

Jorge Bernardo Schwartzman Blinder

Profesor de Investigación
schwartzman@cib.csic.es



PhD, 1979
Universidad Politécnica de Madrid, España
Postdoctoral, 1980-1982
Brookhaven National Laboratory (New York, USA)
Fulbright Fellow, 1987-1989
Albert Einstein College of Medicine (New York, USA)
Científico Titular, 1985
Jefe de Grupo, 1980
Investigador Científico, 2002
Profesor de Investigación, 2007
CIB, CSIC

Investigadores del equipo | Staff scientists:

Dora Beatriz Krimer Smunis

Pablo Hernández Valenzuela

Otros miembros | Other lab members:

Jorge Cebrían Castillo
Vanessa Fernández Calleja
Alicia Castán García
José Manuel Belmonte Rodríguez

Celia Bolomburu
Idoia García Hernando
Leticia García Martínez
María-Luisa Martínez-Robles

<http://www.cib.csic.es/es/grupo.php?idgrupo=2>

Biología Molecular de los Cromosomas

Nos interesa la interrelación y coordinación de los procesos biológicos en los que está involucrado el DNA: replicación, transcripción, reparación y recombinación, cómo están regulados y cómo modifican o son afectados por factores genéticos, epigenéticos y ambientales como la topología del DNA, la organización de la cromatina y el estrés nutricional.

A) Utilizamos la electroforesis bidimensional en geles de agarosa para demostrar que la movilidad electroforética de moléculas de igual masa varía dependiendo de si están superenrolladas, encadenadas o anudadas. Esto nos ha permitido identificar las condiciones óptimas para distinguir cada familia de topoisómeros. También analizamos el comportamiento de minicromosomas circulares y lineales de *Saccharomyces cerevisiae* en células sincronizadas en presencia y ausencia de la topoisomerasa 2 (topo 2). Los resultados indican que la topo 2 no es necesaria para la replicación y segregación de cromosomas artificiales lineales de levaduras de pequeño tamaño (YACs). b) Hemos estudiado la replicación del DNA durante la diferenciación terminal en células eritroleucémicas murinas (MEL). Utilizamos la incorporación de BrdU, la citometría de flujo, el peinado del DNA y la tinción por inmunofluorescencia indirecta para demostrar que la velocidad de progreso de las horquillas replicativas se ralentiza y la distancia entre orígenes disminuye a medida que las células dejan de proliferar y se acumulan en G1. Proponemos que este comportamiento es general causado por la heterocromatinización, confirmada por la acumulación progresiva de la HP1 ∞ que caracteriza la diferenciación celular terminal. c) Una de las causas más importantes de inestabilidad genómica es la parada de las horquillas replicativas del DNA. Estudiamos los mecanismos celulares que previenen la parada de horquillas y aquellos que operan sobre las horquillas detenidas para prevenir la inestabilidad que su reactivación puede ocasionar. Nos interesan especialmente el bloqueo de las horquillas ocasionado por la colisión entre las maquinarias replicativa y transcripcional y por el estrés topológico del DNA, en cuya liberación las DNA topoisomerasas juegan un papel central. Deficiencias en estos mecanismos son la base molecular de varias enfermedades, caracterizadas por una alta inestabilidad genética y predisposición al cáncer.

