.

* En este punto ciertos anticuerpos precisaban un proceso de desenmascaramiento antigénico o antigen retrieval. Este proceso implicaba introducir los portas en una cubeta con tampón sodio citrato (10mM Sodio citrato, 0,05% Tween 20, pH 6,0) sumergido en un baño precalentado a 95-100°C durante 30 minutos, seguido de un tiempo de atemperación de 20 min. El procedimiento posteriormente continuaba como se ha descrito anteriormente

□ El anticuerpo Mouse Anti-eMyHC precisa que las muestras no estén fijadas para que pueda unirse de manera conveniente a su antígeno. Por lo tanto el paso de fijación es obvia. El anticuerpo Rabbit Anti-Laminin también funciona en estas condiciones. El procedimiento posteriormente continuaba como se ha descrito anteriormente

<i>Anticuerpos primarios</i>	<i>Referencia</i>	<i>Casa Comercial</i>
Mouse Anti-Pax7**	AB_528428	DSHB Hybridoma Bank
Mouse Anti-MyoD (5.8A)**	M_3512	DAKO
Rabbit Anti-Ki67*	ab15580	Abcam
Rabbit Phospho-S6 Ribosomal Protein**	#4858	Cell Signalling
Rabbit Anti-Myf5 (c-20)	sc-302	Santa Cruz Biotechnology
Rabbit Anti-Laminin □□	L9393-100UL	Sigma Aldrich
Mouse Anti-eMyHC (F1.652) □□	AB_528358	DSHB Hybridoma Bank
Mouse Anti-Miogenin (F5D)	AB_2146602	DSHB Hybridoma Bank

Anticuerpos secundarios	Referencia	Casa Comercial
Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488	A-11029	ThermoFisher Scientific
Goat anti-Mouse IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 546	A-11030	ThermoFisher Scientific
Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 488	A-11034	ThermoFisher Scientific
Goat anti-Rabbit IgG (H+L) Highly Cross-Adsorbed Secondary Antibody, Alexa Fluor 546	A-11035	ThermoFisher Scientific

Tabla 6.- Anticuerpos primarios y secundarios utilizados en las técnicas de inmunofluorescencia.

5.7. Técnicas de hibridación *in situ*.

5.7.1. Hibridación *in situ* sobre secciones histológicas.

Para llevar a cabo las hibridaciones *in situ* sobre secciones histológicas se procedió según Perbellini, R y colaboradores (Perbellini et al., 2011). Resumidamente, las secciones de TA de ratones C57BL/6J, procesadas a criostato como se explicó en los apartados anteriores, se atemperaron durante 5 minutos, fueron fijadas con PFA al 4% en PBS durante 20 minutos, permeabilizadas con Acetona 2% (v/v) en PBS y prehibridadas en mezcla de hibridación (50% formamida, 1.3x SSC pH 5, 5 mM EDTA, ARN de levadura 50 µg/ml, 0.2% Tween-20, 0.5% CHAPS, Heparina 100 µg/ml) durante 30 minutos a 60°C. La sonda *LNATM-miR-106b-5p* marcada doblemente con digoxigenina (Exiqon, ref. 38014-15) se diluyó en la mezcla de hibridación previamente atemperada a 60°C a una concentración final de 20 nM y se hibridó durante 2 horas a 60°C. Las muestras fueron seguidamente bloqueadas con solución de bloqueo (2% BSA, 5% Goat Serum en PBS) durante 20 minutos temperatura ambiente. Una solución de anticuerpo anti-digoxigenina (Anti-Digoxigenin-AP, Fab fragments. Roche. 11093274910) diluido 1/2000 en solución de bloqueo incubada durante toda la noche a 4°C y, posteriormente, una solución reveladora de NBT 675 µg/ml y BCIP 350 µg/ml en NTMT (Tris-HCl 100 mM pH 9,5, NaCl 100 mM, MgCl₂ 50 mM, 1% Tween-20) sirvieron para poner de manifiesto la unión de la sonda al *miR106b* endógeno.

De manera complementaria, para poner de manifiesto la presencia de la proteína MYF5 se utilizó el anticuerpo Rabbit Anti-Myf5 (tabla XXX), continuando con un proceso de inmunohistofluorescencia como el explicado en el apartado anterior sin el paso de fijación.

5.7.2. Hibridación in situ sobre fibras musculares.

Una vez aisladas las fibras, se procedió básicamente del mismo modo que en el apartado anterior, pero teniendo en cuenta la peculiaridad de que las fibras se encuentran en suspensión vigilando el todo momento evitar perderlas durante la manipulación

5.8. Tinción de hematoxilina-eosina

Las secciones de TA de ratones C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J obtenidas 15 días después del daño inducido con CTX y el tratamiento con *anti-miR106b*, fueron procesadas a criostato como se explicó en los apartados anteriores, se atemperaron durante 5 minutos, fueron fijadas con PFA al 4% en PBS durante 20 minutos, se tiñeron con hematoxilina de Mayer (Hematoxylin Solution, Mayer's. Sigma, MHS32-1L) y eosina amarillenta Y en solución acuosa (Eosin Y solution 0.5% aqueous. MerckMillipore, 1.09844.1000), se deshidrataron en concentraciones crecientes de etanol y se montaron con DPX previo paso por Xileno. Las imágenes se procesaron (cuenta del número total de fibras, su área y el número de fibras con núcleo centralizado) mediante con el software Fiji "Fiji It's JustImageJ".

5.9. RNAseq y análisis bioinformático

3 µg de ARN total, en alícuotas de 15 µl (200 ng/µl) , de cada una de las muestras a testar se enviaron al servicio de secuenciación masiva del CNAG (Centro Nacional de Análisis Genómico), perteneciente al CRG (Centro de Regulación Genómica) en Barcelona. La secuenciación se llevó a cabo mediante la plataforma de secuenciación masiva HiSeq2000 (Illumina), con un rendimiento de entre 36 a 56 millones de secuencias pair-end 2x76 pares de bases. El análisis de la calidad de las secuencias se llevó a cabo el programa FastQC (versión 0.11.4). Para alineamiento de las secuencias se utilizó el genoma de referencia de ratón versión GRCm38, release 82, de Ensembl. Para el alineamiento se utilizaron los programas TopHat (v2.0.10) y Bowtie2 (v2.1.0). El análisis de expresión diferencial se llevó a cabo mediante el programa Cuffdiff (perteneciente al paquete cufflinks v2.2.1). El programa consideró significativos todos aquellos genes que superaron el test estadístico con un q-value < 0.05 (p-value ajustado para un FDR (false discovery rate) de 0.05). Para reducir la dimensión de los resultados y así hacerlos más manejables se filtraron los resultados para detectar aquellos transcritos con un FC >= 2, es decir, que el cambio de expresión fuese, al menos, del doble entre las muestras. También realizamos un segundo filtrado por la expresión, para que ésta fuese al menos 20 FPKMs en alguna de las muestras. Las rutas

moleculares en las que estaban implicados con los transcritos diferencialmente expresados se analizaron mediante la anotación utilizada por WikiPathways (Slenter et al., 2018).

El análisis de la búsqueda de dianas *miR106b* en los transcritos se llevó a cabo mediante la herramienta miRWalk2.0 (<http://zmf.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk2/>). Este programa no solo documenta sitios de unión de miARN dentro de la secuencia completa de un gen, sino que también combina esta información con una comparación de sitios de unión resultantes de 12 programas de predicción de objetivo de miARN existentes (DIANA-microTv4.0, DIANA-microT-CDS, miRanda-rel2010, mirBridge, miRDB4.0, miRmap, miRNAMap, doRiNA es decir, PicTar2, PITA, RNA22v2, RNAhybrid2.1 y Targetscan6.2)

5.10. Comisión de Bioética

Las condiciones de estabulación y procedimientos a los que se sometieron los animales se llevaron a cabo en condiciones estrictamente controladas y de acuerdo con las directrices establecidas en la legislación vigente, según el Anexo II de RD 53/2013. Los diferentes proyectos a partir de los que se ha financiado el presente estudio contaron con el visto bueno de la Comisión de Bioética de la Universidad de Jaén (ver documentación adjunta)

6.- Resultados

6.1. El microARN 106b promueve el estado de quiescencia de las CCS

Datos reportados previamente por nuestro laboratorio han demostrado que el *miR106b*, dentro del contexto muscular esquelético, tiene un patrón de expresión compatible con su presencia en CCS quiescentes, donde probablemente podría jugar un papel inhibiendo la traducción de la proteína MYF5 y, por tanto, prevenir los procesos de activación y proliferación prematuros de las CCS (Lozano-Velasco et al., 2015). Al contrario de lo que ocurre con MYOD1, existen poblaciones de CCS tanto MYF5- como MYF5+ que cohabitan de manera natural el músculo esquelético (Dumont et al., 2015a). Parece que estas células MYF5+, aun estando en quiescencia, tienen un compromiso mayor hacia los procesos de diferenciación miogénica, encontrándose en un estadio de “preactivación”. Según nuestros indicios previos, la expresión de la proteína MYF5, debería ser incompatible con la presencia del *miR106b* en una misma CS. Para abordar esta cuestión decidimos llevar a cabo experimentos de hibridación *in situ* frente al *miR106b* y, consecutivamente, llevar a cabo experimentos de inmunohistofluorescencia con anticuerpos antiMYF5 sobre las mismas muestras. Nuestros resultados corroboran claramente que la expresión del *miR106b* es incompatible con la presencia de la proteína MYF5, ya que no encontramos ninguna CS *miR106b*+ que expresase simultáneamente la proteína MYF5 (figura 8 B).

Ya hemos demostrado previamente que, *in vivo*, la desregulación a la baja de los niveles de expresión del *miR106b* ocurre de manera concomitante a un aumento de los niveles de expresión del ARNm de *Myf5* y del resto de miembros de la familia de Mrfs (*Myod1*, *Myog* y *Myf6*). Sin embargo, estos datos no revelan si esta modulación tiene lugar de manera exclusiva en las CCS o en cualquier otro tipo celular con potencial miogénico. Si el *miR106b* realmente promoviera la quiescencia de las CCS, se esperaría una desregulación a la baja de este miR en dichas células. Para aclarar este punto decidimos realizar cultivos de fibras musculares provenientes del músculo *extensor digitorum longus* (EDL). Está demostrado que el aislamiento de CCS *in vitro* promueve su activación en el momento en que dichas células salen de su contexto fisiológico natural, entre la lámina basal y la miofibra. El cultivo de fibras permite mantener dichas células en su nicho, previniendo su activación durante el aislamiento de las mismas. Variando las condiciones de cultivo, podemos activar las CCS de estas fibras y estudiar su comportamiento. En este contexto, llevamos a cabo experimentos de hibridación *in situ* frente al *miR106b* en cultivos de fibras recién aisladas, así como en fibras mantenidas en cultivo durante 48 h en condiciones de diferenciación. Nuestros resultados demuestran que el *miR106b* sólo es expresado en ciertas CCS de fibras recién

aisladas, mientras que no pudimos encontrar señal de expresión de este miR en ninguna de las CCS presentes en las fibras tras 48h. Estos datos refuerzan aún más nuestra hipótesis sobre el papel del *miR106b* en el mantenimiento de la quiescencia de las CCS (figura 8 C-D).

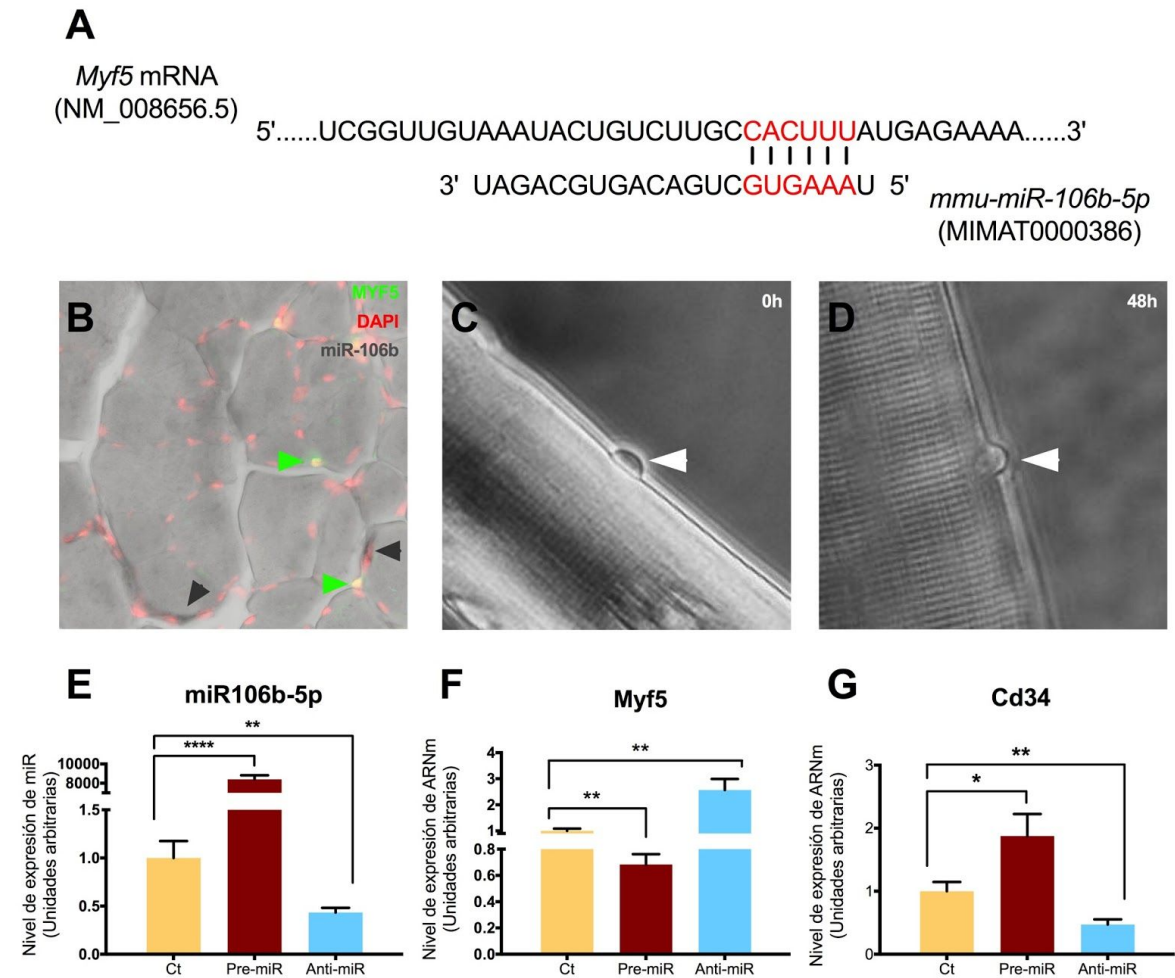


Figura 8.- La desregulación a la baja del *miR106b* es necesaria para el correcto proceso de activación de las CCS. **A)** esquema de la interacción del *miR106b* con su diana presente en el transcrito del ARNm de *Myf5*. **B)** El *miR106b* sólo se expresa en CCS MYF5-. La expresión de *miR106b* se detecta en alguna CCS de fibras recién aisladas (**C**), pero no en CCS de fibras tras 48 h en medio de diferenciación (**D**). La modulación de los niveles de expresión de *miR106b* en CCS aisladas (**E**) tiene un impacto sobre los niveles de ARNm de *Myf5* (**F**) y *Cd34* (**G**). Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas. Cada punto experimental corresponde a un $n=3$. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$.

Finalmente decidimos testar la posibilidad de que el *miR106b* pudiese modular los niveles de ARNm de *Myf5* de manera exclusiva en CCS cultivadas *in vitro*. Para ello, purificamos CCS, las cultivamos *in vitro* y las transfectamos junto a moléculas de *pre-miR106b* o *anti-miR106b* mediante experimentos de ganancia y pérdida de función. Tras testar que éramos capaces

de modular de manera significativa los niveles de expresión del *miR106b* en estas CCS (figura 8 E) decidimos analizar el efecto de dicha modulación sobre los niveles de ARNm de *Myf5* en cada condición experimental (figura 8 F). Nuestros resultados evidencian claramente que un aumento de los niveles del *miR106b* induce una disminución de los niveles de ARNm de *Myf5* y viceversa. Además, también demostramos que un aumento de los niveles del *miR106b* conlleva de manera paralela un aumento de los niveles de expresión del ARNm del marcador de superficie *Cd34* y viceversa (figura 8 G). El hecho de que esta proteína de superficie sea considerada un marcador de CCS cuyos niveles de expresión determinan la capacidad quiescente de dichas células (Beauchamp et al., 2000; Sidney et al., 2014) apoyan aún más nuestra hipótesis.

Todas estas evidencias obtenidas *in vivo* e *in vitro* evidencian de manera clara que el *miR106b* promueve el estado de quiescencia de las CCS y que su desregulación a la baja es necesaria para que dichas células activen su programa de diferenciación miogénico.

6.2. La desregulación a la baja del *miR106b* mediada por anti-miR induce una mejora de los procesos de miogénesis en el modelo murino distrófico C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J *in vitro* e *in vivo* .

Resultados previos publicados por nuestro grupo han demostrado que las CSS del modelo distrófico de ratón C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J presentan claros problemas de activación, proliferación y diferenciación miogénica cuando son cultivadas *in vitro* (Daniel Vallejo, Francisco Hernández-Torres, Estefanía Lozano-Velasco, Lara Rodríguez-Outeiriño, Alejandra Carvajal, Carlota Creus, Diego Franco and Amelia Eva Aránega, 2018). Teniendo en cuenta los datos anteriores, nos preguntamos si los niveles endógenos del *miR106b* podrían estar alterados y estar influenciado de manera directa en dichos problemas. Nuestros experimentos de RT-PCR cuantitativa en tiempo real llevados a cabo en músculos TA y en CSS aisladas de ratones controles y ratones distróficos demostraron claramente que existe una sobreexpresión de este miR asociada a la patología distrófica (figura 9 A-B). Ante estos resultados nos preguntamos si la desregulación a la baja del *miR106b* podría implicar una mejora de la miogénesis en este modelo murino. Decidimos realizar una primera aproximación *in vitro* mediante experimentos de ganancia y pérdida de función en CCS aisladas de ratones distróficos. La necesidad de conseguir una expresión estable de las moléculas *pre-miR106b* y *anti-miR106b* durante largos periodos de cultivo *in vitro*, nos llevó a decantarnos por la transducción mediante lentivirus de dichas moléculas como técnica de elección, ya que la transfección mediada por lipofectamina provoca efectos citotóxicos en las CCS. Nuestros resultados mostraron claramente que, tras 14 días de

cultivo, las CSS distróficas que sobreexpresan el *anti-miR106b* generan colonias con un mayor número de células totales y mayor número células MYOG⁺ (figura 9C-D y 2E-F), y por tanto un mayor número de precursores en proceso de diferenciación, que las CCS transducidas con la molécula control (figura 9C-D y 2E-F). De manera interesante, aquellas células que sobreexpresan el *miR106b* casi no proliferan, retienen su fenotipo de mioblasto y no se fusionan, en concordancia con nuestros datos previos, empeorando aún más el fenotipo distrófico (figura 9C-D, 9E y 9G).

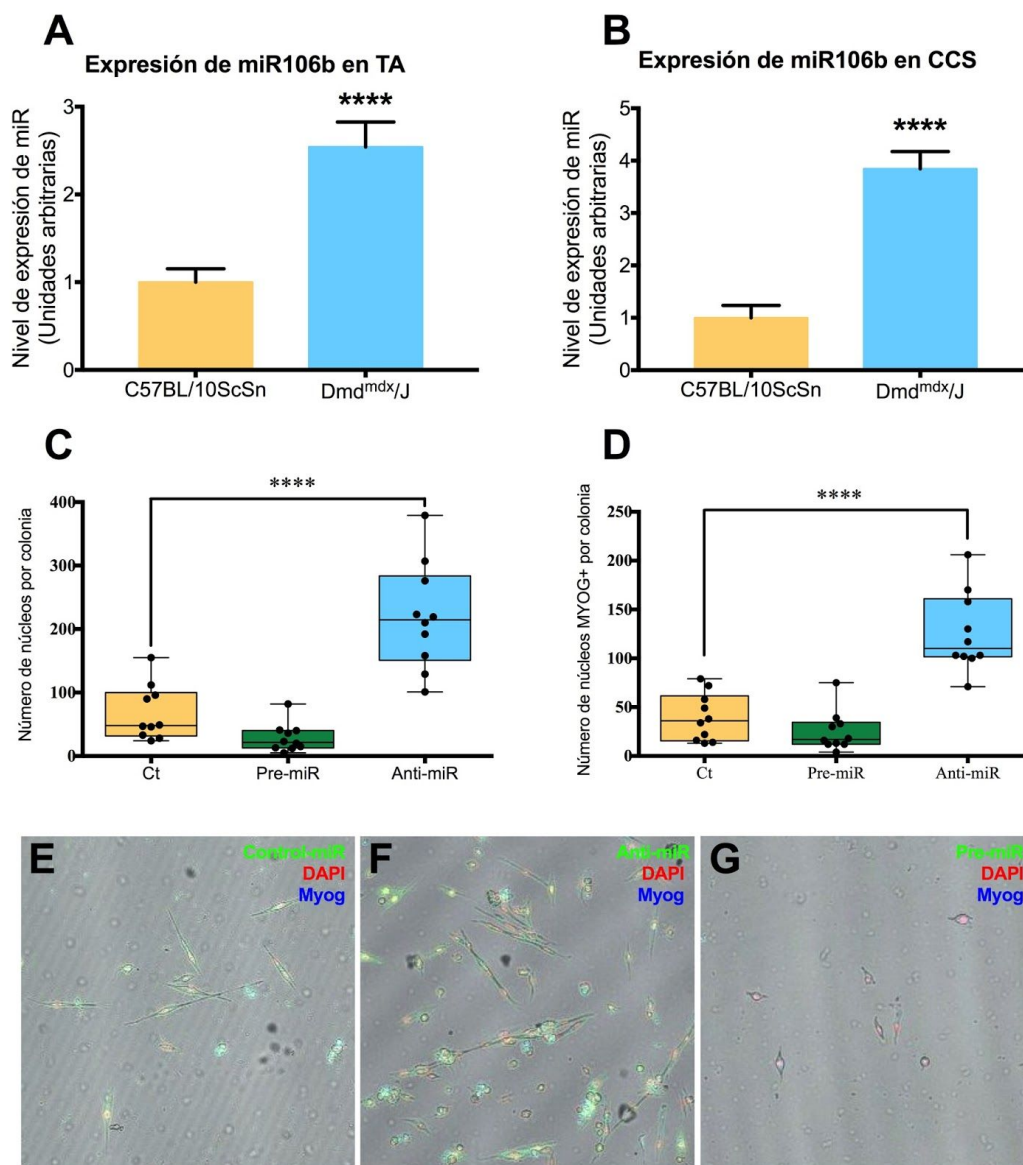


Figura 9.- El *miR106b* se encuentra sobreexpresado en los músculos (A) y CCS distróficas (B). La modulación de los niveles de *miR106b* modifica el número y la capacidad de diferenciación de los precursores miogénicos con capacidad regenerativa (C-G). Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas. Para las RT-PCR cuantitativa en tiempo real cada punto experimental corresponde a un $n=3$. Para los análisis de las colonias de CCS se tomaron 10 colonias provenientes de tres animales diferentes * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$.

