



MARIE CURIE ACTIONS  
VII PROGRAMA MARCO - PEOPLE  
Convocatoria IEF  
*Intra-European Fellowships*

Thomas Widmann



PFIZER-UNIVERSIDAD DE GRANADA-JUNTA DE ANDALUCIA  
CENTRE FOR GENOMICS AND ONCOLOGICAL RESEARCH

# Objetivos de la beca:

- Permitir una estancia posdoctoral en un laboratorio de excelencia dentro de Europa
- La beca IEF financia 2 años de postdoc
- El candidato tiene que cambiar de país para conocer el sistema científico de otro país miembro

# Requisitos generales:

- Elegir un laboratorio host competitivo, en el que no trabajes todavía (o menos de 1 año)
- Mucho tiempo para trabajar bien la solicitud
- El plazo de solicitar la beca es cada año en Agosto
- Solicitar la beca con mucha antelación, antes de poder empezar la beca pasan por lo menos 1,5 años

# Estructura de la charla:

- Parte I: Cómo escribir una memoria IEF
- Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca
- Parte III: El caso práctico: proyecto IEF Thomas Widmann

# Las partes de una memoria IEF:

- Part A, asuntos administrativos:
  - A1: Summary of the proposal
  - A2: European host
  - A3: Fellow / candidate
  - A4: Budget
- Part B, la descripción del proyecto etc:
  - Research and technological quality
  - Training
  - Researcher
  - Implementation
  - Impact

# Part A, asuntos administrativos

Page 1 out of 1

**RE A** **Proposal Submission Form**

**Research Executive Agency**  
7th Framework Programme  
for Research and Technological  
Development

Marie Curie Actions  
Intra-European Fellowships (IEF)

**A1:**  
**Summary**

Proposal Number:  Proposal Acronym:

**General Information on the Proposal**

Proposal Title:

Marie Curie action-code:

Scientific Panel:

Duration in months:  Call Identifier:

Keywords (up to 200 characters):

Abstract (up to 2000 characters):  
The human genome is largely composed of non-coding DNA, only 3-5% codes for exons. The majority of the non-coding DNA is however fundamental for the correct functioning and regulation of the genome. Transposable elements (TEs) like LINEs generated up to 50% of the human genome during evolution. They can mobilize, causing mutations but also conferring genomic plasticity. The generation of new insertions in the germ line led to the concept of TEs as 'selfish' DNA. However, inconsistent with their hereditary transmission, it was recently shown by the host lab and others that most of the action of TEs occurs in somatic cells during early embryogenesis. Thus, to deeply understand the impact of the somatic activity of LINE elements, we propose to develop and use an In vivo mouse model for LINE transposition. We will use human embryonic stem cells (hESCs) and tissue-specific iPSCs, containing an eGFP-marked LINE reporter cassette. Once injected into immunosuppressed mice these cells will develop teratomas containing tissues of the 3 germ layers (endo, meso, ectoderm). For the proof of principle, the host lab has injected human embryonic carcinoma cells (hECs). With this model, we aim to answer the following: 1) Are LINEs active in all three germ layers? 2) Are LINEs differentially regulated, depending on the germ layer? 3) What's the impact of LINE activity in the somatic tissues? To answer these questions, we will FACS-sort parts of the teratoma into ecto-, meso-, and endoderm-like cells and map the site of new LINE insertions during development, using deep sequencing. We aim to detect hot spots of LINE integration, allowing the analysis of possible genetic and phenotypic consequences. Imaging of the rest of the teratoma will further show us cell types where transposition occurs with higher frequency and possible phenotypic alterations. We therefore hope to detect new principles of genomic plasticity that could regulate gene expression.

Has a similar proposal been submitted to a Marie Curie Action under this Framework Programme?

IF YES

Programme name(s) and year	Proposal number(s)
-	-
-	-
-	-

Does this proposal include any of the sensitive ethical issues detailed in the Research Ethical Issues table of Part B?

- 4 formularios que hay que bajar de la página web
- ...y rellenarlas detalladamente
- Summary, European host, Fellow, Budget

# Part A, asuntos administrativos

- Es muy importante tener el apoyo de una buena oficina de becas, como la de la FPS
- Hay que rellenar meticulosamente estos 4 formularios
- La oficina de becas puede también ayudar en la parte B, en los puntos implementación e impacto en la sociedad.

# Part B, la descripción del proyecto:

STARTPAGE

PEOPLE  
MARIE CURIE ACTIONS

Intra-European Fellowships (IEF)  
Call: FP7-PEOPLE-2011-IEF

PART B

“SOMATIC MOSAICISM”



# Part B, la descripción del proyecto:

Dr. Thomas Widmann	PART B	SOMATIC MOSAICISM Project FP7-PEOPLE-2011-IEF
<b>PART B – TABLE OF CONTENTS OF PROPOSALS</b>		
<b>B.1 RESEARCH AND TECHNOLOGICAL QUALITY (maximum 8 pages)</b>		3
B.1.1. Research and technological Quality, including any interdisciplinary and multidisciplinary aspects of the proposal		3
B.1.2. Appropriateness of research methodology and approach		6
B.1.3. Originality and innovative nature of the project, and relationship to the 'state of the art' of research in the field		9
B.1.4. Timeliness and relevance of the project		9
B.1.5. Host research expertise in the field		9
B.1.6. Quality of the group/supervisors		10
<b>B.2 TRAINING (maximum 2 pages)</b>		
B.2.1. Clarity and quality of the research training objectives for the researcher		11
B.2.2. Relevance and quality of additional scientific training as well as of transferable skills offered with special attention to exposure to industry sector, where appropriate		11
B.2.3. Host expertise in training experienced researchers in the field and capacity to provide mentoring/tutoring		12
<b>B.3 RESEARCHER (maximum 7 pages)</b>		13
B.3.1. Researcher Experience B.3.1.a Academic Achievements		13
B.3.2 Research results including patents, publications, teaching ect, taken into account the level of experience		15
B.3.3. Independent thinking and leadership qualities		16
B.3.4. Match between the fellow's profile and project		17
B.3.5. Potential for reaching a position of professional maturity		17
B.3.6. Potential to acquire new knowledge		18
<b>B.4 IMPLEMENTATION (maximum 6 pages)</b>		
B.4.1. Quality of infrastructure/facilities and international collaborations of host		19
B.4.2. Practical arrangements for the implementation and management of the research project		21
B.4.3. Feasibility and credibility of the project, including work plan		22
B.4.4. Practical and administrative arrangements, and support for the hosting of the fellow		23
<b>B.5 IMPACT (maximum 5 pages)</b>		25
B.5.1. Potential of acquiring competencies		25
B.5.2. Contribution to career development or re-establishment where relevant		25
B.5.3. Contribution to European excellence and European competitiveness		26
B.5.4. Benefit of the mobility to the European Research Area		26
B.5.5. Impact of the proposed outreach activities		27
<b>B.6 ETHICS ASPECTS</b>		28
<b>B.7 ANNEX</b>		34

