



**Fundació Hospital Universitari Vall Hebron - Institut de Recerca (VHIR)**

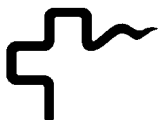
NÚM. EXPEDIENTE: 2021-058 SERVICIO DE BIOFISICA (PI20/00897)

**PLIEGO DE PRESCRIPCIONES TÉCNICAS  
CONTRATACIÓN NO ARMONIZADA – PROCEDIMIENTO ABIERTO**

**SERVICIOS BIOFISICA Y CRISTALOGRAFIA DE LA UNIÓN DE TET2 A FÁRMACOS  
DESTINADO AL SERVICIO DE ONCOLOGIA DE LA FUNDACIÓ HOSPITAL  
UNIVERSITARI VALL HEBRON - INSTITUT DE RECERCA (VHIR).**

*Cofinanciado por el "Fondo Europeo de Desarrollo Regional" (FEDER).*





### **Cláusula 1. Objeto de la licitación.**

El objeto del presente procedimiento licitación es la contratación del servicio del desarrollo de la biofísica y la cristalografía de la unión de TET2 a los fármacos, destinado al servicio de oncología de la Fundació Hospital Universitari Vall Hebron - Institut de Recerca (VHIR), a cargo del proyecto (PI20/00897) titulado “*Targeting dormant tumor cells as a new strategy to fight cancer*”, según lo que se estipula en el presente Pliego de Prescripciones Técnicas, financiado por el Instituto de Salud Carlos III (Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades).

A lo largo del presente pliego se describen concretamente las tareas incluidas dentro del objeto de este contrato, así como el alcance del servicio propuesto.

### **Cláusula 2. Presupuesto máximo de licitación y valor estimado del contrato.**

En esta licitación el valor estimado del contrato y el presupuesto máximo de licitación coinciden.

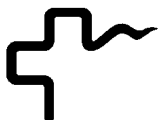
El presupuesto total máximo, así como el valor estimado para esta licitación, es de “**OCHENTA Y CINCO MIL EUROS**” (85.000,00 €), que, si le suman el importe correspondiente al IVA, “**DIECISIETE MIL OCHOCIENTOS CINCUENTA EUROS**” (17.850,00€), hace un total de “**CIENTO DOS MIL OCHOCIENTOS CINCUENTA EUROS.**” (102.850,00€).

*\*Precios unitarios que el licitador podrá mejorar en su OFERTA ECONÓMICA – sobre C.*

<b>Concepto</b>	<b>Importe</b>
Presupuesto base de licitación total	85.000,00 euros
Posibles modificaciones	00,00 euros
Posibles prórrogas	00,00 euros
<b>Total</b>	<b>85.000,00 euros</b>

\*\*\* El servicio ha de cumplir con todos los requerimientos legales en el momento de la contratación, y durante toda la vigencia del contrato.

En ningún caso la estimación del volumen en la prestación del servicio será vinculante, el VHIR abonará las facturas del servicio realmente prestado, detallando en la factura los números de albaranes debidamente firmados.



### **Cláusula 3. Duración del contrato.**

La duración del presente contrato de servicios coincidirá con la vigencia del proyecto anteriormente indicado, que es hasta el **31 de diciembre de 2023**, fecha de finalización del Proyecto (PI20/00897).

No obstante, si este proyecto se encontrase, por alguna de las razones que ahora no se pueden prever, sujeto a la solicitud de una posible prórroga, la fecha de finalización será susceptible a ser ampliada, como máximo la que sea finalmente autorizada.

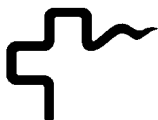
### **Cláusula 4. Características técnicas del servicio.**

Nuestros datos publicados de forma preliminar, indican que TET2 es crucial para la supervivencia de los CCE quimiorresistentes y su capacidad para iniciar metástasis. Ambos son fundamentales para la resistencia a los tratamientos, la recaída y la progresión de la enfermedad a estadios metastásicos avanzados. Todo ello subraya la importancia estratégica de desarrollar inhibidores de TET2 para combatir el cáncer y la necesidad de seguir investigando su biología y regulación farmacológica.