A la luz de estos resultados, nos preguntamos si la desregulación a la baja del *miR106b* podría tener un efecto positivo durante el proceso de miogénesis *in vivo* en estos ratones distróficos. El primer reto consistió en llevar a cabo una correcta desregulación del *miR106b* en un contexto regenerativo *in vivo*. Para ello, indujimos un daño muscular mediante la inyección intramuscular de cardiotoxina en músculos TA en presencia de *anti-miR106b* o de *miR-Control* y posteriormente medimos los niveles de expresión del *miR106b* a día 0, día 3, día 7 y día 15 tras la inducción del daño (figura 10)

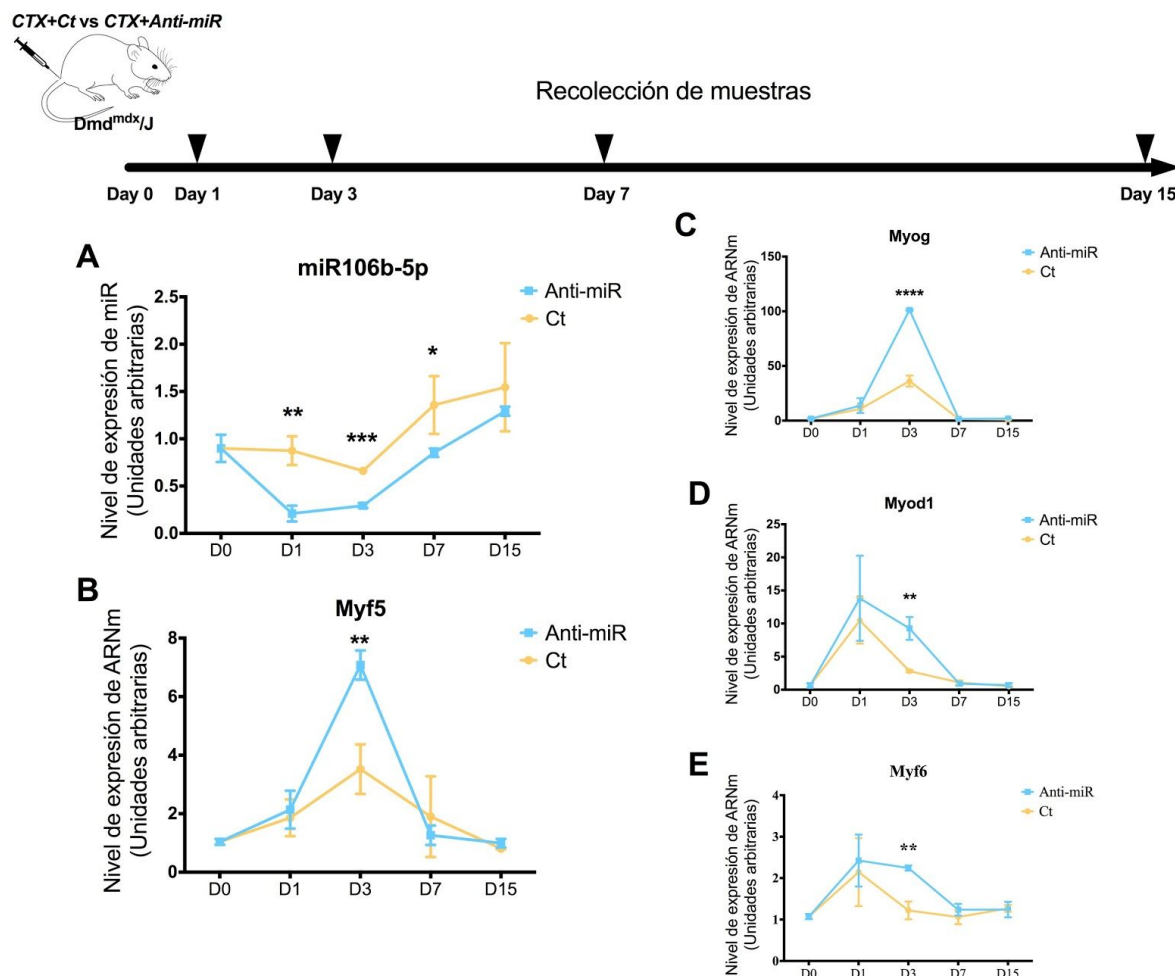


Figura 10.- Perfiles de expresión del *miR-106b-5p* (A), *Myf5* (B), *Myod1* (C), *MyoG* (D) y *Myf6* (E) en ratones C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J durante el proceso de regeneración muscular tras daño inducido con cardiotoxina (CTX) en presencia del *anti-miR106b* o un control scramble con tampón fosfato salino o PBS a Día 0, día 1, día 3, día 5, día 7 y día 15. Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas. Cada punto experimental corresponde a un $n=3$. * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$; **** $p<0.0001$.

Nuestro resultados demostraron claramente que la inyección intramuscular de *anti-miR106b* es capaz de inducir una desregulación a la baja significativamente más intensa de los

niveles de expresión endógenos del *miR106b* que la inducida en los controles durante los procesos de regeneración muscular en animales distróficos. Así mismo, también demostramos que esta mayor inhibición del *miR106b* es concomitante con un aumento de los niveles de expresión del ARNm de *Myf5* y del resto de *Mrfs*. Estos resultados nos indujeron a pensar que los procesos de regeneración miogénica que estaban teniendo lugar en estos animales podrían estar siendo mejorados. Para corroborar dicha hipótesis nos propusimos hacer un análisis histológico de los músculos durante el proceso de regeneración muscular.

Nuestros resultados demuestran que la inyección intramuscular de *anti-miR106b* induce un aumento significativo tanto del número de CCS activadas (*PAX7*⁺/*MYOD1*⁺ en figura 11A-C y *PAX7*⁺/*PS6*⁺ en figura 11G-K), como del número de mioblastos activados en proliferación (*Ki67*⁺/*MYOD1*⁺ en figura 11D-C) en el día 3 del proceso regenerativo. Estos resultados indican claramente que la modulación a la baja del *miR106b* durante las primeras etapas del proceso regenerativo promueve el aumento del número de precursores mioblásticos con capacidad regenerativa. Ésto mayor número de precursores activados puede ser el causante del incremento significativo del número de fibras que se generan *de novo* (fibras eMyHC⁺ a día 7 en figura 12A-C y número de fibras con núcleo centralizado a día 15 en figura 12D-F), así como incremento significativo del área de las mismas (figura 12D-E y 5G) durante las etapas posteriores del proceso regenerativa como muestran nuestros resultados. Estas mejoras histológicas pueden ser la base de la mejora funcional que encontramos en los animales distróficos 30 días después de ser inyectados con el *anti-miR106b* ya que, como demuestran nuestros resultados, estos animales fueron capaces de correr una mayor distancia y aguantar más tiempo que los animales control durante el test funcional mediante treadmill (figura 13A-B)

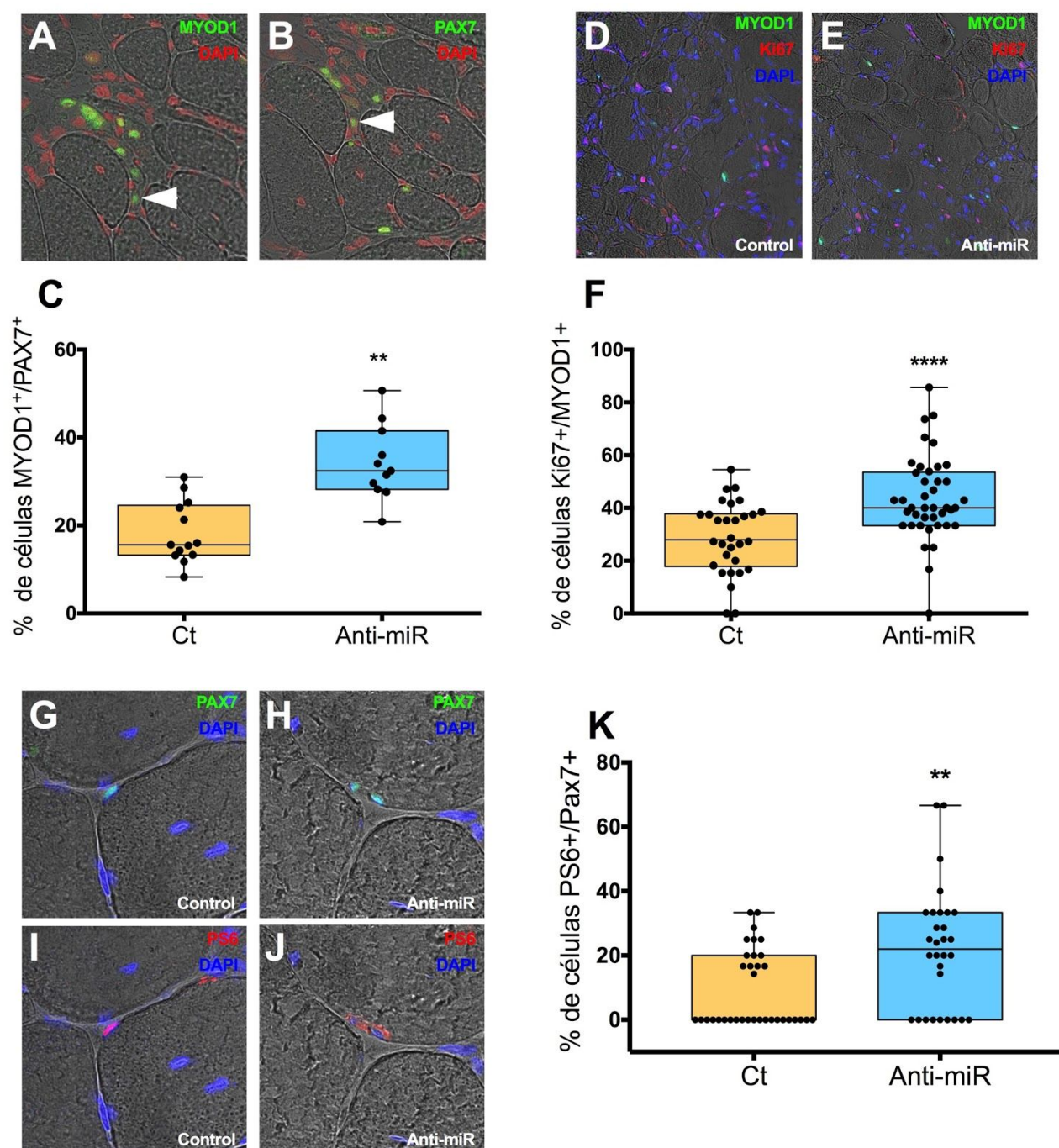


Figura 11.- La desregulación a la baja del miR 106b in vivo en el modelo distrófico genera un aumento de los precursores miogénicos activados (A-C y G-K) y de mioblastos en proliferación (D-F) a día 3 del proceso regenerativo. Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas. Para los contajes celulares se tomaron 13 (C), 41(F) y 35 (K) secciones representativas provenientes de tres animales diferentes ** $p < 0.01$; **** $p < 0.0001$.

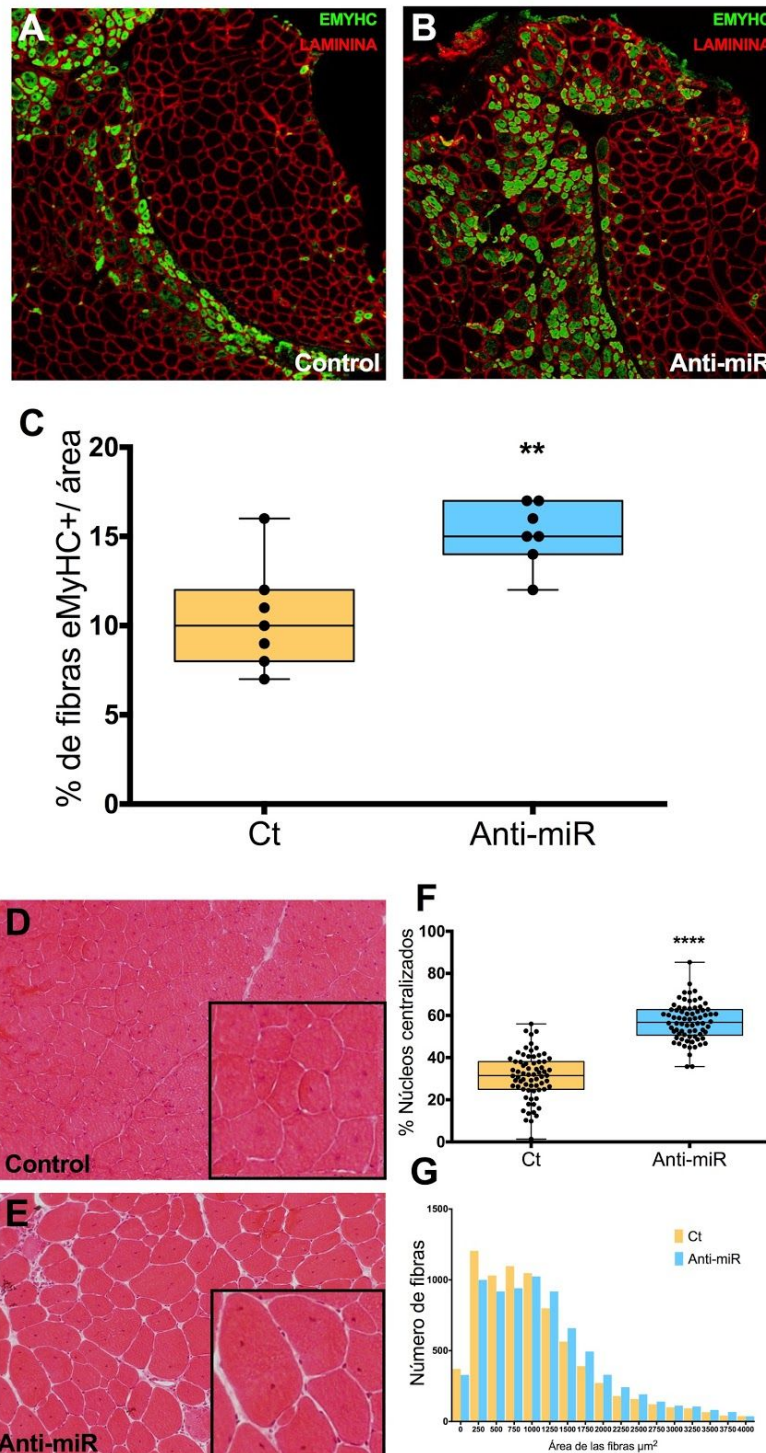


Figura 12.- La desregulación a la baja del miR 106b in vivo en el modelo distrófico genera un aumento de las fibras sintetizadas de novo a los 7 (**A-C**) y 15 días (**D-F**), así como un aumento significativo del tamaño de las fibras (**G**). Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas. Para los porcentajes de área (**C**) se tomaron 6 animales diferentes. Para el conteo de fibras con núcleos centralizados se utilizaron 74 secciones representativas provenientes de 3 animales diferentes $**p<0.01$; $****p<0.0001$.

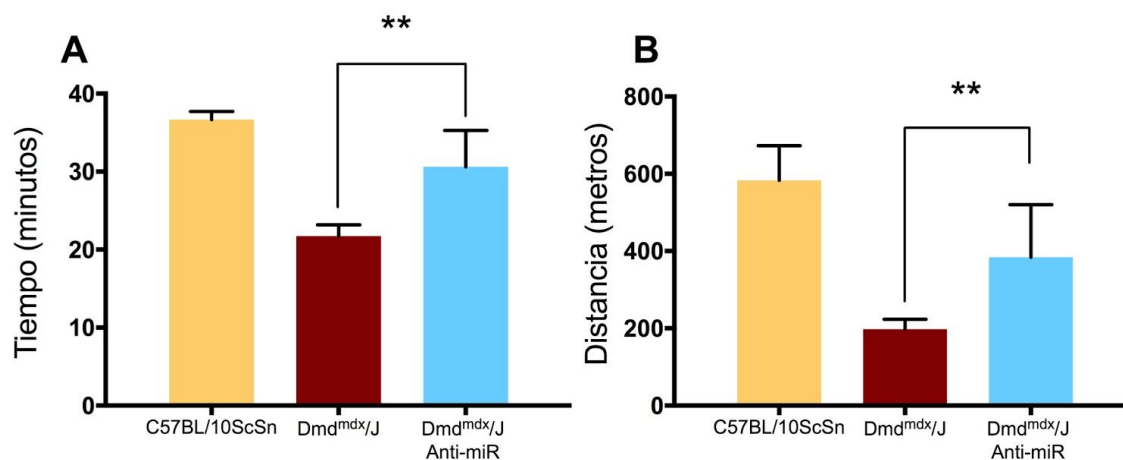


Figura 13.- Test de Treadmill en ratones C57BL/6J y C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J inyectados con anti-miR-Control o +anti-miR106b. 30 días después del daño inducido por CTX. (A) Tiempo total recorrido. (B) Distancia total recorrida. Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas, con un $n=6$ $**p<0.01$.

6.3. La desregulación a la baja del miR106b in vivo mediada por anti-miR induce un profundo cambio del transcriptoma muscular durante el proceso de regeneración muscular en el modelo murino distrófico C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J.

A la luz de nuestros resultados, la mejora fenotípica y funcional en los ratones distróficos resultante del tratamiento con *anti-miR106b* es más que evidente. Un impacto tan contundente nos hizo plantearnos la posibilidad de que este tratamiento estuviese influyendo, no sólo en una mejor activación de los precursores miogénicos, sino que otros procesos implicados en la biología muscular estuvieran siendo alterados de manera positiva. Para estudiar más profundamente esta posibilidad decidimos llevar a cabo un estudio del perfil de expresión ARNm total mediante secuenciación masiva (RNAseq) que nos permitiese analizar los cambios en el transcriptoma de los músculos tratados frente a los no tratados. Como los cambios más claros en los perfiles de expresión de los MRFs se circunscriben a los días 3 y 7 decidimos tomar estos puntos de referencia para nuestro estudio. Durante el proceso de regeneración ocurrido entre los días 3 y 7 en la situación control detectamos una expresión diferencial de 421 transcritos (figura 14A). Podemos denominar a estos 421 transcritos como el core canónico de transcritos que, en condiciones normales, presenta un alteración de expresión en el proceso regenerativo muscular del modelo de ratón distrófico. De estos 421 transcritos, 288 (278+10 en figura 14B) corresponden a transcritos que son sobreexpresados a día 7, mientras que 133 (124+9 en figura 14C) corresponden a transcritos que son reprimidos a día 7. Por otro lado, el proceso de regeneración en el que está presente la molécula de *anti-miR106b* presenta una

expresión diferencial 1488 transcritos (figura 14A), bastante superior a lo que ocurre en condiciones normales. De estos 1488 transcritos, 568 (278+290 en figura 14B) corresponden a transcritos que son sobreexpresados a día 7, mientras que 920 (124+796 en figura 14C) corresponden a transcritos que son reprimidos a día 7.

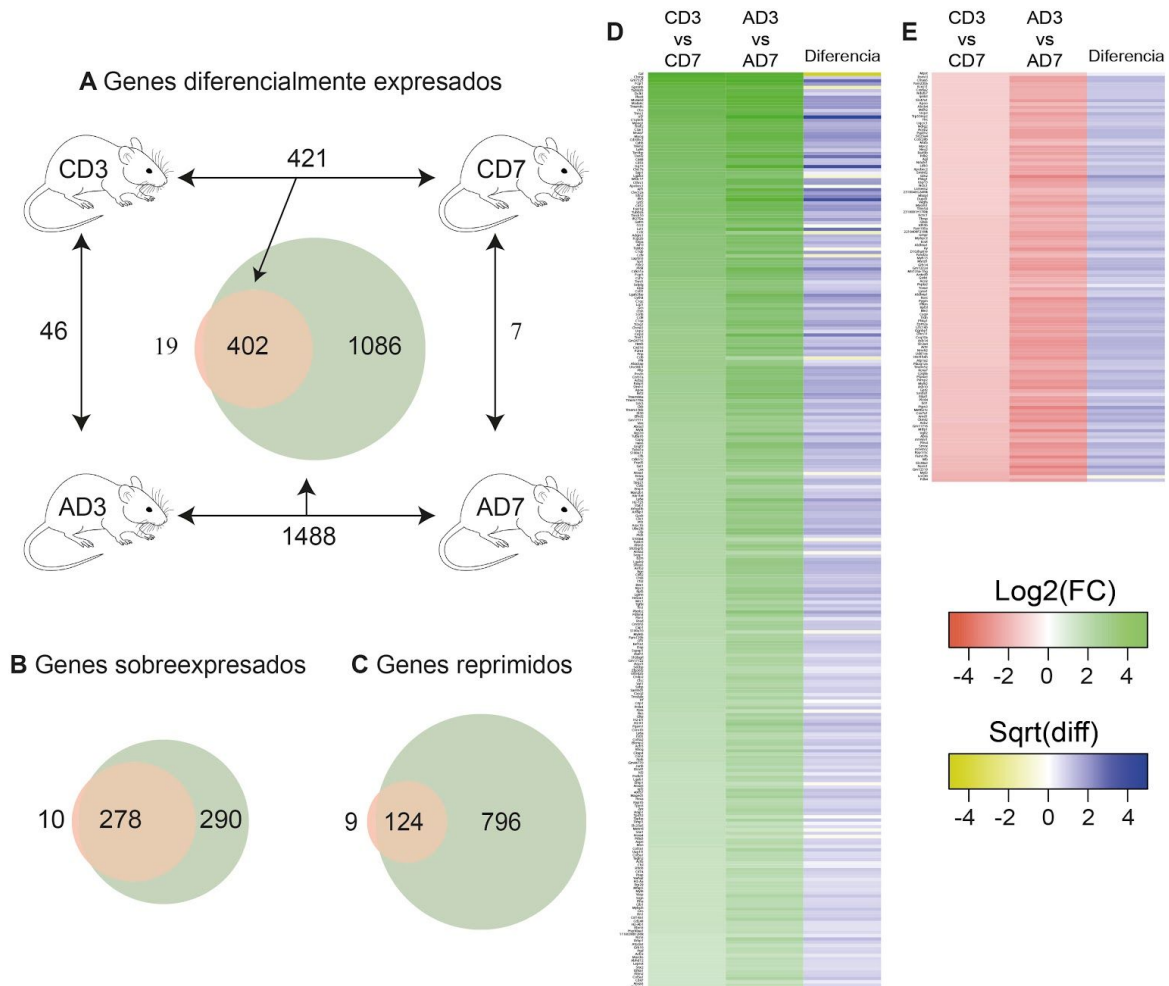


Figura 14.- A) esquema conceptual del experimento de análisis de expresión diferencial mediante RNAseq. 421 genes constituyen el core de transcritos diferencialmente expresados en el proceso de regeneración normal. De estos, 402 también lo hacen cuando se desregula a la baja la expresión del miR106b. **B)** 278 genes sobreexpresados durante el proceso de regeneración normal también lo hacen cuando se desregula la expresión del miR106b, sin embargo esta sobreexpresión es mayor cuando la presencia del miR106b decae gracias al tratamiento con anti-miR106b(**D**). **C)** 124 genes desregulados a la baja durante el proceso de regeneración normal también lo hacen cuando se desregula la expresión del miR106b, sin embargo esta desregulados a la baja es intensa cuando la presencia del miR106b decae gracias al tratamiento con anti-miR106b (**E**)

La inmensa mayoría de los genes desregulados en la situación control los son también desregulados en presencia del *anti-miR106b* (402 de 421). En este sentido, es interesante

destacar los niveles desregulación de estos transcritos. Así, vemos como la mayoría de los genes que son sobreexpresados a día 7 en la situación control son sobreexpresados con mayor intensidad en presencia del *anti-miR106b* (figura 14D) mientras que los que son reprimidos a día 7 en la situación control son reprimidos con mayor intensidad en presencia del *anti-miR106b* (figura 14E). Estos datos nos indican claramente que la presencia del *anti-miR106b* potencia la expresión diferencial del core transcriptómico que normalmente se desregula durante el proceso de regeneración muscular en el ratón distrófico, pudiendo explicar en parte el por qué de la mejora histológica y funcional mediada por el tratamiento.

Para llevar a cabo un análisis más pormenorizado del impacto generado por el tratamiento, analizamos las rutas moleculares en las que estaban relacionadas con los transcritos diferencialmente expresados mediante la anotación utilizada por WikiPathways (Slenter et al., 2018). Nuestros resultados demuestran que durante el proceso de regeneración muscular en condiciones normales, los transcritos sobreexpresados influyen en mayor medida en la ruta relacionada con la contracción de la musculatura estriada (figura 15). Además de esta, otras rutas relacionadas con la biología muscular también están influenciadas por este grupo de transcritos (rutas de síntesis y regulación de prostaglandinas, de contracción y relajación miométrial o de regulación del calcio en la célula cardíaca), rutas relacionadas con las respuestas inflamatorias e inmunes (rutas de la respuesta inmunitaria, señalización por quimioquinas, marcadores de macrófagos, señalización de receptores de linfocitos B o cascadas del complemento y la coagulación), rutas relacionadas con la motilidad celular (rutas de adhesión focal, señalización G13 o adhesión celular mediada por integrinas) y rutas de procesos autofágicos (ruta de senescencia y autofagia) también están influenciadas por este grupo de transcritos sobreexpresados (figura 15). Por otro lado el grupo de transcritos reprimidos influye en mayor medida sobre rutas relacionadas con el metabolismo (rutas del metabolismo de los aminoácidos, cadena transportadora de electrones, ciclo de los ácidos tricarboxílicos, glucólisis y gluconeogénesis, metabolismo del glucógeno, señalización de la ruta de la insulina o la fosforilación oxidativa)(figura 16). De manera interesante, observamos cómo el tratamiento de mediante *anti-miR106b*, y el consecuente cambio transcriptómico inducido, provoca que prácticamente todas las rutas anteriormente mencionadas intensifiquen su grado de afectación. Así aquellas rutas influidas por los transcritos sobreexpresados en condiciones normales lo son más en presencia del *anti-miR106b* y aquellas rutas influenciadas por los transcritos reprimidos también se ven influenciados en mayor medida

(figuras 15 y 16). Estos datos refuerza aún más la idea de que el tratamiento mediado por el *anti-miR106b* potencia los procesos de regeneración canónicos.

Rutas moleculares relacionadas con los transcritos sobreexpresados durante el proceso de regeneración muscular del modelo murino C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J



Figura 15. Categorización de las rutas moleculares relacionados con los genes sobreexpresados durante el proceso de regeneración muscular normal y en presencia del *anti-miR-106b* en ratones distróficos.

