Professional Curriculum Vitae

Name: Cristina Ramírez Belinchón

1. Personal Profile

- Experiencia en laboratorio de investigación traslacional
- Experiencia en investigación clínica y básica en el campo de la enfermedad inflamatoria intestinal. Departamento de inmunología, oncohematología

  - Realización de experimentos y presentación de resultados.
  - Interpretación de datos y análisis de resultados.
  - Enfoque proactivo y entusiasta hacia el proyecto y el aprendizaje de nuevas técnicas.
  - Toma iniciativa en la mejora de protocolos y diseño de experimentos.
  - Capacidades de trabajo en equipo y soporte a otros departamentos.
  - Buenas relaciones profesionales y personales con colegas.

2. Areas of Expertise

- Registro, recepción, inventario, gestión y almacenamiento de Material biológico.
- Extracción Sangre
- Aislamiento y procesamiento de muestras biológicas, incluyendo sangre, orina, heces, médula ósea, procesamiento de tejidos humanos y órganos de animales.
- Certificado de capacitación funciones A,B y C para trabajo en experimentación animal
- Calidad y seguridad en el laboratorio

•Biología Celular:

- Técnicas de obtención y mantenimiento de cultivos. Determinación del número y viabilidad celular. Muestras para análisis cromosómico. Cultivo celular en diagnóstico prenatal (PBL, células madre, Jurkat , Fibroblastos de líquido amniótico, etc).
- Clasificación celular por separación inmune-magnética. (MACS)
- Citometría de flujo (FACS). Experta en manejo de citometros (Becton Dicknson, Miltenyi Biotech Beckman Coulteck)
- Adquisición, análisis e interpretación de resultados.
- Panel multicolor: tinción de la superficie y tinción intracelular en células en circulación (14-16 colores)
- Sistema Citométrico Bead Array
- Tinción de tetrámero.
- Fragmentación Del ADN por TUNEL y Ciclo Celular.
- Ensayos de proliferación (seguimiento de CFSE),
- Técnica complementaria de determinación de anticuerpos anti-HLAI (CrosMach-Binding by FACS) y citotoxicidad dependiente por Complemento (CDC) por FACS (FCXM)
- Ensayos de citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpos (ADCC). Citotoxicidad redirigida, reservada en células humanas asesinas naturales (NK)

• Biología molecular, Citogenética y Bioquímica:

- Técnicas citogenéticas:
- Obtención de cromosomas; Bandeo de cromosómico: Bandas GTG, CGB; NOR
- Análisis cromosómico: Cariotipo Humano, aplicaciones diagnósticas de las técnicas citogenéticas
- Técnicas de hibridación de los ácidos nucleicos: Hibridación in situ, Hibridación Fluorescente in situ (FISH) Transferencia de ácidos nucleicos en soporte sólido (array-CGH, Southerm blot, Notherm blot, técnicas de dot blot, sus variantes y técnica de captura de híbrido)
- Biología Molecular

- Técnicas de extracción, cuantificación y calidad de ADN/ARN en sangre periférica, biopsias y tejidos.
- PCR y técnicas variantes de la PCR (PCR anidada, Multiplex, Cuantitativa, Técnica MLPA, RT-PCR)
- Electroforesis de ADN (electroforesis capilar)
- Métodos de Clonación y secuenciación del ADN (métodos Maxam y Gilbert, Sanger y Coulson, Secuenciación automática de primera generación)
- Secuenciación masiva o NGS
- Secuenciación de 3 generación (Ion Torrent, nanoporos)
- Bioinformática: análisis de bases de datos de ADN y proteínas. Plataformas de secuenciación Illumina y Solid

- ELISA /ALFA-LISA. (Ensayo de absorbentes inmunes ligados a enzimas) Realización, análisis e interpretación de datos.
- Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)

• Estudios no clínicos.

