



UNIVERSITAT DE
BARCELONA



Carme Franch Valldepérez

**ESTABLIMENT DE LES CONDICIONS PER A LA REALITZACIÓ
D'UN *SCREENING* AMB UNA LLIBRERIA DE CRISPR/CAS9 EN
CÈL·LULES MARE DE CÀNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIU**

TREBALL FINAL DE GRAU BIOTECNOLOGIA

Tutor acadèmic: Dra. Cristina Torres Fuentes, Departament de Bioquímica i Biotecnologia,
cristina.torres@urv.cat

En cooperació amb: Universitat de Barcelona, Institut de Recerca Biomèdica de Bellvitge
(IDIBELL)

Supervisora: Dra. Ruth Rodríguez Barrueco, Departament de Patologia i Terapèutica
Experimental, Universitat de Barcelona, rrodriguez@ub.edu

Setembre 2024

Jo, Carme Franch Valldepérez, amb DNI 47479469V, soc coneixedora de la guia de prevenció del plagi a la URV Prevenció, detecció i tractament del plagi en la docència: guia per a estudiants (aprovada el juliol 2017) (<http://www.urv.cat/ca/vidacampus/serveis/crai/que-us-oferim/formaciocompetencies-nuclears/plagi/>) i afirmo que aquest TFG no constitueix cap de les conductes considerades com a plagi per la URV.

Tarragona, 2 de setembre de 2024.

Es tracta d'un Treball de Fi de Grau amb caràcter **confidencial**.

Índex

1. RESUM	1
2. INTRODUCCIÓ	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.1. CÀNCER DE MAMA	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.2. CÀNCER DE MAMA TRIPLE NEGATIU	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.3. CÈL·LULES MARE DEL CÀNCER DE MAMA	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.4. GLICOSILACIÓ DE PROTEÏNES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.5. SCREENINGS AMB LLIBRERIES DE CRISPR/CAS9	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
2.6. RESULTATS PREVIS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
3. HIPÒTESI DE TREBALL I OBJECTIUS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4. MATERIALS I MÈTODES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.1. CULTIUS CEL·LULARS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.2. TESTS DE SENSIBILITAT	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.3. INFECCIONS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
4.4. ASSAIG DE FORMACIÓ DE TUMORESFERES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5. RESULTATS I DISCUSSIÓ DELS RESULTATS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.1. TESTS DE SENSIBILITAT	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.2. PROVES D'INFECCIÓ DEL SCREENING	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.3. ASSAIG DE FORMACIÓ DE TUMORESFERES	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.4. DISSENY DEL SCREENING	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.5. PROPOSTES PER AUGMENTAR LA MOI	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
5.6. CONSIDERACIONS FINALS I PERSPECTIVES DE FUTUR	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
6. CONCLUSIONS	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
7. BIBLIOGRAFIA	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
8. AUTOAVALUACIÓ	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

Dades del centre de pràctiques

Aquest treball ha estat realitzat al grup de recerca d'**Oncologia Translacional**, dirigit per la **Dra. Ruth Rodríguez Barrueco** a la Facultat de Medicina i Ciències de la Salut de la Universitat de Barcelona, situat a la Unitat d'Anatomia del Departament de Patologia i Terapèutica Experimental. Aquest grup forma part del grup de Càncer Ginecològic de l'Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL).

La recerca del grup se centra en el càncer de mama, especialment en el descobriment de noves dianes terapèutiques per als subtipus més agressius, com el **càncer de mama triple negatiu**, el qual presenta opcions de tractaments molt limitats, especialment en casos metastàtics. Concretament, es treballa per atacar a les **cèl·lules mare del càncer de mama**, les quals presenten una elevada plasticitat i són responsables de la resistència als tractaments i la metastasi. La seva eliminació selectiva és un repte a causa de la seva similitud amb les cèl·lules mare normals de la glàndula mamària. Tot i això, s'han vist diferències en els patrons de glicosilació de proteïnes de superfície, especialment en marcadors de cèl·lula mare, la qual cosa ofereix una possible via terapèutica.

Per identificar vulnerabilitats moleculars específiques de les cèl·lules mare del càncer de mama relacionades amb la glicosilació de proteïnes, el grup de recerca de la Dra. Ruth Rodríguez utilitza la tecnologia CRISPR/Cas9. Actualment, una de les línies de recerca principal és la realització de cribratges de pèrdua de funció utilitzant una **llibreria de CRISPR/Cas9** dirigida a gens relacionats amb la glicosilació de proteïnes per identificar gens essencials per a les cèl·lules mare del càncer de mama. Posteriorment, la recerca es basa en l'estudi dels gens diana resultants dels cribratges mitjançant el seu silenciament o sobreexpressió i la validació del seu paper a través d'assajos funcionals i experiments *in vivo*. Aquesta aproximació permetrà el desenvolupament de teràpies dirigides més efectives per als pacients amb els subtipus més agressius de càncer de mama.

El grup està format per professionals de diferents disciplines com la biologia, bioquímica i biomedicina amb una investigadora principal, una investigadora postdoctoral bioinformàtica, tres estudiants de doctorat i diversos estudiants de màster i grau, a més d'un tècnic de laboratori. El grup també col·labora amb altres grups de recerca i institucions, destacant l'Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), l'Associació Espanyola d'Investigació sobre el Càncer (ASEICA) i l'Associació Espanyola Contra el Càncer (AECC).

1. Resum

El **càncer de mama triple negatiu** (CMTN) és un dels subtipus de càncer de mama més agressius i amb menys opcions de tractaments efectives. Les **Cèl·lules Mare del Càncer de Mama** (BCSC) són una subpoblació tumoral amb una elevada plasticitat i propietats similars a les cèl·lules mare. Aquestes són responsables de la metastasi i la resistència als tractaments, i s'hi han detectat **patrons de glicosilació aberrants** en marcadors de cèl·lules mare. Per dilucidar quins gens són essencials per a les BCSC i responsables d'aquestes alteracions, s'utilitza una **llibreria de CRISPR/Cas9** dirigida a gens de glicosilació de proteïnes generada al propi laboratori.

En aquest treball, s'han posat a prova les condicions per a la realització d'un cribratge genètic combinat de selecció negativa en la **línia cel·lular HS578T** de càncer de mama triple negatiu utilitzant la llibreria esmentada. Concretament, s'han optimitzat les condicions per a la producció dels lentivirus amb la llibreria i la posterior infecció cel·lular amb una **Multiplicitat d'Infecció (MOI) inferior al 0,3**, i per a l'assaig funcional de formació de tumoresferes. Concretament, s'ha aconseguit obtenir una **MOI de 0,17**, a partir de la qual s'ha planificat al realització del cribratge i s'han discutit estratègies per millorar l'eficiència i viabilitat del procés. Tot i això, caldrien estudis addicionals per assolir una MOI més elevada, idealment més pròxima a 0,3, per facilitar l'execució del cribratge a gran escala. Finalment, la futura realització del cribratge permetria identificar vulnerabilitats de les BCSC que podrien ser explorades com a noves dianes terapèutiques amb importants implicacions clíniques.

Paraules clau

Cribratge/*Screening*, CRISPR/Cas9, Càncer de mama triple negatiu, Llibreria de CRISPR/Cas9, Glicosilació de proteïnes, Cèl·lules mare del càncer de mama.