

OFERTA TFM CURSO 24-25
MÁSTER EN GENÉTICA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

1- Título: Engineering membrane vesicles of *Pseudomonas putida* for the development of biopesticides agents.

Director/a: José Manuel Borrero de Acuña

E-mail: jbdeacuna@us.es

Resumen: Extracellular membrane vesicles (eMVs) are essential for bacterial-bacterial communication and bacterial-host interactions¹. Despite the tremendous advances in elucidating eukaryotic vesicle formation and identifying key players, the proteins participating in this process in bacteria remain elusive². We identified a family of uncharacterized proteins, which are highly conserved across species and actively promote both intra- and extracellular vesicle generation. We investigated the impact of overproducing these proteins in *E. coli* and the human pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. The production of a protein group led to the formation of intracellular membranous compartments, whereas the other group boosted extracellular vesicle release. The deletion of both genes in *P. aeruginosa* resulted in a substantial loss of vesicle formation. Protein-protein interaction studies coupled with deletion and overexpression of identified genes will ease our understanding of the underlying mechanisms for the biogenesis of membrane vesicles *P. putida*. We aim at engineering the proteic cargo of these membrane vesicles to encapsulate phytopathogen inhibitors that could potentially surrogate hazardous pesticides used in agriculture.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología. Facultad de Biología

2- Título: Biotecnología de cultivos oleaginosos con interés para la industria petroquímica

Director/a: Mónica Venegas Calerón

E-mail: mvc@ig.csic.es

Tutor/a: María del Carmen Limón

Resumen: Se trabajará con una planta autóctona del mediterráneo occidental, que presenta el potencial de acumular lípidos inusuales de interés biotecnológico. El objetivo es identificar y caracterizar las enzimas responsables de la síntesis y acumulación de triacilglicéridos en nuestra planta de interés. Puesto que el genoma de este organismo no está disponible, la identificación de las secuencias codificantes de genes implicados en la acumulación de lípidos se realizará a partir de cDNA de hojas y semillas en desarrollo usando cebadores degenerados y mediante el estudio del transcriptoma en semillas en desarrollo. Una vez obtenida la secuencia completa codificante del gen de interés, su clonación y expresión en la levadura *Saccharomyces cerevisiae* permite la caracterización heteróloga de las enzimas y posterior expresión en otros cultivos oleaginoso de interés, como camelina o ricino.

Centro de trabajo: Instituto de la Grasa

3- Título: Contribución de las proteínas ribosómicas a la síntesis de ribosomas y la traducción de proteínas en organismos eucarióticos

Director/a: Jesús de la Cruz Díaz

E-mail: jdLCD@us.es

Resumen: Nuestro laboratorio en el Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS) estudia aspectos fundamentales del metabolismo nucleolar y la síntesis de proteínas, así como la implicación de estos procesos en la fisiopatología de un determinado grupo de enfermedades humanas de pronóstico reservado. Nuestros estudios se realizan en el eucariota modelo *Saccharomyces cerevisiae*, llamado también levadura de gemación, y en algunas líneas celulares humanas. Nuestro objetivo es esclarecer la contribución de determinadas proteínas ribosómicas y factores de ensamblaje en la fabricación de subunidades ribosómicas y en cómo el proceso de formación de ribosomas puede afectar a las propiedades traduccionales, como fuente de pérdida de homeostasia y generación de enfermedad. En este trabajo, se estudiará como algunas mutaciones en las proteínas ribosómicas del denominado pico ribosómico (eS10, eS12 y eS31), ligadas a ribosomopatías humanas, generan ribosomas traduccionalmente aberrantes que realizan la traducción selectiva de mRNAs específicos. Para más información en nuestro grupo de investigación y la línea de investigación de esta solicitud, consultar <https://personal.us.es/jdLCD/ribosome/> y <https://www.ibis-sevilla.es/es/investigacion/oncohematologia-y-genetica/sintesis-y-funcion-de-los-ribosomas/>

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)

4- Título: Estudio de la Biología de los fragmentos de ADN de cadena sencilla sin replicar y su relevancia en cáncer

Director/a: Néstor García Rodríguez

E-mail: nestor.garcia@cabimer.es

Resumen: Realización de un screening genético para la identificación de nuevos factores implicados en la biología de los huecos de ssDNA sin replicar.

Centro de trabajo: CABIMER

5- Título: Inestabilidad genética asociada a la replicación del DNA y sus consecuencias en cáncer

Director/a: Iván Valle Rosado

E-mail: lvrosado@us.es

Resumen: El grupo de investigación "Replicación y daño endógeno" en CABIMER estudia las bases moleculares de la predisposición a tumores en la enfermedad Anemia de Fanconi. Mediante el uso de nuevas tecnologías como CRISPR-Cas9 ó análisis bioinformáticos tanto en líneas celulares como en modelos animales, intentamos descubrir las fuentes endógenas que provocan bloqueos de la replicación y los mecanismos de reparación implicados en la resolución de los mismos. El estudiante

adquirirá experiencia en técnicas de biología molecular, cultivos de células animales, citometría de flujo, histología y análisis de datos.

Centro de trabajo: CABIMER

6- Título: Descifrando el papel de las ceramidas en las rutas de señalización que coordinan el crecimiento y el tamaño celular.

Director/a: Rafael Lucena Hernández

E-mail: rlucena@us.es

Resumen: La regulación del crecimiento y la división celular implica múltiples vías moleculares que actúan de forma concertada para lograr un control temporal y espacial preciso. Cada vez hay más pruebas de que el metabolismo lipídico, en particular la producción de ceramida y esfingolípidos, desempeña un papel crucial en la coordinación del crecimiento y el tamaño celular con la división celular. La ceramida, una molécula de señalización central en el metabolismo de los esfingolípidos, sirve como precursor para la síntesis de varios esfingolípidos complejos implicados en funciones celulares como la integridad de la membrana, la señalización y la respuesta al estrés. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para desentrañar los mecanismos moleculares precisos por los que estos lípidos contribuyen a la coordinación del crecimiento y la división celular en la levadura de fisión. Utilizando las levaduras como organismo modelo, pretendemos comprender los mecanismos moleculares dependientes de ceramidas que controlan el crecimiento y el tamaño celular.

Centro de trabajo: Departamento de Biología Celular. Facultad de Biología.

7- Título: Estudios simbióticos de las proteínas presentes en vesículas de membrana rizobianas

Director/a: Francisco Pérez Montaña

E-mail: fperez@us.es

Resumen: La simbiosis rizobio-leguminosa es uno de los procesos biológicos mejor estudiados de la naturaleza. Sin embargo, lejos de conocer todos los actores implicados en esta íntima relación, los últimos estudios han puesto de manifiesto la posible implicación de las vesículas de membrana en la interacción simbiótica. En el trabajo propuesto, seleccionaremos una serie de proteínas presentes en estos vehículos moleculares y realizaremos una mutagénesis dirigida de los genes que las codifican para identificar nuevos actores proteicos implicados en el proceso simbiótico.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología. Facultad de Biología

8- Título: Screening of the expression of α -to- β transdifferentiation markers in pancreatic sections from the RIP-B7.1 mouse model of experimental autoimmune diabetes.