- Ensayos de identidad, pureza y potencia en productos finales (eASCs) y bancos de células en funcionamiento utilizando técnicas de FACS y HPLC.
-

Seguimiento de material de pacientes pertenecientes a ensayos clínicos:

- Fenótipado de muestras de pacientes: determinar y cuantificar la distribución de las poblaciones inmunológicas de PBMC de pacientes obtenidas de pacientes.

- Tinción intracelular de citoquinas en pacientes: determina la expresión intracelular de citoquinas producidas por células T en PBMCS para cultivos

- Estudios funcionales: LPA para muestras clínicas, ensayo de secreción

- **Ensayos preclínicos con ratones**:

- Procesado de muestras (bazo, sangre total, ganglios).
- Fenotipado de subpoblación en linfocitos de ratones.
- Tinción intracelular de citoquinas

- **Calidad y Seguridad en el Laboratorio**
- Normalización (Normas ISO9000)
- Evaluación de la conformidad: auditorías, certificación y acreditación
- Sistemas de gestión de calidad en laboratorios analíticos (ISO17025, Buenas prácticas de laboratorio, Documentación de los SGC en el laboratorio)
- Estadística para la calidad en el laboratorio
- Aseguramiento de la calidad en los laboratorios de ensayo y calibración. Selección y validación de métodos
- Gestión de equipos y control de calidad
- Seguridad en el laboratorio: Normativa sobre prevención de riesgos laborales, Peligrosidad y manipulación de sustancias químicas
- Higiene laboral
- Protección Ambiental en el Laboratorio

• Informática

- Aplicaciones informáticas para interpretar y analizar correctamente los datos (Power Point, Word,) Informes SOP, presentaciones de Figuras, cuaderno de laboratorio

- Gestión de bases de datos: Lab-Collector, Access, Excel y File MakerR,SAP-ARIBA. Gestión de compras,LINUX
- Análisis de software en Citometría de flujo: Cell-Quest Pro, FACS-Diva 7, FACS-Diva8, Flowjo y FLoLogic
- Análisis de software en HPLC: Breeze Waters

• Métodos de análisis estadístico:

- Software R y R studio: gestión de bases de datos y herramientas de manipulación.

TÉCNICAS CLÁSICAS Y ROBUSTAS
Variables categóricas y numéricas. Estadísticas clásicas y robustas. Gráficos avanzados. Pruebas paramétricas, no paramétricas y robustas. Correlación simple, múltiple, parcial y robusta. Regresión lineal simple y múltiple. Selección de variables y transformaciones. Robusta regresión simple y múltiple.

TÉCNICAS AVANZADAS

Modelos aditivos (AM), lineales generalizados (GLM, Poisson, binomial negativo y Logístico), mixtos (MM) y sus combinaciones (GAM, GAMM, GLMM).
Diseño experimental ANOVA uni y bi-factorial. Diseño experimental por bloques al azar, Diseño de medidas repetidas, Diseño de parcelas divididas, Diseño anidado o jerárquico y ANCOVA.
Modelos avanzados. Modelo lineal (LM), Modelo aditivo (AM), Modelo lineal generalizado univariable (GLM), Modelo aditivo generalizado (GAM), Introducción al modelo mixto (MM).

TÉCNICAS MULTIVARIANTES CLASIFICACIÓN.

Análisis de clusters (jerárquicos y no jerárquicos).
-Discriminación. Análisis discriminante (LDA) y árbol de regresión multivariable (MRT).
- Comparación multivariable. Pruebas de diferencias multivariadas entre grupos (MANOVA, MRPP, ANOSIM, NPMANOVA, TABLETAS).

- Graph-Pad Prim:
- Técnicas estadísticas aplicadas en ensayos clínicos como columna, x / y, agrupados, contingencia, supervivencia y partes de todo (regresión lineal, no regresión dosis-respuesta, correlación...)