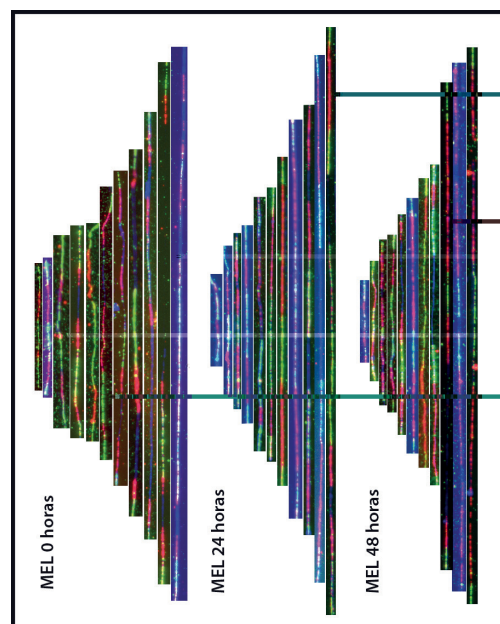


Figura 2 | Figure 2

Moléculas de DNA aisladas de células MEL DS19 durante la diferenciación extendidas por peinado molecular. La detección inmunocitoquímica de tramos marcados secuencialmente con IdU (en rojo) seguido de CldU (en verde) permite identificar los sitios de iniciación de la replicación y la distancia entre orígenes así como calcular la velocidad de progreso de las horquillas.

Selected DNA molecules isolated from MEL DS19 cells along differentiation stretched by DNA combing. The immunocytological detection of sequentially labelled tracks with IdU (red) followed by CldU (green) allows the identification of replication origins and inter-origin distances as well as the calculation of the rate of replication fork progression.

Publicaciones Seleccionadas Selected Publications

- Schwartzman JB, Martínez-Robles ML, Hernández P, Krimer DB [2013] *The benefit of DNA supercoiling during replication*. **Biochemical Society Transactions** 41: 646-651.
- Schwartzman JB, Martínez-Robles ML, Hernández P, Krimer DB [2013] *Plasmid DNA topology assayed by two-dimensional agarose gel electrophoresis*. In **Methods Mol Biol** 1054: 121-132, DNA Electrophoresis: Methods and Protocols (Svetlana Makovets, ed.) Springer Science Business Media, New York.
- Fernández-Nestosa MJ, Monturus ME, Sánchez Z, Torres F, Fernández A, Fraga M, Hernández P, Schwartzman JB, Krimer DB [2013] *DNA methylation-mediated silencing of PU.1 in leukemia cells resistant to cell differentiation*. **SpringerPlus** 2, 392 DOI:10.1186/2193-1801-2-392.

- Cebrían J, Monturus ME, Martínez-Robles ML, Hernández P, Krimer DB, Schwartzman JB [2014] *Topoisomerase 2 Is Dispensable for the Replication and Segregation of Small Yeast Artificial Chromosomes (YACs)*. **PLoS ONE** 9(8): e104995. DOI:10.1371/journal.pone.0104995.
- Cebrían J, Kadomatsu-Hermosa MJ, Castán A, Martínez V, Parra C, Fernández-Nestosa MJ, Schaerer C, Martínez-Robles ML, Hernández P, Krimer DB, Stasiak A, Schwartzman JB [2014] *Electrophoretic Mobility of Supercoiled, Catenated and Knotted DNA Molecules*. **Nucleic Acids Res** DOI: 10.1093/nar/gku1255.
- Cebrían J, Castán A, Martínez V, Parra C, Kadomatsu-Hermosa MJ, Fernández-Nestosa MJ, Schaerer C, Hernández P, Krimer DB, Schwartzman JB [2015] *Direct evidence for the formation of precatenanes during DNA replication*. **Journal of Biol Chem** DOI: 10.1074/jbc.M115.642272.



Molecular Biology of the Chromosomes

We are interested in the relationships and coordination between biological processes where DNA is involved: replication, transcription, repair and recombination, how are they regulated and how they alter or are affected by genetic, epigenetic and environmental factors such as DNA topology, chromatin organization and nutritional stress.

A) We used two-dimensional (2D) agarose gel electrophoresis to show that for molecules of the same mass the electrophoretic mobility of supercoiled, catenated and knotted DNAs differ as the electrophoretic conditions change. This allowed us to identify the optimal conditions to distinguish each family of topoisomers. We analyzed also the behavior of circular and linear minichromosomes of *Saccharomyces cerevisiae* in synchronized cells in the presence and absence of topoisomerase 2 (topo 2). The results obtained indicated that topo 2 is dispensable for the replication and segregation of small linear yeast artificial chromosomes (YACs). b) We investigated DNA replication during terminal cell differentiation in murine erythroleukemia (MEL) cells. We used BrdU labeling, cell flow cytometry, genome-wide DNA combing and indirect immunofluorescent staining to show that the rate of replication fork movement slowdown and the inter-origin distance becomes shorter as cells stop proliferating and accumulate in G1. We propose this is a general feature caused by the heterochromatinization,