Aplicamos métodos computacionales desarrollados por el *Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Físicoquímica de la Universidad de Barcelona* (con los que hemos desarrollado una patente EP21382343) a la estructura cristalina conocida de TET2 e identificamos un bolsillo alostérico con una alta capacidad predicha para unir pequeñas moléculas similares a los fármacos. Realizamos un cribado virtual de fármacos a partir de una base de datos interna de  $7 \times 10^6$  pequeñas moléculas similares a fármacos y clasificamos 95 con alto potencial para unirse al bolsillo alostérico de TET2. Tras probar todos estos compuestos, identificamos el NAM-331 como una molécula de éxito capaz de unirse físicamente a TET2, inhibir su actividad enzimática cuando se purifica como proteína recombinante y en líneas de células cancerosas midiendo la cantidad de 5hmC en el ADN genómico. Sin embargo, se requieren investigaciones más extensas para definir los mecanismos moleculares exactos de la interacción de NAM-331 con TET2 y su capacidad para modular la estabilidad de la diana y la actividad enzimática. Además, NAM-331 mostró un perfil farmacocinético con perfil similar a fármacos antitumorales actualmente en el mercado

El servicio objeto de la presente licitación consiste en describir el mecanismo de acción de los fármacos inhibidores de TET2 (en concreto NAM-331), mediante:

- Unión y alosterismo del fármaco TET2. Estudiaremos cómo el NAM-331 se une al bolsillo alostérico de TET2 y provoca una respuesta efectiva. Esto implicará una comprensión detallada de los aspectos estructurales, energéticos y dinámicos de la unión proteína-ligando.



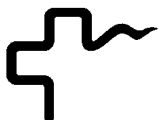
- Simulaciones moleculares para entender la unión del ligando y la respuesta alostérica. Utilizaremos simulaciones de dinámica molecular para entender el comportamiento de TET2 en diferentes formas: apo, unida a sustrato, unida a ADN, unida a inhibidor y combinaciones de las mismas. Para realizar las simulaciones indicadas, utilizaremos un pipeline de varios algoritmos computacionales descritos previamente. También esperamos identificar aquellos aminoácidos de TET2 cruciales para el efecto inhibitorio de NAM-331. Diseñaremos mutaciones de TET2 en estos residuos y comprobaremos la alteración de los efectos farmacológicos de NAM-331.
- Biofísica de la unión. Para caracterizar la interacción entre TET2 y NAM-331, realizaremos experimentos de resonancia de plasmón superficial (SPR), calorimetría de titulación isotérmica (ITC) y RMN observada por el ligando. Estos datos permitirán dilucidar la naturaleza del efecto de unión (entálpico o entrópico) y sus propiedades cinéticas ( $k_{ON}$ ,  $k_{OFF}$ ). Para diseccionar y confirmar la ruta de información alostérica predicha por las simulaciones informáticas se producirán y ensayarán también los mutantes diseñados. Estudiaremos las consecuencias de la inhibición de TET2 en el epigenoma de las células cancerosas y en los perfiles de expresión génica.
- Estructura cristalina del complejo binario (TET2-Inhibidor) y ternario (TET2-DNA-Inhibidor). Intentaremos resolver la estructura tridimensional del complejo proteína-inhibidor, tanto en presencia como en ausencia de ADN. Si tienen éxito, las estructuras cristalinas proporcionarán pruebas incuestionables del modo de unión y una confirmación adicional del mecanismo propuesto para la alostérica

### **Condiciones generales.**

Para el desarrollo correcto del servicio, se precisará que el licitador cuente con toda la infraestructura y tecnología necesaria requerida para la cristalografía de proteínas, tal y como se describe en la cláusula.

### **Cláusula 5. Otros requisitos indispensables del servicio.**

El objetivo es comprender a nivel atómico cómo nuestras moléculas y particularmente NAM-331, se unen al bolsillo alostérico de TET2 (descubierto por el grupo del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Físicoquímica de la Universidad de Barcelona) y provocan una respuesta farmacológica eficaz. Esto implicará una detallada comprensión de los aspectos estructurales, energéticos y dinámicos de la unión proteína-ligando. Además, se estudiará en detalle cómo estas interacciones fármaco-diana modifican la capacidad de TET2 para unirse y oxidar el ADN metilado. También se intentará comprender la interacción entre las diferentes moléculas que se unen a TET2, entendiendo las conexiones que median la transmisión de la señal alostérica. Para lograr este objetivo, se han identificado diferentes tareas específicas.