Director/a: Christian Claude Lachaud y Benoit Raymond Gauthier

E-mail: christian.lachaud@cabimer.es ; benoit.gauthier@cabimer.es

Tutor/a: CINTIA ROODVELDT

Resumen: Our group reported in 2018 how a treatment with the small molecule BL001, which is an agonist of the liver receptor homolog-1 (LRH-1), reduces notably the programmed pancreatic autoimmune attack in the RIP-B7.1 mouse model of experimental autoimmune diabetes (EAD) (Cobo-Vuilleumier et al. Nature Communications. 2018). A genetic screening performed in purified pancreatic alpha cells from the double transgenic mouse model [YFP-GLUT2 RIP-B7.1] induced to develop diabetes and treated with BL001, identified several genes (LAMA5, FGF21, WISP2, FREM2, NGFR, SPON2, FRA3) whose expression was notably modulated in response to BL001 treatment and which differential expression was suggested to be associated with alpha-to-beta cell transdifferentiation. The expression of these markers are actually investigated in pancreas sections from healthy human adult donors versus type I diabetes (T1DM) donors. This preliminary analysis indicated differences in expression for FGF21 and WISP2 in pancreatic cells between healthy versus T1DM patients. In this TFM and with the help of your directors, you will investigate whether these markers display differential expression in pancreatic alpha and beta cells from normal mice versus diabetic RIP-B7.1 mice. You will learn how to perform pancreatic sections and immunohistochemistry (IHC), and also how to use fluorescence microscopes and quantify differences in marker expression with the use of advanced image analysis softwares. You will generate research data with strong potential for publications. You will be integrated in a dynamic research group and will benefit from the co-direction of Benoit Gauthier and Dr. Lachaud who already have successful experience in directing TFG and TFM from students of the US and UPO universities. Nuestro grupo publicó en 2018 un trabajo pionero en el cual demostramos como una pequeña molécula (BL001), agonista del receptor hepático homólogo-1 (LRH-1) es capaz de reducir el ataque autoinmune pancreático en el modelo de ratón RIP-B7.1 de diabetes autoinmune experimental (Cobo-Vuilleumier et al. Nature Communications. 2018). Un cribado genético realizado en células alfa pancreáticas purificadas desde el ratón doble transgénico [YFP-GLUT2 RIP-B7.1] inducido a desarrollar diabetes, identificó varios genes (LAMA5, FGF21, WISP2, FREM2, NGFR, SPON2, FRA3) cuya expresión era notablemente modulada en respuesta al tratamiento con BL001, sugiriendo que podrían estar asociados con la transdiferenciación de células alfa a beta. Nuestro laboratorio investiga actualmente la expresión de estos siete marcadores en secciones de páncreas de donantes adultos humanos sanos versus donantes con diabetes tipo I (DM1). Esta evaluación preliminar ha indicado diferencias en la expresión de FGF21 y WISP2 en células pancreáticas entre pacientes sanos y pacientes con DM1. En este TFM y con la supervisión de tus directores, investigarás si estos marcadores muestran expresiones diferenciales en células alfa y beta pancreáticas de ratones normales frente a ratones RIP-B7.1 diabéticos. Serás formado para realizar secciones pancreáticas e inmunohistoquímica (IHC). Aprenderás también a utilizar microscopios de fluorescencia y cuantificar diferencias en la expresión de marcadores con el uso de softwares avanzados de análisis de imágenes. Generaras resultados de investigación con potencial de ser publicados. Te integrarás en un grupo de investigación dinámico y te beneficiarás de la codirección del Dr. Benoit Gauthier y Dr. Christian Lachaud, ambos con experiencia en la dirección de TFG y TFM de estudiantes de las universidades de Sevilla (US) y de la UPO.

Centro de trabajo: CABIMER

9- Título: Reparación de daño en el ADN generado por topoisomerasas

Director/a: Fernando Gómez Herreros

E-mail: fgomezhs@us.es

Resumen: Nuestro laboratorio se centra en investigar la formación, detección y reparación de lesiones del DNA asociadas con la expresión genética. Ésta es una cuestión crucial tanto en la investigación básica como en biomedicina, ya que la transcripción es una importante fuente endógena de daño al DNA, que conduce a la muerte celular y la inestabilidad del genoma. Estamos especialmente enfocados en la formación y reparación de roturas de doble cadena (DSB) del DNA, que surgen por la acción de las topoisomerasas de DNA, enzimas esenciales que catalizan la liberación de estrés torsional. Estas enzimas son diana de algunos tipos de quimioterapia y su actividad está relacionada con enfermedades neurodegenerativas. Nuestro laboratorio ha contribuido significativamente a comprender el proceso de reparación de los DSB inducidos por las topoisomerasas 1 y 2, revelando la amenaza que representan estos DSB tanto para la expresión génica como para la estabilidad del genoma. El proyecto de este TFM se enmarca en el estudio de nuevos factores que participan en la señalización y reparación de este tipo de daño, y que están relacionados con algunas enfermedades raras. Se generarán mutantes en modelos celulares humanos empleando tecnología CRISPR/cas9, y se realizarán técnicas citogenéticas, microscopía óptica de fluorescencia o análisis de proteínas, entre otras.

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)

10- Título: Identifying the chromatin signatures characteristic of proto-oncogenes and tumour suppressor genes that regulate the cell cycle

Director/a: Daniel Rico

E-mail: daniel.rico@cabimer.es

Tutor/a: Belén Gómez González

Resumen: All cells in an organism have the same genome, but we have as many different epigenomes as different cell types. There are hundreds of different histone post-translational modifications (also called histone marks) and their combinatorial patterns constitute a “histone code” that reflects the function and activity of genomic elements, such as repressed or active promoters, enhancers, transcribed genes or silent heterochromatin. Specific combinations of active and silent genes determine a cell type and regulate when a cell can progress through the cell cycle and divide. This highly controlled system is disrupted in tumour cells resulting in uncontrolled cell proliferation - the main feature of any cancer. In this study, we want to understand how the histone code is modified in tumour-associated genes which are involved in deregulation of the cell cycle and which are known to be affected in many cancer types (e.g. MYC, CCND1, TP53, RB1). We will apply diverse bioinformatics approaches, including alignments, hidden markov models and machine learning, to extract the chromatin signatures characteristic for cell cycle “accelerators” (proto-oncogenes) and “breaks” (tumour-suppressor genes). Objectives of this project will be: - Determine a set of tumour-associated genes important for cell cycle regulation. - Mine ChIP-seq datasets of histone modifications from The International Human Epigenome Consortium (IHEC) -

Extract epigenomic signatures of selected tumour-associated genes by comparing healthy and tumour samples. Datos y software: The student will learn how to work and process genomic and epigenomic databases, build pipelines, use genome browsers, handle big data and interpret and present bioscientific results. Also, as the members of the supervisory team are active part of IHEC Integrative Analysis, the student will be given the unique opportunity to attend regular IHEC meetings online and experience international collaboration. Referencias: The International Human Epigenome Consortium: A Blueprint for Scientific Collaboration and Discovery <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27863232/> Automatic identification of informative regions with epigenomic changes associated to hematopoiesis <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28934481/> Epigenomic translocation of H3K4me3 broad domains over oncogenes following hijacking of super-enhancers <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34933939/>

Centro de trabajo: CABIMER

11- Título: Estudio de los sistemas de secreción de tipo VI de *Pseudomonas putida*