# Research and technological Quality

<b>B.1 RESEARCH AND TECHNOLOGICAL QUALITY (maximum 8 pages)</b> .....	3
<b>B.1.1. Research and technological Quality, including any interdisciplinary and multidisciplinary aspects of the proposal.</b> .....	3
<b>B.1.2. Appropriateness of research methodology and approach.</b> .....	6
<b>B.1.3. Originality and innovative nature of the project, and relationship to the 'state of the art' of research in the field</b> .....	9
<b>B.1.4. Timeliness and relevance of the project</b> .....	9
<b>B.1.5. Host research expertise in the field</b> .....	9
<b>B.1.6. Quality of the group/supervisors</b> .....	10

Esto se refiere a la descripción del proyecto, con los siguientes aspectos:

- B1.1: Abstract, “state of the art”, objetivos del proyecto propuesto - aquí se resume el trabajo anterior del grupo host... y se deduce el proyecto nuevo desde trabajo anterior
- B1.2: Descripción metodológica de los objetivos propuestos – aquí es esencial tener datos preliminares del laboratorio host. Discusión de los posibles resultados /fallos de cada objetivo
- B1.3: Novedad del proyecto, porque se debería hacer esto. Un “high risk high gain approach” tiene ventajas en la evaluación
- B1.4: Impacto positivo de los resultados en la curación de enfermedades, beneficio para la sociedad europea
- B1.5: Excelencia tanto del centro investigativo como del grupo host dentro de su área de investigación: funding del centro, orientación científica del centro (p.ej. Stem cell research)
- B1.6: Excelencia del grupo host: historia investigativa del jefe de grupo (CV), funding y premios obtenidos, numero de artículos publicados, numero de postdocs y estudiantes PhD, etc., mostrando su capacidad de dirigir el proyecto de investigación propuesto

# Training

<b>B.2 TRAINING (maximum 2 pages)</b>	
<b>B.2.1. Clarity and quality of the research training objectives for the researcher .....</b>	<b>11</b>
<b>B.2.2. Relevance and quality of additional scientific training as well as of transferable skills offered with special attention to exposure to industry sector, where appropriate. 11</b>	
<b>B.2.3. Host expertise in training experienced researchers in the field and capacity to provide mentoring/tutoring .....</b>	<b>12</b>

Esto se refiere a la formación profesional adicional que va a obtener el candidato, al trabajar en el proyecto:

- B2.1: Contrastando el trabajo de doctorado del candidato con el nuevo proyecto propuesto, se detectan solapamientos de skills del candidato, pero también falta de conocimiento; el laboratorio host o colaboradores tienen que proveerle con los conocimientos ausentes, beneficiando al candidato y su desarrollo como investigador independiente.
- B2.2: Entrenamiento científico adicional ofrecido por el centro investigativo host, como descripción del ambiente científico allí, otros grupos destacados del centro y su posible interacción positiva con el candidato, curso de seminarios de científicos invitados, cursos de formación, etc... todo que mejore la formación científica del candidato
- B2.3: Experiencia previa del jefe de grupo host en entrenar estudiantes PhD o postdocs, éxito profesional de los estudiantes /postdocs después de su estancia en el grupo host

# Researcher

<b>B.3 RESEARCHER (maximum 7 pages)</b> .....	<b>13</b>
<b>B.3.1. Researcher Experience B.3.1.a Academic Achievements</b> .....	<b>13</b>
<b>B.3.2 Research results including patents, publications, teaching ect, taken into account the level of experience</b> .....	<b>15</b>
<b>B.3.3. Independent thinking and leadership qualities</b> .....	<b>16</b>
<b>B.3.4. Match between the fellow's profile and project</b> .....	<b>17</b>
<b>B.3.5. Potential for reaching a position of professional maturity</b> .....	<b>17</b>
<b>B.3.6. Potential to acquire new knowledge</b> .....	<b>18</b>

Esto se refiere al curriculum del candidato para la beca:

- B3.1: Experiencia del candidato: eso quiere decir curriculum del candidato. Empezando con sus logros científicos (descripción corta del proyecto Master y PhD del candidato), experiencia profesional e investigativa, lista de publicaciones, participación en conferencias, becas y meritos obtenidos - **en general, el curriculum del candidato NO es lo mas importante para esta beca.**
- B3.2: Descripción de los logros científicos del candidato, por ejemplo exponiendo los abstracts de los artículos anteriores de él, y su significancia
- B3.3: Deduciendo de los logros científicos y esfuerzos profesionales del CV del candidato se tiene que comprobar que el candidato es capaz e idóneo para llevar acabo el proyecto propuesto, de manera independiente y creativa
- B3.4: Se discute el encaje del candidato con el proyecto: es posible e incluso deseable que el candidato cambie a un nuevo campo investigativo... siempre que se motive bien el cambio!!!
- B3.5: Se discute a partir del CV del candidato su capacidad de formarse para las tareas del nuevo proyecto, de adquirir el conocimiento necesario. Y se discute el beneficio del proyecto para él.
- B3.6: Se discute a partir del CV del candidato su capacidad de aprendizaje e innovación

# Implementation

## **B.4 IMPLEMENTATION (maximum 6 pages)**

<b>B.4.1. Quality of infrastructure/facilities and international collaborations of host .....</b>	<b>19</b>
<b>B.4.2. Practical arrangements for the implementation and management of the research project .....</b>	<b>21</b>
<b>B.4.3. Feasibility and credibility of the project, including work plan .....</b>	<b>22</b>
<b>B.4.4. Practical and administrative arrangements, and support for the hosting of the fellow.....</b>	<b>23</b>

Esto se refiere a cómo se va a poder implementar el proyecto de manera práctica en el centro investigativo:

Para rellenar esta sección una buena colaboración de la oficina de becas del centro host es favorable.