- **Tarea 1:**

Simulaciones moleculares para comprender la unión de ligandos y la respuesta alostérica. Se usarán simulaciones de Molecular Dynamics (MD) para comprender el comportamiento estructural y dinámico de TET2 en diferentes formas: apo, unida a sustrato, unida a ADN, unida a NAM-331 y combinaciones de las mismas. Un objetivo primordial es comprender el mecanismo de modulación alostérica negativa (NAM). Específicamente, el objetivo es comprender si los NAM interfieren con la unión del sustrato 2-OG, con la unión del ADN o con otras etapas del proceso enzimático (apertura de la base, oxidación). Se diseñarán mutaciones específicas en la proteína TET2 y analizaremos su efecto a la luz de estos resultados. Brevemente, las simulaciones se realizarán con el paquete de simulaciones AMBER16. Se realizarán un total de réplicas de 5x100ns para cada sistema para lograr un buen muestreo. Aplicaremos estos métodos diseñados por Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Fisicoquímica de la Universidad de Barcelona (con los que hemos desarrollado una patente EP21382343) y otros más genéricos (por ejemplo, análisis de red dinámica, modelos de estado de Markov) en combinación con análisis personalizados para nuestro sistema de interés.

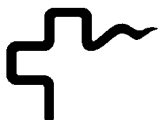
Las sub-tareas específicas incluyen:

- Simulaciones MD de apo y complejos TET2 binarios (proteína-ADN, proteína-inhibidor y proteína-sustrato) para analizar diferentes cambios conformacionales que ocurren al unirse.
- Simulaciones MD de TET2 ternario (proteína-ADN-inhibidor / sustrato) y cuaternario (proteína-ADN-ligando-sustrato) complejos para identificar efectos sinérgicos que podrían explicar el efecto alostérico negativo.
- Diseño de mutaciones TET2 que interrumpen el mecanismo de transmisión alostérico y simulaciones MD adicionales para confirmar la respuesta esperada.

**TIMELINE Tarea 1: comprendido entre el mes 1 al 6.**

- **Tarea 2:**

Biofísica para determinar la unión. Para caracterizar la interacción entre TET2 y los NAM y especialmente NAM-331, pondremos a punto ensayos de Surface Plasmon Resonance (SPR), Isothermal titration Calorimetry (ITC) y experimentos de RMN observados por ligando. Estos tres experimentos requieren de instrumentos complejos y de difícil manejo, particularmente para los ensayos de RMN donde los experimentos se van a realizar en un instrumento de 600 MHz con cryoprobe. Los datos obtenidos permitirán dilucidar la naturaleza del efecto ligando (entálpico o entrópico) y sus propiedades cinéticas (kon, koff) de los compuestos. Para diseccionar y confirmar el efecto alostérico predicho por simulaciones por computadora, los mutantes diseñados en la Tarea 1 serán producidos y ensayados también.



Las sub-tareas específicas para lograr este objetivo serán:

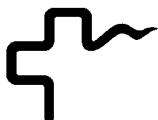
- Expresión, purificación y producción de TET2 recombinante en su forma apo. Para ello usaremos dos plásmidos diseñados especialmente. Se verificará la calidad y pureza de la proteína mediante SDS-PAGE y espectroscopia de masas.
- Expresión y purificación de proteínas recombinantes de los mutantes seleccionados. Los mutantes de TET2 se producirán mediante mutagénesis dirigida.
- Puesta a punto del ensayo y determinación de la afinidad y la cinética de unión por SPR utilizando una curva de dosis-respuesta completa ( $\geq 8$  concentraciones). Este ensayo se realizará para NAM-331 y para 20 análogos seleccionados por el grupo del VHIO
- Los ensayos de ITC y RMN de ligandos se realizarán utilizando los protocolos existentes en el laboratorio del departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Fisicoquímica de la Universidad de Barcelona y pueden tener que adaptarse a las necesidades específicas del sistema. Todos los experimentos se realizarán en las instalaciones de la UB (ICTS - Infraestructura Científica i Técnica Singular). Este ensayo se realizará para un pequeño subgrupo de moléculas