confirmed by the progressive accumulation of HP1 ∞ that characterizes terminal cell differentiation. c) DNA replication fork arrest is one of the most important causes of genomic instability. We study the cellular mechanisms that prevent fork arrest and those operating at the arrested forks to prevent the instability that their reactivation may cause. We are especially interested in the induction of fork arrest produced upon collision between DNA replication and RNA transcription machineries and by the accumulation of topological DNA stress, in whose release DNA topoisomerases play a central role. Deficiencies in these mechanisms are the molecular basis of several diseases characterized by a high genetic instability and cancer predisposition.

Financiación | Funding

• BFU2011-22489 (MINECO)

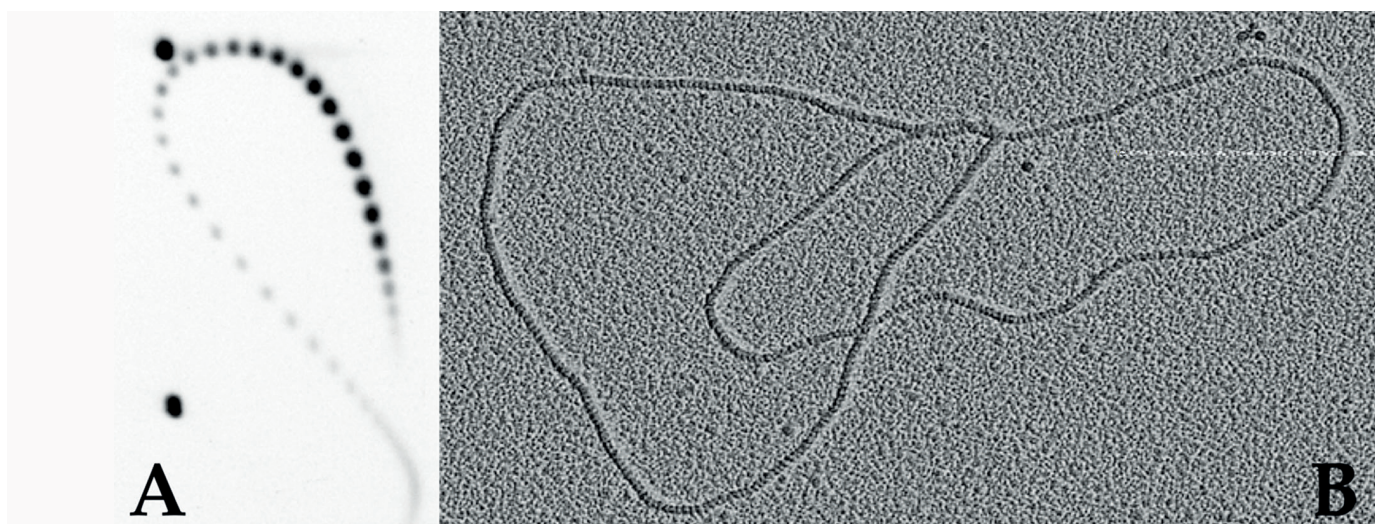


Figura 1 | Figure 1

Análisis de la topología del DNA. A) La electroforesis bidimensional en geles de agarosa con distintas concentraciones de cloroquina permite distinguir todos los topoisómeros de moléculas circulares covalentemente cerradas (CCCs). Así se puede identificar el topoisómero más abundante y calcular la densidad de superenrollamiento. B) El recubrimiento del DNA con la proteína RecA permite visualizar moléculas encadenadas por microscopía electrónica.

Analysis of DNA topology. A) Two-dimensional (2D) agarose gel electrophoresis in the presence of different concentrations of chloroquine allows the identification of all the topoisomers of covalently-closed circles (CCCs). This technique can be used to recognize the most abundant topoisomer to calculate supercoiling density. B) Covering DNA molecules with the bacterial protein RecA allows the identification of catenanes by electron microscopy.

