

MI PROYECTO DE TESIS

Desentrañando el papel de p73 en la adhesión celular y sus implicaciones en contextos sanos y tumorales

Nicole Martínez-García^{1,2}

¹ Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León.

² Departamento de Producción Animal, Área de Producción Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

nmartg@unileon.es

El grupo de investigación en el que estoy desarrollando mi tesis doctoral está interesado en el estudio de la familia génica de p53, cuyos miembros (p53, p73 y p63) son factores de transcripción implicados en múltiples procesos fisiológicos. Nuestro grupo, junto con otros, ha demostrado que el gen *TP73*, en el que se centra mi proyecto, regula procesos como la angiogénesis (Fernandez-Alonso *et al.*, 2015), o el mantenimiento de las células troncales neurales (Gonzalez-Cano *et al.*, 2010), siendo esencial para la organización del nicho neurogénico de la zona subventricular del cerebro murino (Gonzalez-Cano *et al.*, 2016), o para el mantenimiento de la red vascular (Maeso-Alonso *et al.*, 2022). Todo ello apunta a que p73 desempeña un papel central durante el desarrollo embrionario, siendo esencial para la organización estructural de algunos microambientes complejos, lo cual nos ha llevado a proponer que este gen actúa como un arquitecto tisular. En ese escenario, también resulta fácil imaginar cómo alteraciones en la expresión de este gen podrían favorecer la generación de tumores y la progresión tumoral. Dado que el mantenimiento de la homeostasis y la arquitectura tisular depende, en gran medida, de las adhesiones que establecen las células tanto entre ellas como con la matriz extracelular (ECM), mi tesis doctoral se ha centrado en elucidar los mecanismos moleculares mediante los cuales p73 regula la adhesión celular en contextos fisiológicos y patológicos.

La adhesión celular se lleva a cabo a través de una red de proteínas estructurales y de señalización denominada adhesoma. Las células expresan en su superficie una serie de receptores específicos, denominados moléculas de adhesión, que al unirse a su ligando desencadenan cambios en la señalización celular y en el citoesqueleto, regulando así determinadas respuestas celulares (Alberts *et al.*, 2022). De esta manera el adhesoma es fundamental para el mantenimiento de la arquitectura tisular y controla diversos procesos celulares, como la proliferación, la muerte, la pluripotencia o la migración celular.

Las adhesiones **célula-célula** juegan un papel crucial no solo en la integridad estructural de los epitelios, sino también en la regulación de la capacidad de autorrenovación y pluripotencia (*stemness*) de las células troncales embriona-

rias (ESCs; Soncin y Ward, 2011), a partir de las cuales se derivan todos los tejidos embrionarios. Por lo que respecta a las adhesiones **célula-ECM**, son claves en la migración celular, involucrada en el desarrollo, la respuesta inmunitaria y en la invasión y metástasis tumoral, entre otros (Ridley *et al.*, 2003).

La hipótesis planteada es que p73 regula, directamente y/o indirectamente, la composición y funcionamiento de las adhesiones celulares e influye en procesos clave, como el mantenimiento de la arquitectura tisular, el *stemness* de las ESCs y la capacidad de migración celular, teniendo su eliminación implicaciones importantes tanto en células sanas como tumorales.

Para abordar este proyecto, hemos empleado diferentes modelos celulares (**Fig. 1**). En primer lugar, generamos células ESCs murinas en las que inactivamos *Trp73* mediante el sistema de edición génica CRISPR/Cas9. En estas células analizamos tanto la función de p73 en las adhesiones celulares como en el mantenimiento del *stemness* (López-Ferreras *et al.*, 2021). Debido al bajo número de adhesiones célula-ECM que forman las ESCs, decidimos utilizar fibroblastos embrionarios de ratón (MEFs) para desentrañar la función de p73 en el establecimiento y maduración de dichas adhesiones y la migración celular. Para ello, hemos caracterizado las adhesiones célula-ECM mediante microscopía confocal y realizado análisis proteómicos para determinar la composición de los complejos de adhesión, al tiempo que hemos estudiado, mediante microscopía de *time-lapse*, las consecuencias funcionales de la falta de p73 sobre la migración celular. Por último, estamos utilizando células de cáncer de mama metastático, con o sin expresión de p73, (SUM159, Lambert *et al.*, 2022) para investigar la función de este gen en un contexto tumoral, centrándonos en el estudio de las adhesiones célula-ECM y la capacidad de migración. En estos momentos estamos optimizando un modelo de invasividad en 3 dimensiones para analizar el papel de *TP73* durante la invasión y metástasis tumoral.

Los resultados de este proyecto permitirán comprender mejor los mecanismos moleculares mediante los cuales p73 regula la adhesión celular. Estas adhesiones son necesarias para el correcto mantenimiento de la arquitectura tisular, el *stemness* de las células troncales y la migración celular. Estos procesos tienen una gran relevancia en la progresión, invasión y metástasis tumoral, por lo que nuestros resultados podrían contribuir al desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.