**TIMELINE Tarea 2: comprendido entre los meses 6 - 12.**

• **Tarea 3:**

Determinación de la unión a ADN o a la cromatina. Una hipótesis plausible para el MoA de NAM-331 es una pérdida de afinidad de la unión al ADN de TET2 inducida por la molécula. La hipótesis está respaldada por la observación de que los inhibidores como NAM-331 provocan una reducción de los niveles de TET2. Se investigará esta posibilidad tanto a nivel in vitro, para ello se utilizará proteína TET2 recombinante purificada. Se empleará SPR, como se describe en la literatura para medir cualquier cambio en la afinidad de unión de TET2 por el ADN ( $K_d = 0.5$  nM) por la presencia de inhibidores. El ADN de 5mC con 26 pb y biotinilado se inmovilizará en un Sensor Chip SA y se expondrá a la proteína purificada en presencia o ausencia de inhibidores en la fase móvil. También se comprobarán las diferencias en las tasas de asociación y disociación. También se controlará el efecto de la presencia de cofactores Fe<sup>2+</sup> / Mn<sup>2+</sup> y NOG / 2-OG en la afinidad de unión al ADN. Como método complementario ya optimizado en el *Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Fisicoquímica de la Universidad de Barcelona*, se realizarán mediciones de Fluorescence Polarization (FP) entre el ADN 5mC de 18 pb marcado (FAM) y TET2 en presencia y ausencia de NAM-331.

**TIMELINE Tarea 3: comprendido entre los meses 12 - 15.**



- **Tarea 4:**

Determinación de la estructura cristalográfica binaria (TET2-NAM-331) in el complejo ternario (TET2-ADN-NAM-331). Paralelamente a los ensayos computacionales y de actividad, intentaremos resolver la estructura tridimensional del complejo proteína-inhibidor, tanto en presencia como en ausencia de ADN. Si tiene éxito, las estructuras cristalinas proporcionarán una evidencia incuestionable del modo de unión y, posiblemente, una confirmación adicional del mecanismo propuesto para la transmisión de información alostérica. Realizaremos ensayos de cristalización en colaboración con el grupo Cristalografía de proteínas. Grupo de Biología Estructural de Complejos de Proteínas y Ácidos Nucleicos y Máquinas Moleculares, en el IRB Barcelona. El Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Fisicoquímica de la Universidad de Barcelona (con los que hemos desarrollado una patente EP21382343) tiene una buena relación de trabajo establecida con el grupo del Prof.

Las sub-tareas específicas son:

- Expresión y purificación de la proteína TET2
- Cristalización de complejos binarios y ternarios, siguiendo los protocolos de las estructuras originales depositadas en el Protein Data Bank. Se probarán una variedad de condiciones de soaking y cocrystalización.
- Los cristales se montarán manualmente y se criopreservarán. La recopilación de datos se realizará automáticamente en el sincrotrón Alba. El análisis automático de datos (reemplazo molecular, refinamiento de ligandos) identificará estructuras exitosas

**TIMELINE Tarea 4: comprendido entre los meses 15 - 24.**

Se realizarán reuniones mensuales con el grupo responsable del VHIR para el control y seguimiento de los avances científicos realizados por la empresa adjudicataria contratada. Adicionalmente se realizarán una serie de entregables durante la duración del proyecto.

**Lista de entregables:**

**Entregable 1.1 (asociado a Tarea 1).** Informe de los resultados de las dinámicas moleculares, desarrollando los efectos alostéricos observados. **Mes 6.**

**Entregable 1.2 (asociado a Tarea 1).** Lista prioritaria de mutaciones específicas de TET2. **Mes 6.**

**Entregable 2.1 (asociado a Tarea 2).** Informe de todos los datos de unión y cinética de unión a TET2 obtenidos para NAM-331 y para análogos seleccionados en el ensayo de SPR. **Mes 11.**



**Entregable 2.2 (asociado a Tarea 2).** Informe de los ensayos de RMN y ITC para un grupo limitado de moléculas, incluyendo NAM-331. **Mes 12.**

**Entregable 3.2 (asociado a Tarea 3).** Informe de la unión de TET2 a ADN en todas las condiciones ensayadas. **Mes 15.**

**Entregable 4.1 (asociado a Tarea 4).** Informe de todas las condiciones cristalográficas ensayadas y de las condiciones óptimas de cristalización. **Mes 20**

**Entregable 4.2. (asociado a Tarea 4).** Estructura cristalográfica del complejo binario y terciario en formato PDB. **Mes 24**

### **Cláusula 6. Facturación y pago.**

El contratista facturará cada prestación de servicio a través de su factura correspondiente, las cuales deberán de ser enviadas a la siguiente dirección de correo electrónico: [factures@vhir.org](mailto:factures@vhir.org).

Cada factura emitida deberá detallar el período al que corresponde la misma, el desglosamiento/descripción de los gastos por concepto, así como indicar las referencias **“LICI-2021-058 SERVICIO DE BIOFISICA (PI20/00897)”**

El pago efectivo de las prestaciones ejecutadas se realizará mediante transferencia bancaria con vencimiento 30 días/ fecha factura.