3. Logros

Pongo a disposición del departamento mi alto conocimiento en Citometría de Flujo, que es mi área de especialización. He implementado:

Panel de fenotipado en células circulantes de estudios clínicos de pacientes en fase II y fase III. Pacientes por FACS
- He colaborado en el diseño del Panel.
- He incorporado la configuración de adquisición, hojas de trabajo y plantillas de análisis.
Determinación del contenido de citocinas en células a partir de estudios clínicos de pacientes por FACS. Determinar la expresión intracelular de citoquinas (ICS) producida por células T en PBMCS para cultivos
- Contribución al diseño del panel.
- Preparación de configuraciones de adquisición, hojas de trabajo y plantillas de análisis.

Técnica anti-HLA I Binding (FCXM) y CDC por FACS: Los procedimientos de FCXM y CDC han sido integrados e implementados por mí en todos los diferentes ensayos con pacientes.Unión anti-HLA I (FCXM): para cuantificar los anticuerpos anti-HLA en el suero de pacientes en ensayos clínicos. Técnica de citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) por FACS: los CDC a menudo se usan en combinación con el ensayo de compatibilidad cruzada de linfocitos (FCXM) basado en citometría

de flujo, que, con alta sensibilidad, detecta la unión del anticuerpo HLA. Aquí describimos un nuevo enfoque en el que tanto la citotoxicidad como la unión del anticuerpo pueden evaluarse simultáneamente con citometría de flujo.
Esta técnica desarrollada en eASC ha dado lugar a un nuevo trabajo en colaboración con el departamento de IP (Intellectual Properties) y en la consecución de un logro con la firma de una nueva patente
Implementación de herramientas estadísticas robustas para el análisis de datos experimentales a través del software R. Diseño experimental ANOVA uni y bi-factorial.

3. Career History

- Octubre 2019: Técnico de Laboratorio senior. Hospital "Universitario La Princesa." "Estudio sobre la distribución y función de los linfocitos B y las células plasmáticas en la mucosa intestinal y de sus alteraciones" bajo la dirección del Dr Javier Pérez Gisbert

  • Marzo de 2008 -2019: TiGenix S.A. (biotecnología) técnico de laboratorio senior en el departamento de I + D bajo la supervisión de PhD. Olga de la rosa.

  • Abril 2007 - Marzo 2008: Técnico de laboratorio. Centro Nacional de Biotecnología (CNB). En el Proyecto "Control de la diferenciación celular durante la homeostasis tisular".

  • Enero 2005-abril 2007: Técnico de laboratorio. Servicio de oncohematología y trasplante "Hospital Niño Jesús". Análisis y diagnóstico de leucemia y linfomas por FACS, cultivo celular y quimeras hematopoyéticas para el diagnóstico clínico.
  • Abril 2004- Abril 2005. Técnico de laboratorio. Departamento de Inmunología de la UCM. Técnicas de biología celular y molecular, preparación de medios. Mantenimiento de laboratorio y preparación de protocolo.
  • Abril 2002 - Abril 2004. Técnico de laboratorio. Clínica La Luz: procedimientos clínicos como extracción de sangre, bancos de sangre, hematología, bioquímica, microbiología e inmunología.

4. Educación y credenciales.

• Grados:
Técnico superior en análisis clínicos de Laboratorio clínico y Biomédico F.P.II 10 / 1999-06 / 2001 - Instituto San Roque (Madrid)

• **Certificados / cualificaciones profesionales:**

- Certificación Biología molecular y citogenética (300 horas) Carval formación-Junio2020

- Certificación Calidad y Seguridad en el laboratorio (300 horas) Carval formación-Agosto2020

- Credenciales de control de calidad ICH GCP en inglés (versión R2) Whitehall Training. Febrero 2018
- Buenas prácticas de laboratorio en actividades preclínicas. - Cellerix S.A. Marzo 2008
- Prevención de Riesgos Laborales para Personal de Laboratorio-Investigadores - PREVILABOR Marzo 2010
- Curso avanzado en ensayos experimentales y manejo MACSquant (Miltenyi Biotec)-enero-2019

- Curso avanzado por FACS en ensayos experimentales con células madre (nuevo panel de anticuerpos, nuevas técnicas de análisis) Sociedad Europea para el Análisis de Células Clínicas (ESCCA) Junio de 2016

- Master en estadística aplicada a las ciencias experimentales. Técnicas clásicas (Software R), análisis robusto, avanzado y multivariado.2016.