Además de lo descrito anteriormente, también podemos observar que los transcritos sobreexpresados *de novo*, como consecuencia del tratamiento con *anti-miR106b*, tienen un

impacto muy importante en rutas relacionadas con el metabolismo del ARNm y la traducción de proteínas (rutas de síntesis proteínas ribosómicas citoplasmáticas y de procesamiento de ARNm), nuevas rutas relacionadas con la respuesta inmune e inflamatoria (rutas de señalización de IL2, 3, 4, 5 y 6, señalización de Interferón tipo II o señalización de NF- κ B y TNF- α), rutas relacionadas con la proliferación, migración y diferenciación celular (rutas de señalización MAPK, señalización ID, señalización EGFR, señalización proteica, metaloproteinasas de la matriz extracelular o la señalización p38-MAPK) y rutas relacionadas con los procesos de apoptosis (figura 15). Por otro lado los transcritos reprimidos *de novo* como consecuencia del tratamiento con *anti-miR106b*, también influyen de manera significativa en nuevas rutas metabólicas (rutas de β -oxidación de ácidos grasos LC mitocondriales, metabolismo de los ácidos grasos, síntesis de triacilglicéridos o el metabolismo de la alanina, el aspartato y el triptófano) (figura 16).

Rutas moleculares relacionadas con los transcritos inhibidos durante el proceso de regeneración muscular del modelo murino C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J

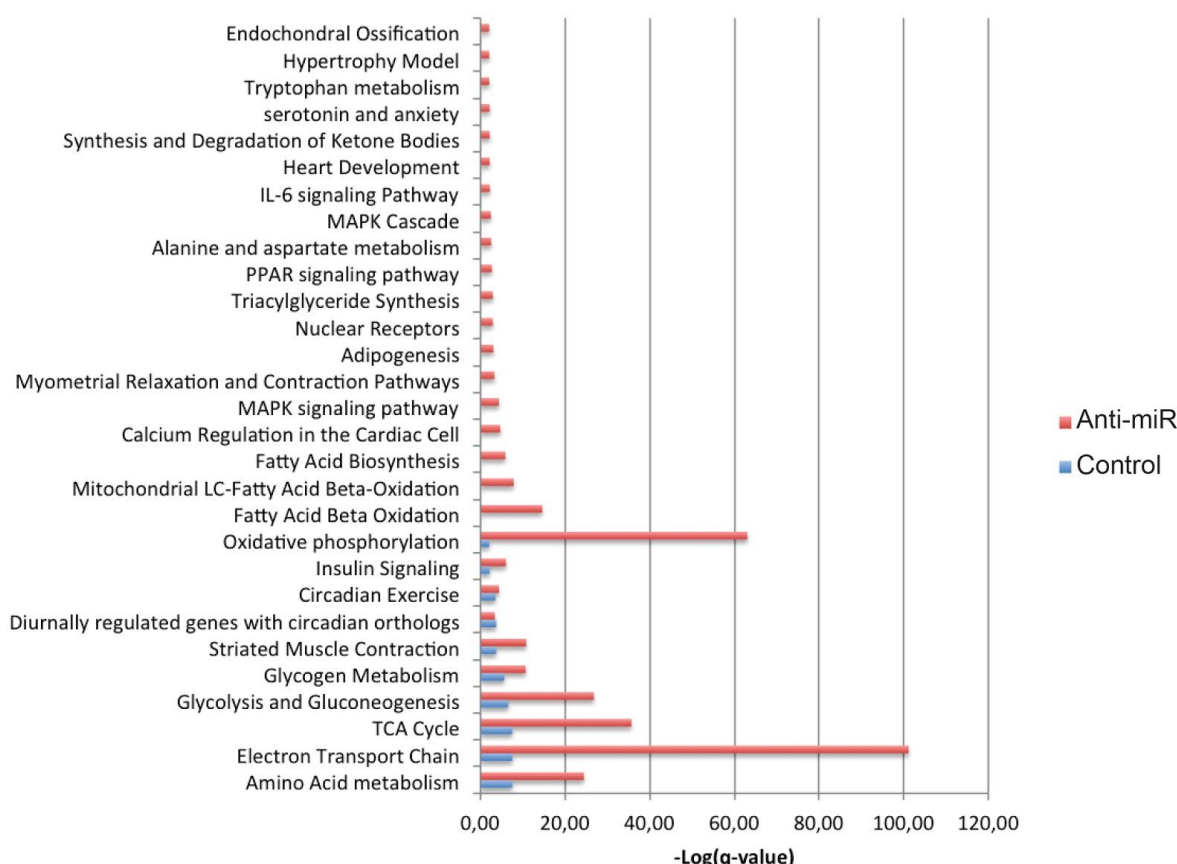


Figura 16. Categorización de las rutas moleculares relacionados con los genes desregulados a la baja durante el proceso de regeneración muscular normal y en presencia del *anti-miR106b* en ratones distróficos.

La desregulación transcriptómica que tiene lugar durante el proceso de regeneración muscular como consecuencia de la presencia del *anti-miR106b* durante los 7 primeros días es muy llamativa. Aunque una pequeña porción de los genes desregulados portan secuencias diana para el *miR106b*, la inmensa mayoría no las tiene. Esto induce a pensar que esta desregulación sea consecuencia indirecta de interacciones entre el *miR106b* y sus posibles dianas en estadios más tempranos del proceso de regeneración. Ante este escenario y para poder determinar qué actores pueden verse implicados de manera directa por la presencia del *anti-miR106b*, nos centramos en analizar aquellos transcritos expresados diferencialmente entre la situación control y el tratamiento con el *anti-miR106b* en etapas más tempranas del proceso de regeneración, como es el día 3. En este punto experimental encontramos 46 genes expresados diferencialmente (figura 14A y tabla 1 en datos suplementarios). De estos, 24 transcritos se encuentran reprimidos y 22 sobreexpresados en presencia del *anti-miR106b*. Sabemos que la presencia del *anti-miR106b* induce una desregulación a la baja del *miR106b*. Aunque no siempre es así, la mayoría de las veces que eliminamos un *miR* dentro de un contexto biológico, la presencia de sus posibles transcritos diana se ve incrementada. Por ello, nos centramos en analizar la posible presencia de secuencias diana del *miR106b* en transcritos sobreexpresados en presencia del *anti-miR106b* a día 3. Nuestro análisis bioinformático centrado en la búsqueda de estas dianas nos arrojó una lista de 5 posibles candidatos *Hmox1*, *Tnc*, *Nt5dc2*, *Sfrp2* y *Mfap4* (tabla 1 en datos suplementarios). Como primer paso para corroborar esta interacción directa validamos por RT-PCR cuantitativa a tiempo real la sobreexpresión de los candidatos (figura 17A).

Una vez validados, decidimos determinar experimentalmente si existe una interacción directa entre el *miR106b* y sus posibles dianas presentes en las regiones 3'UTR de los transcritos candidatos. Para ello clonamos las regiones 3'UTR de estos candidatos en el vector pmiR-Report y cotransfectamos dicho vector en presencia del *miR106b* vs *miRcontrol* en la línea celular de mioblastos *So18*. Este vector porta la región codificante del gen de la *Luciferasa*, en cuya región 3'UTR se clona el fragmento de ADN a testar. La interacción del *miR106b* con el fragmento de ADN clonado en la región 3'UTR implica un descenso de los niveles de luciferasa detectable, indicando una interacción directa entre este *miR* y la región 3'UTR clonada. Nuestros resultados demuestran claramente que los niveles de luciferasa disminuyen significativamente cuando el *miR106b* es cotransfectado con el plásmido que porta las regiones 3'UTR de los genes *Tnc* y *Mfap4* (figura 17B). Estos datos indican que el aumento de los niveles de ARNm de estos dos genes, mediada por la presencia del *anti-miR106b* en estadios tempranos de regeneración muscular, puede tener un impacto

beneficioso en el proceso regenerativo, proponiendo a estos dos genes como posibles candidatos para futuros estudios dentro del campo de la terapia en el tratamiento de la DMD.

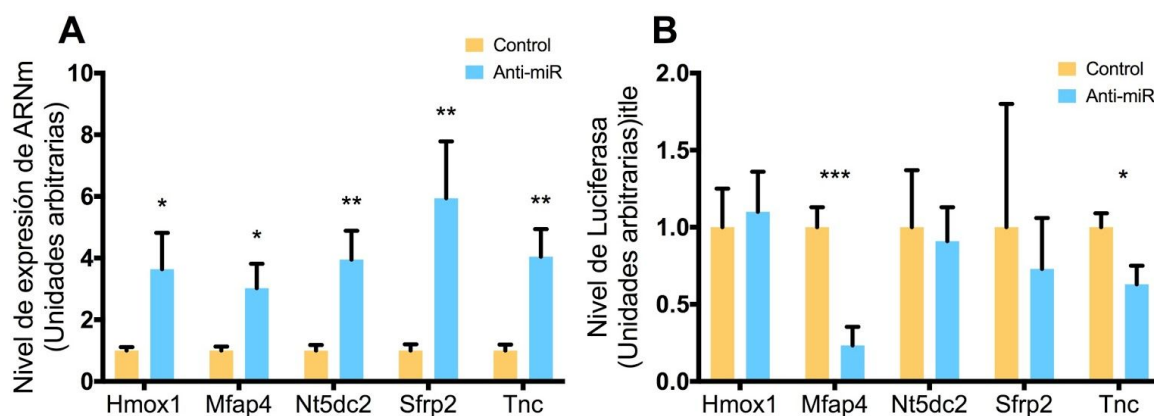


Figura 17. A) Validación de los datos de secuenciación masiva demostrando la sobreexpresión de los transcritos candidatos en los animales tratados con el anti-miR106b a día 3. Análisis la actividad Luciferasa tras la clonación de la región 3'UTR en el plásmido pmiR-REPORT Luciferasa. Como estadístico se utilizó una T de Student de dos colas, con un $n=3$ * $p<0.05$; ** $p<0.01$; *** $p<0.001$.

7.- Discusión

El músculo esquelético representa una proporción muy importante del cuerpo humano (Janssen et al., 2000). Es el encargado de realizar funciones indispensables para el correcto desarrollo vital, como pueden ser el mantenimiento de la postura, el impulso locomotor o la ventilación pulmonar. Es un tejido metabólicamente muy activo y, como cualquier otro tejido del organismo, está sometido a un desgaste continuo. A pesar de que existen otros tipos celulares con cierta capacidad miogénica (Laumonier et al., 2017), está ampliamente demostrado que las CCS constituyen la principal fuente de células madre del tejido muscular adulto (Yin et al., 2013). En un músculo sano estas células se encuentran en un estado de quiescencia. Sin embargo, bajo la aparición de los estímulos adecuados, generados por un daño tisular, estas células se activan, comienzan a expresar el factor de transcripción MYF5, proliferan y activan una serie de factores de transcripción conocidos como MRFs (MYOD1, MYOG y MYF6) que, en cascada, permiten la transición de CCS a mioblastos, la fusión de estos para dar miotubos y su posterior maduración hacia miofibras, concluyendo el proceso regenerativo muscular (Hernandez-Torres et al., 2017). Las CCS, como otras células madre, puede dividirse de manera simétrica y de manera asimétrica (Wang and Rudnicki, 2011; Yamashita, 2010). Mientras que la división simétrica de una CS generan dos nuevas CCS con la misma firma molecular que su predecesora (PAX7+/MYF5-), la división asimétrica permite la aparición de una CS PAX7+/MYF5-, destinada a mantener el pool de células madre musculares, y otra CS PAX7+/MYF5+. Esta última, considerada como CS activada, está comprometida miogénicamente y es la responsable de dirigir el proceso de regeneración muscular siguiendo los pasos anteriormente descritos. Por tanto, un balance adecuado entre divisiones simétricas y asimétricas de las CCS es fundamental para el mantenimiento de la capacidad regenerativa de la musculatura adulta.

Durante años se ha postulado que la sintomatología que padecen los enfermos de DMD venía determinada exclusivamente por la desestabilización del complejo DGC, originada por la falta de la proteína DISTROFINA, en estos pacientes (Campbell and Kahl, 1989; Ervasti et al., 1990; Petrof et al., 1993). Sin menospreciar el hecho de que este mecanismo de desgaste de las fibras musculares influya en la patología, en los últimos años se ha demostrado que la enfermedad también se ve agravada por que la falta de DISTROFINA incapacita de las CCS de los pacientes a promover su división asimétrica, disminuyendo así el número de precursores miogénicos con capacidad regenerativa (Chang et al., 2016; Dumont et al., 2015b; Sacco et al., 2010). La capacidad de dividirse de las CCS en el contexto distrófico no está comprometida, como apuntan trabajos previos que demuestran

que el número de CCS en humanos y ratones distróficos jóvenes es aún mayor que en condiciones normales (Boldrin et al., 2015; Bulfield et al., 1984; Dumont et al., 2015b; Jiang et al., 2014; Kottlors and Kirschner, 2010). El problema es que las divisiones que estas células están llevando a cabo son fundamentalmente simétricas, generando un y otra vez nuevas CCS sin potencial regenerativo. Durante la progresión de la enfermedad las CCS van quedando “exhaustas” y va disminuyendo su número y su capacidad de división, probablemente debido al acortamiento de los telómeros como apunta Sacco y colaboradores (Sacco et al., 2010), generando el denominado concepto de “depleción de las células madre musculares” (Blau et al., 1983; Sacco et al., 2010). Por tanto, encontrar un mecanismo ayude a promover las divisiones asimétricas en el contexto distrófico podría tener un impacto positivo sobre la progresión de la enfermedad.

En el contexto de la biología de las CCS de la musculatura esquelética adulta, trabajos recientes han puesto de manifiesto cómo los *miRs* son capaces de modular sus estados de quiescencia y proliferación (Crist et al., 2012; Sato et al., 2014; Zhang et al., 2015b). En este sentido, nuestro grupo ha demostrado que el *miR-106b* muestra un patrón de expresión muscular compatible con la expresión de este *miR* en CCS, siendo capaz de unirse a la región 3'UTR del ARNm de *Myf5* y modular *in vitro* el número de células *Myf5*⁺ en poblaciones de CCS recién aisladas (Lozano-Velasco et al., 2015). Dada la importancia de este factor de transcripción durante la activación de las CCS, decidimos explorar más detenidamente cómo este *miR* puede estar influyendo en dicho proceso. En una primera aproximación conseguimos demostrar que es necesaria una desregulación a la baja de este *miR* durante los primeros estadios de regulación muscular. Esta regulación es máxima a D3, coincidiendo con el momento de activación de las CCS en el contexto regenerativo muscular (Bentzinger et al., 2013) y coincide con los picos de expresión de ARNm de *Myf5* y del resto de miembros de la familia de los MFR. Todas estas evidencias indicaban que el *miR106b* podría estar jugando un papel represor de la activación prematura de las CCS y que su desregulación era necesaria para permitir la expresión de la proteína MYF5, promoviendo así la activación de las CCS. Nuestros datos *in vitro* e *in vivo* con ratones normales demuestran que esto es así. Vemos como la modulación del *miR106b* permite controlar los niveles de ARNm de *Myf5* y la capacidad de “stemness” de las CCS. Ya habíamos demostrado que los procesos de que las CSS del modelo distrófico de ratón *C57BL/10ScSn-Dmd^{mdx}/J* presentan claros problemas de activación, proliferación y diferenciación miogénica cuando son cultivadas *in vitro* (Daniel Vallejo, Francisco Hernández-Torres, Estefanía Lozano-Velasco, Lara Rodríguez-Outeiriño, Alejandra Carvajal, Carlota Creus, Diego Franco and Amelia Eva Aránega, 2018). En el presente trabajo hemos

demostrado que los niveles de *mir106b* en las CCS de estos ratones son significativamente más elevados que los presentes en ratones normales, lo que puede dar una explicación al comportamiento de las CCS distróficas *in vitro*. Nuestros resultados también demuestran que la desregulación a la baja de este *miR* mejora significativamente la capacidad proliferativa y de diferenciación de las CCS distróficas tanto *in vivo* como *in vitro*. Posiblemente esta mejora es debida a que la disminución del *miR106b* fomenta las divisiones asimétricas de las CCS, dando lugar a un aumento en el número de precursores musculares comprometidos con los procesos de diferenciación y regeneración muscular. Esta idea es apoyada por nuestros datos. En este sentido, hemos demostrado cómo el tratamiento con el *anti-miR106b* permite un aumento significativo del número de precursor activos que expresan la forma fosforilada y activa de la proteína S6. Esta proteína es un efector de la ruta mTOR con un importante papel en la biología de las CCS (Shan et al., 2014; Yoon, 2017; Zhang et al., 2015a) y que recientemente ha sido postulado como marcador de división asimétrica de las mismas (Rodgers et al., 2014, 2017) predisponiendo su capacidad de activación frente al daño muscular.

Además del papel que ejerce el *miR106b* en el control de las divisiones asimétricas, nuestros datos obtenidos mediante secuenciación masiva han puesto de manifiesto que su desregulación a la baja, mediante el tratamiento con *anti-miR106b*, potencia la expresión diferencial del core transcriptómico que normalmente se desregula durante el proceso de regeneración muscular en el ratón distrófico e influye en nuevas rutas moleculares hasta ahora no relacionadas con los procesos de regeneración muscular. Esto finalmente desencadena una mejora histológica y funcional en los ratones enfermos. No sabemos cómo condiciona el *miR106b* tal respuesta transcriptómica. El tratamiento, además de potenciar el core transcriptómico canónico, también implica la desregulación de otros 1086 transcritos durante los 7 primeros días del proceso regenerativo. Sin embargo a día 3 sólo existen 46 genes desregulados entre los ratones tratados con el *anti-miR106b* y los controles. De estos, 24 transcritos se encuentran reprimidos y 22 sobreexpresados en presencia del *anti-miR106b*. Es la desregulación de este pequeño grupo de genes lo que genera, durante los siguientes cuatro días, un cambio tan importante en el transcriptoma. Nuestro análisis bioinformático centrado en la búsqueda de dianas *miR106b* presentes en el grupo de genes sobreexpresados nos arrojó una lista de 5 posibles candidatos *Hmox1*, *Tnc*, *Nt5dc2*, *Sfrp2* y *Mfap4*. Hemos conseguido demostrar parcialmente la interacción física del *mir106b* con la región 3'UTR de los transcritos *Tnc* y *Mfpa4*. La importancia que *Tnc* tiene en el control del proceso regenerativo muscular ha sido anteriormente descrita y está en consonancia con nuestros resultados (Flück et al., 2008), sin embargo el papel que pueda ejercer *Mfpa4* en

este proceso permanece inexplorado, lo que genera un nuevo campo de estudio para el futuro. Independientemente de que sea de manera directa o indirecta, lo cierto es que es que la desregulación a la baja de la expresión del *miR106b* genera un aumento importante de la expresión de otros genes que tiene papel fundamental activación de las CCS, como es el caso de *Sfrp2* (Levin *et al.*, 2001). En este sentido, el dato más llamativo es el relacionado con *Hmox1*, cuya sobreexpresión genera una mejora espectacular del fenotipo distrófico (Kawahara *et al.*, 2014) muy en consonancia con nuestros datos.

La conclusión final a la que llegamos con este trabajo es que la desregulación a la baja de los niveles de *miR106b* en el modelo murino distrófico produce una mejora histológica y funcional muy significativa de los ratones enfermos, abriendo la posibilidad de utilizar la molécula *anti-miR106b* como herramienta molecular en el tratamiento de la DMD en humanos. En este sentido hemos de destacar que nuestros resultados nos han permitido desarrollar una patente internacional (ver anexos) para utilizar este *anti-miR* como un método para promover la regeneración muscular, no solo en la patología distrófica, si no en procesos como la caquexia y la pérdida muscular relacionada con el envejecimiento. Este último punto se postula como un ítem fundamental en los próximos años a tenor de los cambios demográficos que están teniendo lugar en los países desarrollados, con especial incidencia en Europa, donde la población mayor está aumentando considerablemente.

8.- Fuentes de financiación

Este trabajo ha sido soportado económicamente por proyectos los BFU2012-38111, BFU2015-67131 (Ministerio de Economía y Competitividad, Gobierno de España), CTS-1614, P08-CTS-03878, BIO-302 (Junta de Andalucía), and AFM2012-16074 (AFM).

9.- Conclusiones.

1.- La disminución de la expresión del miR-106b es necesaria para que las CCS musculares se activen y adquieran un compromiso miogénico durante el proceso de regeneración muscular.

2.- Los músculos y las CCS del modelo murino distrófico presentan elevados niveles de expresión del miR106b.

3.- La desregulación a la baja de los niveles de miR106b en el las CCS del modelo murino distrófico promueve un aumento del número de precursores miogénicos comprometidos con el proceso regenerativo in vitro.

4.- La desregulación a la baja de los niveles de miR106b en los músculos del modelo murino distrófico promueve un aumento en la expresión de Myf5 y del resto de factores de transcripción de la familia de los Mrfs, un aumento del número de precursores miogénicos con capacidad regenerativa y una mejora en la histopatología distrófica in vivo

5.- La desregulación a la baja de los niveles de miR106b en el modelo murino distrófico potencia, de manera paralela, las rutas moleculares implicadas en el proceso de regeneración muscular canónico, contribuyendo de manera positiva en la mejora de la patología distrófica.

6.-La desregulación a la baja de los niveles de miR106b en el modelo murino distrófico finalmente produce una mejora funcional significativa de los ratones enfermos, abriendo la posibilidad de utilizar la molécula anti-miR106b como herramienta molecular en el tratamiento de la DMD en humanos.

10.- Bibliografía.

- Beauchamp, J. R., Heslop, L., Yu, D. S., Tajbakhsh, S., Kelly, R. G., Wernig, A., et al. (2000). Expression of CD34 and Myf5 defines the majority of quiescent adult skeletal muscle satellite cells. *J. Cell Biol.* 151, 1221–1234.
- Benchouir, R., Meregalli, M., Farini, A., D'Antona, G., Belicchi, M., Goyenvall, A., et al. (2007). Restoration of human dystrophin following transplantation of exon-skipping-engineered DMD patient stem cells into dystrophic mice. *Cell Stem Cell* 1, 646–657.
- Bentzinger, C. F., Wang, Y. X., Dumont, N. A., and Rudnicki, M. A. (2013). Cellular dynamics in the muscle satellite cell niche. *EMBO Rep.* 14, 1062–1072.
- Blat, Y., and Blat, S. (2015). Drug Discovery of Therapies for Duchenne Muscular Dystrophy. *J. Biomol. Screen.* 20, 1189–1203.
- Blau, H. M., Webster, C., and Pavlath, G. K. (1983). Defective myoblasts identified in Duchenne muscular dystrophy. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 80, 4856–4860.
- Boldrin, L., Zammit, P. S., and Morgan, J. E. (2015). Satellite cells from dystrophic muscle retain regenerative capacity. *Stem Cell Res.* 14, 20–29.
- Bulfield, G., Siller, W. G., Wight, P. A., and Moore, K. J. (1984). X chromosome-linked muscular dystrophy (mdx) in the mouse. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 81, 1189–1192.
- Campbell, K. P., and Kahl, S. D. (1989). Association of dystrophin and an integral membrane glycoprotein. *Nature* 338, 259–262.
- Chang, N. C., Chevalier, F. P., and Rudnicki, M. A. (2016). Satellite Cells in Muscular Dystrophy - Lost in Polarity. *Trends Mol. Med.* 22, 479–496.
- Cornelison, D. D., and Wold, B. J. (1997). Single-cell analysis of regulatory gene expression in quiescent and activated mouse skeletal muscle satellite cells. *Dev. Biol.* 191, 270–283.
- Crist, C. G., Montarras, D., and Buckingham, M. (2012). Muscle satellite cells are primed for myogenesis but maintain quiescence with sequestration of Myf5 mRNA targeted by microRNA-31 in mRNP granules. *Cell Stem Cell* 11, 118–126.
- Daniel Vallejo, Francisco Hernández-Torres, Estefanía Lozano-Velasco, Lara Rodríguez-Outeiriño, Alejandra Carvajal, Carlota Creus, Diego Franco and Amelia Eva Aránega (2018). Pitx2 enhances the regenerative potential of dystrophic skeletal muscle stem cells. *Stem Cell Reports*.
- Davies, K. E., Pearson, P. L., Harper, P. S., Murray, J. M., O'Brien, T., Sarfarazi, M., et al. (1983). Linkage analysis of two cloned DNA sequences flanking the Duchenne muscular dystrophy locus on the short arm of the human X chromosome. *Nucleic Acids Res.* 11, 2303–2312.
- Dumont, N. A., Wang, Y. X., and Rudnicki, M. A. (2015a). Intrinsic and extrinsic mechanisms regulating satellite cell function. *Development* 142, 1572–1581.