- B4.1: Descripción detallada de la infraestructura del centro host /del grupo (facilities, aparatos disponibles, tecnologías dominadas por el host lab). Lista de colaboradores internacionales del host lab.
- B4.2: Implementación práctica del proyecto: Gestión a groso modo (aspectos administrativos, legales, financieros; ), en nuestro caso por la FPS; gestión dentro del grupo host: control del trabajo por lab meetings, project meetings, etc.
- B4.3: viabilidad y credibilidad del proyecto: aquí se distribuyen los experimentos propuestos en B1 a los 2 años que dura la beca, generando un “work plan”. Éste consiste de workpackages. La sección termina con la conclusión que el proyecto es viable.
- B4.4: acuerdos administrativos y prácticos, soporte para el candidato cuando llega: esta parte es mejor que lo rellene la oficina de becas, es importante proponer un plan de acogida, con buen soporte para el candidato por parte del centro host. Esto incluye también la promesa del pago puntual al becario.

# Implementation

Workpackages (WPs)	Months								
	0	3	6	9	12	15	18	21	24
WP1	X	X	X	X	X	X	X	X	
WP2			X	X	X	X			
WP3				X	X	X	X	X	X

*Work plan Chart*

# Impact

<b>B.5 IMPACT (maximum 5 pages)</b> .....	<b>25</b>
<b>B.5.1. Potential of acquiring competencies</b> .....	<b>25</b>
<b>B.5.2. Contribution to career development or re-establishment where relevant</b> .....	<b>25</b>
<b>B.5.3. Contribution to European excellence and European competitiveness</b> .....	<b>26</b>
<b>B.5.4. Benefit of the mobility to the European Research Area</b> .....	<b>26</b>
<b>B.5.5. Impact of the proposed outreach activities</b> .....	<b>27</b>

Esto se refiere a l impacto positivo que podría tener la puesta en marcha del proyecto propuesto:

- B5.1: Potencial para el candidato de adquirir nuevas competencias: éste surge por ejemplo: desde el ámbito científico del centro host, desde el aprendizaje de las técnicas nuevas (detalladas anteriormente), desde supervisiones de estudiantes, desde colaboraciones internacionales que sean necesarias para llevar acabo el proyecto...
- B5.2: Contribución al desarrollo de la carrera profesional del candidato: aquí se puede dar una vista hacia el futuro, cómo el proyecto propuesto va a ayudarle al candidato en su desarrollo hacia un científico independiente y jefe de grupo...
- ...para concluir en B5.3 que este científico bien formado va a contribuir a la excelencia y competitividad europea. Se consta aquí también que el proyecto propuesto esta de acuerdo con las líneas propuestas por el 7 programa marco.
- B5.4: Se detallan posibles beneficios de la puesta en marcha del proyecto para la ciencia en Europa, sobre todo refiriéndose a colaboraciones resultantes a largo plazo, transferencia de conocimiento dentro de Europa... y finalmente que la beca evitaría una “pérdida” del candidato a EEUU...
- B5.5: Impacto de actividades de difusión en la sociedad: la beca exige difusión, por eso es necesario explicar posibles vías de difusión, como a través de días informativos, periódicos, TV, social media, etc

## Efecto de la temperatura en la movilidad del retroelemento humano LINE-1.

David Anguita Guerrero<sup>1</sup>, Irene Lorite Fuentes<sup>2</sup>, Javier Marín Escalona<sup>3</sup>, Cristina Soriano Ramos<sup>4</sup>, Yasmin Taljouh Taljouh<sup>1</sup>, Suyapa Amador Cubero<sup>1</sup>, Aerea Pérez Padial<sup>1</sup>, Andrés Pulgarín Rocha<sup>4</sup>, Thomas Widmann<sup>1</sup> y José L. García-Pérez<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Todos los autores contribuyen igualmente a este trabajo y se citan alfabéticamente.

<sup>1</sup> IES Severo Ochoa, Granada.

<sup>2</sup> IES Francisco Ayala, Granada.

<sup>3</sup> IES Jiménez de Quesada, Santa Fe, Granada.

<sup>4</sup> GENYO, Centro de Genómica e Investigación Oncológica; Pfizer/Universidad de Granada/ Junta de Andalucía.



### INTRODUCCIÓN

**El genoma humano.**  
 Un genoma es la totalidad de la información hereditaria (la secuencia) de DNA de un organismo, la cual está codificada en el DNA o bien, para muchos tipos de virus, en el RNA. El genoma incluye tanto los genes como las secuencias no codificantes del DNA. Los organismos diploides tienen dos copias de genoma en sus células, debido a la presencia de pares de cromosomas homólogos. Los organismos o células haploides solo contienen una copia. También existen organismos poliploides, con grupos de cromosomas homólogos. El ser humano tiene un genoma diploide que consta de unos 30.110 pares de bases aproximadamente, con 23 pares de cromosomas en el núcleo de cada célula humana diploide los cuales contienen unos 25000/20000 genes aproximadamente. Alrededor del 2% de genoma humano codifica proteínas, y una porción similar participa en la regulación génica. Sin embargo, se desconoce la función de la mayor parte del genoma.

**Elementos móviles del DNA.**  
 Los elementos transposables son secuencias de DNA móviles que se hallan en los genomas de todos los organismos. La mayoría de los elementos transposables pueden insertarse en muchos sitios diferentes del genoma. Con frecuencia estos elementos producen mutaciones, sea por medio de la inserción en otro gen interrumpiéndolo o de la inducción de ordenamientos en la secuencia de DNA como por ejemplo deleciones, duplicaciones e inversiones. Hay muchos tipos diferentes de elementos transposables, algunos tienen estructuras simples y solo cuentan con las secuencias necesarias para su propia transposición, mientras que otros poseen estructuras complejas y codifican varias funciones que no se relacionan con la transposición de manera directa. A pesar de estas variaciones muchos elementos transposables tienen ciertas características en común.