Director/a: Patricia Bernal

E-mail: pbernal@us.es

Resumen: Los sistemas de secreción de tipo VI son armas moleculares usadas por el 25% de bacterias Gram-negativas para eliminar a sus competidores. A través de ellos se secretan efectores al interior de células dianas que son en la mayoría de los casos otras bacterias Gram-negativas pero también pueden ser células eucariotas. Nuestra bacteria modelo, *Pseudomonas putida* es una bacteria del suelo con un metabolismo muy versátil y algunas de sus estirpes como KT2440 con la capacidad de proteger a las plantas del ataque de fitopatógenos. *P. putida* tiene tres sistemas de secreción de tipo VI y recientemente hemos descrito en nuestro laboratorio que KT2440 lo usó como herramienta de biocontrol, eliminando a patógenos de plantas y protegiendo así diferentes cultivos. En este proyecto de TFM, vamos a estudiar la regulación de los sistemas de tipo VI lo que nos permitirá aumentar la capacidad biocontroladora de esta cepa. Para este estudio vamos a construir fusiones transcripcionales y traduccionales al gen reportero que codifica la b-galactosidasa, de los promotores de tipo VI y vamos a estudiar su activación en diferentes fondos mutantes. La estudiante utilizará técnicas de microbiología, biología molecular y bioquímica para el desarrollo de este proyecto.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología. Facultad de Biología.

12- Título: Valorización biotecnológica de recursos minerales en zonas de escasez hídrica.

Director/a: Alfonso Mazuelos Rojas

E-mail: mazuelos@us.es

Resumen: Contexto: La producción de metales y racionalización de los recursos hídricos son hoy día asuntos estratégicos en la configuración de nuestra civilización. La demanda de estos recursos naturales es creciente por ser necesaria para dar soporte al desarrollo tecnológico y del bienestar y transición energética. Para conseguir el acceso de los

usuarios finales a los mismos son necesarios procedimientos eficaces y económicamente aceptados. Las tecnologías limpias, diseñadas desde bases de sostenibilidad y economía circular, acaparan el máximo interés tomando las biotecnologías un especial protagonismo. Objetivos: estudiar la viabilidad de la producción de metales a partir de residuos de la minería usando agua de mar y aguas residuales mediante la acción catalítica de microorganismos extremófilos ferro y sulfo oxidantes. Metodología: Tras una revisión bibliográfica, se desarrollarán cultivos en matraces para evaluar los límites de viabilidad de la propuesta. Se validarán los resultados en reactores tanque agitado. Se propone dar visibilidad a los resultados a través de medios convencionales (congreso/publicación) y alternativos (redes linkedin/researchgate) para la diseminación de información científica. Resultados esperados: 1) Rendimientos y cinética de extracción de metales similares a los de procedimientos ya implementados en la industria, pero con las ventajas económicas y medioambientales asociadas a la biotecnología (presión atmosférica, rango de temperatura mesófilo, mínimo uso de reactivos y cero emisiones y efluentes contaminados) 2) Reducción del consumo de agua continental y procesada respecto de otros procedimientos actualmente aplicados en la industria para la producción de metales.

Centro de trabajo: Facultad de Química

13- Título: Impacto de la actividad agrícola intensiva en la diversidad microbiana de los suelos del bajo Guadalquivir

Director/a: Jose Luis González Pimentel y Consolación Álvarez Núñez

E-mail: pimentel@ibvf.csic.es; consolación@ibvf.csic.es

Resumen: Las marismas del Guadalquivir constituyen el enclave económico agrario más importante de Andalucía, solo por detrás de Almería, y uno de los más importantes de Europa desde el punto de vista medioambiental. En una región donde predomina el cultivo intensivo del arroz desde hace más de 80 años, el trabajo se centrará en el estudio comparativo entre las comunidades procariotas de diferentes suelos agrícolas, de mayor y menor incidencia antrópica, con suelos naturales del espacio protegido del PN de Doñana, para conocer el impacto que las prácticas agrícolas han tenido en la diversidad de estas comunidades. Estos estudios se centrarán en análisis de datos obtenidos por secuenciación masiva de ADN y el uso de herramientas bioinformáticas avanzadas. El trabajo se desarrollará en el Grupo "Simbiosis Planta-Cianobacteria" del Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF-US-CSIC).

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF-US-CSIC)

14- Título: Regulación del comportamiento simbiótico en *Sinorhizobium* mediado por di guanilato cíclico.

Director/a: Carlos Medina Morillas

E-mail: cmedina1@us.es

Resumen: El di guanilato cíclico (di-GMP-c) es una molécula que interviene en la regulación de multitud de procesos a nivel transcripcional, post-transcripcional y post-traduccion. En este trabajo se pretende ver la implicación del di-GMP-c en algunos

procesos implicados en la simbiosis de *Sinorhizobium fredii* con sus leuminosas hospedadoras.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología. Facultad de Biología

15- Título: Análisis molecular de la simbiosis Nostoc-Oryza

Director/a: Consolación Álvarez Núñez y Vicente Mariscal Romero

E-mail: consolacion@ibvf.csic.es

Resumen: El proyecto de TFM que se oferta se realizará en el Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (CSIC-US) en el grupo de investigación "Simbiosis planta-cianobacteria". Los principales intereses de esta propuesta se centran en adquirir conocimiento sobre los mecanismos moleculares implicados en la simbiosis entre las cianobacterias y el arroz. Conocer estas señales permitirá un mayor control del proceso de simbiosis, proporcionando una alternativa ecológica al uso de agroquímicos en la agricultura. El TFM consistirá en la construcción de un mutante de Nostoc punctiforme en un gen que puede ser esencial para el establecimiento de la simbiosis entre Nostoc y Oryza sativa. Se realizará una caracterización fenotípica del mutante que incluye la capacidad para fijar nitrógeno atmosférico y de establecer simbiosis con plantas. Se utilizarán técnicas de biología molecular, fisiología vegetal y microscopía confocal.

Centro de trabajo: Instituto de bioquímica vegetal y Fotosíntesis (IBVF), CSIC y Universidad de Sevilla

16- Título: Terapia Génica para el Tratamiento de Distrofias Hereditarias de la Retina.

Director/a: Francisco Javier Díaz Corrales

E-mail: francisco.diaz@cabimer.es

Tutor/a: Por determinar

Resumen: La retinosis pigmentaria (RP) es la forma más común de ceguera hereditaria del adulto. La RP causada por mutaciones en el gen PRPF31, conocida como RP11, constituye una de las principales causas de RP autosómica dominante (RPad). La RP es una enfermedad degenerativa de los fotorreceptores que se caracteriza por ceguera nocturna, constricción del campo visual y finalmente pérdida global de la visión. Actualmente no existen tratamientos eficaces que puedan prevenir o detener la pérdida de la visión en la RP causada por mutaciones en PRPF31. La preponderancia de mutaciones que generan proteínas truncadas ha sugerido que la base fisiopatológica de la RP asociada al PRPF31 es la pérdida funcional de un alelo. Sin embargo, en nuestro grupo de investigación hemos descubierto que también existe un efecto dominante negativo debido a la agregación de la proteína mutante. Por lo tanto, la transferencia de la copia funcional del mismo gen no debería ser suficiente para mejorar los síntomas y se deberían utilizar técnicas que inhiban la expresión del gen mutante y sobre-expresen un transgén normal. El objetivo de este proyecto es evaluar la seguridad y eficacia de una aproximación de terapia génica combinada usando nanopartículas de sílice mesoporoso que permitirán realizar la inhibición del alelo mutante por CRISPR/Cas9-RNP y sobre-expresión de la proteína silvestre simultáneamente por mcADN. La seguridad y eficacia de esta aproximación se realizará en epitelio pigmentario y

organoides retinianos derivados de iPSC de pacientes con RP11 y en ratones “knock-in” Prpf31A216P/+. En los animales tratados se evaluarán el fondo de ojo, electroretinograma, tomografía de coherencia óptica, transcriptoma e histología. Consideramos que este estudio es innovador, novedoso y relevante ya que es el primer estudio pre-clínico de terapia génica para tratar la RPad asociada a mutaciones en el gen PRPF31 utilizando este tipo de aproximación terapéutica la cual es potencialmente patentable.