- Dumont, N. A., Wang, Y. X., von Maltzahn, J., Pasut, A., Bentzinger, C. F., Brun, C. E., et al. (2015b). Dystrophin expression in muscle stem cells regulates their polarity and asymmetric division. *Nat. Med.* 21, 1455–1463.
- Emery, A. E. (1991). Population frequencies of inherited neuromuscular diseases--a world survey. *Neuromuscul. Disord.* 1, 19–29.
- Ervasti, J. M., Ohlendieck, K., Kahl, S. D., Gaver, M. G., and Campbell, K. P. (1990). Deficiency of a glycoprotein component of the dystrophin complex in dystrophic muscle. *Nature* 345, 315.
- Fairclough, R. J., Wood, M. J., and Davies, K. E. (2013). Therapy for Duchenne muscular dystrophy: renewed optimism from genetic approaches. *Nat. Rev. Genet.* 14, 373.
- Flück, M., Mund, S. I., Schittny, J. C., Klossner, S., Durieux, A.-C., and Giraud, M.-N. (2008). Mechano-regulated tenascin-C orchestrates muscle repair. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 105, 13662–13667.
- Ge, Y., and Chen, J. (2011). MicroRNAs in skeletal myogenesis. *Cell Cycle* 10, 441–448.
- Hernandez-Torres, F., Rodríguez-Outeiriño, L., Franco, D., and Aranega, A. E. (2017). Pitx2 in Embryonic and Adult Myogenesis. *Front Cell Dev Biol* 5, 46.
- Hoffman, E. P., Brown, R. H., Jr, and Kunkel, L. M. (1987). Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus. *Cell* 51, 919–928.
- Janssen, I., Heymsfield, S. B., Wang, Z. M., and Ross, R. (2000). Skeletal muscle mass and distribution in 468 men and women aged 18–88 yr. *J. Appl. Physiol.* 89, 81–88.
- Jiang, C., Wen, Y., Kuroda, K., Hannon, K., Rudnicki, M. A., and Kuang, S. (2014). Notch signaling deficiency underlies age-dependent depletion of satellite cells in muscular dystrophy. *Dis. Model. Mech.* 7, 997–1004.
- Jonas, S., and Izaurralde, E. (2015). Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat. Rev. Genet.* 16, 421–433.
- Kasper, C. E. (2011a). Skeletal Muscle and Genetics. *Annu. Rev. Nurs. Res.* 29, 191–203.
- Kasper, C. E. (2011b). Skeletal Muscle and Genetics. *Annu. Rev. Nurs. Res.* 29, 191–203.
- Kawahara, G., Gasperini, M. J., Myers, J. A., Widrick, J. J., Eran, A., Serafini, P. R., et al. (2014). Dystrophic muscle improvement in zebrafish via increased heme oxygenase signaling. *Hum. Mol. Genet.* 23, 1869–1878.
- Kharraz, Y., Guerra, J., Pessina, P., Serrano, A. L., and Muñoz-Cánoves, P. (2014). Understanding the Process of Fibrosis in Duchenne Muscular Dystrophy. *Biomed Res. Int.* 2014. doi:10.1155/2014/965631.
- Kottlors, M., and Kirschner, J. (2010). Elevated satellite cell number in Duchenne muscular dystrophy. *Cell Tissue Res.* 340, 541–548.
- Landfeldt, E., Lindgren, P., Bell, C. F., Schmitt, C., Guglieri, M., Straub, V., et al. (2014). The burden of Duchenne muscular dystrophy: an international, cross-sectional study.

Neurology 83, 529–536.

- Laumonier, T., Bermont, F., Hoffmeyer, P., Kindler, V., and Menetrey, J. (2017). Human myogenic reserve cells are quiescent stem cells that contribute to muscle regeneration after intramuscular transplantation in immunodeficient mice. *Sci. Rep.* 7, 3462.
- Levin, J. M., El Andalousi, R. A., Dainat, J., Reyne, Y., and Bacou, F. (2001). SFRP2 expression in rabbit myogenic progenitor cells and in adult skeletal muscles. *J. Muscle Res. Cell Motil.* 22, 361–369.
- Lozano-Velasco, E., Vallejo, D., Esteban, F. J., Doherty, C., Hernández-Torres, F., Franco, D., et al. (2015). A Pitx2-MicroRNA Pathway Modulates Cell Proliferation in Myoblasts and Skeletal-Muscle Satellite Cells and Promotes Their Commitment to a Myogenic Cell Fate. *Mol. Cell. Biol.* 35, 2892–2909.
- Mauro, A. (1961). Satellite cell of skeletal muscle fibers. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 9, 493–495.
- Pasut, A., Jones, A. E., and Rudnicki, M. A. (2013). Isolation and culture of individual myofibers and their satellite cells from adult skeletal muscle. *J. Vis. Exp.*, e50074.
- Perbellini, R., Greco, S., Sarra-Ferraris, G., Cardani, R., Capogrossi, M. C., Meola, G., et al. (2011). Dysregulation and cellular mislocalization of specific miRNAs in myotonic dystrophy type 1. *Neuromuscul. Disord.* 21, 81–88.
- Petrof, B. J., Shrager, J. B., Stedman, H. H., Kelly, A. M., and Sweeney, H. L. (1993). Dystrophin protects the sarcolemma from stresses developed during muscle contraction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 90, 3710–3714.
- Rodgers, J. T., King, K. Y., Brett, J. O., Cromie, M. J., Charville, G. W., Maguire, K. K., et al. (2014). mTORC1 controls the adaptive transition of quiescent stem cells from G0 to G(Alert). *Nature* 510, 393–396.
- Rodgers, J. T., Schroeder, M. D., Ma, C., and Rando, T. A. (2017). HGFA Is an Injury-Regulated Systemic Factor that Induces the Transition of Stem Cells into GAlert. *Cell Rep.* 19, 479–486.
- Ryan, B. M., Robles, A. I., and Harris, C. C. (2010). Genetic variation in microRNA networks: the implications for cancer research. *Nat. Rev. Cancer* 10, 389–402.
- Sacco, A., Mourkioti, F., Tran, R., Choi, J., Llewellyn, M., Kraft, P., et al. (2010). Short telomeres and stem cell exhaustion model Duchenne muscular dystrophy in mdx/mTR mice. *Cell* 143, 1059–1071.
- Sato, T., Yamamoto, T., and Sehara-Fujisawa, A. (2014). miR-195/497 induce postnatal quiescence of skeletal muscle stem cells. *Nat. Commun.* 5, 4597.
- Schultz, E., Gibson, M. C., and Champion, T. (1978). Satellite cells are mitotically quiescent in mature mouse muscle: an EM and radioautographic study. *J. Exp. Zool.* 206, 451–456.
- Shan, T., Zhang, P., Liang, X., Bi, P., Yue, F., and Kuang, S. (2014). Lkb1 is indispensable for skeletal muscle development, regeneration, and satellite cell homeostasis. *Stem*

Cells 32, 2893–2907.

Sidney, L. E., Branch, M. J., Dunphy, S. E., Dua, H. S., and Hopkinson, A. (2014). Concise review: evidence for CD34 as a common marker for diverse progenitors. *Stem Cells* 32, 1380–1389.

Slenter, D. N., Kutmon, M., Hanspers, K., Riutta, A., Windsor, J., Nunes, N., et al. (2018). WikiPathways: a multifaceted pathway database bridging metabolomics to other omics research. *Nucleic Acids Res.* 46, D661–D667.

Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., et al. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol.* 3, RESEARCH0034.

Wang, Y. X., and Rudnicki, M. A. (2011). Satellite cells, the engines of muscle repair. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 13, 127–133.

Yamashita, Y. M. (2010). Cell adhesion in regulation of asymmetric stem cell division. *Curr. Opin. Cell Biol.* 22, 605–610.

Yin, H., Price, F., and Rudnicki, M. A. (2013). Satellite cells and the muscle stem cell niche. *Physiol. Rev.* 93, 23–67.

Yoon, M.-S. (2017). mTOR as a Key Regulator in Maintaining Skeletal Muscle Mass. *Front. Physiol.* 8, 788.

Zhang, P., Liang, X., Shan, T., Jiang, Q., Deng, C., Zheng, R., et al. (2015a). mTOR is necessary for proper satellite cell activity and skeletal muscle regeneration. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 463, 102–108.

Zhang, W. W., Tong, H. L., Sun, X. F., Hu, Q., Yang, Y., Li, S. F., et al. (2015b). Identification of miR-2400 gene as a novel regulator in skeletal muscle satellite cells proliferation by targeting MYOG gene. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 463, 624–631.

11.- Anexos

ensembl_id	mgi_id	symbol	CD3_FPKM	AD3_FPKM	log2(FC)	test_stat	p_value	q_value	description	significant
ENSMUSG000000060180	MGI:1339967	Myh13	207.501	438.906	-224.113	-939.401	5,000E-05	357.458	myosin, heavy polypeptide 13, skeletal muscle [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1339967]	yes
ENSMUSG000000044951	MGI:3643758	Mylk4	112.52	366.708	-161.747	-763.131	5,000E-05	357.458	myosin light chain kinase family, member 4 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:3643758]	yes
ENSMUSG000000046345	MGI:1916826	Smco1	246.285	103.448	-125.143	-705.974	5,000E-05	357.458	single-pass membrane protein with coiled-coil domains 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1916826]	yes
ENSMUSG000000030554	MGI:2661187	Synm	61.96	273.583	-117.936	-729.531	5,000E-05	357.458	synemin, intermediate filament protein [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2661187]	yes
ENSMUSG000000035606	MGI:96709	Ky	227.186	100.625	-117.489	-720.432	5,000E-05	357.458	kyphoscoliosis peptidase [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:96709]	yes
ENSMUSG000000009633	MGI:1316737	G0s2	458.849	204.278	-116.749	-445.963	5,000E-05	357.458	G0/G1 switch gene 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1316737]	yes
ENSMUSG000000050821	MGI:1925658	Fam131a	26.719	120.879	-114.431	-52.325	5,000E-05	357.458	family with sequence similarity 131, member A [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1925658]	yes
ENSMUSG000000046480	MGI:2687406	Scn4b	560.994	258.505	-111.779	-69.256	5,000E-05	357.458	sodium channel, type IV, beta [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2687406]	yes
ENSMUSG000000034055	MGI:97576	Phka1	674.715	311.822	-111.356	-692.515	5,000E-05	357.458	phosphorylase kinase alpha 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:97576]	yes
ENSMUSG000000065037	MGI:103186	Rn7sk	359.814	168.867	-109.136	-338.669	5,000E-05	357.458	RNA, 7SK, nuclear [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:103186]	yes
ENSMUSG000000005716	MGI:97821	Pvalb	12120.4	5716.03	-108.435	-467.068	5,000E-05	357.458	parvalbumin [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:97821]	yes
ENSMUSG000000074218	MGI:1316714	Cox7a1	1614.68	769.638	-106.899	-663.429	5,000E-05	357.458	cytochrome c oxidase subunit VIIa 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1316714]	yes
ENSMUSG000000038204	MGI:2152836	Asb10	211.291	100.714	-106.897	-618.728	5,000E-05	357.458	ankyrin repeat and SOCS box-containing 10 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2152836]	yes
ENSMUSG000000048416	MGI:1341819	Mlf1	154.637	738.262	-106.668	-663.898	5,000E-05	357.458	myeloid leukemia factor 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1341819]	yes
ENSMUSG000000042717	MGI:2153588	Ppp1r3a	272.612	130.969	-105.763	-663.494	5,000E-05	357.458	protein phosphatase 1, regulatory (inhibitor) subunit 3A [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2153588]	yes
ENSMUSG000000002228	MGI:1919137	Ppm1j	386.262	188.543	-103.469	-35.407	5,000E-05	357.458	protein phosphatase 1J [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1919137]	yes
ENSMUSG000000021622	MGI:1923972	Ckmt2	649.669	318.934	-102.645	-612.901	5,000E-05	357.458	creatine kinase, mitochondrial 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1923972]	yes
ENSMUSG000000061100	MGI:1888504	Retnla	334.686	165.102	-101.945	-500.919	5,000E-05	357.458	resistin like alpha [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1888504]	yes
ENSMUSG000000038201	MGI:96664	Kcna7	421.345	208.473	-101.514	-627.318	5,000E-05	357.458	potassium voltage-gated channel, shaker-related subfamily, member 7 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:96664]	yes
ENSMUSG000000079278	MGI:3651514	Tmem233	471.499	233.979	-101.088	-623.031	5,000E-05	357.458	transmembrane protein 233 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:3651514]	yes
ENSMUSG000000024924	MGI:98935	Vldlr	215.928	107.858	-100.142	-515.948	5,000E-05	357.458	very low density lipoprotein receptor [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:98935]	yes
ENSMUSG000000002500	MGI:1913461	Rpl3l	269.607	134.713	-100.097	-616.627	5,000E-05	357.458	ribosomal protein L3-like [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1913461]	yes
ENSMUSG000000025537	MGI:97579	Phkg1	127.379	577.515	-11.412	-385.817	5,000E-05	357.458	phosphorylase kinase gamma 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:97579]	yes
ENSMUSG000000004939	MGI:1916814	Nmrk2	143.552	713.491	-10.086	-517.336	5,000E-05	357.458	nicotinamide riboside kinase 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1916814]	yes
ENSMUSG000000099322	MGI:5531399	Gm28017	0	240.198	10	NA	1,450E-03	6.979	predicted gene, 28017 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:5531399]	yes
ENSMUSG000000022584	MGI:3712069	Ly6c2	177.112	363.552	10.375	540.648	5,000E-05	357.458	lymphocyte antigen 6 complex, locus C2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:3712069]	yes
ENSMUSG000000091898	MGI:98779	Tnnc1	222.218	450.44	101.936	387.689	5,000E-05	357.458	troponin C, cardiac/slow skeletal [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:98779]	yes
ENSMUSG000000040699	MGI:1915053	Limd2	132.216	270.791	103.428	477.314	5,000E-05	357.458	LIM domain containing 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1915053]	yes
ENSMUSG000000042286	MGI:2178742	Stab1	101.216	208.849	104.503	301.556	5,000E-05	357.458	stabilin 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2178742]	yes
ENSMUSG000000042436	MGI:1342276	Mfap4	351.528	728.783	105.185	562.508	5,000E-05	357.458	microfibrillar-associated protein 4 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1342276]	yes
ENSMUSG000000005413	MGI:96163	Hmox1	338.952	713.728	107.429	659.915	5,000E-05	357.458	heme oxygenase 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:96163]	yes
ENSMUSG000000028364	MGI:101922	Tnc	127.338	27.116	109.049	675.544	5,000E-05	357.458	tenascin C [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:101922]	yes
ENSMUSG000000059089	MGI:2179523	Fcgr4	180.527	384.949	109.246	631.632	5,000E-05	357.458	Fc receptor, IgG, low affinity IV [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2179523]	yes
ENSMUSG000000020186	MGI:1202907	Csrp2	347.822	751.193	111.083	663.377	5,000E-05	357.458	cysteine and glycine-rich protein 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1202907]	yes
ENSMUSG000000025498	MGI:1859212	Irf7	575.571	124.319	111.098	549.216	5,000E-05	357.458	interferon regulatory factor 7 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1859212]	yes
ENSMUSG000000034855	MGI:1352450	Cxcl10	160.371	347.673	111.631	183.976	4,150E-03	169.811	chemokine (C-X-C motif) ligand 10 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1352450]	yes
ENSMUSG000000029675	MGI:95317	Elcn	225.087	496.243	114.056	699.621	5,000E-05	357.458	elastin [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:95317]	yes
ENSMUSG000000024397	MGI:1343098	Aif1	626.646	139.222	115.166	618.858	5,000E-05	357.458	allograft inflammatory factor 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1343098]	yes
ENSMUSG000000035692	MGI:1855694	Isg15	442.663	988.102	115.845	692.439	5,000E-05	357.458	ISG15 ubiquitin-like modifier [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1855694]	yes
ENSMUSG000000071547	MGI:1917271	Nt5dc2	125.035	279.512	116.058	189.234	1,850E-03	859.649	5'-nucleotidase domain containing 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1917271]	yes
ENSMUSG000000042045	MGI:1913652	Sln	130.765	297.239	118.464	714.202	5,000E-05	357.458	sarcolipin [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1913652]	yes
ENSMUSG000000073412	MGI:1096324	Lst1	621.093	149.591	126.815	711.483	5,000E-05	357.458	leukocyte specific transcript 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:1096324]	yes
ENSMUSG000000096768	MGI:2384747	Erdr1	182.542	443.602	128.103	550.641	5,000E-05	357.458	erythroid differentiation regulator 1 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:2384747]	yes
ENSMUSG000000002992	MGI:88054	Apoc2	880.161	215.798	129.384	564.197	5,000E-05	357.458	apolipoprotein C-II [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:88054]	yes
ENSMUSG000000027996	MGI:108078	Sfrp2	125.151	378.504	159.664	857.978	5,000E-05	357.458	secreted frizzled-related protein 2 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:108078]	yes

ENSMUSG00000033777	MGI:3045213	Tlr13	714.104	228.347	167.702	116.108	5,000E-05	357.458	toll-like receptor 13 [Source:MGI Symbol;Acc:MGI:3045213]	yes
--------------------	-------------	-------	---------	---------	---------	---------	-----------	---------	---	-----

Tabla 1 de datos suplementarios. Genes diferencialmente expresados a día 3 entre ratones distróficos control y ratones tratados con el anti-miR106b

ANEXO VII

Resumen no técnico		
Título del Proyecto	MicroRNAs regulados por Pitx2 como nuevas herramientas genéticas en el control de la regeneración muscular en distrofias musculares.	
Duración del proyecto	3 años	
Palabras clave (max. 5)	Pitx2, miRNAs, regeneración muscular, distrofias musculares	
Finalidad del proyecto (Artículo 5)	Investigación básica	
	Investigación traslacional o aplicada	X
	Desarrollo y fabricación de prod. farmacéuticos, alimentos, piensos y otras sustancias o productos, así como la realización de pruebas para comprobar su calidad, eficacia y seguridad	
	Protección del medio natural en interés de la salud o el bienestar de los seres humanos o los animales	
	Investigación dirigida a la conservación de las especies	
	Enseñanza superior o formación para la adquisición o mejora de las aptitudes profesionales	
	Medicina legal y forense	
	Mantenimiento de colonias o animales genéticamente modificados, no utilizados en otros procedimientos	
Descripción de los objetivos (ej.: aclaración de cuestiones científicas o resolución de necesidades clínicas)	-Objetivo General (Hipótesis). <u>Analizar si la cascada molecular Pitx2-miRNAs aumenta la capacidad regenerativa de las células satélite de pacientes con distrofias musculares.</u> Objetivo específico 2.- Determinar el papel de esta cascada molecular (Pitx2-miRNAs) durante los procesos de regeneración muscular mediante experimentos de trasplante celular <i>in vivo</i> en ratón.	
¿Cuáles son los beneficios potenciales que se esperan de este proyecto? (avances científicos previstos o manera en que las personas/animales se pueden beneficiar del proyecto)	La posibilidad de modificar la capacidad regenerativa de las células propias del paciente y utilizarla como fuente de trasplante puede suponer un importante avance en el campo de la biología regenerativa. Así, la realización de este proyecto puede abrir nuevas perspectivas terapéuticas en el ámbito de las distrofias musculares y puede identificar nuevas herramientas moleculares de aplicación en regeneración muscular.	
¿Qué especies y nº aprox. se espera utilizar?	<i>Mus musculus. El numero aproximado será el necesario para mantener cruces hasat conseguir un n=10 de experimentos con el procedimiento tipo 2</i>	
Teniendo en cuenta lo que se va a hacer con los animales, ¿qué efectos adversos se esperan, qué grado de severidad es más probable y cuál será el destino de los	<i>No se esperan efectos adversos. El destino de los animales es el sacrificio. Una vez sacrificados su entragarán al personal técnico del CEPA de la UJA</i>	

animales?	<i>que prodecerán según protocolo</i>
Application de las 3R	
1. Reemplazo Explice porqué se necesita el uso de animales y porqué no se pueden utilizar métodos alternativos	No procede reemplazar este modelo animal ya que es el único modelo que permita realizar los experimentos de transplante que se describen en el objetivo 2
2. Reducción Explice cómo se asegura la utilización de un n° mínimo de animales.	Se mantendrán los cruces necesarios para conseguir un n= 10 en los que se realice con éxito la manipulación tipo 2.
3. Refinamiento Explice en función de qué se ha elegido el tipo de especies y porqué el modelo o modelos utilizado son los más adecuados en cuanto al Refinamiento, teniendo en cuenta los objetivos científicos. Explice también las medidas legales que se van a tomar para minimizar los daños al bienestar de los animales.	2.-Entrenamiento previo del personal que realizará el método

ANEXO III 31-05-13

SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PROYECTOS DE EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

Artículo 20.2 del Decreto 65/2012 de 13 de marzo por el que se regulan las condiciones de sanidad y zootécnicas de los animales. *Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.*

- ☐ COMUNICACIÓN DE PROYECTOS (Para Proyectos Tipo I) ⁽¹⁾
- ☐ PRORROGA DE LA VALIDEZ DE LA AUTORIZACIÓN DEL PROYECTO CON CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN Nº P08-CTS-03878
- ☐ CAMBIO DE CONDICIONES (QUE IMPLICA IMPACTO NEGATIVO EN EL BIENESTAR DE LOS ANIMALES) EN EL PROYECTO AUTORIZADO CON CÓDIGO DE IDENTIFICACIÓN Nº X
- X SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE PROYECTOS (para proyectos Tipo II y Tipo III)**

1.- DATOS DEL USUARIO QUE LLEVARÁ A CABO EL PROYECTO

Nombre o razón social: Universidad de Jaén	N.I.F.: Q7350006H
Domicilio: Campus Las Lagunillas s/n	Localidad: Jaén
C. postal: 23071	Provincia: Jaén
Teléfono: 953212597	Fax : 953211968
	e-mail: vicinv@ujaen.es

2.- DATOS DEL CENTRO USUARIO REGISTRADO O LUGAR GEOGRÁFICO DONDE SE LLEVARÁ A CABO EL PROYECTO

Nombre/Razón social: Centro de Producción y Experimentación Animal de la Universidad de Jaén	N.I.F.
Domicilio: Campus Las Lagunillas, Edif. A1	Localidad: Jaén
C. postal: 23071	Provincia: Jaén
Teléfono: 953213404	Fax : 953212691
	e-mail:
Código registro de la explotación: JA-IU	
Coordenadas UTM (Huso30)	Coordenada X: 413.390,43 m
	Coordenada Y: 4.182.634,90 m

3.- DATOS DE LA PERSONA RESPONSABLE DEL PROYECTO

Nombre y apellidos: Amelia Eva Aránega Jiménez	N.I.F. 24188005D
Domicilio: Campus Las Lagunillas, Edif. B3	Localidad: Jaén
C. postal: 23071	Provincia: Jaén
Teléfono: 953212604	Fax
	e-mail: aaaranega@ujaen.es

4.- DATOS DE LA PERSONA RESPONSABLE DEL CENTRO (2)

Nombre y apellidos: Esther del Pilar Martínez Lara	N.I.F.: 26212177C
Domicilio: Campus Las Lagunillas, Edif. A1	Localidad: Jaén
C. postal: 23071	Provincia: Jaén
Teléfono: 953213404	Fax: 953212691
	e-mail : elara@ujaen.es
Código registro de la explotación: JA-IU	
Coordenadas UTM (Huso30)	Coordenada X: 413.390,43 m
	Coordenada Y: 4.182.634,90 m

5.- DATOS DE IDENTIFICACIÓN OFICIAL DEL ÓRGANO HABILITADO PARA LA EVALUACIÓN DE LOS PROYECTOS

Nombre: Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Jaén	N.I.F./C.I.F.: Q7350006H
Domicilio: Campus Las Lagunillas s/n	Localidad: Jaén
C. postal: 23071	Provincia: Jaén
Teléfono: 953212597	Fax: 953211968
	e-mail: vicinv@ujaen.es

6.- DOCUMENTACIÓN QUE SE ADJUNTA

- ☐ X Certificado de categoría profesional C (del responsable del proyecto)
- ☐ Informe del Comité Ético de Experimentación Animal.
- ☐ Copia de la solicitud de evaluación del proyecto dirigida al órgano habilitado para su evaluación (La solicitud de evaluación del proyecto contendrá, al menos, la información o documentos que se relacionan en los apartados 4 al 14 del anexo X del R.D. 53/2013, de 1 de Febrero).
- ☐ Resultado de la evaluación del Órgano habilitado. (se puede incorporar al expediente después de presentada la solicitud y antes de los cuarenta días desde su registro).
- ☐ Resumen no técnico previsto en el artículo 36 del R. D. 53/2013, de 1 de Febrero, (solo para los proyectos tipo II y III)

X Anexo V (Corresponde al contenido del Anexo X del Real Decreto 53/2013 de 1 de febrero).

7. -CONSENTIMIENTO EXPRESO DEL DNI/NIE
X La personas abajo firmantes presta su CONSENTIMIENTO para la consulta de sus datos de identidad a través del Sistema de Verificación de Datos de Identidad.
☐ NO CONSIENTE y aporta fotocopia autenticada del DNI/NIE
SOLICITO:
Autorización del proyecto de experimentación (denominación del proyecto):
MicroRNAs regulados por Pitx2 como nuevas herramientas genéticas en el control de la regeneración muscular en distrofias musculares

(¹) Artículo 31.1, 32.1 y 33.1 del RD 53/2013 de 1 de febrero

(2) letra C apartado 4º del Art. 14 del RD 53/2013 de 1 de febrero

Declarando declaro bajo mi responsabilidad que todos los datos que figuran en esta solicitud son ciertos.