**Elementos móviles activos en el genoma humano.**  
 Casi el 45% del genoma humano está compuesto por secuencias derivadas de elementos transposables, aunque hoy la mayor parte de estos elementos son inactivos y ya no pueden transponerse. El genoma humano posee muchas copias de un elemento genómico denominado LINE (en concreto LINE-1 o L1, por long interspersed element). Los elementos LINE-1/L1 utilizan un mecanismo de retrotransposición denominado TPRT, y en cierta medida poseen una estructura similar a la de los retrovirus y la mayor parte de los LINEs presentes en el genoma humano están truncadas en el extremo 5'. Hay aproximadamente 500.000 copias de LINE en el genoma humano, que en conjunto representan el 21% del DNA humano total. Sin embargo, la mayoría son telómeros no móviles pero hay un pequeño número de elementos LINE-1 activos en nuestro genoma.

**Elementos LINE-1 activos en nuestro genoma.**  
 Pese a que cada célula humana contiene más de medio millón de elementos L1, ha sido determinado que un genoma humano referencial aun posee entre 50-100 elementos LINE-1 activos. Así, en nuestro genoma actual la mayoría de los elementos L1 no son activos en la actualidad, y son copias que se han insertado a lo largo de la evolución humana (es decir, son fósiles). Sin embargo, aun tenemos una fracción de elementos L1 activos con capacidad de impactar nuestro genoma. Los elementos LINE-1 activos se replican activamente en nuestro genoma, y están distribuidos en todos los cromosomas. Los elementos LINE-1 activos contienen las enzimas requeridas para su movilidad, que ocurre mediante un mecanismo conocido como TPRT por Target Primed Reverse Transcription (Figura 1).

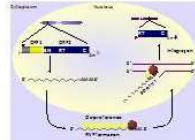


Figura 1.- Estructura bioquímica y de funcionalidad. Han permitido definir un elemento L1 activo como una secuencia de unos 800 a 6000 pb, que contiene una región 5' no traducida de unos 500 pb 3'UTR, por Long Interspersed Element. Los elementos LINE-1/L1 utilizan un mecanismo de retrotransposición denominado TPRT, y en cierta medida poseen una estructura similar a la de los retrovirus y la mayor parte de los LINEs presentes en el genoma humano están truncadas en el extremo 5'. Hay aproximadamente 500.000 copias de LINE en el genoma humano, que en conjunto representan el 21% del DNA humano total. Sin embargo, la mayoría son telómeros no móviles pero hay un pequeño número de elementos LINE-1 activos en nuestro genoma.

**Efectos de la transposición en el genoma humano.**  
 Al poder los elementos transposables insertarse en otros genes y alterar su función, la transposición es en general mutagénica. Varios casos de enfermedades genéticas humanas han sido atribuidas a la inserción de un elemento genético transponible en un gen vital (Figura 2). Aunque la mayor parte de estas mutaciones son nocivas, en ocasiones la transposición puede activar un gen o cambiar el tiempo de la célula de una manera beneficiosa.



Figura 2.- Efecto de la transposición de un elemento L1 en el genoma (ocurrencia) y reactivación mediada por su presencia (evento).

**Temperatura corporal.**  
 La temperatura corporal no es constante en todo nuestro cuerpo, al igual que nuestros órganos no mantienen la misma temperatura en el cuerpo. Por ejemplo, la temperatura del hígado oscila los 38°C, del mismo modo que los testículos se encuentran a una temperatura cercana los 34-35°C. En general la temperatura corporal es el resultado de la actividad del cuerpo (tanto órganos, como reacciones...) que generan cierta actividad y en consecuencia temperatura. La temperatura media oscila los 37°C. Sin embargo, la temperatura corporal puede verse afectada por numerosas situaciones cotidianas: procesos febriles, actividad física, hora de día y exposición a ambientes fríos/calurosos (Figura 3). Por tanto la temperatura corporal no es constante y esta controlada por numerosos factores.

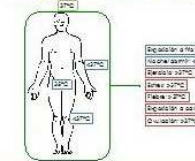


Figura 3.- Secuencia de las temperaturas del cuerpo humano. A la derecha se muestran diferentes situaciones donde la temperatura del cuerpo varía.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Pritchard, J. 2010. Genética de la evolución. Investigación y Ciencia, 411, 1421.  
 2. Pritchard, J. 2010. Genética. Un enfoque conceptual. 2ª Edición. Ali, Barcelona.  
 3. Wilson, J. V. et al. High frequency retrotransposition in cultured mammalian cells. Cell 67, 101-107 (1990).  
 4. Wilson, J. V. Human L1 retrotransposition: insight and possibilities derived from cultured cell transposition assays. Genome 107, 25-31 (2000).

5. Deane, W. A. & Denzler, P. L. An repeats and human genomic diversity. Nat Rev Genet 3, 270-274 (2002).  
 6. Jackson, H. H. L1 retrotransposition shapes mammalian genomes. Science 281, 1150-1152 (2003).  
 7. Wilson, J. V., Joseph, T. A., Joseph, S. & Wilson, J. V. Genetic diversity in cultured human cells: an evolutionary impact of L1 retrotransposition. Ann N Y Acad Sci 284, 433-435 (1992).

### HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

**Hipótesis:** La movilidad de los elementos LINE-1 ocurre en tejidos humanos. No todos los tejidos humanos poseen la misma temperatura, y no se conoce si este es un factor que afecte la movilidad de elementos móviles.

**Objetivo:** Determinar si la temperatura afecta la movilidad de un retrotransposón activo humano en células en cultivo.

### MÉTODOS

Para estudiar el efecto de la temperatura sobre la movilidad de LINE-1, se ha utilizado un ensayo de retrotransposición en células en cultivo. Este ensayo está basado en un artículo publicado en 1996 por el investigador John Moran y colaboradores. Brevemente, en este ensayo se utiliza el principio de que la movilidad de LINE-1 ocurre a través de un RNA intermediario para activar un gen reportero ISO tras un evento de retrotransposición (Figura 4a).

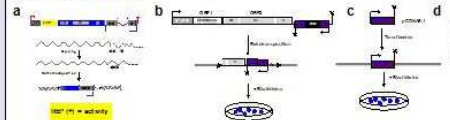
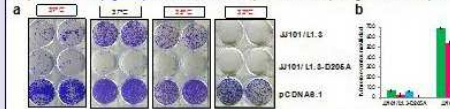


Figura 4.- Secuencia de los métodos utilizados.