Centro de trabajo: CABIMER

17- Título: Estudio transcriptómico de la respuesta al hambre de N en un mutante de señalización celular de *Chlamydomonas reinhardtii*

Director/a: Inmaculada Couso

E-mail: inmaculada.couso@ibvf.csic.es

Tutor/a: Mercedes García González

Resumen: Recientemente, hemos descubierto que existen rutas de señalización que son imprescindibles para el correcto funcionamiento de las células eucariotas incluidas los organismos fotosintéticos unicelulares como es la microalga verde *Chlamydomonas*. EN este contexto pretendemos averiguar cuáles son los pasos esenciales en la integración de señales nutricionales como la falta de N en el medio. El N es un elemento indispensable para la nutrición vegetal y por tanto está regulado por rutas de señalización maestras que pretendemos descubrir realizando aproximaciones Ómicas.

Centro de trabajo: IBVF

18- Título: Crosstalk between metabolism and cell signaling to target glioblastoma resistance to current therapy.

Director/a: Raul V. Durán y Mercedes Tomé

E-mail: raul.duran@cabimer.es / mercedes.tome@cabimer.es

Tutor/a: Hélène Gaillard

Resumen: Signaling and metabolic reprogramming is a hallmark of cancer and particularly of aggressive tumors, which possess a robust ability to adapt to changes and to insults to survive. The group Metabolism and Cell Signaling is interested in understanding the mechanisms of interaction between cell metabolism and cellular processes to identify key elements involved in the adaptation of cancer cells to their microenvironment and particularly to therapeutic treatments. Our group investigates the implication of key metabolic pathways such as glutamine metabolism in controlling cancer cell growth, cell death and proliferation through its crosstalk with core signaling pathways such as mTOR and Notch, to regulate cellular processes including autophagy and cell cycle. We have already shown that a glutamine-mediated activation of mTORC1 signaling and autophagy inhibition can lead to cancer cell death and tumor regression during nutritional imbalance both in vitro and in mouse model. (Villar et al. Nat Commun. 2017, doi:10.1038/ncomms14124; Bodineau et al. Nat Commun. 2021, doi: 10.1038/s41467-021-25079-4). We have also described a crosstalk between Notch signaling, glutamine metabolism and mTORC1 with potential therapeutic opportunities

against some types of leukemia (Nguyen et al. Mol Oncol. 2021, doi: 10.1002/1878-0261.12877). We are particularly interested in the most aggressive type of brain tumor, named glioblastoma, with an imperative need for finding more efficient treatments. The standard of care of glioblastoma patients has not been modified since its last update in the 90s to include temozolomide as the standard chemotherapeutic agent. The median survival of glioblastoma patients is less than 15 months. Glioblastoma encompasses a heterogeneous family of tumors, but all of them sharing a high resistance to chemotherapy. Our studies are orientated to determine the signaling and metabolic modifications adopted by glioblastoma cells to evade chemotherapy. In this sense, in this TFM proposal we will focus on certain metabolic and signaling modifications during temozolomide resistance and the role of nutritional imbalance to sensitise glioblastoma cells to temozolomide and the molecular mechanisms involved. To this end, we will make use of cell culture techniques with several glioblastoma cellular models with different genetic, metabolic and signaling backgrounds. The studies will make use of both standard and cutting-edge techniques (flow cytometry, confocal microscopy, western blot, qPCR, Seahorse, among others) routinely used in the group to assay cell viability, cell death, protein and gene expression analyses as well as metabolic status.

Centro de trabajo: CABIMER

19- Título: Factors and mechanisms underlying manganese-induced cell damage

Director/a: Helene Gaillard

E-mail: gaillard@us.es

Resumen: Manganese (Mn) is a trace element that is essential for life by acting, among other mechanisms, as a divalent metal cofactor for enzymes such as the mitochondrial enzyme superoxide dismutase 2, the apical activator of the DNA damage response serine/threonine kinase ATM or the Mn-activated glutamine synthetase. However, Mn becomes toxic when enriched in the human body. Overexposure to Mn leads to oxidative stress and alteration of enzymatic activities including DNA polymerases, telomerase and TORC1 signalling, among others. Despite the relevance of these functions in disease state such as cancer and neurodegenerative disorders, the molecular mechanisms underlying Mn-induced cell death or 'manganatosis' (from manganese and thanatos) are yet poorly studied. In this project, budding yeast will be used as eukaryotic model organism to explore manganatosis pathways and improve our knowledge on the factors and mechanistic causes underlying Mn-induced cell damage. Recommended readings: - Nicastro R, Gaillard H, Zarzuela L, Péli-Gulli MP, Fernández-García E, Tomé M, García-Rodríguez N, Durán RV, De Virgilio C, Wellinger RE. Manganese is a physiologically relevant TORC1 activator in yeast and mammals. *Elife*. 2022 Jul 29;11:e80497. doi: 10.7554/eLife.80497. PMID: 35904415. - de Oya IG, Jiménez-Gutiérrez E, Gaillard H, Molina M, Martín H, Wellinger RE. Manganese Stress Tolerance Depends on Yap1 and Stress-Activated MAP Kinases. *Int J Mol Sci*. 2022 Dec 11;23(24):15706. doi: 10.3390/ijms232415706. PMID: 36555348.