LA PERSONA RESPONSABLE DEL PROYECTO	VºBº DE LA PERSONA RESPONSABLE DEL CENTRO USUARIO (2)
Fdo: Amelia Eva Aránega Jiménez	Fdo: Esther del Pilar Martínez Lara

En Jaén a 23 de Julio de 2014

EL DIRECTOR/A DE LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y GANADERA

PROTECCIÓN DE DATOS
En cumplimiento de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, la Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente le informa que los datos personales obtenidos mediante la cumplimentación de este documento/impreso/formulario y demás que se adjuntan van a ser incorporados, para su tratamiento, en un fichero automatizado. Asimismo, se le informa que la recogida y tratamiento de dichos datos tienen como finalidad la gestión de la documentación De acuerdo con lo previsto en la citada Ley Orgánica, y conforme al procedimiento reglamentariamente establecido, puede ejercitar los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición dirigiendo un escrito a la D.G. de la Producción Agrícola Ganadera. Consejería de Agricultura, Pesca y Medio Ambiente. C/ Tabladilla, s/n. 41071. SEVILLA.

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y DESARROLLO RURAL
DIRECCIÓN GENERAL DE LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y GANADERA

PARTE B

INFORME COMPLEMENTARIO A LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DEL PROYECTO, ANEXO III (Artículo 33.1, referida al anexo X del RD 53/2013)

1. DENOMINACIÓN DEL PROYECTO
TÍTULO DEL PROYECTO MicroRNAs regulados por Pitx2 como nuevas herramientas genéticas en el control de la regeneración muscular en distrofias musculares.
DURACIÓN (Indicación en años y meses) 3 años

2. MEMORIA DESCRIPTIVA
DESCRIPCIÓN Y DESGLOSE DE LOS OBJETIVOS QUE SE PRETENDEN ALCANZAR: -Objetivo General (Hipótesis). <i>Analizar si la cascada molecular Pitx2-miRNAs aumenta la capacidad regenerativa de las células satélite de pacientes con distrofias musculares.</i> Objetivo específico 2.- Determinar el papel de esta cascada molecular (Pitx2-miRNAs) durante los procesos de regeneración muscular mediante experimentos de trasplante celular <i>in vivo</i> en ratón.

3.- DATOS DEL PERSONAL			
3.1 DATOS DEL INVESTIGADOR/A PRINCIPAL O RESPONSABLE			
NOMBRE Y APELLIDOS Amelia Eva Aránega Jiménez			
DEPARTAMENTO: Biología Experimental		CENTRO/FACULTAD: Facultad de Ciencias Experimentales	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN ERD.1201/2005/Fecha ACREDITACIÓN) C 21/07/2006			
DOMICILIO: Paraje las Lagunillas s/n		LOCALIDAD: Jaén	PROVINCIA: Jaén
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953212604	FAX:	CORREO ELECTRÓNICO: aaranega@ujaen.es
3.2 DATOS DEL EXPERIMENTADOR O EXPERIMENTADORES:			
NOMBRE Y APELLIDOS Francisco Hernández Torres			
DEPARTAMENTO: Biología Experimental		CENTRO/FACULTAD: Facultad de Ciencias Experimentales	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN ERD.1201/2005/Fecha ACREDITACIÓN) B 16/10/2008			
DOMICILIO: Paraje las Lagunillas s/n		LOCALIDAD: JaénJaén	PROVINCIA: Jaén
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953212022	FAX:	CORREO ELECTRÓNICO: fraheto@ujaen.es
NOMBRE Y APELLIDOS Daniel Vallejo Pulido			

DEPARTAMENTO: <u>Biología Experimental</u>		CENTRO/FACULTAD: <u>Facultad de Ciencias Experimentales</u>	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN ERD.1201/2005/FECHA ACREDITACIÓN) C. 22/06/2013			
DOMICILIO: Paraje las Lagunillas s/n		LOCALIDAD: JaénJaén	
PROVINCIA: Jaén			
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953212022	FAX:	CORREO ELECTRÓNICO: <u>dvallejopulido@gmail.com</u>
3.3 DATOS DEL CUIDADOR/A			
NOMBRE Y APELLIDOS: Nieves Escolano Fernández			
DEPARTAMENTO:		CENTRO/FACULTAD: Centro de Producción y Experimentación Animal	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN RD 1201/2005/FECHA ACREDITACIÓN): A y B - 16/10/08			
DOMICILIO: Campus Las Lagunillas, Edif. A1		LOCALIDAD: Jaén	
PROVINCIA: Jaén			
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953213406	FAX: 953212681	CORREO ELECTRÓNICO: mnescola@ujaen.es

NOMBRE Y APELLIDOS: Mª Josefa Gómez Sánchez			
DEPARTAMENTO:		CENTRO/FACULTAD: Centro de Producción y Experimentación Animal	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN RD 1201/2005/FECHA ACREDITACIÓN): A y B - 31/05/10 y 22/04/13			
DOMICILIO: Campus Las Lagunillas, Edif. A1		LOCALIDAD: Jaén	
PROVINCIA: Jaén			
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953213406	FAX: 953212681	CORREO ELECTRÓNICO: jgomez@ujaen.es

NOMBRE Y APELLIDOS: Josefa Jiménez Gila			
DEPARTAMENTO:		CENTRO/FACULTAD: Centro de Producción y Experimentación Animal	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN RD 1201/2005/FECHA ACREDITACIÓN): A y B - 30/03/10 y 17/11/09			
DOMICILIO: Campus Las Lagunillas, Edif. A1		LOCALIDAD: Jaén	
PROVINCIA: Jaén			
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953213406	FAX: 953212681	CORREO ELECTRÓNICO: jjgila@ujaen.es

NOMBRE Y APELLIDOS: Mª de la Luz Peinado Pérez			
DEPARTAMENTO:		CENTRO/FACULTAD: Centro de Producción y Experimentación Animal	
CATEGORÍA (S) (SEGÚN RD 1201/2005/FECHA ACREDITACIÓN): A, B y C - 16/10/08 y 02/11/10			
DOMICILIO: Campus Las Lagunillas, Edif. A1		LOCALIDAD: Jaén	
PROVINCIA: Jaén			
CÓD. POSTAL: 23071	TELÉFONO: 953213406	FAX: 953212681	CORREO ELECTRÓNICO: mpperez@ujaen.es

3.4 DATOS PERSONAL PARTICIPANTE EN EL PROYECTO SIN LA CAPACITACIÓN Y BAJO SUPERVISIÓN DE PERSONA COMPETENTE
NOMBRE Y APELLIDOS:
NOMBRE Y APELLIDOS DEL SUPERVISOR:
(Si aún no han demostrado su capacitación, y realizan funciones de las indicadas en las letras a), b) y c) del apartado 2 del Artículo 15, hay que indicar en su lugar qué persona con capacitación supervisa sus funciones.

4.- UTILIZACIÓN DE ANIMALES Y SU JUSTIFICACIÓN			
CENTRO/EMPRESA DE PROCEDENCIA DE LOS ANIMALES: Universidad Pompeu-Fabra			
NOMBRE DEL RESPONSABLE: Dra Purificación Muñoz-Canoves			
PERSONA DE CONTACTO: Juan Martín Caballero. Director del Servicio de Animalario. Parc Recerca Biomèdica Barcelona.			
DOMICILIO:	LOCALIDAD:	PROVINCIA:	
CÓD. POSTAL:	TELÉFONO:	FAX:	CORREO ELECTRÓNICO:
OBSERVACIONES:			
PROCEDENCIA ORIGEN: * España			
ESPECIE/S: Mus musculus	CEPA: * C57; SCID/Dmd ^{mdx}	GENOTIPO/S: * SCID/Dmd ^{mdx}	Nº: 30
FASE DE VIDA: ** Juvenil CEPA: *		EDAD:	SEXO: H x M X
* Indicar para cada una de especies y/o cepas utilizadas en el proyecto, el país de procedencia. ** Fase de vida (destete, juvenil, adulto, presenil, senil)			
4.1 Necesidad de autorización expresa de la autoridad competente para realizar el procedimiento experimental propuesto. Utilización de las especies incluídas en el anexo I del RD 53/2013 de 1 de febrero que no hayan nacido o sido criadas en centros oficialmente reconocidos:			
SI: NO: X	ESPECIE: Mus Musculus	PROVEEDOR DE LOS ANIMALES. Universidad Pompeu-Fabra	
4.2 Necesidad de autorización expresa de la autoridad competente para realizar el procedimiento experimental propuesto. Utilización de las especies incluídas en los artículos 20, 21, 22 y 23 del RD/2013 de 1 de febrero.			
SI: NO: X	ESPECIE:	PROVEEDOR DE LOS ANIMALES.	

5. PROCEDIMIENTOS Y SU JUSTIFICACIÓN (AnexoIX Sección II): Rellenar para cada uno de los procedimientos.

Tipos de manipulación o manejo: (Indicar vías de inocuación/administración/restricción, etc) 1.-Cruzamientos entre machos y hembras . 2.-Inyeccion intramuscular de células en músculo tibial anterior mediante aguja hipodémica	
Naturaleza del dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero (equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja conforme a las buenas prácticas veterinarias) causados por todos los elementos del procedimiento, así como su intensidad, duración, frecuencia y la multiplicidad de técnicas empleadas. La supervisión la realizará el personal técnico especializado del centro de experimentación animal de la Universidad de Jaén	
Sufrimiento acumulativo en el procedimiento: Nula.	
Impedimento de expresar el comportamiento natural, incluidas las restricciones en los estándares de alojamiento, zootécnicos y de cuidado de los animales. Nulo	
Indicar el protocolo de supervisión que se ha previsto para detectar este posible dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja conforme a las buenas prácticas veterinarias, asó como a la persona o personas encargadas de aplicarlo.	
La duración del procedimiento: (tiempo entre la primera y ultima utilización de cada animal) 1 mes Frecuencia de realización del procedimiento: (dentro del proyecto de investigación) 2 meses	
Fecha prevista de inicio del proyecto Enero-Febrero 2015	Fecha prevista de finalización del proyecto Enero 2018
Destino final de los animales (marcar con x y explicar los motivos) ☐ Mantenerlos vivos..... ☒ X Sacrificio.....	

6. APLICACIÓN DE METODOS ALTERNATIVOS. Son aquellos que no implican el empleo de animales, permiten reducir el número o comportan un menor grado de sufrimiento al animal.

Reemplazar ☐ X No existen técnicas alternativas al procedimiento(s) propuesto (s) ☐ Existen técnicas alternativas pero no está validada (s) ☐ Desconozco su existencia para el procedimiento(s) propuesto (s) ☐ Se han realizado las siguientes consultas (Páginas WEB sobre técnicas alternativas, bibliografía, etc).....
Reducir (Incluir estrategia experimental o modelos estadísticos para reducir al mínimo el número de animales utilizados). Se mantendrán los cruces necesarios para conseguir un n= 10 en los que se realice con éxito la manipulación tipo 2.
Refinar (Incluir cualquier método utilizado para evitar o reducir el dolor, la angustia o el sufrimiento, incluido métodos de enriquecimiento). 2.-Entrenamiento previo del personal que realizará el método.

7. USO DE ANESTÉSICOS, ANALGÉSICOS Y OTROS MEDIOS PARA ALIVIAR EL DOLOR	
Describir los métodos de analgesia, tranquilización, sedación y/o anestesia indicando para cada sustancia el principio activo genérico y los datos siguientes: No procede	
Producto (s) a suministrar	
Vía de administración	
Dosis, frecuencia y duración del tratamiento:	
Persona (s) encargada de supervisar su aplicación y eficacia:	
Titulación	Categoría
Especificar, si es el caso que no se aplica anestesia o analgesia porque se considera que su aplicación puede ser más traumática para el animal que el procedimiento experimental en sí: 	

8. MEDIDAS PARA REDUCIR, EVITAR Y ALIVIAR CUALQUIER FORMA DE SUFRIMIENTO DE LOS ANIMALES A LO LARGO DE TODA SU VIDA, CUANDO PROCEDA

No procede

9. USOS DE CRITERIO DE PUNTO FINAL

Dislocación cervical debido a su rapidez y mínima angustia para el animal

10. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL PARA REDUCIR EL IMPACTO AMBIENTAL, CUANDO PROCEDA No procede.**11. REUTILIZACIÓN DE ANIMALES Y SU EFECTO ACUMULADO SOBRE EL ANIMAL**

Solo son reutilizados ambos progenitores, de los cuales derivan todas las camadas estudiadas en esta investigación.

12. PROPUESTA DE CLASIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS EN FUNCION DE SU SEVERIDAD (Indicar cuantos procedimientos se incluyen en cada categoría)

	NUMERO	DESCRIPCIÓN
SIN RECUPERACIÓN		
LEVE	2	2.-Inyeccion intramuscular de células en músculo tibial anterior mediante aguja hipodémica njección en la pata trasera
MODERADO		
SEVERO		

13. MEDIDAS PARA EVITAR LA REPETICIÓN INJUSTIFICADA DE PROCEDIMIENTOS, EN SU CASO**CONDICIONES DE ALOJAMIENTO, ZOOTÉCNICAS Y DE CUIDADO DE LOS ANIMALES**
(Describir si son distintas de las especificadas en Anexo II del RD)

--

14. MÉTODOS DE EUTANASIA, Y SU CONFIRMACIÓN (Anexo III)

	TIPO	MOTIVO ELECCIÓN
Sobredosis anestésico		
Inhalación CO2 O N2		
Inhalación CO2 O O2		
Dislocación cervical	X	Debido a su rapidez, disminuyendo al mínimo el sufrimiento animal.

Otra eutanasia

15. SOLICITUD, DECLARACIÓN LUGAR, FECHA Y FIRMA

La persona abajo firmante declara

- ☐ X1. La utilización de los animales que contempla este procedimiento (s) es necesaria para obtener los resultados previstos
- ☐ X2. No existen alternativas válidas que permiten obtener estos resultados y que no impliquen la utilización del tipo de animales indicados.
- ☐ X3. El procedimiento (s) propuesto (s) es el que permite obtener resultados válidos utilizando el menor número posible de animales, empleando como modelo experimental el de menor grado de sensibilidad neurivegetativa y garantizando el menor dolor y sufrimiento posible de los animales utilizados.
- ☒ X 4. Conoce y cumplirá la legislación que regula uso de animales para investigación y otros fines científicos.

En.....Jaén.....a....23..de....Julio.....de 2014
LA PERSONA RESPONSABLE DEL PROYECTO

Fdo:Amelia Aránega Jiménez

.....

JUNTA DE ANDALUCÍA

CONSEJERÍA DE AGRICULTURA, PESCA Y MEDIO AMBIENTE
DIRECCIÓN GENERAL DE LA PRODUCCIÓN AGRÍCOLA Y GANADERA

ANEXO V 31-05-13

INFORMACIÓN QUE DEBE ADJUNTARSE A LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE LOS PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN CON ANIMALES (corresponde a la información requerida en el artículo 33.1 referida al anexo X del RD 53/2013)

1. DENOMINACIÓN DEL PROYECTO (Título del Proyecto)	
MicroRNAs regulados por Pitx2 como nuevas herramientas genéticas en el control de la regeneración muscular en distrofias musculares.	
2. DURACIÓN (Indicación en años y meses)	3 años

-Objetivo General (Hipótesis). *Analizar si la cascada molecular Pitx2-miRNAs aumenta la capacidad regenerativa de las células satélite de pacientes con distrofias musculares.*

Objetivo específico 2.- Determinar el papel de esta cascada molecular (Pitx2-miRNAs) durante los procesos de regeneración muscular mediante experimentos de trasplante celular *in vivo* en ratón.

4 DATOS DEL PERSONAL

4.1. Datos del Investigador/a Principal o Responsable:

Apellidos:	Aránega Jiménez	Nombre:	Amelia Eva
Categoría (s) (según RD 1201/2005)/Fecha acreditación		(C) 21/ 07 /2006	
Dpto.:	Biología Experimental	Centro/Facultad:	Ciencias Experimentales
Dirección:	Edificio B-3, 3ª Planta. Campus Las Lagunillas s/n. 23071 – Jaén		
Teléfono:	953212604	Fax.:	
		E-mail:	aaanega@ujaen.es

4.2 Datos del experimentador(s)/a (s):

Apellidos:	Hernández-Torres	Nombre:	Francisco
Categoría (s) (según RD 1201/2005)/Fecha acreditación		() / /	
Dpto.:	Biología Experimental	Centro/Facultad:	Ciencias Experimentales
Dirección:	Edificio B-3, 3ª Planta. Campus Las Lagunillas s/n. 23071 – Jaén		
Teléfono:	625351825	Fax.:	
		E-mail:	fraheto@ujaen.es

NOTA: adjuntar esta información para todos los experimentadores involucrados

4.3 Datos del cuidador(s)/ a(s):

Apellidos:	Francisco Hernandez Torres	Nombre:	Daniel
------------	-----------------------------------	---------	---------------

Categoría (s) (según RD 1201/2005)/Fecha acreditación		() / /			
Dpto.:	<u>Biología Experimental</u>	Centro/Facultad:	<u>Facultad de Ciencias Experimentales</u>		
Dirección:	Edificio B-3, 3ª Planta. Campus Las Lagunillas s/n. 23071 – Jaén				
Teléfono:	<u>953212022</u>	Fax.:		E-mail:	

NOTA: adjuntar esta información para todos los cuidadores involucrados

4.4 personal participante en el proyecto sin la capacitación y bajo supervisión de persona competente
(Si aún no han demostrado su capacitación, y realizan funciones de las indicadas en las letras a), b) y c) del apartado 2 del Artículo 15, hay que indicar en su lugar qué persona con capacitación supervisa sus funciones)

Apellidos:		Nombre:	
SUPERVISOR			
Apellidos:		Nombre:	

5. UTILIZACIÓN DE ANIMALES Y SU JUSTIFICACIÓN

Centro/Empresa de procedencia de los animales: Universidad Pompeu-Fabra			
Nombre del Responsable	Dra Purificación Muñoz-Canoves		
Observaciones			
Persona de contacto			
e-mail		Teléfono	

Procedencia* Origen	Universidad Pompeu-Fabra					
Especie (s)*	<i>Mus musculus</i>	cepa	C57; <i>SCID/Dmd^{mdx}</i>	Genotipo(s) <i>SCID/Dmd^{mdx}</i>	N	Heterocigotos
Fase de vida**	Juvenil	Edad	--	sexo	M // H	

* Indicar para cada una de especies y/o cepas utilizadas en el proyecto, el país de procedencia.

** Fase de vida (destete, juvenil, adulto, presenil, senil ¿?)

5.1 Necesidad de autorización expresa de la autoridad competente para realizar el procedimiento experimental propuesto

SI	
NO	X

Especie <i>Mus musculus</i> Proveedor de los animales: Universidad Pompeu y Fabra
--

Utilización de las especies incluidas en el anexo I del RD 53/2013 de 1 de febrero que no hayan nacido o sido criadas en centros oficialmente reconocidos:

SI	
NO	

Especie Proveedor de los animales:

Utilización de las especies incluidas en los artículos 20,21,22 y 23 del RD 53/2013 de 1 de febrero

5.2 Métodos alternativos.

Son aquellos que no implican el empleo de animales, permiten reducir el número o comportan un menor grado de sufrimiento al animal. Motivos de no aplicar un método alternativo al procedimiento propuesto:

No existen técnicas alternativas al procedimiento(s) propuesto(s)	X
Existen técnicas alternativas pero no está validada (s)	
Desconozco su existencia para el procedimiento(s) propuesto(s)	
Otros motivos	
Especificar detalladamente:	

6.PROCEDIMIENTOS Y SU JUSTIFICACIÓN (Anexo IX Sección II)

Tipos de manipulación o manejo (*indicar vías de inoculación/administración/restricción, etc*)

Leve.

Naturaleza del dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero (equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja conforme a las buenas prácticas veterinarias) causados por todos los elementos del procedimiento, así como su intensidad, duración, frecuencia y la multiplicidad de técnicas empleadas

Nula.

Sufrimiento acumulativo en el procedimiento

Nula.

Impedimento de expresar el comportamiento natural, incluidas las restricciones en los estándares de alojamiento, zootécnicos y de cuidado de los animales

Nula.

Indicar el protocolo de supervisión que se ha previsto para detectar este posible dolor, sufrimiento, angustia o daño duradero equivalente o superior al causado por la introducción de una aguja conforme a las buenas prácticas veterinarias, así como la persona o personas encargadas de aplicarlo.

la duración del procedimiento (tiempo entre la primera y última utilización de cada animal)	No procede
frecuencia de realización del procedimiento (dentro del proyecto de investigación)	No procede

Fecha prevista de inicio del proyecto	Enero de 2015
---------------------------------------	---------------

Fecha prevista de finalización del proyecto	Enero 2018
---	------------

Destino final de los animales (marcar con x y explicar los motivos)

Mantenerlos vivos		
Sacrificio	X	La extracción de muestras requieren el sacrificio del animal.

7. APLICACION DE METODOS PARA REEMPLAZAR, REDUCIR Y REFINAR EL USO DE ANIMALES EN PROCEDIMIENTOS

Reemplazar	No procede reemplazar este modelo animal
Reducir	Revisión de conclusiones en estudios ya realizados.
Refinar	Evitar el sufrimiento del animal en la manipulación.

8. USO DE ANESTESICOS, ANALGÉSICOS Y OTROS MEDIOS PARA ALIVIAR EL DOLOR

Describir los métodos de analgesia, tranquilización, sedación y/o anestesia indicando para cada sustancia el principio activo o nombre genérico y los datos siguientes

Producto(s) a suministrar:	No procede.
Vía de administración:	--
Dosis, frecuencia y duración del tratamiento:	--
Persona(s) encargada de supervisar su aplicación y eficacia: (titulación y categoría)	--

Especificar, si es el caso, que no se aplica anestesia o analgesia porque se considera que su aplicación puede **ser más traumática** para el animal que el procedimiento experimental en sí:

--

9. MEDIDAS PARA REDUCIR, EVITAR Y ALIVIAR CUALQUIER FORMA DE SUFRIMIENTO DE LOS ANIMALES A LO LARGO DE TODA SU VIDA, CUANDO PROCEDA

No procede.

10. USO DE CRITERIOS DE PUNTO FINAL

Dislocación cervical debido a su rapidez y mínima angustia para el animal.

11. ESTRATEGIA EXPERIMENTAL O DE OBSERVACIÓN Y MODELO ESTADÍSTICO PARA REDUCIR AL MÍNIMO EL NÚMERO DE ANIMALES UTILIZADOS, EL DOLOR, SUFRIMIENTO, ANGUSTIA Y EL IMPACTO AMBIENTAL, CUANDO PROCEDA

No procede.

12 REUTILIZACIÓN DE ANIMALES Y SU EFECTO ACUMULATIVO SOBRE EL ANIMAL. Si se reutiliza el animal, indicar la severidad real de los procedimientos anteriores.

Solo son reutilizados ambos progenitores, de los cuales derivan todas las camadas estudiadas en esta investigación.

13. PROPUESTA DE CLASIFICACIÓN DE LOS PROCEDIMIENTOS EN FUNCIÓN DE SU SEVERIDAD (Indicar cuantos procedimientos se incluyen en cada categoría)

	Número	DESCRIPCIÓN
SIN RECUPERACIÓN		
LEVE		
MODERADO		
SEVERO		

14. MEDIDAS PARA EVITAR LA REPETICIÓN INJUSTIFICADA DE PROCEDIMIENTOS, EN SU CASO

--

15. CONDICIONES DE ALOJAMIENTO, ZOOTÉCNICAS Y DE CUIDADO DE LOS ANIMALES (Describir si son distintas de las especificadas en Anexo II)

Según las especificadas en Anexo II

16. MÉTODOS DE EUTANASIA, Y SU CONFIRMACIÓN (Anexo III)

--

Indicar el método(s) eutanásico aplicado y motivo de su elección

	TIPO	MOTIVO ELECCIÓN
Sobredosis anestésico		
Inhalación CO ₂ o N ₂		
Inhalación CO ₂ + O ₂		
Dislocación cervical	X	Debido a su rapidez, disminuyendo al mínimo el sufrimiento animal.
Decapitación		
Otra eutanasia		

Indicar la persona(s) encargada de esta función (titulación y Categoría)

Técnico del animalario

1. La utilización de los animales que contempla este procedimiento (s) es necesaria para obtener los resultados previstos.
2. No existen alternativas válidas que permiten obtener estos resultados y que no impliquen la utilización del tipo de animales indicados.
3. El procedimiento (s) propuesto (s) es el que permite obtener resultados válidos utilizando el menor número posible de animales, empleando como modelo experimental el de menor grado de sensibilidad neurovegetativa y garantizando el menor dolor y sufrimiento posible de los animales utilizados.
4. Conoce y cumplirá la legislación que regula uso de animales para investigación y otros fines científicos.