- BD Horizon tour 2.0 "Nuevas perspectivas para el diseño de paneles multicolores de Madrid" CNIO Abril 2016 / Febrero 2017

- The BD Horizon Tour "Nuevas perspectivas para el diseño de paneles multicolores. - Junio de 2015

- Curso de capacitación en seguridad: “Criogenia” -Aire Liquide-2014

- GETH: Simposio de terapia celular –Miltenyi Biotech. Madrid. 2011

- Curso de capacitación FACS BD FACS Canto, BD FACS Diva, Configuración y seguimiento del citómetro BD - Becton-Dickinson 2010

- Prevención de riesgos de laboratorio para el personal del laboratorio de investigación - 2010 – Previlabor

- Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) - 2009 – Sailab

- Principios generales y aplicaciones de la citometría de flujo. BD FACSCalibur, software BD CellQuest Pro, software BD FACSComp - 2009 - Becton-Dickinson

- IV Curso Teórico-Practico de Patología Molecular I-II-2008 -CNIO

- Nuevas terapias de destino en oncología. Tumores sólidos y tumores hematológicos. (40 horas). Curso de Calidad de Postgrado UCM y UAM.2007 CIEMAT

- Nuevas terapias basadas en la manipulación y trasplante de células madre. (40 horas). Curso de Calidad de Postgrado UCM y UAM. 2007-CIEMAT
- Nuevas dianas terapéuticas en oncología. Tumores sólidos y hematológicos. (24-26 mayo 2007) AETEL
- Técnicas de quimeras hematopoyéticas. (8-29 enero 2007). AETEL.
- Procedimientos técnicos utilizados en el diagnóstico inmune-fenotípico de leucemia y linfomas por FACS. (51 horas). AETEL.
- Secuenciación básica y análisis de fragmentos. (72 horas) Realizado en Applied Biosystems

● Publicaciones

1. **Authors** : Alvaro Avivar-Valderas,Cristina Martin-Martin(equal),Cristina Ramirez,Borja del Rio,Ramon Menta,Pablo Mancheño-Corvo,Maitane Ortiz-Virumbrales,Angel Herrero,Julian Panés,Damian Garcia-Olmo,José Luis Catañer,Itziar Palacios,Eleuterio Lombardo,Wilfried Dalemans and Olga de la Rosa
   Title:” Dissecting Allo-Sensitization after Local Administration of Human Allogeneic Adipose Mesenchymal Stem Cells Perianal Fistulas of Crohn's Disease Patients”
   Journal: Frontiers of Immunology. 2019 June

   2.**Authors:** Mancheño-Corvo P, Lopez-Santalla M, Menta R, DelaRosa O, Mulero F, Del Rio B, Ramirez C, Büscher D, Bueren JA, Lopez-Belmonte J, Dalemans W, Garin MI, LombardoE.
   Title: “Intralymphatic Administration of Adipose Mesenchymal Stem Cells Reduces the Severity of Collagen-Induced Experimental Arthritis.”
   Journal: Frontiers of Immunology. 2017 Apr (21)

   3.Authors: Mancheño-Corvo P, Menta R, del Río B, Franquesa M, Ramírez C, Hoogduijn MJ, DelaRosa O, Dalemans W, Lombardo E.