Centro de trabajo: CABIMER

20- Título: Nuevos microorganismos extremófilos de interés ecológico y aplicado

Director/a: Antonio Ventosa y Rafael Ruiz de la Haba

E-mail: rrh@us.es

Resumen: Una de las principales líneas de investigación de nuestro grupo está dedicada a la caracterización taxonómica de aislados de ambientes salinos. Disponemos de una extensa colección de aislados que hemos ido obteniendo de muestreos realizados en diferentes salinas solares y más recientemente también en suelos salinos. El trabajo que proponemos para este Trabajo Fin de Máster consiste en la caracterización filogenómica de alguno de estos aislados. También proponemos realizar un estudio genómico del mismo con el fin de caracterizar las principales rutas metabólicas implicadas en su metabolismo así como la búsqueda de posibles compuestos de interés biotecnológico.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia

21- Título: Descubriendo el mundo microbiano: nuevas bacterias y arqueas

Director/a: Cristina Sánchez-Porro Álvarez y M^a José León León

E-mail: sanpor@us.es

Resumen: Los ambientes hipersalinos constituyen un ejemplo de ambiente extremo en el que los microorganismos que habitan en ellos se denominan halófilos. La variedad de estos microorganismos es muy diversa incluyendo tanto bacterias como arqueas. Estos microorganismos presentan un enorme potencial a nivel de aplicaciones biotecnológicas, como por ejemplo como productores de solutos compatibles, enzimas, sustancias bioactivas... Nuestro grupo de investigación tiene una dilatada trayectoria en el estudio de estos microorganismos tanto a nivel taxonómico como a nivel de sus posibles aplicaciones. Proponemos para este Trabajo Fin de Máster la búsqueda de nuevos microorganismos halófilos y su caracterización filogenómica. Estudiaremos también a nivel genómico su posible implicación en procesos biotecnológicos y su aplicación industrial.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología. Facultad de Farmacia

22- Título: Estudio genómico de la localización funcional del regulador de ciclo Whi5

Director/a: María de la Cruz Muñoz Centeno y Sebastián Chávez de Diego

E-mail: mcmunoz@us.es y schavez@us.es

Resumen: Whi5 es un inhibidor de la transición G1/S en levaduras con un papel relevante en el acoplamiento entre el crecimiento y la división celular. Es el ortólogo de la proteína humana retinoblastoma, igualmente implicada en la inhibición de la transición G1/S en humanos. La inhibición de la entrada en un nuevo ciclo, asegura que esta entrada se realice en el momento adecuado. En levaduras, se conocen muy bien los factores de transcripción que son inhibidos mediante la localización Whi5 en sus regiones diana promotoras, impidiendo la expresión de genes necesarios para el paso de START hasta que es excluido del núcleo. Por otro lado, en nuestro laboratorio se ha demostrado recientemente que los niveles de Whi5 juegan un papel relevante en la capacidad proliferativa que una célula presenta en función del número de divisiones que

ha realizado previamente. En resumen, sólo las células vírgenes, que no han realizado ninguna división, mantienen el mayor potencial proliferativo que se asociaría a bajos niveles de Whi5. Sin embargo, al aumentar en número de divisiones realizadas, hay una menor probabilidad de mantener el potencial proliferativo y esto se asocia a mayores niveles de Whi5. Los genes diana que median esta función, no se conocen hasta el momento. Algunos análisis preliminares parecen indicar que, además de las dianas conocidas en regiones promotoras, Whi5 también se une a la región codificante de ciertos genes. A fin de entender los mecanismos moleculares que subyacen a este papel de Whi5 en acoplar la capacidad proliferativa y la edad replicativa en levaduras, planteamos como objetivo de este TFM el estudio mediante Chip (Chromatine InmunoPrecipitation) del posicionamiento de WHI5 en condiciones de baja y alta expresión mediante el uso de una estirpe con Whi5 bajo el control de un promotor regulable. Estas condiciones de bajos y elevados niveles de Whi5, correlacionan con mayor y menor capacidad proliferativa, respectivamente. Comprender el mapa de interacciones físicas en el genoma de la proteína Whi5, puede esclarecer los mecanismos que permiten relacionar ambos fenómenos. Estos mecanismos podrían suponer nuevas funciones para Whi5 además de las ya descritas.

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla, IBIS

23- Título: Análisis transcriptómico de la influencia de los azúcares en la floración

Director/a: Federico Valverde Albacete y Carolina Camacho Fernández

E-mail: federico.valverde@ibvf.csic.es y carolina.camacho@ibvf.csic.es

Tutor/a: Gloria Serrano Bueno

Resumen: El principal objetivo de este trabajo es dilucidar la relación que tienen los azúcares con la capacidad de las plantas de detectar bajas temperaturas y disparar los procesos regulados por ellas. De manera natural, los azúcares se acumulan internamente en los tejidos vegetales durante un periodo largo de frío. Nuestra hipótesis es que esta acumulación, debida a un cambio en la dinámica de la fotosíntesis o como protección frente al daño oxidativo que se puede provocar en estas condiciones, es la que sirve de señal internamente para desencadenar los procesos relacionados con la respuesta a bajas temperaturas, como el silenciamiento a nivel epigenético del gen FLC. Resultados previos obtenidos en nuestro laboratorio muestran una estabilización de la proteína FRI en presencia de azúcares, lo cual provoca un retraso de la floración en ausencia de frío por un exceso de activación de represores de la floración. El trabajo a realizar consistirá en una evaluación fenotípica de la floración de genotipos sensibles a vernalización de *Arabidopsis thaliana* y de la variedad MicroTom de tomate, que no es sensible a vernalización, tratados con diferentes concentraciones de azúcares y cultivados a diferentes temperaturas in vitro. Por otra parte, se generarán datos transcriptómicos de las plantas cultivadas in vitro para analizar con herramientas bioinformáticas la vinculación existente en la expresión de genes relacionados con la respuesta a frío y al metabolismo de los azúcares.

Centro de trabajo: IBVF, Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

24- Título: Estudio de la modulación del metabolismo del azufre en la neurocognición

Director/a: Alejandro Martín-Montalvo

E-mail: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Tutor/a: David Pozo

Resumen: El objetivo de este proyecto es determinar las consecuencias fisiológicas de la modulación del metabolismo del azufre en la neurocognición durante la etapa adulta y la vejez de roedores. Realizaremos experimentación in vivo con roedores y experimentación mecanística usando tejidos de animales. Para ello, realizaremos experimentos de genómica (RNA-seq), proteómica (iTRAQ) y lipidómica. Entre otras técnicas de biología molecular, realizaremos inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA. Mediante estos estudios podremos determinar el potencial de la modulación del metabolismo del azufre en la prevención de la aparición de marcadores neurocognitivos asociados con el envejecimiento.

Centro de trabajo: CABIMER

25- Título: Fundamentos básicos y traslacionales de nuevas modificaciones posttraduccionales en el cáncer.

Director/a: Alejandro Martín-Montalvo

E-mail: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Tutor/a: David Pozo

Resumen: El objetivo de este proyecto es evaluar el efecto que tiene la modulación de modificaciones postranscripcionales que han sido descubiertas recientemente (por ejemplo, la lactilación y la persulfuración) en el cáncer. La experimentación se realizará estudiando tejidos de ratones en un modelo experimental de cáncer. Entre otras técnicas de biología molecular realizaremos RNAseq, ChIP-seq, inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA.

Centro de trabajo: CABIMER

26- Título: Respuesta a daños en el ADN durante meiosis

Director/a: Tatiana García Muse

E-mail: tbgarcia@us.es

Resumen: Usando *C. elegans* como organismo modelo el objetivo del trabajo es caracterizar la dinámica de la respuesta a daños en el ADN (DDR) en respuesta a IR durante la división meiótica en distintos mutantes de reparación, mediante el análisis de la activación del checkpoint, parada de ciclo celular, acumulación de daño e inducción de apoptosis.