LA PERSONA RESPONSABLE DEL PROYECTO

Fdo.: Amelia Eva Aránega Jimenez

En Jaén a 23 de Julio de 2014

Questions about this communication ?
Contact Customer Services at www.epo.org/contact



HERNÁNDEZ TORRES, Francisco
Universidad de Jaén
Campus las Lagunillas s/n
23006 Jaén
ESPAGNE

Date

22.12.17

Reference	Application No./Patent No. 16735897.7 - 1401
Applicant/Proprietor Universidad De Jaen	

Notification of the data mentioned in Rule 19(3) EPC

In the above-identified patent application you are designated as inventor/co-inventor.
Pursuant to Rule 19(3) EPC the following data are notified herewith:

DATE OF FILING : 12.05.16
PRIORITY : ES/12.05.15/ ESA 201530645
TITLE : METHOD FOR PROMOTING MUSCLE REGENERATION
DESIGNATED STATES : AL AT BE BG CH CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HR HU IE
IS IT LI LT LU LV MC MK MT NL NO PL PT RO RS SE SI SK SM
TR

For the Examining Division





Francisco Hernández Torres

Generado desde: Editor CVN de FECYT

Fecha del documento: 16/03/2018

v 1.4.0

f01d23003103887fc119e75b366c2188

Este fichero electrónico (PDF) contiene incrustada la tecnología CVN (CVN-XML). La tecnología CVN de este fichero permite exportar e importar los datos curriculares desde y hacia cualquier base de datos compatible. Listado de Bases de Datos adaptadas disponible en <http://cvn.fecyt.es/>

Resumen libre del currículum

Descripción breve de la trayectoria científica, los principales logros científico-técnicos obtenidos, los intereses y objetivos científico-técnicos a medio/largo plazo de la línea de investigación. Incluye también otros aspectos o peculiaridades importantes.

Licenciado en Biología por la Universidad de Jaén en el año 2002. Obtuve mi primera beca de colaboración con Departamentos de la UJA en el año 2000, antes de acabar la Licenciatura. Posteriormente obtuve una beca FPU del MEC que me permitió incorporarme al grupo de investigación “Miogénesis Cardíaca y Esquelética: Regeneración Muscular” CTS-446 bajo la dirección de los Doctores Amelia Eva Aránega Jiménez y Francisco Navarro Gómez en la UJA. Durante mi Tesis doctoral realicé una estancia en la Universidad de California, en San Diego-USA. Defendí mi Tesis Doctoral en julio de 2007, obteniendo una calificación de Sobresaliente “Cum Laude”. Posteriormente me incorporé en el Grupo de Genómica Funcional dirigido por la Dr. Begoña Aguado Orea en el CBMSO (CSIC-UAM), en Madrid, donde permanecí hasta el año abril del 2010. En mayo del mismo año, me reincorporé en mi grupo de origen en la UJA bajo la supervisión del Dr. Diego Franco Jaime mediante un contrato postdoctoral hasta noviembre del año 2011. En febrero del año 2012, y mediante convocatoria pública, conseguí una ayuda del Programa de incorporación de Personal Investigador Doctor a los Proyectos de Investigación de Excelencia en Equipos de Investigación de las Universidades y Organismos de Investigación Andaluces que me permitió seguir mi formación post-doctoral hasta enero del 2014. Meses después volvía a conseguir la misma ayuda en una nueva convocatoria, esta vez bajo la supervisión de la Dra. Amelia Eva Aránega Jiménez. Durante la ejecución de este proyecto realicé una estancia en el la Fundación MEDINA Centro de Excelencia en Investigación de Medicamentos Innovadores en Andalucía. Actualmente me encuentro participando como investigador postdoctoral en un proyecto financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad bajo la supervisión de los Dres. Amelia Eva Aránega Jiménez y Diego Franco. A excepción de mis dos primeros años, en los que realicé mi trabajo dentro de áreas de bioquímica y genética de levaduras, la inmensa mayoría de mi carrera investigadora ha seguido un perfil relacionado con el análisis de las rutas moleculares implicadas en el origen y formación del músculo cardíaco y esquelético durante el desarrollo, así como en patologías musculares y procesos de regeneración muscular. He participado en 11 proyectos de I+D+i financiados en convocatorias competitivas de Administraciones o entidades públicas y privadas, tanto a nivel nacional como internacional. He sido autor de 53 trabajos presentados en congresos nacionales e internacionales, 1 capítulo de libro, 20 artículos en revistas científicas [18 de ellos indexados vía WOS (JCR) o SCOPUS (SJR)] y he participado en el desarrollo de dos patentes.

Soy revisor de BioMed Central Editorial y PLOS ONE, pertenezco al comité para la gestión de convocatorias de investigación del Sistema Sanitario Público de la Junta de Andalucía y formo parte de sociedades científicas como la Sociedad Española de Biología del Desarrollo. En cuanto al aspecto docente, he sido co-director de un Proyecto Final de Carrera en el Grado de Biología en el año 2014, de una Memoria De Investigación Tutelada para optar al Título De Estudios Avanzados en 2007 y co-director de dos Trabajo Fin De Master defendidos en 2012 y 2015. Además, puedo demostrar una actividad docente desde el año 2004 hasta la fecha de hoy, desarrollada en la Universidad de Jaén, la Universidad Autónoma de Madrid y la Universidad de Granada



Indicadores generales de calidad de la producción científica

Descripción breve de los principales indicadores de calidad de la producción científica (sexenios de investigación, tesis doctorales dirigidas, citas totales, publicaciones en primer cuartil (Q1), índice h....). Incluye también otros aspectos o peculiaridades importantes.

Publications in the first quartile 10

Sum of the Times Cited :142

Sum of Times Cited without self-citations :127

Citing Articles :128

Citing Articles without self-citations :119

Average Citations per Item :7.47

h-index :7

Francisco Hernández Torres

Apellidos: **Hernández Torres**
Nombre: **Francisco**
DNI: **75070032x**
ORCID: **orcid.org/0000-0003-1343-8274**
Fecha de nacimiento: **08/03/1978**
Sexo: **Hombre**
Nacionalidad: **España**
País de nacimiento: **España**
C. Autón./Reg. de nacimiento: **Andalucía**
Provincia de contacto: **Granada**
Ciudad de nacimiento: **Jaén**
Dirección de contacto: **Federica Montseny nº18**
Código postal: **18100**
País de contacto: **España**
C. Autón./Reg. de contacto: **Andalucía**
Ciudad de contacto: **Armillá**
Teléfono fijo: **(+34) 953 212022**
Correo electrónico: **fraheto@ujaen.es**
Teléfono móvil: **637833585**

Situación profesional actual

Entidad empleadora: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Departamento: Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales
Categoría profesional: Investigador Postdoctoral
Fecha de inicio: 01/01/2017
Modalidad de contrato: Contrato laboral temporal **Régimen de dedicación:** Tiempo completo

Cargos y actividades desempeñados con anterioridad

	Entidad empleadora	Categoría profesional	Fecha de inicio
1	Universidad de Jaén	Investigador Postdoctoral	01/05/2014
2	Universidad de Jaén	Investigador Postdoctoral	01/02/2012
3	Universidad de Jaén	Investigador Postdoctoral	01/06/2010
4	Centro de Biología Molecular Severo Ochoa	Investigador Postdoctoral	01/09/2007
5	Universidad de Jaén	Becario Predoctoral	01/01/2003
6	Universidad de Jaén	Alumno Colaborador	01/01/2000

1 **Entidad empleadora:** Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Departamento: Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales
Categoría profesional: Investigador Postdoctoral

Fecha de inicio-fin: 01/05/2014 - 30/04/2016 **Duración:** 2 años
Modalidad de contrato: Contrato laboral temporal
Régimen de dedicación: Tiempo completo

2 **Entidad empleadora:** Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Departamento: Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales
Categoría profesional: Investigador Postdoctoral
Fecha de inicio-fin: 01/02/2012 - 31/01/2014 **Duración:** 2 años
Modalidad de contrato: Contrato laboral temporal
Régimen de dedicación: Tiempo completo

3 **Entidad empleadora:** Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Departamento: Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales
Categoría profesional: Investigador Postdoctoral
Fecha de inicio-fin: 01/06/2010 - 30/10/2011 **Duración:** 1 año - 4 meses
Modalidad de contrato: Contrato laboral temporal
Régimen de dedicación: Tiempo completo

4 **Entidad empleadora:** Centro de Biología Molecular Severo Ochoa **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Departamento: Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid
Categoría profesional: Investigador Postdoctoral
Fecha de inicio-fin: 01/09/2007 - 30/04/2010 **Duración:** 2 años - 8 meses
Modalidad de contrato: Contrato laboral temporal
Régimen de dedicación: Tiempo completo

5 **Entidad empleadora:** Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Departamento: Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales
Categoría profesional: Becario Predoctoral
Fecha de inicio-fin: 01/01/2003 - 31/12/2006 **Duración:** 4 años
Modalidad de contrato: Contrato laboral temporal
Régimen de dedicación: Tiempo completo

6 **Entidad empleadora:** Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Departamento: Biología Experimental, Facultad de Ciencias Experimentales
Categoría profesional: Alumno Colaborador
Fecha de inicio-fin: 01/01/2000 - 30/06/2000 **Duración:** 6 meses



Formación académica recibida

Titulación universitaria

Estudios de 1º y 2º ciclo, y antiguos ciclos (Licenciados, Diplomados, Ingenieros Superiores, Ingenieros Técnicos, Arquitectos)

Titulación universitaria: Titulado Superior

Nombre del título: Licenciado en Biología Opción Biología Celular y Molecular

Entidad de titulación: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Fecha de titulación: 19/09/2002

Doctorados

Programa de doctorado: Biología Molecular y Celular

Entidad de titulación: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Ciudad entidad titulación: Jaén, Andalucía, España

Fecha de titulación: 20/07/2007

Entidad de titulación DEA: Universidad de Jaén

Fecha de obtención DEA: 21/02/2005

Título de la tesis: Análisis de la expresión de las isoformas del factor de transcripción Pitx2 durante el desarrollo cardiaco: Papel de la Map Kinasa P38alpha en la regulación de su expresión.

Director/a de tesis: Francisco Navarro Gómez

Codirector/a de tesis: Amelia Aránega Jiménez

Calificación obtenida: Sobresaliente "Cum Laude"

Cursos y seminarios recibidos de perfeccionamiento, innovación y mejora docente, nuevas tecnologías, etc., cuyo objetivo sea la mejora de la docencia

- Título del curso/seminario:** La Entrevista en la Acción Tutorial: Herramientas y Experiencias
Objetivos del curso/seminario: Mejora de la calidad docente
Entidad organizadora: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Duración en horas: 8 horas
Fecha de inicio-fin: 13/03/2013 - 13/03/2013
- Título del curso/seminario:** Certificado de Aptitud Pedagógica
Objetivos del curso/seminario: Acreditación para docencia en Educación Secundaria Obligatoria
Entidad organizadora: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Duración en horas: 180 horas
Fecha de finalización: 25/04/2003



Conocimiento de idiomas

Idioma	Comprensión auditiva	Comprensión de lectura	Interacción oral	Expresión oral	Expresión escrita
Inglés		B2	B2	B2	B2

Actividad docente

Formación académica impartida

- Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Bases Biológicas de la Reproducción Humana
Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio
Tipo de asignatura: Optativa
Titulación universitaria: Grado en Biología
Fecha de finalización: 2017
Nº de horas/créditos ECTS: 20
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas
Tipo de entidad: Universidad
- Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Bases Biológicas de la Reproducción Humana
Tipo de docencia: Teórica presencial
Tipo de asignatura: Optativa
Titulación universitaria: Grado en Biología
Fecha de finalización: 2017
Nº de horas/créditos ECTS: 12
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas
Tipo de entidad: Universidad
- Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Biología
Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio
Tipo de asignatura: Básica
Titulación universitaria: Grado en Química
Fecha de finalización: 2017
Nº de horas/créditos ECTS: 24
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas
Tipo de entidad: Universidad
- Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Biología
Tipo de docencia: Teórica presencial



Tipo de asignatura: Básica

Titulación universitaria: Grado en Química

Fecha de finalización: 2017

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 15

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

5 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología Celular e Histología Vegetal y Animal

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Obligatoria

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2017

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 9

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

6 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología Celular e Histología Vegetal y Animal

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Obligatoria

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2017

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 2

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

7 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología Celular e Histología Vegetal y Animal (Bilingüe_Inglés)

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Obligatoria

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2017

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 9

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Idioma de la asignatura: Inglés

8 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Bases Moleculares y Nuevas Perspectivas en Terapia Cardiovascular

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Máster de Biomedicina Regenerativa

Fecha de finalización: 2017

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 4

Entidad de realización: Universidad de Granada

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Medicina



- 9** **Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Biología
Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio
Tipo de asignatura: Básica
Titulación universitaria: Grado en Química
Fecha de finalización: 2016 **Tipo de horas/créditos ECTS:** Horas
Nº de horas/créditos ECTS: 25
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental
- 10** **Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Biología del Desarrollo y Regeneración
Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio
Tipo de asignatura: Optativa
Titulación universitaria: Grado en Biología
Fecha de finalización: 2016 **Tipo de horas/créditos ECTS:** Horas
Nº de horas/créditos ECTS: 30
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental
- 11** **Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Biología del Desarrollo y Regeneración
Tipo de docencia: Teórica presencial
Tipo de asignatura: Optativa
Titulación universitaria: Grado en Biología
Fecha de finalización: 2016 **Tipo de horas/créditos ECTS:** Horas
Nº de horas/créditos ECTS: 8
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental
- 12** **Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Diseño Experimental y Método Científico
Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio
Tipo de asignatura: Básica
Titulación universitaria: Grado en Biología
Fecha de finalización: 2016 **Tipo de horas/créditos ECTS:** Horas
Nº de horas/créditos ECTS: 15
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental
- 13** **Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Bases Moleculares y Nuevas Perspectivas en Terapia Cardiovascular
Tipo de docencia: Teórica presencial
Tipo de asignatura: Optativa
Titulación universitaria: Máster de Biomedicina Regenerativa
Fecha de finalización: 2016 **Tipo de horas/créditos ECTS:** Horas



Nº de horas/créditos ECTS: 4

Entidad de realización: Universidad de Granada

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Medicina

14 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Bases Biológicas de la Reproducción Humana

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2015

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 9

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

15 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología del Desarrollo y Regeneración

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2015

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 40

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

16 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Diseño Experimental y Método Científico

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Troncal

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2015

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 30

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

17 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Bases Moleculares y Nuevas Perspectivas en Terapia Cardiovascular

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Máster de Biomedicina Regenerativa

Fecha de finalización: 2015

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 4

Entidad de realización: Universidad de Granada

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Medicina

18 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología Celular e Histología Vegetal y Animal

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Obligatoria



Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2014

Nº de horas/créditos ECTS: 29

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 4,69

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Tipo de entidad: Universidad

Calificación máxima posible: 5

19 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología del Desarrollo y Regeneración

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2014

Nº de horas/créditos ECTS: 44

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Calificación obtenida: 4,96

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Tipo de entidad: Universidad

Calificación máxima posible: 5

20 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Diseño Experimental y Método Científico

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Troncal

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2014

Nº de horas/créditos ECTS: 7

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 4,70

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Tipo de entidad: Universidad

Calificación máxima posible: 5

21 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Bases Biológicas de la Reproducción Humana

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2013

Nº de horas/créditos ECTS: 9

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Tipo de entidad: Universidad

22 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología del Desarrollo y Regeneración

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2013

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas



Nº de horas/créditos ECTS: 40

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 4,80

Calificación máxima posible: 5

23 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Diseño Experimental y Método Científico

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Básica

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2013

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 30

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 4,70

Calificación máxima posible: 5

24 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Troncal

Titulación universitaria: Grado en Química

Fecha de finalización: 2012

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 13

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

25 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Biología Celular e Histología Vegetal y Animal

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Obligatoria

Titulación universitaria: Grado en Biología

Fecha de finalización: 2012

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 39

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

26 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Desarrollo y Diferenciación Celular

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2012

Tipo de horas/créditos ECTS: Créditos

Nº de horas/créditos ECTS: 1,4

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales



Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 4,71

Calificación máxima posible: 5

27 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Desarrollo y Diferenciación Celular

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Optativa

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2012

Tipo de horas/créditos ECTS: Créditos

Nº de horas/créditos ECTS: 1

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 4,71

Calificación máxima posible: 5

28 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Métodos Integrados en Biología

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Libre configuración

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2010

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 35

Entidad de realización: Universidad Autónoma de Madrid

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias

Departamento: Departamento de Biología Molecular

29 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Uso de Herramientas Informáticas en las Ciencias Experimentales

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Libre configuración

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2010

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 20

Entidad de realización: Universidad Autónoma de Madrid

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias

Departamento: Departamento de Química

30 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Bioquímica

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Obligatoria

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2009

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 40

Entidad de realización: Universidad Autónoma de Madrid

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias



Departamento: Departamento de Biología Molecular

31 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Uso de Herramientas Informáticas en las Ciencias Experimentales

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Libre configuración

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2009

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 5

Entidad de realización: Universidad Autónoma de Madrid

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias

Departamento: Departamento de Química

32 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Uso de Herramientas Informáticas en las Ciencias Experimentales

Tipo de docencia: Teórica presencial

Tipo de asignatura: Libre configuración

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2008

Tipo de horas/créditos ECTS: Horas

Nº de horas/créditos ECTS: 5

Entidad de realización: Universidad Autónoma de Madrid

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias

Departamento: Departamento de Química

33 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Genética Aplicada

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Troncal

Titulación universitaria: Licenciatura en Biología

Fecha de finalización: 2006

Tipo de horas/créditos ECTS: Créditos

Nº de horas/créditos ECTS: 6

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental

Entidad de evaluación: Centro Andaluz de Prospectiva

Calificación obtenida: 5

Calificación máxima posible: 5

34 Tipo de docencia: Docencia oficial

Nombre de la asignatura/curso: Fundamentos Genéticos de la Adaptación Biológica

Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio

Tipo de asignatura: Obligatoria

Titulación universitaria: Licenciatura en Ciencias Ambientales

Fecha de finalización: 2005

Tipo de horas/créditos ECTS: Créditos

Nº de horas/créditos ECTS: 1,5

Entidad de realización: Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad

Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Departamento: Departamento de Biología Experimental



- 35 Tipo de docencia:** Docencia oficial
Nombre de la asignatura/curso: Genética Aplicada
Tipo de docencia: Prácticas de Laboratorio
Tipo de asignatura: Troncal
Titulación universitaria: Licenciatura en Biología
Fecha de finalización: 2005 **Tipo de horas/créditos ECTS:** Créditos
Nº de horas/créditos ECTS: 4,5
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
Departamento: Departamento de Biología Experimental

Dirección de tesis doctorales y/o proyectos fin de carrera

- 1 Título del trabajo:** Análisis y validación in vitro de posibles dianas moleculares del microARN106b en el proceso de regeneración muscular esquelética
Tipo de proyecto: Trabajo fin de Máster
Entidad de realización: Universidad de Granada **Tipo de entidad:** Universidad
Alumno/a: Anabel Cámara Checa
Calificación obtenida: Sobresaliente
Fecha de defensa: 22/09/2017
Mención de calidad: Si
- 2 Título del trabajo:** Análisis del miR106b en los procesos de regeneración muscular esquelética
Tipo de proyecto: Trabajo fin de Máster
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Alumno/a: Carlos Daniel Ceballos Cifuentes
Calificación obtenida: Sobresaliente
Fecha de defensa: 28/09/2015
Mención de calidad: Si
- 3 Título del trabajo:** Tecnología Cre-LoxP como herramienta para la obtención de animales transgénicos
Tipo de proyecto: Proyecto Final de Carrera
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Alumno/a: Raquel María Ceprián Mascuñano
Calificación obtenida: Notable
Fecha de defensa: 18/11/2014
Mención de calidad: Si
- 4 Título del trabajo:** Regulación de la Expresión de microARNs mediada por el factor de transcripción homeótico Pitx2 en células del músculo esquelético
Tipo de proyecto: Trabajo fin de Máster
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Alumno/a: Ana Isabel Serrano Arroquia
Calificación obtenida: Sobresaliente
Fecha de defensa: 14/09/2012
Mención de calidad: Si
- 5 Título del trabajo:** Papel del factor de transcripción Pitx2c en los procesos de diferenciación de músculo esquelético
Tipo de proyecto: Trabajo conducente a obtención de DEA



Entidad de realización: Universidad de Jaén
Ciudad entidad realización: Jaén, España
Alumno/a: Estefanía Lozano Velasco
Calificación obtenida: Sobresaliente
Fecha de defensa: 25/09/2007
Mención de calidad: Si

Tipo de entidad: Universidad

Cursos y seminarios impartidos orientados a la formación docente universitaria

- 1 **Tipo de evento:** Curso
Nombre del evento: BIOLOGÍA MOLECULAR Y CITOGENÉTICA, TÉCNICAS PARA APLICAR EN EL AULA
Entidad organizadora: Consejería de Educación y Ciencia **Tipo de entidad:** Junta de Andalucía
Horas impartidas: 2
Fecha de impartición: 28/06/2017
Tipo de participación: Participativo - Ponencia oral (comunicación oral)
- 2 **Tipo de evento:** Curso
Nombre del evento: Curso Provincial de Inmunología Clínica Aplicada. Ponencia "Técnicas de extracción y amplificación de ácidos nucleicos (PCR y sus variantes) y sus aplicaciones"
Entidad organizadora: Consejería de Educación y Ciencia **Tipo de entidad:** Junta de Andalucía
Horas impartidas: 5
Fecha de impartición: 13/06/2011
Tipo de participación: Participativo - Ponencia oral (comunicación oral)

Experiencia científica y tecnológica

Actividad científica o tecnológica

Proyectos de I+D+i financiados en convocatorias competitivas de Administraciones o entidades públicas y privadas

- 1 **Nombre del proyecto:** miRNAs como herramientas moleculares modulando diferenciación y regeneración muscular
Ámbito geográfico: Nacional
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Ciudad entidad realización: Jaén, Andalucía, España
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Amelia Aránega Jiménez; Diego Franco Jaime
Nº de investigadores/as: 8
Entidad/es financiadora/s: Ministerio de Economía y Competitividad **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Fecha de inicio-fin: 01/01/2017 - 31/12/2018 **Duración:** 2 años
Cuantía total: 201.586 €

- 2** **Nombre del proyecto:** Análisis funcional de las formas de splicing de genes del MHC de clase III
Ámbito geográfico: Nacional
Entidad de realización: Centro de Biología Molecular Severo Ochoa **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Ciudad entidad realización: Madrid, España
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Begoña Aguado Orea
Nº de investigadores/as: 5
Entidad/es financiadora/s: Ministerio de Ciencia e Innovación **Tipo de entidad:** Ministerio
Fecha de inicio-fin: 01/01/2010 - 31/12/2012 **Duración:** 3 años
Cuantía total: 108.900 €
- 3** **Nombre del proyecto:** MicroRNAs regulados por Pitx2 como nuevas herramientas genéticas en el control de la miogénesis y la regeneración muscular
Ámbito geográfico: Autonómica
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Amelia Aránega Jiménez
Nº de investigadores/as: 6
Entidad/es financiadora/s: Junta de Andalucía **Tipo de entidad:** Administración Pública
Ciudad entidad financiadora: Sevilla, Andalucía, España
Fecha de inicio: 13/12/2012 **Duración:** 3 años
Cuantía total: 206.195 €
- 4** **Nombre del proyecto:** Role of Pitx2 regulating miRNAs expression during myogenesis
Ámbito geográfico: Unión Europea
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Amelia Aránega Jiménez
Nº de investigadores/as: 5
Entidad/es financiadora/s: Association Française contre les Myopathies **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Ciudad entidad financiadora: Paris, Francia
Fecha de inicio: 01/11/2012 **Duración:** 2 años
Cuantía total: 60.000 €
- 5** **Nombre del proyecto:** Caracterización estructural y funcional de una peroxirredoxina mitocondrial. Implicación en el metabolismo del hierro y en el promedio de vida celular.
Ámbito geográfico: Autonómica
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): José Rafael Pedrajas Cabrera
Nº de investigadores/as: 11
Entidad/es financiadora/s: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Ciudad entidad financiadora: Jaén, Andalucía, España
Fecha de inicio: 19/03/2012 **Duración:** 2 años
Cuantía total: 8.950 €