La entidad contratante realizará el pago de los servicios una vez estos se hayan realizado de manera parcial o total y una vez entrada la factura en su registro. De acuerdo con este parámetro, no se contempla el pago por adelantado de una parte o de la totalidad del precio del contrato.

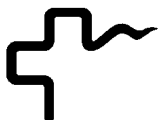
En ningún caso el contratista tendrá derecho a la revisión de precios por ningún concepto.

El VHIR únicamente abonará al adjudicatario los servicios efectivamente prestados, sin que, en ningún caso, el VHIR esté obligado a agotar el valor estimado del contrato/presupuesto de licitación.

### **Cláusula 7. Responsable del contrato.**

El responsable del contrato es el Dr. Héctor Garcia Palmer del Servicio de Oncología del VHIR a quien le corresponderá básicamente, entre otros, las funciones de gestión y supervisión del servicio contratado, conformar la facturación que emita el servicio





seguimiento, control y dictado de las instrucciones necesarias para la buena ejecución del contrato; determinar si la prestación realizada se ajusta a las prescripciones establecidas para su ejecución y cumplimiento y recepción del contrato a su finalización, y dar cumplimiento a las obligaciones asumidas por la Fundació Hospital Universitari Vall Hebron – Institut de Recerca (VHIR) en este contrato.

### **Cláusula 8. Ubicación y Horario de prestación del servicio.**

#### **Ubicación:**

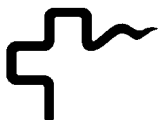
El adjudicatario tendrá que prestar el servicio objeto de la presente licitación cargo del Proyecto PI20/00897 del Dr. Héctor García Palmer, proveniente del Grupo de Células Madre y Cáncer situado en el Edificio Cellex, c/Natzaret 115.

### **Cláusula 9. Confidencialidad, Protección de datos de carácter personal y Propiedad Intelectual e Industrial.**

Sin perjuicio del que dispone la legislación vigente en materia de propiedad intelectual, protección de datos de carácter personal y de confidencialidad, la empresa que resulte adjudicataria del presente procedimiento de licitación, se comprometerá expresamente, a no dar la información y/o datos proporcionados por el VHIR, o cualquier uso no previsto en el presente Pliego, y/o expresamente autorizado por el Cap de la Unidad asignado.

La empresa adjudicataria del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación, tendrá que hacer extensivas a los empleados que adscriba al servicio, las obligaciones contenidas y asumidas por la empresa adjudicataria, en referencia a la confidencialidad, propiedad intelectual y protección de datos, en particular las relativas al secreto, la reserva y confidencialidad de toda la información que en virtud del servicio pueda tener conocimiento.

Se entenderán cedidos en exclusiva a favor del VHIR en todo el mundo, para el tiempo máximo establecido en las leyes y/o tratados internacionales vigentes que resulten de aplicación y para su explotación a través de cualquier formato y/o modalidad de explotación, todos los derechos, incluidos los de explotación sobre cualquier descubrimiento, invención, creación, obra, procedimiento, idea, técnica, dibujo, diseño, imagen o cualquier otro derecho de propiedad intelectual o industrial generado, planteado o adquirido como consecuencia de la tarea desarrollada por la empresa adjudicataria del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación (en adelante, "Propiedad Intelectual y/o Industrial"), y que deriven directa o indirectamente de la relación entre VHIR y la empresa adjudicataria por el contrato que se derive del presente procedimiento de licitación.



La empresa adjudicataria del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación se obliga a informar al VHIR de cualquier descubrimiento, creación, invento, idea o cualquier otro elemento que constituya o sea susceptible de constituir un derecho de Propiedad Industrial y/o Intelectual y que desarrolle parcial o totalmente durante la vigencia del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación.

En el supuesto de que la empresa adjudicataria del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación descubriera o desarrollará cualquier creación de propiedad intelectual o industrial, se entenderá que el mencionado descubrimiento o desarrollo constituye información confidencial del VHIR.

La empresa adjudicataria del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación se obliga a firmar todos aquellos documentos públicos y/o privados que sean necesarios, a libre discreción del VHIR, para permitir la acreditación de la titularidad del VHIR o la adecuada protección de los referidos derechos de Propiedad Intelectual y/o Industrial a favor de la misma o de cualquier tercero designado por este.

La empresa adjudicataria del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación autoriza al VHIR para la transformación, modificación, publicación, comunicación pública y explotación por cualquier medio de las obras que desarrolle como consecuencia de la ejecución del contrato que se derive del presente procedimiento de licitación.