Centro de trabajo: CABIMER

27- Título: Herencia asimétrica de centrosomas: relevancia en cáncer y envejecimiento

Director/a: Fernando Monje Casas

E-mail: fernando.monje@cabimer.es

Tutor/a: Ana María Rincón Romero

Resumen: Las células madre de animales, que juegan un papel fundamental durante el desarrollo y para el mantenimiento de la homeostasis tisular, constituyen un modelo clásico de células con división asimétrica. Durante las divisiones asimétricas, es imprescindible que el huso mitótico se alinee a lo largo de un eje de polaridad pre-establecido, de forma que pueda coordinarse el reparto equitativo del material genético, una vez duplicado, con la distribución diferencial de ciertos componentes celulares. El huso está formado por un haz bipolar de microtúbulos que emanan desde centros organizadores de microtúbulos (MTOCs) y que permiten la segregación de los cromosomas. Sin embargo, esta maquinaria molecular también es empleada por las células para establecer asimetría durante su división. De hecho, un fenómeno particularmente interesante que se ha observado durante algunas divisiones asimétricas es la distribución no aleatoria de los propios MTOCs que orquestan la formación del huso, denominados centrosomas en eucariotas superiores. La herencia asimétrica de los MTOCs es un proceso conservado evolutivamente, que puede observarse tanto durante la duplicación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como durante la división de distintas células madre de animales. Nuestro grupo ha contribuido al descubrimiento de nuevos reguladores clave para la distribución no aleatoria de los MTOCs del huso y, lo que es más importante, también a desvelar la relevancia biológica de este proceso. Nuestros resultados previos demuestran que la herencia asimétrica de los MTOCs es esencial para mantener el potencial replicativo de *S. cerevisiae*, ya que permite la distribución diferencial de ciertas moléculas y orgánulos celulares dañados entre la célula madre y la célula hija durante mitosis. Ahora, usando líneas celulares de neuroblastoma, queremos estudiar el fenómeno de asimetría en la distribución de los centrosomas en células humanas. El trabajo a desarrollar por el estudiante se enmarcará dentro de esta nueva línea de investigación, que abre la puerta al conocimiento de procesos que podrían reducir el potencial replicativo de las células madre y, de este modo, estar asociados con el origen de enfermedades relacionadas con el envejecimiento, como el cáncer o ciertos síndromes neurodegenerativos.

Centro de trabajo: CABIMER

28- Título: Caracterización de una nueva proteína esencial para la respuesta recombinacional

Director/a: Félix Prado Velasco

E-mail: felix.prado@cabimer.es

Tutor/a: María Luisa García Rubio

Resumen: La maquinaria de recombinación homóloga (HR) es esencial para la reparación de los cortes de doble cadena (DSB; del inglés double-strand break) que se generan en el ADN y ponen en riesgo su integridad. De igual forma, juega un papel crítico en la respuesta a daños replicativos facilitando el avance de las horquillas de replicación a través de daños en el ADN que obstaculizan la síntesis de ADN y relleno los

fragmentos de ADN de cadena sencilla (ssDNA, del inglés single-strand DNA) que se generan durante este proceso. Esto explica que mutaciones en componentes de la HR como BRCA1 or BRCA2 estén asociados al cáncer, y que muchas terapias se basen en generar DSBs o fragmentos de ssDNA que las células tumorales no pueden reparar causándoles la muerte. La HR está altamente conservada, por lo que los estudios en el organismo modelo *Saccharomyces cerevisiae* han sido claves para entender su mecanística. En nuestro grupo hemos utilizado esta levadura para realizar una búsqueda por sobreexpresión de supresores de la sensibilidad al agente metil metano sulfonato (MMS) de mutantes de RAD51 defectivos en la unión al ADN. Los agentes alquilantes se usan en terapias contra el cáncer ya que generan daños en el ADN que bloquean transitoriamente la replicación, produciendo fragmentos de ssDNA que requieren la HR, y por tanto, la recombinasa Rad51, para su reparación. Hemos observado que la sobreexpresión de una proteína no caracterizada hasta la fecha suprime completamente la sensibilidad a MMS de mutantes que carecen de Rad51. En línea con este dato, hemos visto que el mutante que carece de esta proteína es muy sensible a MMS. Estos resultados son inesperados porque no se conoce ninguna situación genética que sea capaz de complementar la ausencia de la recombinasa Rad51 en respuesta a daños recombinogénicos. El objetivo de este estudio es iniciar la caracterización de este mutante, lo que permitirá al estudiante familiarizarse con la genética de levaduras, con ensayos de inestabilidad genética y con análisis de biología celular y molecular. Además, este estudio le permitirá profundizar en los mecanismos de reparación de DNA que protegen al genoma de reordenamientos deletéreos.

Centro de trabajo: CABIMER

29- Título: Función del supresor de tumores ETV6 en el establecimiento de programas de diferenciación.

Director/a: Mario García Domínguez

E-mail: mario.garcia@cabimer.es

Tutor/a: Fernando Romero Balestra

Resumen: ETV6 es un supresor de tumores asociado a leucemia. En nuestro grupo hemos identificado que en condiciones de diferenciación se modifica por unión del polipéptido SUMO, un proceso conocido como sumoilación. SUMO es un pequeño polipéptido similar a la ubiquitina capaz de unirse covalentemente a otras proteínas como modificador post-traducciona. La sumoilación modula la función o propiedades de las proteínas diana. Actualmente se conocen más de mil proteínas diana de SUMO. Esta modificación participa en la mayoría de procesos celulares relevantes y es esencial, ya que su bloqueo conduce a letalidad en estado embrionario. En nuestro grupo pretendemos estudiar la función de esta modificación sobre el factor de transcripción ETV6 en el establecimiento de distintos programas de diferenciación durante el desarrollo, incluyendo la diferenciación neuronal, a músculo cardiaco/esquelético o la diferenciación de tipo endodérmico. Para ello contamos con modelos celulares de diferenciación así como con modelos embrionarios.

Centro de trabajo: CABIMER

30- Título: Análisis de compuestos que generan inestabilidad genética asociada a transcripción en células humanas

Director/a: Rosa María Luna Varo

E-mail: rvaro@us.es

Resumen: En el laboratorio de Inestabilidad genómica y cáncer en CABIMER, estamos interesados en la transcripción como fuente de inestabilidad genética. Recientemente, hemos identificado compuestos cuyos tratamientos inducen la acumulación de híbridos ADN-ARN, estructuras que pueden alterar la integridad del genoma. El objetivo de este trabajo es por una parte profundizar en el mecanismo de acción en inestabilidad genómica de estos compuestos; y por otra, valorar su impacto en proliferación en diferentes fondos genéticos. Para ello se trabajará con líneas celulares humanas y se llevarán a cabo tratamientos simples y combinados con los compuestos seleccionados, seguidos de medidas del daño en el ADN, transcripción y viabilidad celular. El desarrollo del proyecto permitirá al estudiante una primera inmersión en el campo de la investigación en células humanas mediante el aprendizaje de técnicas de biología celular y molecular. El plan de formación contempla un seguimiento continuo para la planificación y discusión de los resultados obtenidos con el tutor, así como la participación en reuniones periódicas con el grupo de investigación. Es de esperar que el conjunto de actividades sirva al estudiante como introducción a la investigación en el campo de la biología molecular del cáncer.