Title: "T Lymphocyte Pre-stimulation Impairs in a Time-Dependent Manner the Capacity of Adipose Mesenchymal Stem Cells to Inhibit Proliferation: Role of Interferon γ, Poly I:C, and Tryptophan Metabolism in Restoring Adipose Mesenchymal Stem Cell Inhibitory Effect. "
Journal: Stem Cell and Development. 2015 Sep (15)

4. Authors*:* Menta R, Mancheño-Corvo P, Del Río B, Ramírez C, DelaRosa O, Dalemans W, Lombardo E
Title: "Tryptophan concentration is the main mediator of the capacity of adipose mesenchymal stromal cells to inhibit T-lymphocyte proliferation in vitro."**Cytotherapy**. 2014 Sep 16.

5. ***Authors:*** Mancheño-Corvo P, Franquesa M, de la Rosa O, Ramírez C, García-Benzaquén L, Fernández V, Menta R, Beraza A, Dalemans W, Hoogduijn MJ, Lombardo E.

Title*:* "Adipose mesenchymal stromal cell function is not affected by methotrexate and azathioprine".
Biores Open Access. 2013 Dec 1; 2(6)

6. **Authors*:*** Olga DelaRosa, Beatriz Sánchez-Correab, Sara Morgadob, Ramírez C, Borja del Ríoa, Ramón Menta, Eleuterio Lombardoa, Raquel Tarazonab* and Javier G. Casado*

Title "Human Adipose-Derived Stem Cells impair NK cell function and exhibit low susceptibility to NK-mediated lysis. "
Stem cells and Development, 25march2011.

7. Authors Delarosa O, Lombardo E, Beraza A, Mancheño P, Ramírez C, Menta R, Rico L, Camarillo E, García L, Abad JL, Trigueros C, Delgado M, Büscher D.

Title "Requirement of IFN-gamma mediated Indole amine 2,3 dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem "
Cells. Tissue Eng. Part A. 2009 Feb 20.

8. Authors Lombardo E, Delarosa O, Mancheño-Corvo P, Menta R, Ramírez C, Büscher D.

Title: "Toll-Like Receptor-Mediated Signaling in Human Adipose-Derived Stem Cells: Implications for Immunogenicity and Immunosuppressive Potential***."***
Tissue Eng Part A. 2008 Dec 6.

- **Presentaciones**

- ESGCT and SETyC Collaborative Congress 2017. "Understanding allo-sensitisation after local administration of allogeneic adipose derived stem cells (eASC)". Ramirez, C. Martín C, Borja del Río, Pablo Mancheño, E. Lombardo, J.L. Castañer W. Dalemans, and O. DelaRosa.

- ESGCT and SETyC Collaborative Congress 2017. "Understanding allo-sensitization after local administration of allogeneic adipose derived stem cells (eASC)". Martín C, Ramirez C, B. del Río, P. Mancheño, E. Lombardo, J.L. Castañer, W. Dalemans and O. DelaRosa.

- ESGCT and SETyC Collaborative Congress 2017. "In vitro demonstration of antibacterial effect of expanded adipose stem cells (eASC)." P. Mancheno-Corvo, B. del Rio, Ramírez C, W. Dalemans, O. delaRosa, E. Lombardo.

- ESGCT and SETyC Collaborative Congress 2017. "The anti-apoptotic role of adipose mesenchymal stem cells (eASC) in PBMC". B Del Rio, P. Mancheño, Ramírez C, W. Dalemans and O. DelaRosa.

- ESGCT and SETyC Collaborative Congress 2013. Abstract: Adipose mesenchymal stromal cell function is not affected by treatment with methotrexate and azathioprine. Pablo Mancheño-Corvo, Marcella Franquesa, Olga DelaRosa, Ramírez C, Leyre García-Benzaquén, Vanessa Fernández, Ramón Menta, Borja del Río, Aitor Beraza, Wilfried Dalemans, Martin Hoogduijn and Eleuterio Lombardo.

- Congress of the International Society for Cellular Therapy. May 2011. Rotterdam. Netherlands. Abstract presentations. Preferential induction of Treg by hASCs: -A new method to generate Treg as a therapeutic product. Lombardo Eleuterio, Casado Javier G, **Ramirez C**, Del Rio Borja, Mancheño-Corvo Pablo, Menta Ramón, DelaRosa Olga.

