

**Oferta Trabajo Fin de Grado (TFM):**

Tutor/es: Daniel Gómez Cabello

Centro/Institución/Empresa: Danish Cancer Society Research Center

Título: Conexión entre ARN, Nucleolo y reparación de roturas de doble cadena en el ADN ribosomal.

Breve resumen del trabajo (< 100 palabras):

En los últimos años el ARN está teniendo un papel importante en la regulación de diferentes mecanismos moleculares en el metabolismo celular. El ARN ha adquirido especial importancia en la reparación de las moléculas de ADN, sobre todo en los daños que generan roturas de doble cadena del ADN, los cuales son los mas citotóxicos para las células. El avance de las técnicas moleculares de microscopia óptica nos permite observar las moléculas que participan activamente en la reparación del ADN, y como estas son esenciales para el conocimiento de las bases moleculares de enfermedades hereditarias, envejecimiento y cáncer.

Actividades a desarrollar:

El objetivo del trabajo de fin de Máster será la caracterización de proteínas relacionadas con los mecanismos de reparación de roturas de doble cadena del ADN por diferentes agentes exógenos como irradiación, drogas y estrés replicativo. Mas concretamente, nos enfocaremos en el daño a ADN ribosómico, el cual actúa como sensor en la respuesta a estrés de las células, y que ha observado como clave en el comportamiento de células tumorales a diferentes tratamientos.

 Las roturas de doble cadena del ADN son el daño mas citotóxico para las células y una correcta reparación es vital para la estabilidad genómica. Este tipo de daño es reparado por dos vías principalmente, que son excluyentes entre ellas. Por un lado, la reparación por unión de extremos no homologos (*Non Homologous End Joining*, NHEJ) repara la rotura de ADN por la simple ligación de los extremos dañados, y es propenso a mutaciones y aberraciones genéticas. Por otro lado, la recombinación homóloga (*Homologous Recombination*, HR) utiliza secuencias homólogas, normalmente la crómatida hermana en las fases S y G2 del ciclo celular, para reparar el daño de una forma más segura y con una menor probabilidad de inestabilidad genética. La decisión entre ambas vías de reparación es crucial para los daños producidos por el metabolismo endógeno de las células (replicación, estrés oxidativo, etc) así como fuentes de daños externas como quimioterapias y radioterapias. Además, estudiaremos la función de la transcripción “de novo” de ARN que dirige el tipo de reparación mas adecuada al entorno molecular subyacente al daño en el ADN. Para este trabajo fin de máster utilizaremos las siguientes técnicas:

* Western Blot.
* Inmunofluorescencia de proteínas de reparación del ADN.
* Microscopia de Alta resolución: fibras de ADN y ARN.
* Secuenciación génica.
* RT-PCR a tiempo real.
* Cultivos celulares incluyendo utilización de ARN de interferencia y sobrexpresión génica.
* Análisis de supervivencia, ciclo celular y letalidad en líneas celulares humanas.