Centro de trabajo: CABIMER

31- Título: ANÁLISIS DE MATERIAL GENÉTICO y METABOLITOS MICROBIANOS EN EL LÍQUIDO AMNIÓTICO Y SU RELACIÓN CON LA SALUD FETAL

Director/a: M^a de Lourdes Moreno Amador

E-mail: lmoreno@us.es

Resumen: El líquido amniótico (LA) desempeña un papel crucial en el desarrollo fetal ya que proporciona un entorno dinámico y propicio para el crecimiento del feto. El LA está formado por la interacción de contribuciones maternas y fetales estrechamente reguladas para garantizar las condiciones óptimas para el embrión en desarrollo. Entre la composición del LA podemos distinguir tres grupos principales: los componentes del crecimiento fetal, los componentes de defensa del huésped y los controvertidos microorganismos, componentes microbianos y metabolitos asociados a microorganismos. El objetivo de este trabajo consiste en demostrar la exposición fetal a los microorganismos en el líquido amniótico y estudiar la presencia de las defensinas y otros metabolitos y las posibles implicaciones en el embarazo y feto.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia.

32- Título: Función de la proteína PFSC1 en el cloroplasto

Director/a: Belén Naranjo Río-Miranda

E-mail: bnaranjo@us.es

Resumen: Estudio de la función de la proteína PFSC1 en el cloroplasto utilizando mutantes de *Arabidopsis thaliana*. Búsqueda de interactores de PFSC1 y caracterización de su función en el desarrollo y la homeostasis del cloroplasto.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

33- Título: Estudio de condensados biomoleculares en cianobacterias

Director/a: Laura Corrales Guerrero

E-mail: laucorge@us.es

Tutor/a:

Resumen: Los condensados biomoleculares (BMCs) son estructuras dinámicas y sin membrana que se forman mediante la condensación de biomoléculas, como proteínas y ARN, que puede ocurrir por separación de fases líquido-líquido (LLPS). En las bacterias, estos condensados juegan un papel crucial en la organización espacio-temporal de procesos celulares esenciales, debido a su capacidad para crear microambientes que faciliten reacciones bioquímicas específicas, o de agrupar factores de transcripción y reguladores, facilitando una respuesta rápida y coordinada a estímulos ambientales. Dentro de los sistemas de tipo ParAB hay varios ejemplos de proteínas que forman BMCs. De hecho, ParABS de *Corynebacterium glutamicum* y *E. coli* experimentan separación de fases para lograr una alta concentración local de proteínas necesaria para realizar la segregación cromosómica. Para este trabajo, investigaremos uno de los sistemas homólogos de ParAB de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120, del cual se predice que realice LLPS según herramientas bioinformáticas. Para probar esta capacidad, primero se purificarán las proteínas y probarán las propiedades de separación de fases, mediante microscopía de fluorescencia y espectrometría. Luego, expresaremos ambas proteínas fusionadas a una proteína fluorescente en *E. coli* y *S. elongatus* para estudiar su condensación de manera heteróloga. Este trabajo permite una formación multidisciplinar del alumno, que aprenderá nociones de clonaje de ADN, microbiología, bioquímica de proteínas, biofísica y microscopía.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

34- Título: Desarrollo de nuevas herramientas CRISPR en cianobacterias

Director/a: Luis López Maury

E-mail: llopez1@us.es

Resumen: Las cianobacterias son organismos procariotas fotoautótrofos de gran interés en la biotecnología y la biología sintética, debido a su capacidad de utilizar el CO₂ atmosférico y la luz solar como únicas fuentes de carbono y de energía, respectivamente. Aunque existen sistemas CRISPR implantados en estos organismos, que además presentan la ventaja de tener sistemas de recombinación homóloga muy activos, su uso es muy limitado. Esto es debido a que los vectores utilizados son muy grandes y de difícil manipulación. En este trabajo se diseñarán y optimizarán nuevos vectores y sistemas CRISPR minimizados para facilitar la manipulación genética en estos microorganismos.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

35- Título: Caracterización de mutantes en el sistema FTR/Trx de *Synechocystis* sp PCC 6803.

Director/a: María José Huertas Romera

E-mail: mjhuertas@us.es

Resumen: El objetivo principal de este proyecto de TFM es investigar el papel de los sistemas tiorredoxina reductasa en cianobacterias, enfocándose en la caracterización de mutantes en estos sistemas. Las tiorredoxinas (Trxs) son proteínas termoestables de pequeño tamaño, presentes en todos los seres vivos, que desempeñan un papel crucial en la regulación de procesos celulares mediante la reducción de puentes disulfuros específicos en sus proteínas diana. El genoma de la cianobacteria *Synechocystis* sp PCC 6803, codifica cuatro TRxs solubles denominadas: TrxA, TrxB, TrxQ y TrxC. Estas Trxs se oxidan durante el proceso de reducción de sus proteínas diana y se reducen nuevamente a través de enzimas llamadas tiorredoxina reductasas (TRs). Uno de los sistemas de reducción en organismos fotosintéticos es el sistema FTR/Trx, donde la ferredoxina actúa como agente reductor y es reducida por electrones provenientes de la cadena de electrones fotosintéticos a través del fotosistema I (PSI). Este proyecto de TFM se centra en la caracterización de mutantes en el sistema FTR/TRx de *Synechocystis*. Para ello se realizará una caracterización fisiológica, fotosintética y metabólica de algunos de los mutantes del sistema FTR/Trx en distintas condiciones nutricionales. Esta caracterización nos permitirá analizar el papel clave de estos sistemas en la señalización redox y procesos celulares básicos en cianobacterias.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (Universidad de Sevilla)

36- Título: Implicaciones funcionales de la localización de la quinasa SnRK1 en los gránulos de estrés en plantas.

Director/a: Emilio Gutierrez Beltran

E-mail: egutierrez@us.es

Resumen: El complejo SnRK1, conservado en todos los organismos eucariotas estudiados, juega un papel clave en la respuesta celular ante situaciones de estrés. Los ortólogos de SnRK1 en levaduras y en mamíferos, conocidos como SNF1 y AMPK respectivamente, se encuentran ampliamente estudiados y se ha descrito que se activan ante situaciones de privación de glucosa o en condiciones de estrés que disminuyen significativamente las reservas energéticas de la célula. En plantas, la caracterización funcional del complejo se encuentra aun en estadios tempranos. En el laboratorio, hemos identificado que, tras una situación de estrés, SnRK1 se localiza en los gránulos de estrés, unos pequeños complejos mRNA-proteínas localizados en el citoplasma celular. Sin embargo, la función que el complejo desempeña en los gránulos de estrés aun se desconoce. En base a los datos disponibles, el trabajo del estudiante se centrará en la caracterización funcional de la proteína SnRK1 de *Arabidopsis*, aplicando para ello diferentes técnicas en biología celular y molecular. Para una mayor descripción del proyecto no dude en ponerse en contacto con el director a través de la cuenta de correo electrónica proporcionada.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (Universidad de Sevilla)

37- Título: The contribution of 2-Cys Prxs to the glycerolipids biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*