### **Cláusula 10. Criterios de Valoración sometidos a Juicio de Valor.**

Para la valoración de las propuestas de licitación y la determinación de la más ventajosa económicamente, se atenderá a los siguientes criterios y porcentajes de ponderación:

#### **1. Oferta económica: ..... Máximo 50 puntos.**

Se valorará de forma automática, de conformidad con la fórmula siguiente:

$$P(N) = M \times (2 - N/B)$$

P(N): Puntuación de la oferta N

M: Puntuación máxima posible

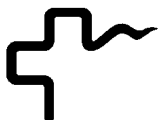
B: Mejor oferta presentada

N: Oferta a valorar

*\*Si después de haber aplicado la fórmula automática a una oferta presentada, el valor resultante es negativo, se le asignarán directamente cero (0) puntos de la parte económica.*

***P(N) = 0.***

Los criterios que a continuación se indicaran, se evaluarán mediante juicios de valores y se aplicarán al contenido del sobre nº 2:



**2. Oferta técnica ..... Máximo 50 puntos.**

**Plan de trabajo y organización ..... (hasta 50 puntos).**

Los licitadores han de presentar una propuesta organizativa y de desarrollo del servicio.

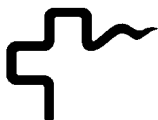
Este plan de trabajo ha de incluir: objetivos, fases, dedicación prevista y cronograma de actuaciones que se realizarán teniendo en cuenta lo establecido como requisito en el presente pliego:

**1.- Meses 1-6** Simulaciones moleculares para comprender la unión de ligandos y la respuesta alostérica ..... **(5 puntos)**

- Simulaciones MD de apo y complejos TET2 binarios (proteína-ADN, proteína-inhibidor y proteína-sustrato) para analizar diferentes cambios conformacionales que ocurren al unirse.
- Simulaciones MD de TET2 ternario (proteína-ADN-inhibidor / sustrato) y cuaternario (proteína-ADN-ligando-sustrato) complejos para identificar efectos sinérgicos que podrían explicar el efecto alostérico negativo.
- Diseño de mutaciones TET2 que interrumpen el mecanismo de transmisión alostérico y simulaciones MD adicionales para confirmar la respuesta esperada.

**2.- Meses 6-12** Biofísica para determinar la unión ..... **(15 puntos)**

- Expresión, purificación y producción de TET2 recombinante en su forma apo. Se verificará la calidad y pureza de la proteína mediante SDS-PAGE y espectroscopia de masas.
- Expresión y purificación de proteínas recombinantes de los mutantes seleccionados. Los mutantes de TET2 se producirán mediante mutagénesis dirigida.
- Puesta a punto del ensayo y determinación de la afinidad y la cinética de unión por SPR utilizando una curva de dosis-respuesta completa ( $\geq 8$  concentraciones). Este ensayo se realizará para NAM-331 y para 20 análogos seleccionados por el grupo del VHIO
- Los ensayos de ITC y RMN de ligandos se realizarán utilizando los protocolos existentes en el laboratorio de los Drs. Barril y Galdeano y pueden tener que adaptarse a las necesidades específicas del sistema. Todos los experimentos se realizarán en las instalaciones de la UB (ICTS - Infraestructura Científica i Técnica Singular). Este ensayo se realizará para un pequeño subgrupo de moléculas



3.- **Meses 12-15** Determinación de la unión a ADN o a la cromatina ..... **(15 puntos)**

- Mediciones de Fluorescence Polarization (FP) entre el ADN 5mC de 18 pb marcado (FAM) y TET2 en presencia y ausencia de NAM-331.

4.- **Meses 15-24** Determinación de la estructura cristalográfica binaria (TET2-NAM-331) in el complejo ternario (TET2-ADN-NAM-331) ..... **(15 puntos)**

- Expresión y purificación de la proteína TET2
- Cristalización de complejos binarios y ternarios, siguiendo los protocolos de las estructuras originales depositadas en el Protein Data Bank. Se probarán una variedad de condiciones de soaking y cocrystalización.
- Los cristales se montarán manualmente y se criopreservarán. La recopilación de datos se realizará automáticamente en el sincrotrón Alba. El análisis automático de datos (reemplazo molecular, refinamiento de ligandos) identificará estructuras exitosas

Barcelona, 30 de setiembre de 2021.

**ÓRGANO DE CONTRATACIÓN**

**Dr. Joan X. Comella Carnicé**

Director

Fundació Hospital Universitari Vall Hebron – Institut de Recerca (VHIR)