- 6** **Nombre del proyecto:** Análisis de la interacción microRNA-mRNA mediada por Pitx2
Ámbito geográfico: Autonómica
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Diego Franco Jaime
Nº de investigadores/as: 6
Entidad/es financiadora/s:
Junta de Andalucía **Tipo de entidad:** Administración Pública
Ciudad entidad financiadora: Sevilla, Andalucía, España
Fecha de inicio: 15/03/2011 **Duración:** 3 años
Cuantía total: 147.505 €
- 7** **Nombre del proyecto:** Papel del factor de transcripción Pitx2 en la regulación transcripcional de microRNAs durante la miogénesis. BFU2009-11566
Ámbito geográfico: Nacional
Entidad de realización: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Ciudad entidad realización: Jaén, España
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Diego Franco Jaime
Nº de investigadores/as: 4
Entidad/es financiadora/s:
Ministerio de Ciencia e Innovación **Tipo de entidad:** Ministerio
Ciudad entidad financiadora: Madrid, Comunidad de Madrid, España
Fecha de inicio: 01/01/2010 **Duración:** 2 años
Cuantía total: 121.000 €
- 8** **Nombre del proyecto:** Caracterización de los transcritos de primates en genes del MHC de clase III, y su papel en la especialización del genoma. BFU2008-03126/BMC.
Ámbito geográfico: Nacional
Entidad de realización: Centro de Biología Molecular Severo Ochoa **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Ciudad entidad realización: Madrid, España
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Begoña Aguado Orea
Nº de investigadores/as: 4
Entidad/es financiadora/s:
Ministerio de Ciencia e Innovación **Tipo de entidad:** Ministerio
Fecha de inicio: 01/01/2009 **Duración:** 1 año
Cuantía total: 36.300 €
- 9** **Nombre del proyecto:** New therapeutic approaches for myotonic dystrophy: functional genomics and in vivo drug discovery studies. Referencia: 14333.
Ámbito geográfico: Nacional
Entidad de realización: Centro de Biología Molecular Severo Ochoa **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Ciudad entidad realización: Madrid, España
Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...): Ruben Artero
Nº de investigadores/as: 46
Entidad/es financiadora/s:
Fundación Genoma España **Tipo de entidad:** Fundación
Ciudad entidad financiadora: Madrid, Comunidad de Madrid, España
Fecha de inicio: 01/04/2007 **Duración:** 3 años
Cuantía total: 2.002.500 €

10 Nombre del proyecto: Heart Repair. Heart Failure and Cardiac Repair. (LSHM-CT-2005-018630)**Ámbito geográfico:** Unión Europea**Entidad de realización:** Universidad de Jaén**Tipo de entidad:** Universidad**Ciudad entidad realización:** Jaén, España**Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...):** Diego Franco Jaime**Nº de investigadores/as:** 5**Entidad/es financiadora/s:**

Union Europea (VI Programa Marco)

Fecha de inicio: 01/01/2006**Duración:** 4 años**Cuantía total:** 36.000 €**11 Nombre del proyecto:** Contribución del factor de transcripción Pitx2 en procesos de diferenciación tejido-específica durante la cardiogénesis. Referencia: BFU2005-07727.**Ámbito geográfico:** Nacional**Entidad de realización:** Universidad de Jaén**Tipo de entidad:** Universidad**Ciudad entidad realización:** Jaén, España**Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...):** Amelia Aránega Jiménez**Nº de investigadores/as:** 5**Entidad/es financiadora/s:**

MINISTERIO DE EDUCACION Y CIENCIA

Ciudad entidad financiadora: España**Fecha de inicio:** 30/12/2005**Duración:** 2 años**Cuantía total:** 57.120 €**12 Nombre del proyecto:** Papel del aceite de oliva en fisiopatologías cardiovasculares: Cardioprotector o Cardiorreparador. Referencia: OA/1/2004.**Ámbito geográfico:** Autonómica**Entidad de realización:** Universidad de Jaén**Tipo de entidad:** Universidad**Ciudad entidad realización:** Jaén, España**Nombres investigadores principales (IP, Co-IP,...):** Diego Franco Jaime**Nº de investigadores/as:** 3**Entidad/es financiadora/s:**

Universidad de Jaén

Tipo de entidad: Universidad**Ciudad entidad financiadora:** Jaén, Andalucía, España**Fecha de inicio:** 01/01/2004**Duración:** 2 años**Cuantía total:** 10.000 €

Resultados

Propiedad industrial e intelectual

- 1 Título propiedad industrial registrada:** Método para promover la regeneración muscular
Inventores/autores/obtentores: Hernandez-Torres, F; Vallejo, D; Franco, D; Aranega, AE
Entidad titular de derechos: Universidad de Jaén
Nº de solicitud: PCT/ES2016/070362
País de inscripción: España
Fecha de registro: 12/05/2016
Fecha de concesión: 17/11/2016
- 2 Título propiedad industrial registrada:** Método de activación de la expresión del gen Pitx2 para promover la regeneración muscular
Inventores/autores/obtentores: Vallejo, D; Lozano-Velasco, E; Hernandez-Torres, F; Franco, D; Aranega, AE
Entidad titular de derechos: Universidad de Jaén
Nº de solicitud: P201530645
País de inscripción: España
Fecha de registro: 12/05/2015
Fecha de concesión: 10/02/2016
C. Autón./Reg. de explotación: España

Actividades científicas y tecnológicas

Producción científica

Publicaciones, documentos científicos y técnicos

- 1** Hernández-Torres, F; Rodríguez-Outeiriño, L; Franco, D; Aránega, AE. Pitx2 in Embryonic and Adult Myogenesis. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 5, pp. 46 - 57. Frontiers Media SA, 01/05/2017.
Tipo de producción: Artículo científico
Posición de firma: 1
Nº total de autores: 4
Tipo de soporte: Revista
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo
Autor de correspondencia: No
- 2** Lozano-Velasco, E; Hernández-Torres, F; Daimi, H; Serra, SA; Herraiz, A; Hove-Madsen, L; Aránega, AE; Franco, D. Pitx2 impairs calcium handling in a dose-dependent manner by modulating Wnt signalling. *Cardiovascular Research*. 04/08/2015.
Tipo de producción: Artículo científico
Posición de firma: 2
Nº total de autores: 8
Fuente de impacto: WOS (JCR)
Índice de impacto: 5,940
Tipo de soporte: Revista
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo
Autor de correspondencia: No
Categoría: BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY
Revista dentro del 25%: Si

- 3** Pedrajas, J. R.; McDonagh, B; Hernández-Torres, F.; Miranda-Vizuet, A.; González-Ojeda, R.; Martínez-Galisteo, E.; Padilla, C.A.; Bárcena, J.A. Glutathione Is The Resolving Thiol For Thioredoxin Peroxidase Activity Of 1-Cys Peroxiredoxin Without Being Consumed During The Catalytic Cycle. *Antioxidants & Redox Signaling*. In press, Mary Ann Liebert, Inc, 10/07/2015. ISSN 1523-0864

Tipo de producción: Artículo científico

Posición de firma: 3

Nº total de autores: 8

Fuente de impacto: WOS (JCR)

Índice de impacto: 7,407

Tipo de soporte: Revista

Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo

Autor de correspondencia: No

Categoría: Science Edition - BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY

Revista dentro del 25%: Si

- 4** Lozano-Velasco, E.; Vallejo, D.; Esteban, F.J.; Doherty, C; Hernandez-Torres, F; Franco, D; Aranega, AE. A Pitx2-miRNA pathway modulates cell proliferation in myoblasts and skeletal-muscle 2 satellite cells and promotes their commitment to a myogenic cell fate. *Molecular and Cellular Biology*. In press, (Estados Unidos de América): Amer Soc Microbiology, 08/06/2015. ISSN 0270-7306

Tipo de producción: Artículo científico

Posición de firma: 5

Nº total de autores: 7

Fuente de impacto: WOS (JCR)

Índice de impacto: 4,777

Tipo de soporte: Revista

Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo

Autor de correspondencia: No

Categoría: Science Edition - BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY

Revista dentro del 25%: Si

- 5** Torrado M; Franco D; Lozano-Velasco, E.; Hernández-Torres F; Calviño R; Aldama G; Centeno A; Castro-Beiras A; Mikhailov AT. A MicroRNA-Transcription Factor Blueprint for Early Atrial Arrhythmogenic Remodeling. *BioMed Research International*. 2015, (Estados Unidos de América): Hindawi Publishing Corporation, 23/04/2015. ISSN 2314-6133

Tipo de producción: Artículo científico

Posición de firma: 4

Nº total de autores: 9

Fuente de impacto: WOS (JCR)

Índice de impacto: 1,579

Tipo de soporte: Revista

Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo

Autor de correspondencia: No

Categoría: Science Edition - MEDICINE, RESEARCH & EXPERIMENTAL

Revista dentro del 25%: No

- 6** Hernandez-Torres, F; Franco, D; Aranega, AE; Navarro, F. Expression patterns and immunohistochemical localization of PITX2B transcription factor in the developing mouse heart. *The International Journal of Developmental Biology*. In Press, (España): U B C Press, 06/02/2015. ISSN 0214-6282

Tipo de producción: Artículo científico

Posición de firma: 1

Nº total de autores: 4

Fuente de impacto: WOS (JCR)

Índice de impacto: 1,903

Tipo de soporte: Revista

Autor de correspondencia: Si

Categoría: Science Edition - DEVELOPMENTAL BIOLOGY

Revista dentro del 25%: No

- 7** Hernandez-Torres, F; Aranega, AE; Franco, D. Identification of regulatory elements directing miR-23a-miR-27a-miR-24-2 transcriptional regulation in response to muscle hypertrophic stimuli. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. 1839 - 9, pp. 885 - 897. (Holanda): Elsevier Science Bv, 01/09/2014. ISSN 1874-9399

Tipo de producción: Artículo científico

Tipo de soporte: Revista

**Posición de firma:** 1**Nº total de autores:** 3**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Índice de impacto:** 6,332**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY**Revista dentro del 25%:** Si

- 8** Bonet, F; Hernandez-Torres, F; Franco, D. Towards the Therapeutic Usage of Micrnas in Cardiac Disease and Regeneration. Experimental & Clinical Cardiology. 20 - 7, pp. 720 - 756. (Canadá): International Academy of Cardiovascular Sciences, Cardiology Academic Press, 01/07/2014. ISSN 1205-6626

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 2**Nº total de autores:** 3**Fuente de impacto:** SCOPUS (SJRI)**Índice de impacto:** 0,289**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Cardiology and Cardiovascular Medicine**Revista dentro del 25%:** No

- 9** Vilches, JM; Pulido, A; Hernandez-Torres, F; Franco, D; Aranega, AE. miR-27b and miR-23b Modulate Cardiomyocyte Differentiation from Mouse Embryonic Stem Cells. Journal of Cardiovascular Development and Disease. 1 - 1, pp. 41 - 51. (Suiza): MDPI AG, 31/03/2014. ISSN 2308-3425

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 3**Nº total de autores:** 5**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No

- 10** Torrado M; Franco D; Hernández-Torres F; Crespo-Leiro MG; Iglesias-Gil C; Castro-Beiras A; Mikhailov AT. Pitx2c is reactivated in the failing myocardium and stimulates myf5 expression in cultured cardiomyocytes. Plos One. 9 - 3, pp. e90561 - e90561. (Estados Unidos de América): 04/03/2014. ISSN 1932-6203

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 3**Nº total de autores:** 7**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Índice de impacto:** 3.234**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - MULTIDISCIPLINARY SCIENCES**Revista dentro del 25%:** Si

- 11** Bonet, F.; Hernandez-Torres, F; Esteban, FJ.; Aranega, AE.; Franco, D. Comparative Analyses of MicroRNA Microarrays during Cardiogenesis: Functional Perspectives. Microarrays. 2 - 2, pp. 81 - 96. (Suiza): MDPI AG, 03/04/2013. ISSN 2076-3905

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 2**Nº total de autores:** 5**Tipo de soporte:** Revista**Autor de correspondencia:** No

- 12** Hernández-Torres, F; Rastrojo, A.; Aguado, B. Intron retention and transcript chimerism conserved across mammals: Ly6g5b and Csnk2b-Ly6g5b as examples. BMC Genomics. 14 - 1, pp. 199 - 211. (Reino Unido): Biomed Central Ltd, 22/03/2013. ISSN 1471-2164

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 1**Nº total de autores:** 3**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - GENETICS & HEREDITY

**Índice de impacto:** 4.041**Revista dentro del 25%:** Si

- 13** María Carmen Mirón-García; Ana Isabel Garrido-Godino; Varinia García-Molinero; Francisco Hernández-Torres; Susana Rodríguez-Navarro; Francisco Navarro. The prefoldin bud27 mediates the assembly of the eukaryotic RNA polymerases in an rpb5-dependent manner. PLoS genetics. 9 - 2, pp. e1003297. (Estados Unidos de América): Public Library Science, 14/02/2013. ISSN 1553-7404

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 4**Nº total de autores:** 6**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Índice de impacto:** 8.167**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - GENETICS & HEREDITY**Revista dentro del 25%:** Si

- 14** Fernandez-Costa JM; Garcia-Lopez A; Zuñiga S; Fernandez-Pedrosa V; Felipe-Benavent A; Mata M; Jaka O; Aiastui A; Hernandez-Torres F; Aguado B; Perez-Alonso M; Vilchez JJ; Lopez de Munain A; Artero RD. Expanded CTG repeats trigger miRNA alterations in Drosophila that are conserved in myotonic dystrophy type 1 patients. Human Molecular Genetics. 24 - 2, pp. 704 - 716. (Reino Unido): Oxford Univ Press, 08/11/2012. ISSN 0964-6906

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 9**Nº total de autores:** 14**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Índice de impacto:** 7,692**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY**Revista dentro del 25%:** Si

- 15** Lozano-Velasco, E.; Contreras, A.; Crist, C.; Hernandez-Torres, F.; Franco, D.; Aranega, A. E. Pitx2c modulates Pax3+/Pax7+ cell populations and regulates Pax3 expression by repressing miR27 expression during myogenesis. Developmental Biology. 357, pp. 165 - 178. (Estados Unidos de América): Academic Press Inc Elsevier Science, 14/07/2011. ISSN 0012-1606

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 4**Nº total de autores:** 6**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Índice de impacto:** 4.069**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - DEVELOPMENTAL BIOLOGY**Revista dentro del 25%:** Si

- 16** Lozano-Velasco, E.; Chinchilla, A.; Martinez-Fernandez, S.; Hernandez-Torres, F.; Navarro, F.; Lyons, G. E.; Franco, D.; Aranega, A. E. Pitx2c Modulates Cardiac-Specific Transcription Factors Networks in Differentiating Cardiomyocytes from Murine Embryonic Stem Cells. Cells Tissues Organs. 194, pp. 349 - 362. (Suiza): Karger, 11/03/2011. ISSN 1422-6405

Tipo de producción: Artículo científico**Posición de firma:** 4**Nº total de autores:** 8**Fuente de impacto:** WOS (JCR)**Índice de impacto:** 2.302**Tipo de soporte:** Revista**Grado de contribución:** Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo**Autor de correspondencia:** No**Categoría:** Science Edition - ANATOMY & MORPHOLOGY**Revista dentro del 25%:** No



- 17** Villate, O.; Rastrojo, A.; Lopez-Diez, R.; Hernandez-Torres, F.; Aguado, B. Differential splicing, disease and drug targets. *Infectious Disorders - Drug Targets*. 8241, pp. 241 - 251. (Holanda): Bentham Science, 17/12/2008. ISSN 1871-5265
- Tipo de producción:** Artículo científico
Posición de firma: 4
- Nº total de autores:** 5
Fuente de impacto: SCOPUS (SJR)
Índice de impacto: 0,929
- Tipo de soporte:** Revista
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo
Autor de correspondencia: No
Categoría: Molecular Medicine
Revista dentro del 25%: No
- 18** Hernandez-Torres, F.; Pedrajas, J. R.; Aranega, A. E.; Navarro, F. Expression in bacteria of small and specific protein domains of two transcription factor isoforms, purification and monospecific polyclonal antibodies generation, by a two-step affinity chromatography procedure. *Protein Expression and Purification*. 60, pp. 151 - 156. (Estados Unidos de América): Academic Press Inc Elsevier Science, 16/05/2008. ISSN 1046-5928
- Tipo de producción:** Artículo científico
Posición de firma: 1
- Nº total de autores:** 4
Fuente de impacto: WOS (JCR)
Índice de impacto: 1.621
- Tipo de soporte:** Revista
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo
Autor de correspondencia: No
Categoría: Science Edition - BIOCHEMISTRY & MOLECULAR BIOLOGY
Revista dentro del 25%: No
- 19** Hernandez-Torres, F.; Martinez-Fernandez, S.; Zuluaga, S.; Nebreda, A.; Porras, A.; Aranega, A. E.; Navarro, F. A role for p38 α mitogen-activated protein kinase in embryonic cardiac differentiation. *FEBS Letters*. 582, pp. 1025 - 1031. (Holanda): Elsevier Science BV., 04/03/2008. ISSN 0014-5793
- Tipo de producción:** Artículo científico
Posición de firma: 1
- Nº total de autores:** 7
Fuente de impacto: WOS (JCR)
Índice de impacto: 3.263
- Tipo de soporte:** Revista
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo
Autor de correspondencia: No
Categoría: Science Edition - CELL BIOLOGY
Revista dentro del 25%: No
- 20** Martinez-Fernandez, S.; Hernandez-Torres, F.; Franco, D.; Lyons, G. E.; Navarro, F.; Amelia Aránega Jiménez. Pitx2c overexpression promotes cell proliferation and arrests differentiation in myoblasts. *Developmental Dynamics*. 235, pp. 2930 - 2939. (Estados Unidos de América): Wiley-Liss, 08/09/2006. ISSN 1058-8388
- Tipo de producción:** Artículo científico
Posición de firma: 2
- Nº total de autores:** 6
Fuente de impacto: WOS (JCR)
Índice de impacto: 3.169
- Tipo de soporte:** Revista
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de artículo en revista con comité evaluador de admisión externo
Autor de correspondencia: No
Categoría: Science Edition - ANATOMY & MORPHOLOGY
Revista dentro del 25%: Si
- 21** Franco, D; Bonet, F; Hernandez-Torres, F; Lozano-Velasco, E; Esteban, FJ; Aranega, AE. Analysis of microRNA Microarrays in Cardiogenesis. *Methods in Molecular Biology*. In Press, (Estados Unidos de América): Humana Press, 14/05/2015. ISSN 1064-3745
- Tipo de producción:** Capítulo de libro
Posición de firma: 3
- Nº total de autores:** 6
- Tipo de soporte:** Libro
Grado de contribución: Autor/a o coautor/a de capítulo de libro
Autor de correspondencia: No



Fuente de impacto: SCOPUS (SJR)
Índice de impacto: 0,549

Categoría: Genetics
Revista dentro del 25%: No

Trabajos presentados en congresos nacionales o internacionales

- 1** **Título del trabajo:** miR-106 regulates muscle repair through control of muscle stem cell fate
Nombre del congreso: 11th Meeting Spanish Society for Developmental Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Nacional
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Gerona, Cataluña, España
Fecha de celebración: 19/10/2016
Fecha de finalización: 21/12/2016
Entidad organizadora: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOLOGIA DEL DESARROLLO
Hernandez- Torres, F; Vallejo, D; Rodriguez-Outeiriño, L; Franco, D; Aranega, AE.
- 2** **Título del trabajo:** miR-106 silencing enhances regeneration of the skeletal muscle
Nombre del congreso: The Batsheva de Rothschild Workshop on Skeletal and Cardiac Myogenesis
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Internacional no UE
Tipo de participación: Participativo - Ponencia oral (comunicación oral)
Ciudad de celebración: Rehovot, Israel
Fecha de celebración: 06/03/2016
Fecha de finalización: 11/03/2016
Entidad organizadora: Weizmann Institute
Hernandez-Torres, F; Vallejo, D; Rodriguez-Outeiriño, L; Franco, D; Aranega, AE.
- 3** **Título del trabajo:** miR-106b in embryonic and adult myogenesis
Nombre del congreso: 3rd Meeting of the Portuguese Society for Developmental Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Albufeira, Portugal
Fecha de celebración: 07/10/2015
Fecha de finalización: 10/10/2015
Entidad organizadora: Portuguese Society for Developmental Biology
Hernández-Torres, F; Vallejo, D; Franco, D; Aránega, AE.
- 4** **Título del trabajo:** Pitx2 improves regenerative myogenesis and muscular dystrophy in MDX mice
Nombre del congreso: Myogenesis. Gordon Research Conference. Molecular and Cellular Networks
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Lucca (Barga), Italia
Fecha de celebración: 21/06/2015
Fecha de finalización: 26/06/2015
Entidad organizadora: Gordon Research Conferences. Frontiers of Science
Vallejo, D; Hernandez-Torres, F; Lozano-Velasco, E; Ramirez, F; Franco, D; Aranega, AE.
- 5** **Título del trabajo:** miR-200b modulates cardiac lineage cell fate in mouse embryonic stem cells
Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Internacional no UE
Tipo de participación: Participativo - Póster



Ciudad de celebración: Boston, Estados Unidos de América
Fecha de celebración: 30/04/2015
Fecha de finalización: 02/05/2015
Entidad organizadora: Boston Children's Hospital
Vilches, JM; Hernandez-Torres, F; Lozano-Velasco, E; Franco, D.

6 Título del trabajo: A Pitx2-miRNAs pathway regulates satellite cell proliferation and skeletal muscle regeneration

Nombre del congreso: X Spanish Society for Developmental Biology

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Madrid, España

Fecha de celebración: 13/10/2014

Fecha de finalización: 15/10/2014

Entidad organizadora: Spanish Society for Developmental Biology

Aranega, AE; Lozano-Velasco, E; Vallejo, D; Ramirez, F; Hernandez-Torres, F; Franco, D.

7 Título del trabajo: Pitx2b isoform is dynamically expressed during Heart development

Nombre del congreso: X Spanish Society for Developmental Biology

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Madrid, España

Fecha de celebración: 13/10/2014

Fecha de finalización: 15/10/2014

Entidad organizadora: Spanish Society for Developmental Biology

Hernandez-Torres, F; Franco, D; Navarro, F; Aranega, AE.

8 Título del trabajo: The developmental transcription factor Pitx2 diminishes after birth, becomes re-activated in heart failure and stimulates Myf5 expression in Cardiomyocytes

Nombre del congreso: X Spanish Society for Developmental Biology

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Madrid, España

Fecha de celebración: 13/10/2014

Fecha de finalización: 15/10/2014

Entidad organizadora: Spanish Society for Developmental Biology

Torrado, M; Franco, D; Hernandez-Torres, F; Mikhailov, A.T.

9 Título del trabajo: Dose dependent Pitx2 loss of function impairs Zfhx3, Wnt8a and Calcium handling; novel links to atrial arrhythmogenesis

Nombre del congreso: ESC Congress

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Barcelona, España

Fecha de celebración: 30/08/2014

Fecha de finalización: 03/09/2014

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Lozano-Velasco, E; Hernandez-Torres, F; Hove-Madsen, L; Cinca, J; Aranega, AE; Franco, D.

- 10 Título del trabajo:** Functional characterization of novel PITX2 homeodomain mutations in AF patients
Nombre del congreso: ESC Congress
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Barcelona, España
Fecha de celebración: 30/08/2014
Fecha de finalización: 03/09/2014
Entidad organizadora: European Society of Cardiology
Lozano-Velasco, E; Hernandez-Torres, F; Daimi, H; Vazquez Ruiz de Castroviejo, E; Lozano, C; Aranega, AE; Franco, D.
- 11 Título del trabajo:** Pitx2c gain of function mutation associated with atrial fibrillation
Nombre del congreso: ESC Congress
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Barcelona, España
Fecha de celebración: 30/08/2014
Fecha de finalización: 03/09/2014
Entidad organizadora: European Society of Cardiology
Olesen, MS; Mechakra, A; Christophersen, IC; Walter, M; Aranega, AE; Hernandez-Torres, F; Nilesen, JB; Elinor, PT; Chevalier, P; Christe, G.
- 12 Título del trabajo:** Dose dependent Pitx2 loss of function impairs Zfhx3, Wnt8a and Calcium handling; novel links to atrial arrhythmogenesis
Nombre del congreso: Frontiers in CardioVascular Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Barcelona, España
Fecha de celebración: 04/07/2014
Fecha de finalización: 04/07/2014
Entidad organizadora: European Society of Cardiology
Lozano-Velasco, E; Hernandez-Torres, F; Hove-Madsen, L; Cinca, J; Aranega, AE; Franco, D. ISSN 0008-6363
- 13 Título del trabajo:** Functional characterization of novel PITX2 homeodomain mutations in AF patients
Nombre del congreso: Frontiers in CardioVascular Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Barcelona, España
Fecha de celebración: 04/07/2014
Fecha de finalización: 04/07/2014
Entidad organizadora: European Society of Cardiology
Lozano-Velasco, E; Hernandez-Torres, F; Daimi, H; Vazquez, E; Lozano, C; Aranega, AE; Franco, D. ISSN 0008-6363
- 14 Título del trabajo:** Pitx2 differently controls the expression of gene embedded microRNAs in cardiac and skeletal muscle cells
Nombre del congreso: Frontiers in CardioVascular Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Barcelona, España



Fecha de celebración: 04/07/2014

Fecha de finalización: 04/07/2014

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Hernandez-Torres, F; Aranega, AE; Franco, D. ISSN 0008-6363

15 Título del trabajo: Pitx2 regulates multiple AF associated GWAS genes

Nombre del congreso: Frontiers in CardioVascular Biology

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Barcelona, España

Fecha de celebración: 04/07/2014

Fecha de finalización: 04/07/2014

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Daimi, H; Dominguez, JN; Hernandez-Torres, F; Chinchilla, A; Aranega, AE; Caruz, A; Vazquez, E; Hove-Madsen, L; Caballero, R; Franco, D. ISSN 0008-6363

16 Título del trabajo: Unravelling an early gene response of atrial myocardium to short-term tachyarrhythmia in a porcine atrial pacing model

Nombre del congreso: Heart Failure 2014

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Atenas, Grecia

Fecha de celebración: 17/05/2014

Fecha de finalización: 20/05/2014

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

M. Torrado; D. Franco; E. Lozano-Velasco; F. Hernandez-Torres; R. Calvino; G. Aldama; A. Centeno; A. Castro-Beiras; A. Mikhailov. "Unravelling an early gene response of atrial myocardium to short-term tachyarrhythmia in a porcine atrial pacing model". 16 - S2, ISSN 1388-9842

17 Título del trabajo: A Pitx2-miRNAs pathway controlling satellite cell biology and skeletal muscle regeneration

Nombre del congreso: Molecular Biology of Muscle Development and Regeneration

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Acaya-Lecce, Italia

Fecha de celebración: 14/05/2014

Fecha de finalización: 18/05/2014

Entidad organizadora: EMBO

Lozano-Velasco, E; Contreras, A; Vallejo, D; Hernandez-Torres, F; Franco, D; Aranega, AE.