- 2nd European Congress of Immunology October 2009. Scientific Comunications. Berlin Human adipose-derived stem cells (hASC) therapy induced the generation of regulatory cells. O. DelaRosa, E. Lombardo, **Ramirez C**, P. Mancheño, B. del Río, R. Menta, A. Beraza, L. Rico, D. Buscher

- 2nd European Congress of Immunology. October 2009. Berlin. Scientific Comunications. Requirement of IFN-γ mediated. Indoleamine 2, 3 dioxygenase expression in the modulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells. O. DelaRosa, E. Lombardo, A. Beraza, P. Mancheño-Corvo, **Ramirez C**, R. Menta, L. Rico, E. Camarillo, L. García, J.L. Abad, C. Trigueros, M. Delgado, D. Buscher

- 2nd European Congress of Immunology. October 2009. Berlin. Scientific Comunications. Toll-like receptor-mediated signaling in human adipose-derived stem cells: Implications on immunogenicity and immunosuppressive potential. Eleuterio Lombardo, Olga DelaRosa, Pablo Mancheño, Ramón Menta, **Ramírez C**, and Dirk Büscher

- Keystone Symposia 2009. Poster March 2009. Keystone. USA. Human adipose-derived stem cells (hASC) induce the generation of regulatory/suppressive T cells. DelaRosa O; Lombardo E; **Ramirez C,** Mancheño P; Delgado M and Büscher D. R&D Department, Cellerix S.A. Tres Cantos, 28760 Madrid, Spain

- 7th Annual Meeting of the International Society for Stem Cell Research. July. Barcelona. Spain. (2009) Poster presentation. Regulation of lymphocyte proliferation by human adipose-derived stem cells requires IFNg, IDO activity and generates T cells with suppressor activity DelaRosa O; Lombardo E; Beraza A; Mancheño P; **Ramirez C,** Delgado M and Büscher D. R&D Department, Cellerix S.A. Tres Cantos, 28760 Madrid, Spain

- 6TH Annual International IFATS Conference. October 2008. Toulouse. France. Oral presentation. Toll-like receptor-mediated signaling in human adipose-derived stem cells: Implications on immunogenicity and immunosuppressive potential Eleuterio Lombardo, Olga de la Rosa, Pablo Mancheño, Ramón Menta, **Ramírez C** and Dirk Büscher Cellerix S.A, Tres Cantos, Madrid, Spain

- Spanish Society of Immunology 2007.Marzo 2007.Granada. Conformational Differences in the surface αβTCR/CD3 complex Between CD4+ and CD8+ T limphocytes are conserved in mammals and associated with differential glycosylation. Rossi NE, Perez L, **Ramírez C,** Swamy M, Schamel WWA, Risueño R,Reiné J,Neville D, Karlsson A ,Bonay P, Fernandez-Malavé E ,Regueiro RJ. Inmunología UCM (Madrid), CIEMAT (Madrid) CBM-CSIC

- Spanish Society of Immunology 2005.Mayo 2005.Córdoba. Comparative characterization of the complex TCRαβ/CD3 in lymphocytes T CD4+ and CD8+.Rossi NE, Pulgar M, Fernandez E, **Ramirez C,** Rodriguez-Lopez RM, Gomez del Moral M, Toribio ML, Alarcón B, Regueiro JR. Inmunología UCM (Madrid), CBM-CSIC –UAM

- Spanish Society of Immunology 2005.Mayo 2005.Córdoba. Study of the function of the chain CD3γ in the signposting across the complex TCR/CD3. Recio Hoyas MJ, Rossi NE, Weiss E, Periañez A, Martin Fernandez MJ, Crespo Guardo A, **Ramírez C,** Reine J,Perez V,Dominguez O,Regueiro JR. Inmunología UCM (Madrid), CNIO