En este proyecto, hemos utilizado un plásmido de DNA que contiene un LINE-1 humano activo (denominado L1.3) marcado con un gen REP que confiere resistencia a un antibiótico escarlatina denominado básicamente. De esta forma, aquellas células con una nueva inserción de LINE-1 crecerán en presencia de este antibiótico, y su número permite determinar la tasa de movilidad de LINE-1 (Figura 4b). Como control se utilizó un vector mutante y un vector denominado pCON46.1 que confiere resistencia a la escarlatina, pero sin requerir inserción de LINE-1 (Figura 4a). Estos experimentos se realizaron a 32, 35, 37 y 39 °C usando células humanas HeLa y un protocolo establecido por Wei y colaboradores (Figura 4d).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En primer lugar, se realizaron experimentos de retrotransposición a la temperatura de 32°C y a 37°C como control. Interesantemente, los resultados indican que LINE-1 no es capaz de movilizarse a 32°C (Figura 5a). Sin embargo, los controles muestran que el vector control pCON46.1 se comporta igual a ambas temperaturas. Por otro lado, el otro control interno (L1.0/L1.3-2/25A) demuestra que la movilidad de LINE-1 requiere de un dominio antinociceptivo funcional, ya que no se observa movilidad a ninguna temperatura. Por tanto, estos datos nos indican que en células HeLa en cultivo la movilidad de LINE-1 no ocurre a 32°C. A continuación, analizamos la movilidad de LINE-1 a 35°C. A diferencia que en el ensayo anterior, los resultados indican que LINE-1 se puede movilizar eficientemente a la temperatura de 35°C (Figura 5a). Como a 32°C, el control pCON46.1 se comporta igual a ambas temperaturas.



Finalmente, analizamos la movilidad de LINE-1 a la temperatura de 39°C, que reproduciría un proceso febril típico. A destacar, los experimentos realizados indican que la movilidad de LINE-1 está muy reducida a la temperatura de 39°C (Figura 5a). Por tanto, podemos concluir que la movilidad de LINE-1 en células HeLa se encuentra reducida a la temperatura de 39°C. En resumen, la movilidad del elemento móvil LINE-1 no ocurre eficientemente ni a 32 ni a 39 °C (Figura 5b).

### CONCLUSIONES Y FUTURAS DIRECCIONES

La primera conclusión a la que llegamos es que cuando la temperatura a la que son expuestas nuestras células se aleja de la temperatura normal del cuerpo (37°C) LINE-1 se aleja menos de lo normal. La movilidad de LINE-1 se afecta poco a 32°C (temperatura de los testículos humanos). Estos datos tienen sentido con su movilidad en la línea germinal masculina para favorecer la dispersión de nuevos LINE-1 en seres humanos. Por otro lado, la movilidad de LINE-1 se encuentra muy reducida a la temperatura de 39°C. Esta temperatura equivale a una fiebre alta severa. Por tanto, indican que la movilidad de LINE-1 se encuentra notablemente reducida a la temperatura de 39°C. Esto es interesante, ya que es una temperatura frecuente en procesos febriles o en situaciones de estrés. Especulamos, que la falta de actividad de LINE-1 a 39°C podría estar relacionada con su supresión en enfermedades que cursan con fiebre, con objeto de disminuir posibles daños futuros tras un proceso febril.

En futuros experimentos, analizaremos si la inhibición es directa (o mediada por algún factor celular), y si el control por temperatura afecta a otros elementos móviles como los SINEs.



# Ethics aspects y Annex

**B.6 ETHICS ASPECTS** ..... 28

**B.7 ANNEX** ..... 34

En los aspectos éticos se detallan:

- Tipo de experimentos que requieren aprobación ética, por ejemplo hESCs, embriones humanos, etc
- Leyes europeos , nacionales y locales que afectan la operabilidad de la beca
- Planificación de la aprobación ética por el comité ético de Andalucía
- Reduction, refinement, replacement del uso de animales en los experimentos

Anejo: referencias, figuras, endpage

# Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca

# Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca

## S&T evaluation:

- *Strengths*
  - *This is an inter- and multi-disciplinary and innovative research program with considerable potential impact on many aspects of research in human genetics and medicine.*
  - *The state-of-the-art in the field is very professionally described and properly referenced.*
  - *Overall strategic objectives and specific objectives are clearly specified.*
  - *A sound experimental detail is provided to demonstrate the feasibility and credibility of the approach, including advanced techniques and experimental models validated at the host institute as well as recently generated proof of principle data on the most challenging research issues.*
  - *Originality and innovative aspects of the proposal are clearly specified; the results will shed light on mechanisms of transposition and its impact on genomic plasticity/gene expression.*
  - *The study is timely and highly relevant to basic molecular genome evolution studies as well as to medical studies on carcinogenesis.*
  - *The host has top-level expertise in the research field and extensive international collaboration.*
  - *The supervisor is a specialist in the field of mobile DNA elements, including LINE-1 retro-transposons, has experience in training, and documented expertise in leading research projects.*
- *Weakness*
  - *Possible shortcomings of the research approach could have been presented in more detail (e.g. disadvantages of using pluripotent ES and iPS cells as a model for totipotent embryo, and of measuring the activity of retroposons in an artificial system as a model of endogeneous retroposons), but this is a minor weakness.*
  - *The scope of the project appears to be overambitious for the duration of the fellowship.*

**Score: 4.6 out of 5 (weight 0.25)**

# Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca

## Training evaluation:

- *Strengths*
- *• The training program will be detailed in a personal career development plan established in accordance with the European Charter.*
- *• The training objectives are clearly presented to provide high valuable skills and scientific knowledge so to promote effective development of the researcher's career.*
- *• Training in transferable skills is offered, through formal events on topics such as IPRs, entrepreneurship, project management and communication.*
- *• The supervisor has experience in training experienced scientists (5 post-doctoral fellows).*
- *Weaknesses*
- *• Potential training interactions that the applicant may have besides the host lab, particularly in terms of interdisciplinary training, are not described in depth.*
- *• Plans for monitoring the progress in training lack detail.*

**Score: 4.5 out of 5 (weight 0.15)**

# Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca

## Researcher evaluation:

- *Strengths*
- *• Research experience, including international training, of the applicant is clearly described.*
- *• The applicant has a good teaching experience, a record of student fellowships and participation in several developmental biology projects, and some experience in independent research management and in supervising students.*
- *• The CV indicates a capacity of initiative and independent thinking, pursuing long-term aims and a multitasking attitude.*
- *• There is a good match between the fellow's scientific background and the project. The enthusiasm for the field of research is genuine and strong.*
- *• Potential to acquire new knowledge is very good and well demonstrated in the applicant's CV.*
- *Weaknesses*
- *• There is no clear record of the applicant's own research grants.*
- *• The candidate will have to learn many novel techniques to efficiently execute planned experiments.*
- *• There is not sufficient evidence of leadership qualities, and a potential for reaching a position of professional maturity at the end of the fellowship is not clearly addressed.*
- **Score: 4.3 out of 5 (weight 0.25)**

# Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca

## Implementation evaluation:

- *Strengths*
- *• International collaborations of the host as well as infrastructure and facilities are very good and well documented.*
- *• Practical arrangements for the implementation, management and progress monitoring of the research project during all phases of the project are very well prepared and described in detail.*
- *• The work plan is credible and very well articulated, with logical steps and clearly identified objectives and tasks.*
- *• The host laboratory offers top-quality assistance and help in the research work.*
- *• Practical and administrative arrangements for hosting of the fellow by both hosts are described in detail*
- *• A conscious effort has been made to anticipate pitfalls, and suggestion of alternative solutions is provided.*
- *Weaknesses*
- *• The work plan would appear overambitious; in spite of a contingency plan been provided, it may not be feasible during the timeframe of the MC research fellowship.*
- *• Deliverables are not clearly listed.*
- **Score: 4.7 out of 5 (weight 0.15)**

# Parte II: Evaluación de la propuesta, presupuesto de la beca

## Impact evaluation:

- *Strengths*
- *• The potential of strengthening and diversifying the existing research experience of the applicant is very high.*
- *• The contribution of the fellowship to the applicant's career development is convincingly presented.*
- *• The expected results will undoubtedly contribute to European excellence and competitiveness.*
- *• Reintegration of the well-trained candidate in the hosting institution will contribute to increase Europe's competitiveness in the field.*
- *• The mobility will be beneficial to the applicant and to the ERA.*
- *• A range of adequate outreach activities are proposed, with the active involvement of FPS.*
- *Weaknesses*
- *• Immediate prospects of reaching professional maturity/independence through exposure to complementary skills training are not sufficiently demonstrated.*
- *• The main contribution to European excellence and competitiveness will be the effect of the project rather than of the fellow.*
- *• The issues associated with stem cells have a strong impact on society, and this aspect could have been addressed more thoroughly.*
- **Score: 4.6 out of 5 (weight: 0.20)**

**Total: 90.5 of 100**

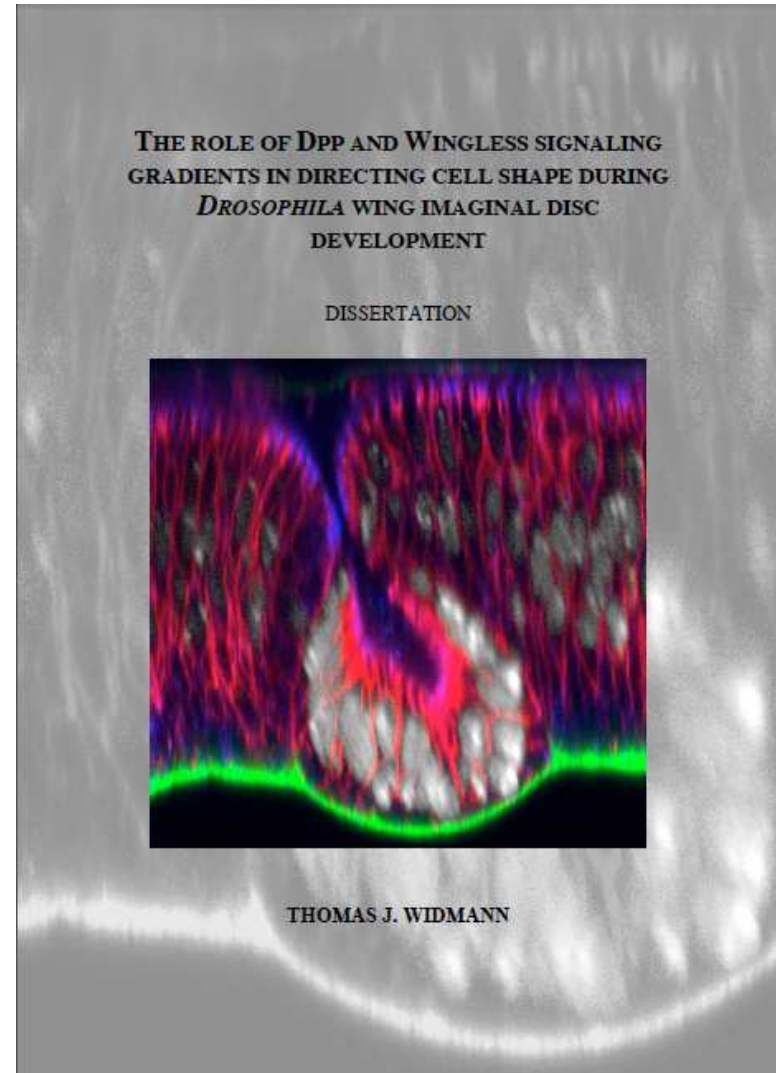
La beca está muy bien renumerada, el volumen es de unos 150000 euros.

# Parte III: El caso práctico: proyecto IEF

## Thomas Widmann

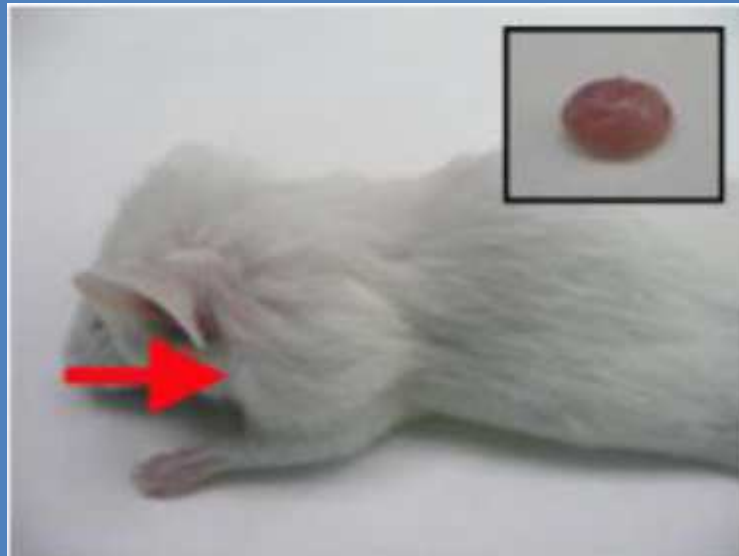


# Fondo profesional: biología del desarrollo y celular



...y ahora un gran cambio en el interés científico:

**Somatic mosaicism of the genome by LINE-1: development of a hESC teratoma model**



Thomas Widmann and José Luis García Pérez, GENYO, Granada, Spain

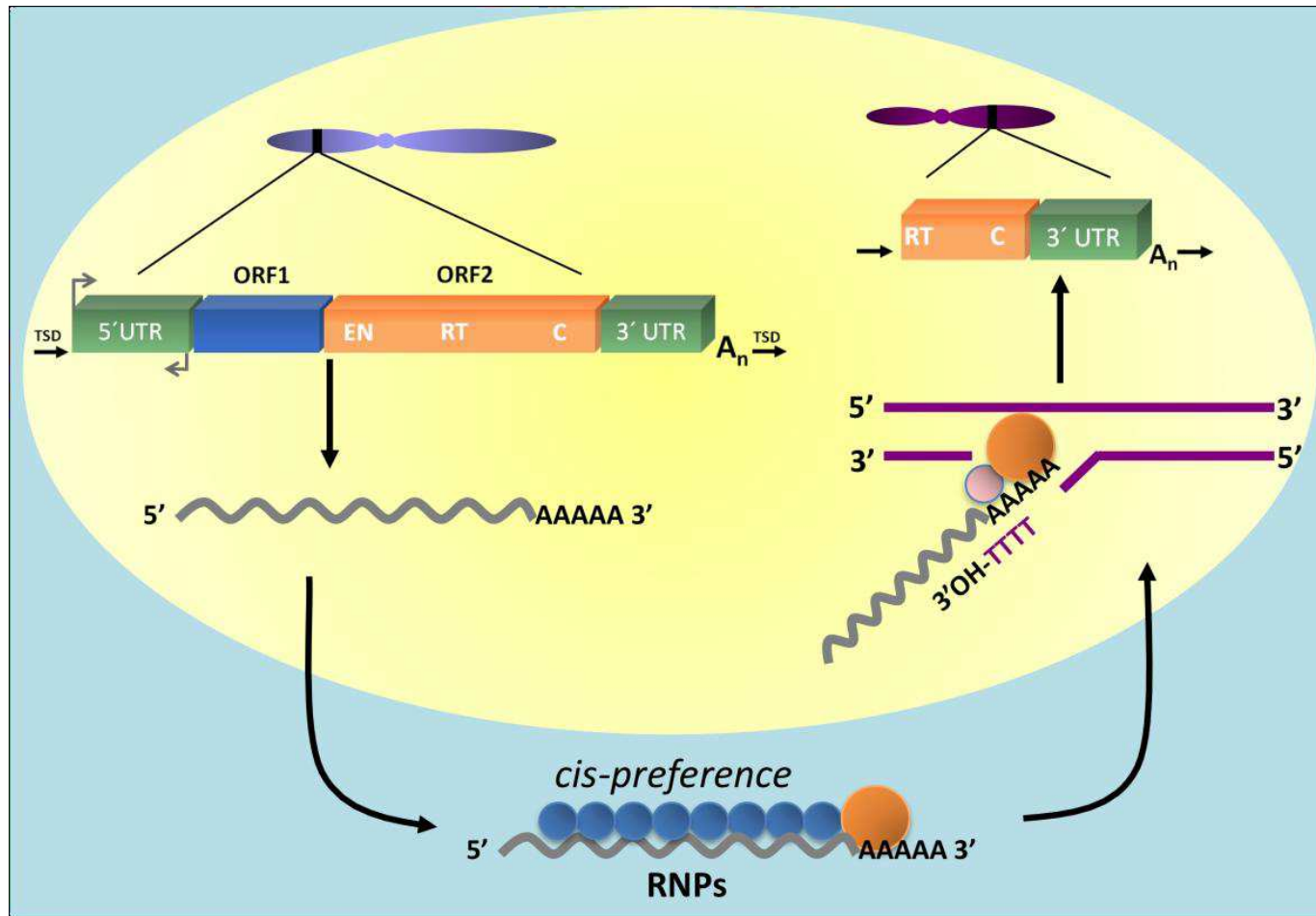
# Retroelements

- Generated about half of our human genome
  - Thought to be selfish DNA
  - Recent paradigm shift to somatic insertions, especially in the brain
- Where do new somatic retroelement insertions occur? What are their functions? Effects on cognition and thinking??

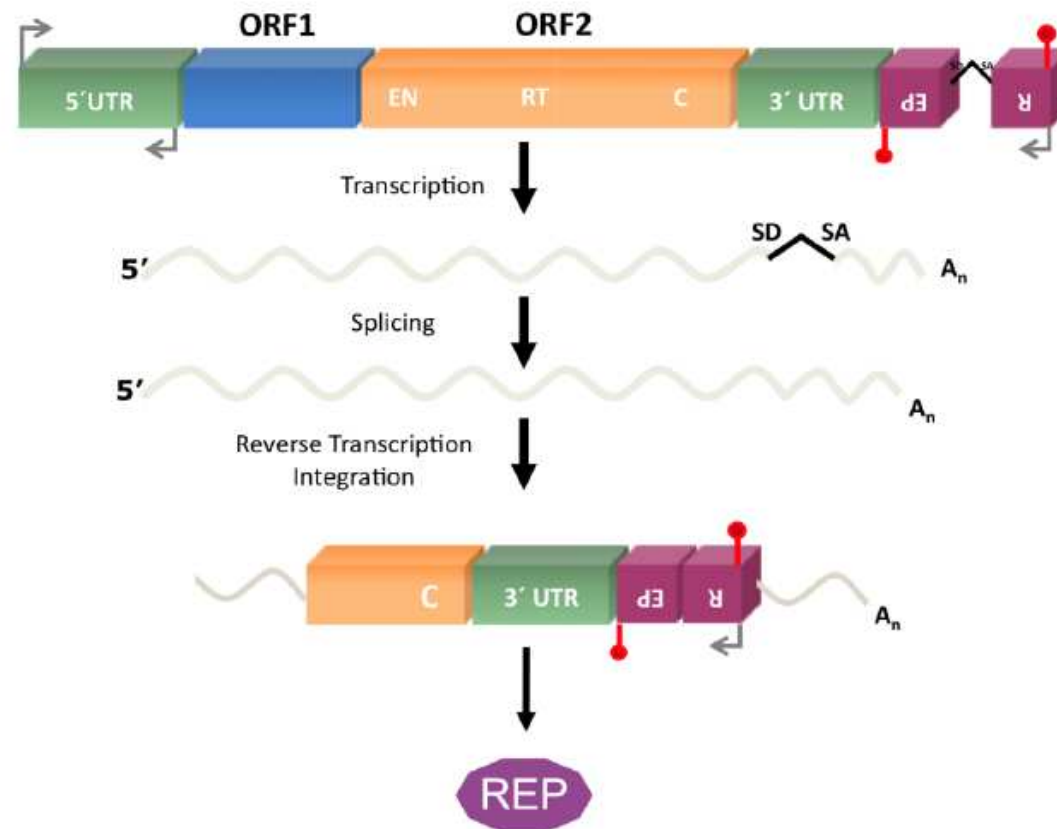
# Objetivos:

- 1) Are LINEs active in all three germ layers?
- 2) Are LINEs differentially regulated, depending on the germ layer?
- 3) What's the impact of LINE activity in the somatic tissues?

# Structure of RC-L1s and proposed model of retrotransposition

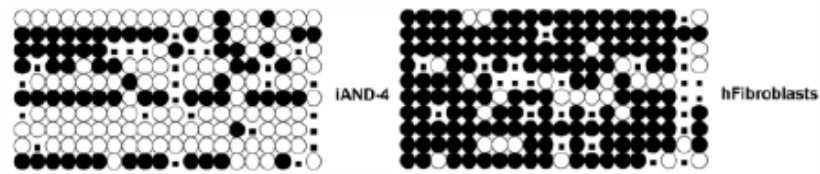


# The L1 retrotransposition assay

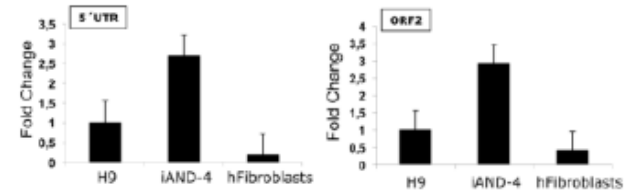


# L1 expression is reinstated in iPSCs

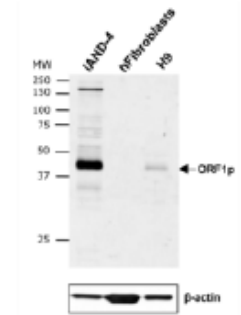
**a**



**b**

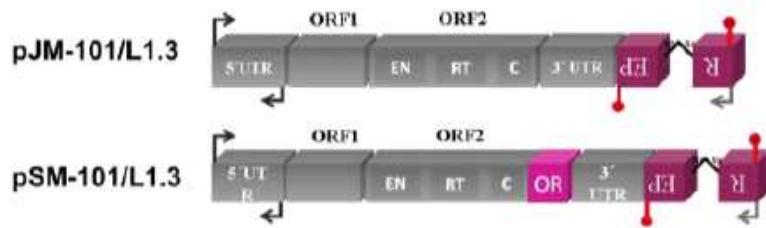


**c**

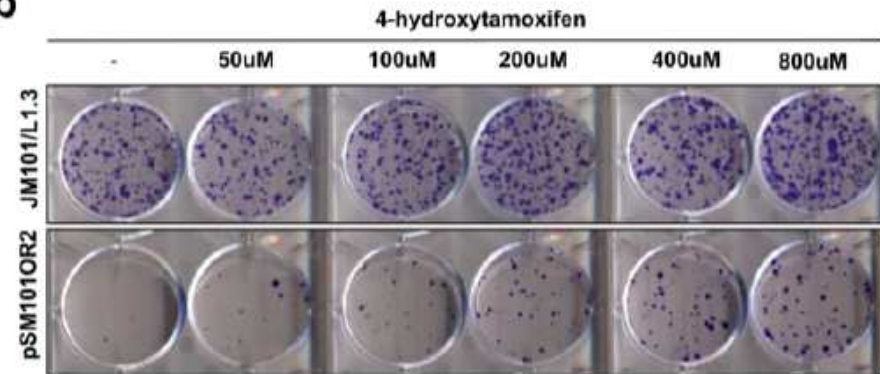


# An inducible-engineered L1 retrotransposition assay

a

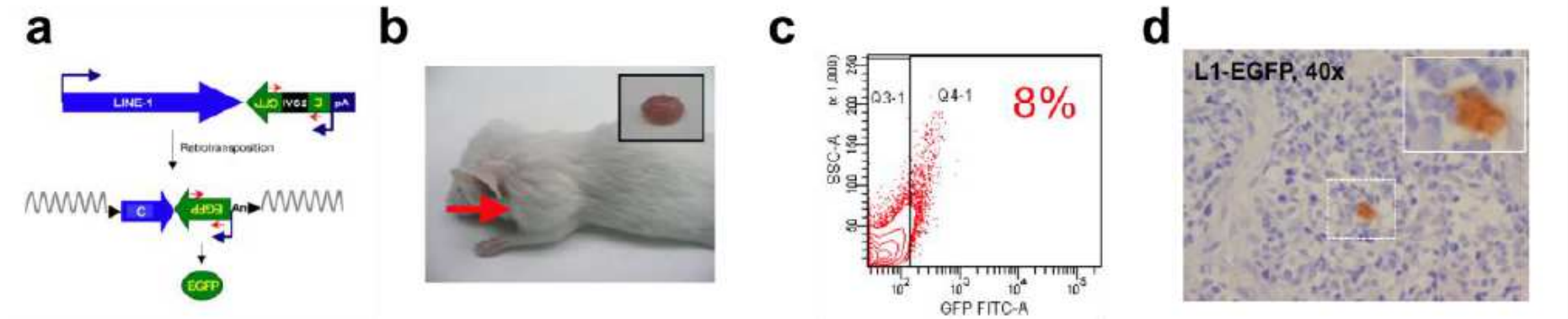


b





# Teratoma/retrotransposition assay in PA-1 cells



**GRACIAS**



**POR SU ATENCIÓN..!**