18 Título del trabajo: Dose dependent Pitx2 loss of function impairs Zfhx3, Wnt8a and calcium handling; novel links to atrial arrhythmogenesis

Nombre del congreso: Weisntein Cardiovascular Development Conference

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Madrid, España

Fecha de celebración: 08/05/2014

Fecha de finalización: 10/05/2014

Entidad organizadora: FUNDACION CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CARDIOVASCULARES CARLOS III

Lozano-Velasco, E; Hernandez-Torres, Francisco; Dominguez, JN; Hove-Madsen, L; Cinca, J; Aranega, AE; Franco, D.



- 19 Título del trabajo:** MiR27-b bloks cardiac differentiation by modulating Wnt-Beta Catenin canonical pathway
Nombre del congreso: Weisntein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Madrid, España
Fecha de celebración: 08/05/2014
Fecha de finalización: 10/05/2014
Entidad organizadora: FUNDACION CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CARDIOVASCULARES CARLOS III
Vilches-Godoy, JM; Pulido, A; Hernandez-Torres, Francisco; Franco, D; Aranega, AE.
- 20 Título del trabajo:** Pitx2 differently controls the expression of gene embedded microRNAs in cardiac and skeletal muscle cells
Nombre del congreso: Weisntein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Madrid, España
Fecha de celebración: 08/05/2014
Fecha de finalización: 10/05/2014
Entidad organizadora: FUNDACION CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CARDIOVASCULARES CARLOS III
Hernandez-Torres, Francisco; Aranega, AE; Franco, D.
- 21 Título del trabajo:** MicroRNA microarrays meta-analyses; searching for common functions during cardiogenesis
Nombre del congreso: Cardiovascular Development, Disease and Repair
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Madrid, España
Fecha de celebración: 08/11/2013
Fecha de finalización: 09/11/2013
Entidad organizadora: FUNDACION CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CARDIOVASCULARES CARLOS III
Franco, D; Bonet, F; Hernandez-Torres, F; Esteban, FJ; Aranega, AE.
- 22 Título del trabajo:** Pitx2b distribution during cardiogenesis
Nombre del congreso: Cardiovascular Development, Disease and Repair
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Madrid, España
Fecha de celebración: 08/11/2013
Fecha de finalización: 09/11/2013
Entidad organizadora: FUNDACION CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES CARDIOVASCULARES CARLOS III
Aranega, AE; Hernandez-Torres, F; Franco, D; Navarro, F.
- 23 Título del trabajo:** A Pitx2-miRNAs pathway controlling cells proliferation in myogenic cells
Nombre del congreso: 2nd Meeting Portuguese Society for Developmental Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster



Ciudad de celebración: Lisboa, Portugal

Fecha de celebración: 24/10/2013

Fecha de finalización: 26/10/2013

Entidad organizadora: Universidad de Lisboa

Lozano-Velasco, E; Vallejo, D; Esteba, FJ; Doherty, C; Hernandez-Torres, F; Franco, D; Aranega, AE.

24 Título del trabajo: A meta-analyses if microRNA microarrays during cardiogenesis; functional implications

Nombre del congreso: Berlin Cardiovascular Developmental Meeting

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Berlin, Alemania

Fecha de celebración: 26/09/2013

Fecha de finalización: 28/09/2013

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Franco, D; Bonet, F; Hernandez-Torres, F; Esteban, F; Aranega, AE.

25 Título del trabajo: miR-23a/27a/24-2 Transcriptional regulation is dfferently modulated in cardiac and skeletal muscle cells

Nombre del congreso: Berlin Cardiovascular Developmental Meeting

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Berlin, Alemania

Fecha de celebración: 26/09/2013

Fecha de finalización: 28/09/2013

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Hernandez-Torres, F; Aranega, AE; Franco, D.

26 Título del trabajo: Pitx2c gain of function mutation associated with atrial fibrillation

Nombre del congreso: Meeting of the European Heart Rhythm Association

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Atenas, Grecia

Fecha de celebración: 23/06/2013

Fecha de finalización: 26/06/2013

Entidad organizadora: European Heart Rhythm Association

Mechakra, A; Yang, Y.S; Footz, T.F; Walter, M.W; Aranega, AE; Hernandez-Torres, F; Morel, E.M; Millat, G.M; Chevalier, P.C; Christe, G.C.

27 Título del trabajo: miR-23a/27a/24-2 TRANSCRIPTIONAL REGULATION IS DIFFERENTLY MODULATED IN CARDIAC AND SKELETAL MUSCLE CELLS

Nombre del congreso: Carcdiac Biology. From Development to Regenerative Medicine

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Heidelberg, Alemania

Fecha de celebración: 07/06/2013

Fecha de finalización: 10/06/2013

Entidad organizadora: EMBO/EMBL

Hernandez-Torres F; Aranega A.E; Franco D.

- 28 Título del trabajo:** Expression of PITX2 transcription factor is re-activated in heart failure: evidence from the pig model and patient samples
Nombre del congreso: Heart Failure 2013
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Lisboa, Portugal
Fecha de celebración: 25/05/2013
Fecha de finalización: 28/05/2013
Entidad organizadora: European Society of Cardiology
M. Torrado; D. Franco; F. Hernandez-Torres; N. Domenech; MG. Crespo-Leiro; A. Castro-Beiras; A. Mikhailov. "Expression of PITX2 transcription factor is re-activated in heart failure: evidence from the pig model and patient samples". 12 - S1, ISSN 1388-9842
- 29 Título del trabajo:** miR-23a/27a/24-2 Transcriptional Regulation is Differently Modulated in Cardiac and Skeletal Muscle Cells
Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Internacional no UE
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Tucson, Estados Unidos de América
Fecha de celebración: 16/05/2013
Fecha de finalización: 18/06/2013
Entidad organizadora: University Of Arizona
Francisco Hernandez Torres; Amelia Eva Aránega Jiménez; Diego Franco Jaime.
- 30 Título del trabajo:** miR-23a/27a/24-2 TRANSCRIPTIONAL REGULATION IS DIFFERENTLY MODULATED IN CARDIAC AND SKELETAL MUSCLE CELLS
Nombre del congreso: IX Meeting of the Spanish Society for Developmental Biology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Granada, España
Fecha de celebración: 12/11/2012
Fecha de finalización: 14/11/2012
Entidad organizadora: SOCIEDAD ESPAÑOLA DE BIOLOGIA DEL DESARROLLO
Hernández-Torres F.; Aránega AE.; Franco D.
- 31 Título del trabajo:** The prefoldin bud27 determines the assembly of the three RNA polymerases prior their transport to the nucleus
Nombre del congreso: Gene Transcription in Yeast. From Mechanisms to Gene Regulatory Networks
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Gerona, España
Fecha de celebración: 16/06/2012
Fecha de finalización: 21/06/2012
Entidad organizadora: EMBO. Universidad Pompeu Fabra
María Carmen Mirón-García; Ana Isabel Garrido-Godino; Varinia García-Molinero; Francisco Hernández-Torres; Susana Rodríguez-Navarro; Francisco Navarro.
- 32 Título del trabajo:** Pitx2 y arritmogénesis
Nombre del congreso: IX Reunión Científica del Grupo de Trabajo de Cardiología. Sociedad Española de Cardiología
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Nacional
Tipo de participación: Participativo - Ponencia oral (comunicación oral)

Ciudad de celebración: Madrid, España

Fecha de celebración: 23/09/2011

Fecha de finalización: 23/09/2011

Entidad organizadora: FUNDACION CENTRO NACIONAL DE INVESTIGACIONES
CARDIOVASCULARES CARLOS III

Hernandez-Torres, F.

33 Título del trabajo: P38 α -mediated Cited2 phosphorylation is required for Pitx2 expression in cardiomyocytes

Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Ámsterdam, Holanda

Fecha de celebración: 20/05/2010

Fecha de finalización: 22/05/2010

Entidad organizadora: Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen

Navarro, F.; Hernandez-Torres, F.; Aranega, A. E.

34 Título del trabajo: The complexity of alternative splicing among mammalian species

Nombre del congreso: High Throughput Technologies for Alternative Splicing

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Valencia, España

Fecha de celebración: 05/02/2009

Fecha de finalización: 07/02/2009

Entidad organizadora: Splired

Hernandez-Torres, F.; Rastrojo, A.; Aguado, B.

35 Título del trabajo: Análisis diferencial intra e interespecífico de la expresión de los genes Ly6g5b y Ly6g6d del MHCII

Nombre del congreso: XXXI Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Nacional

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Bilbao, España

Fecha de celebración: 10/09/2008

Fecha de finalización: 13/09/2008

Entidad organizadora: Universidad del País Vasco/ Euskal Herriko Unibertsitatea

Hernandez-Torres, F.; Rastrojo, A.; Aguado, B.

36 Título del trabajo: Expression pattern of Pitx2b-isoform during cardiac development

Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Internacional no UE

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Houston, Estados Unidos de América

Fecha de celebración: 15/05/2008

Fecha de finalización: 17/05/2008

Entidad organizadora: Texas A&M System Health Science Center

Hernandez-Torres, F.; Navarro, F.; Franco, D.; Aranega, A. E.

- 37** **Título del trabajo:** Pitx2b spatio-temporal expression pattern during cardiac development
Nombre del congreso: Heart Repair. 2nd Annual General Meeting
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Madrid, España
Fecha de celebración: 17/04/2008
Fecha de finalización: 19/04/2008
Entidad organizadora: Sixth Framework Programme
Hernandez-Torres, F.; Navarro, F.; Franco, D.; Aranega, A. E.
- 38** **Título del trabajo:** P38 alpha and Cited2 mediated transcriptional control of Pitx2 in cardiomyocytes
Nombre del congreso: Biannual meeting of the Working Group on Developmental Anatomy and Pathology
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Unión Europea
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Puglia, Italia
Fecha de celebración: 13/03/2008
Fecha de finalización: 15/03/2008
Entidad organizadora: European Society of Cardiology
Hernandez-Torres, F.; Navarro, F.; Franco, D.; Aranega, A. E.
- 39** **Título del trabajo:** Análisis del papel tejido específico del factor de transcripción Pitx2 durante el desarrollo cardíaco
Nombre del congreso: V Congreso de la Sociedad Española de Biología del Desarrollo
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Nacional
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Alicante, España
Fecha de celebración: 21/09/2006
Fecha de finalización: 23/09/2006
Entidad organizadora: Universidad Miguel **Tipo de entidad:** Universidad
Hernández de Elche
Chinchilla, A.; Hernandez-Torres, F.; Aranega, A. E.; Franco, D.
- 40** **Título del trabajo:** Sobreexpresión de Pitx2c en cardiomiocitos derivados de células madre embrionarias
Nombre del congreso: V Congreso de la Sociedad Española de Biología del Desarrollo
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Nacional
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Alicante, España
Fecha de celebración: 21/09/2006
Fecha de finalización: 23/09/2006
Entidad organizadora: Universidad Miguel **Tipo de entidad:** Universidad
Hernández de Elche
Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Hernandez-Torres, F.; LLozano-Velasco, E.; Franco, D.; Lyons, G.E.; Aranega, A. E.
- 41** **Título del trabajo:** Tissue-specific role of Pitx2 during cardiac development
Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Internacional no UE
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: St. Petersburg, Estados Unidos de América
Fecha de celebración: 11/05/2006
Fecha de finalización: 13/05/2006

Entidad organizadora: University of South Florida

Chinchilla, A.; Moreno, N.; Hernandez-Torres, F.; de Castro, MP.; Navarro, F.; Aranega, A. E.; Franco, D.

42 Título del trabajo: A role for p38 α mitogen-activated protein kinase in embryonic cardiac differentiation

Nombre del congreso: European cardiovascular development and pathology meeting

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Internacional no UE

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Mijas, España

Fecha de celebración: 18/03/2006

Fecha de finalización: 21/03/2006

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Hernandez-Torres, F.; Martinez-Fernandez, S.; Zuluaga, S.; Nebreda, A.; Porras, A.; Aranega, A. E.; Navarro, F.

43 Título del trabajo: Analysis of the tissue-specific role of Pitx2 during cardiac development

Nombre del congreso: European cardiovascular development and pathology meeting

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Internacional no UE

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Mijas, España

Fecha de celebración: 18/03/2006

Fecha de finalización: 21/03/2006

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Chinchilla, A.; Moreno, N.; Hernandez-Torres, F.; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.; Franco, D.

44 Título del trabajo: Pitx2a, Pitx2b and Pitx2c are coexpressed in mice heart development

Nombre del congreso: European cardiovascular development and pathology meeting

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Internacional no UE

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Mijas, España

Fecha de celebración: 18/03/2006

Fecha de finalización: 21/03/2006

Entidad organizadora: European Society of Cardiology

Hernandez-Torres, F.; Dominguez, JN; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.

45 Título del trabajo: Pitx2a, Pitx2b and Pitx2c coexpression during mouse heart development

Nombre del congreso: Current trends in biomedicine workshop. Cardiovascular Development: Towards biomedical applicability

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Baeza, España

Fecha de celebración: 23/10/2005

Fecha de finalización: 26/10/2005

Entidad organizadora: Instituto de Salud Carlos III **Tipo de entidad:** Organismo Público de Investigación

Hernandez-Torres, F.; Dominguez, JN; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.

46 Título del trabajo: Tissue-specific deletion of Pitx2 during cardiac development

Nombre del congreso: Current trends in biomedicine workshop. Cardiovascular Development: Towards biomedical applicability

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Unión Europea



Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Baeza, España

Fecha de celebración: 23/10/2005

Fecha de finalización: 26/10/2005

Entidad organizadora: Instituto de Salud Carlos III **Tipo de entidad:** Organismo Público de Investigación

Chinchilla, A.; Moreno, N.; Hernandez-Torres, F.; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.; Franco, D.

47 Título del trabajo: Coexpresión de Pitx2a, Pitxb2b y Pitx2c durante el desarrollo cardiaco de ratón

Nombre del congreso: Congreso de la Sociedad Española de Genética

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Nacional

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Roquetas de Mar, España

Fecha de celebración: 05/10/2005

Fecha de finalización: 07/10/2005

Entidad organizadora: Universidad de Almería **Tipo de entidad:** Universidad

Hernandez-Torres, F.; Dominguez, JN; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.

48 Título del trabajo: Coexpresión de Pitx2c y Pitx2b en corazón embrionario y adulto de ratón

Nombre del congreso: IV Congreso de la Sociedad Española de Biología del desarrollo

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Nacional

Tipo de participación: Participativo - Ponencia oral (comunicación oral)

Ciudad de celebración: Santander, España

Fecha de celebración: 19/09/2004

Fecha de finalización: 22/09/2004

Entidad organizadora: Universidad Internacional **Tipo de entidad:** Universidad
Menéndez Pelayo

Hernandez-Torres, F.; Dominguez, JN; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.

49 Título del trabajo: An unexpected Pitx2b expression during Heart Development: Differential expression pattern of Pitx2b and Pitx2c

Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Internacional no UE

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Leiden, Holanda

Fecha de celebración: 13/05/2004

Fecha de finalización: 16/05/2004

Entidad organizadora: Leids Universitair Medisch Centrum

Hernandez-Torres, F.; Dominguez, JN; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.

50 Título del trabajo: Characterization of P38 α Map Kinase +/- And P38 α Map Kinase -/- embryonic cardiomyocytes cell line

Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference

Tipo evento: Congreso

Ámbito geográfico: Internacional no UE

Tipo de participación: Participativo - Póster

Ciudad de celebración: Boston, Estados Unidos de América

Fecha de celebración: 15/05/2003

Fecha de finalización: 17/05/2003

Entidad organizadora: Harvard Medical School

Aranega, A. E.; Hernandez-Torres, F.; Martinez-Fernandez, S.; Porras, A.; Nebreda, A.; Navarro, F.

- 51 Título del trabajo:** Different approaches searching for cardiac Pitx2c targets
Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Internacional no UE
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Boston, Estados Unidos de América
Fecha de celebración: 15/05/2003
Fecha de finalización: 17/05/2003
Entidad organizadora: Harvard Medical School
Martinez-Fernandez, S.; Hernandez-Torres, F.; Franco, D.; Aranega, A. E.; Navarro, F.
- 52 Título del trabajo:** Role of Pitx2 in Herat Development: More than one isoform?
Nombre del congreso: Weinstein Cardiovascular Development Conference
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Internacional no UE
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: Boston, Estados Unidos de América
Fecha de celebración: 15/05/2003
Fecha de finalización: 17/05/2003
Entidad organizadora: Harvard Medical School
Hernandez-Torres, F.; Martinez-Fernandez, S.; Navarro, F.; Aranega, A. E.
- 53 Título del trabajo:** Organización de la subunidad Rpb5p común a las ARN Polimerasas I, II, III
Nombre del congreso: XXV Congreso de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular
Tipo evento: Congreso **Ámbito geográfico:** Nacional
Tipo de participación: Participativo - Póster
Ciudad de celebración: León, España
Fecha de celebración: 17/09/2002
Fecha de finalización: 20/09/2002
Entidad organizadora: Universidad de León **Tipo de entidad:** Universidad
Navarro, F.; Zaros, C.; Briand, JF.; Hernandez-Torres, F.; Thuriaux, P.

Gestión de I+D+i y participación en comités científicos

Comités científicos, técnicos y/o asesores

- 1 Título del comité:** Comité para la gestión de convocatorias de investigación del Sistema Sanitario Público de la Junta de Andalucía
Ámbito geográfico: Autonómica
Primaria (Cód. Unesco): 320000 - Ciencias Médicas
Secundaria (Cód. Unesco): 240000 - Ciencias de la Vida
Entidad de afiliación: Fundación Progreso y Salud. **Tipo de entidad:** Fundación
Consejería de Igualdad, Salud y Políticas Sociales
Ciudad entidad afiliación: Sevilla, España
Fecha de inicio-fin: 01/08/2017 - 01/10/2017
- 2 Título del comité:** Comité para la gestión de convocatorias de investigación del Sistema Sanitario Público de la Junta de Andalucía
Ámbito geográfico: Autonómica
Primaria (Cód. Unesco): 320000 - Ciencias Médicas
Secundaria (Cód. Unesco): 240000 - Ciencias de la Vida



Entidad de afiliación: Fundación Progreso y Salud. **Tipo de entidad:** Fundación
Consejería de Igualdad, Salud y Políticas Sociales
Ciudad entidad afiliación: Sevilla, España
Fecha de inicio-fin: 01/08/2016 - 01/10/2016

Otros méritos

Estancias en centros de I+D+i públicos o privados

- 1** **Entidad de realización:** Fundación MEDINA Centro **Tipo de entidad:** Fundación
de Excelencia en Investigación de Medicamentos
Innovadores en Andalucía
Ciudad entidad realización: Granada, Andalucía, España
Fecha de inicio-fin: 01/09/2015 - 31/08/2016 **Duración:** 11 meses
Objetivos de la estancia: Invitado/a
Tareas contrastables: Uso de microARNs como herramientas moleculares potenciadoras de la miogénesis y la regeneración muscular
- 2** **Entidad de realización:** Department of Medicine and Center for Molecular Genetics
Facultad, instituto, centro: University of California San Diego
Ciudad entidad realización: San Diego, Estados Unidos de América
Fecha de inicio-fin: 19/09/2004 - 20/12/2004 **Duración:** 3 meses - 14 días
Objetivos de la estancia: Invitado/a
Tareas contrastables: Estudio de la relación del Ácido Retinoico y Pitx2 durante el desarrollo cardiaco

Ayudas y becas obtenidas

- 1** **Nombre de la ayuda:** Programa de incorporación de Personal Investigador Doctor a los Proyectos de Investigación de Excelencia en Equipos de Investigación de las Universidades y Organismos de Investigación Andaluces
Finalidad: Posdoctoral
Entidad concesionaria: Junta de Andalucía **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Fecha de concesión: 01/05/2014 **Duración:** 1 año - 8 meses
Fecha de finalización: 13/12/2015
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
- 2** **Nombre de la ayuda:** Programa de incorporación de Personal Investigador Doctor a los Proyectos de Investigación de Excelencia en Equipos de Investigación de las Universidades y Organismos de Investigación Andaluces
Finalidad: Posdoctoral
Entidad concesionaria: Junta de Andalucía **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Fecha de concesión: 01/02/2012 **Duración:** 2 años
Fecha de finalización: 31/01/2014
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales



- 3** **Nombre de la ayuda:** Contrato de trabajo para la realización de un proyecto de investigación
Finalidad: Posdoctoral
Entidad concesionaria: Ministerio de Ciencia e Innovación **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Fecha de concesión: 01/06/2010 **Duración:** 1 año - 6 meses
Fecha de finalización: 30/10/2011
Entidad de realización: Universidad de Jaén
- 4** **Nombre de la ayuda:** Contrato de trabajo para la realización de un proyecto de investigación
Finalidad: Posdoctoral
Entidad concesionaria: Fundación Genoma España **Tipo de entidad:** Fundación
Fecha de concesión: 01/09/2007 **Duración:** 2 años - 8 meses
Fecha de finalización: 30/04/2010
Entidad de realización: Centro de Biología Molecular Severo Ochoa
- 5** **Nombre de la ayuda:** Beca de Postgrado para la formación de profesorado universitario (FPU)
Finalidad: Predoctoral
Entidad concesionaria: Ministerio de Educación, Cultura y Deporte **Tipo de entidad:** Agencia Estatal
Fecha de concesión: 01/01/2003 **Duración:** 4 años
Fecha de finalización: 31/12/2006
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales
- 6** **Nombre de la ayuda:** Ayuda propia de colaboración con departamentos
Finalidad: Predoctoral
Entidad concesionaria: Universidad de Jaén **Tipo de entidad:** Universidad
Fecha de concesión: 01/01/2000 **Duración:** 6 meses
Fecha de finalización: 30/06/2000
Entidad de realización: Universidad de Jaén
Facultad, instituto, centro: Facultad de Ciencias Experimentales

Premios, menciones y distinciones

Descripción: Concurso Científico-Técnico "Tecnologías de expresión, inmovilización y purificación de proteínas"

Entidad concesionaria: BIOMEDAL, S.L.

Fecha de concesión: 01/05/2008

Reconocimientos ligados: El premio es un reconocimiento por el trabajo "Expression in bacteria of small and specific protein domains of two transcription factor isoforms, purification and monospecific polyclonal antibodies generation, by a two-step affinity chromatography procedure". Hernandez-Torres et al 2008



Acreditaciones/reconocimientos obtenidos

- 1 Descripción:** Acreditación para trabajo con animales de experimentación. Función B
Entidad acreditante: Consejería de Medio Ambiente, **Tipo de entidad:** Comunidad de Madrid
Administración Local y Ordenación del Territorio
Fecha del reconocimiento: 31/10/2016
- 2 Descripción:** Acreditación para trabajo con animales de experimentación. Función C
Entidad acreditante: Consejería de Medio Ambiente, **Tipo de entidad:** Comunidad de Madrid
Administración Local y Ordenación del Territorio
Fecha del reconocimiento: 31/10/2016
- 3 Descripción:** Acreditación para trabajo con animales de experimentación. Función D
Entidad acreditante: Consejería de Medio Ambiente, **Tipo de entidad:** Comunidad de Madrid
Administración Local y Ordenación del Territorio
Fecha del reconocimiento: 31/10/2016
- 4 Descripción:** Profesor Contratado Doctor
Entidad acreditante: Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación **Tipo de entidad:** 1
Fecha del reconocimiento: 11/09/2013
- 5 Descripción:** Profesor Ayudante Doctor
Entidad acreditante: Agencia Andaluza del Conocimiento
Fecha del reconocimiento: 03/07/2012
- 6 Descripción:** Profesor Ayudante Doctor
Entidad acreditante: Agencia Nacional de Evaluación de la Calidad y Acreditación **Tipo de entidad:** 1
Fecha del reconocimiento: 14/03/2012
- 7 Descripción:** Acreditación para trabajo con animales de experimentación. Función A
Entidad acreditante: Consejería de Agricultura y Pesca **Tipo de entidad:** 1
Fecha del reconocimiento: 16/10/2008