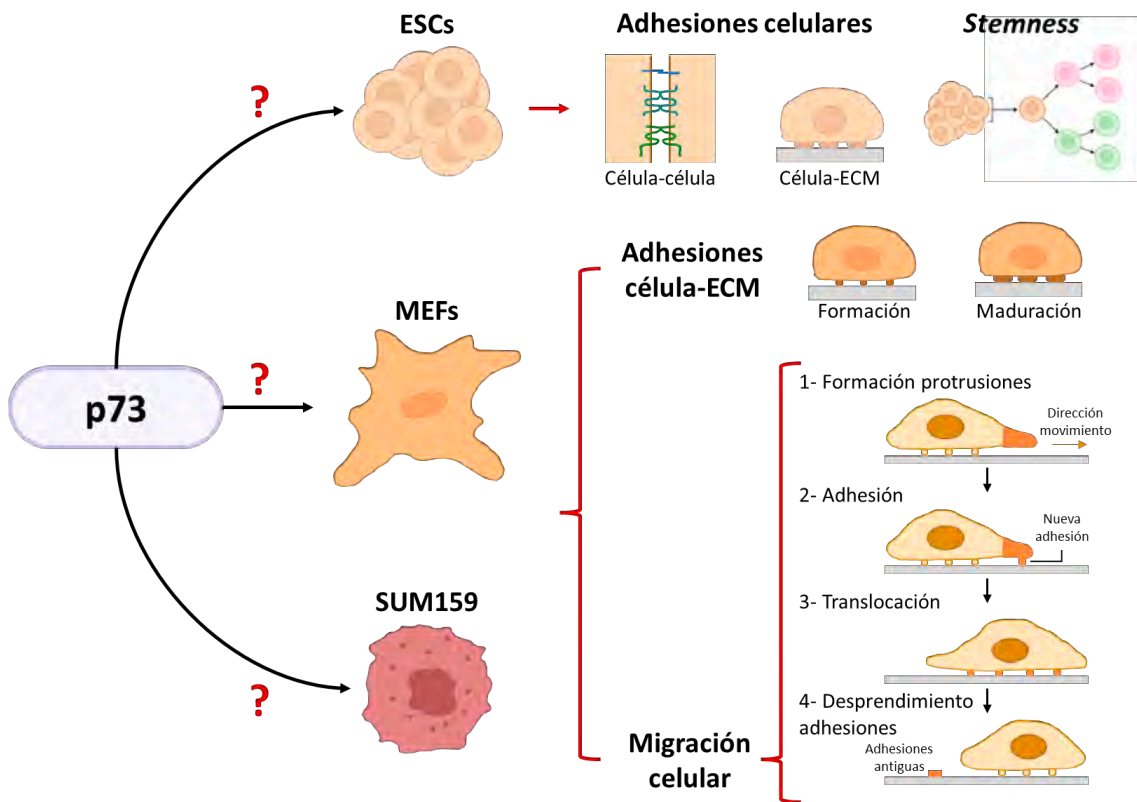


Figura 1. Estudio del papel de p73 en la adhesión celular y sus implicaciones funcionales en contextos sanos (ESCs, MEFs) y tumorales (SUM159).



Foto de la autora Nicole Martínez-García; directoras de la tesis doctoral: Dra. Carmen Marín (Dpto. de Biología Molecular) y Dra. Margarita Marqués (Dpto. de Producción Animal).

Referencias

- Alberts, B., Heald, R., Johnson, A., Morgan, D. *et al.* 2022. Cell junctions and the extracellular matrix. En *Molecular Biology of the Cell*, seventh edition (ed. Twitchell, B.), pp. 1105-1163, W.W. Norton & Company, Inc., Nueva York, Estados Unidos.
- Fernandez-Alonso, R., Martin-Lopez, M., Gonzalez-Cano, L., Garcia, S. *et al.* 2015. p73 is required for endothelial cell differentiation, migration and the formation of vascular networks regulating VEGF and TGF β signaling. *Cell Death & Differentiation*, 22:1287-1299.
- Gonzalez-Cano, L., Fuertes-Rabanal, S., Robledinos-Anton, N., Biz, A., Villena-Cortes, A. *et al.* 2016. p73 is required for ependymal cell maturation and neurogenic SVZ cytoarchitecture. *Developmental Neurobiology*, 76:730-747.
- Gonzalez-Cano, L., Herreros-Villanueva, M., Fernandez-Alonso, A., Ayuso-Sacido, A. *et al.* 2010. p73 deficiency results in impaired self-renewal and premature neuronal differentiation of mouse neural progenitors independently of p53. *Cell Death & Disease*, 1:e109.
- Lambert, A. W., Fiore, C., Chutake, Y., Verhaar, E. R., Strasser, P. C. *et al.* 2022. Δ Np63/p73 drive metastatic colonization by controlling a regenerative epithelial stem cell program in quasi-mesenchymal cancer stem cells. *Developmental Cell*, 57:2714-2730.
- López-Ferreras, L., Martínez-García, N., Maeso-Alonso, L., Martín-López, M. *et al.* 2021. Deciphering the nature of Trp73 isoforms in mouse embryonic stem cell models: Generation of isoform-specific deficient cell lines using the CRISPR/Cas9 gene editing system. *Cancers*, 13:3182.
- Maeso-Alonso, L., Alonso-Olivares, H., Martínez-García, N., López-Ferreras, L. *et al.* 2022. p73 is required for vessel integrity controlling endothelial junctional dynamics through Angiomotin. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 79:535.
- Ridley, A. J., Schwartz, M. A., Burridge, K., Firtel, R. A., Ginsberg, M. H. *et al.* 2009. Cell migration: integrating signals from front to back. *Science*, 302:1704-1709.
- Soncin, F. y Ward, C. W. 2011. The function of e-cadherin in stem cell pluripotency and self-renewal. *Genes*, 25:229-259.