Director/a: MARÍA LUISA HERNÁNDEZ JIMÉNEZ

E-mail: mhjimenez@us.es

Resumen: Chloroplasts, the specific organelles of plants and algae that perform oxygenic photosynthesis, contain an extensive internal membrane network, the thylakoid membranes, in which pigments, proteins and redox-active cofactors are assembled to perform the photochemical and electron transport reactions of photosynthesis. The lipid composition of chloroplast membranes is unique and highly conserved, having glycolipids as the main constituents. An additional specific feature of chloroplast membrane lipids is their distinctive fatty acid composition, enriched in trienoic fatty acids. The modification of the unsaturation degree of chloroplast lipids is a common mechanism of plants in response to environmental stress. However, the molecular mechanisms underlying the regulation of these processes are still not well understood. A central hub in plant perception of environmental changes and adaptation mechanisms is redox regulation. Our group has established the central role of 2-Cys peroxiredoxins (Prxs) controlling the chloroplast redox homeostasis, and thus, regulating fundamental processes of chloroplast metabolism. Recently, we have identified a novel function of 2-Cys Prxs in lipid metabolism as the content of these enzymes determines the level of thylakoid lipids unsaturation, this effect being exerted primarily through the prokaryotic pathway of glycerolipids biosynthesis. These results suggest that the two pathways of glycerolipid biosynthesis are subjected to different regulatory mechanisms, with the redox state of the chloroplast primarily affecting lipids synthesised exclusively in the organelle. In this project, we aim to investigate the contribution of 2-Cys Prxs to the unsaturation degree of thylakoid lipids synthesised by both glycerolipid biosynthetic pathways. To this end, we are generating *Arabidopsis* mutant lines to investigate the effect of blocking either chloroplast biosynthetic pathways in plants lacking 2-Cys Prxs on the unsaturation degree of chloroplast membranes and its implications for vegetative and reproductive development of *Arabidopsis* plants. We will use an interdisciplinary approach, combining genetics, biochemistry, cell biology, and analytical methods.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (Universidad de Sevilla)

38- Título: The contribution of 2-Cys peroxiredoxins to the acclimation of *Arabidopsis thaliana* to thermal stress

Director/a: JUAN MANUEL PEREZ RUIZ

E-mail: jperez4@us.es

Resumen: The chloroplast is the organelle where photosynthesis and other vital processes are performed, thus playing an essential role on plant growth and development, hence in crop yields. Chloroplast protein homeostasis, i.e., proteostasis, involves several pathways determining the fate of proteins, from synthesis and trafficking to correct folding, assembly and final degradation. Therefore, proteostasis mechanisms balance the composition of the chloroplast proteome, about three thousand proteins, in response to developmental and environmental signals. In addition, thiol-dependent redox regulation, based on thiol-disulfide exchange between well-

conserved cysteine residues of proteins, constitutes a rapid mechanism that adjust chloroplast performance to light availability. Our group have made important contributions for understanding the molecular basis of redox regulation of chloroplast metabolism in the model plant *Arabidopsis thaliana* (reviewed in Cejudo et al., 2021). Notably, we have proposed the central role of 2-Cys peroxiredoxins (2-Cys Prxs), multifunctional enzymes that show peroxidase and chaperone activity, in the activation of chloroplast enzymes (Perez-Ruiz et al., 2017; Ojeda et al., 2018; Casatejada et al., 2023). Our previous results suggest that 2-Cys Prxs contribute to protein homeostasis within plastids (Ojeda et al., 2021), this novel function of the enzyme being markedly relevant during chloroplast biogenesis under temperature stress conditions. In support of this possibility, seedlings devoid of 2-Cys Prxs are not viable under temperature conditions, whereas 2-Cys Prxs overexpression confers heat tolerance. Nevertheless, the connection between 2-Cys Prxs and the protein homeostasis network remains to be elucidated. In this study, we will combine genetic, biochemical, and physiological approaches to explore the molecular basis of 2-Cys Prxs-mediated control of chloroplast proteostasis under temperature stress. Since the biosynthetic potential of chloroplasts has a great impact on plant productivity, a better understanding of proteostasis mechanisms could potentially have an important impact in crop yields, which is of particular interest under the unpredictable environmental fluctuations caused by the global climate change.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (US-CSIC)

39- Título: Contribución de la epigenética bacteriana a la resistencia a antibióticos

Director/a: María Antonia Sánchez Romero

E-mail: mtsanchez@us.es

Resumen: Los antibióticos son uno de los avances más revolucionarios de la historia de la humanidad. Su introducción en la práctica clínica en el siglo XX provocó un cambio radical en el tratamiento de las enfermedades infecciosas. Sin embargo, su eficacia y su frecuente prescripción en todos los sectores de la sociedad han conducido a su uso excesivo y abusivo. Este proyecto pretende profundizar en un concepto clínico relativamente nuevo: la epigenética contribuye a la resistencia a los antibióticos. La metilación del DNA es una señal epigenética dinámica, rápida y reversible, pudiendo afectar a la actividad terapéutica de los antibióticos. En este trabajo se investigará la herencia epigenética para combatir la resistencia antimicrobiana en bacterias multirresistentes.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia

40- Título: Análisis del estado redox del proteoma vegetal en plantas tratadas con rizobacterias promotoras del crecimiento

Director/a: María de la Cruz González García

E-mail: marycruz@us.es

Resumen: Las condiciones de cambio climático actual, que incluyen precipitaciones erráticas, aumento de las temperaturas y sequía, suponen una amenaza para la

producción agrícola necesaria para abastecer a una población mundial en continuo crecimiento. Esto hace que se busque desarrollar estrategias que permitan una mayor supervivencia de las plantas frente a estas condiciones de estrés y otras, como el estrés biótico, asociadas a ellas. Entre las estrategias más sostenibles para el desarrollo de cultivos resilientes se encuentra el “priming” de las plantas para una mejor respuesta a las condiciones de estrés, mediante distintas estrategias entre las que se incluye el uso de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs, del inglés Plant Growth Promoting Rhizobacteria). Se conoce que estas bacterias, junto con otros microorganismos como hongos y cianobacterias, provocan una respuesta antioxidante incrementada en la planta en situaciones de estrés, relacionada con la producción incrementada de antioxidantes no enzimáticos y enzimáticos, como el glutatión, los tocoferoles o enzimas como las peroxidasas, entre otras. En cualquier caso, el efecto promotor del crecimiento, incluso en condiciones de estrés, se asocia a un aumento de la actividad fotosintética, esencial para el crecimiento de la planta. Una de las enzimas de detoxificación de peróxido de hidrógeno en el cloroplasto es la 2-Cys Peroxirredoxina (2-Cys Prx). Esta enzima es a su vez reducida por las tiorredoxinas plastidiales (Trxs) a partir de la Ferredoxina reducida (Fd) y la Fd-Trx-reductasa (FTR), pero también por NTRC, una tiorredoxina plastidial dependiente de NADPH que combina la actividad NADPH-tiorredoxina reductasa (NTR) con actividad Trx en un solo polipéptido. Ambos sistemas, NTRC, pero fundamentalmente el sistema Fd/FTR/Trx juegan un papel clave en la regulación redox de enzimas plastidiales, fundamental para la activación de multitud de procesos en el cloroplasto. Sin embargo, no se ha estudiado en profundidad la relación entre las PGPRs y la regulación redox plastidial. En el presente trabajo se propone, a partir de una serie de aproximaciones genéticas y bioquímicas determinar el efecto de las PGPRs en la regulación redox plastidial. Como parte del trabajo se incluye la posibilidad de realizar una estancia de un mes, con una ayuda Erasmus Practica, en el laboratorio del Prof. Thomas Roistch en Copenhague (Dinamarca), con el que tenemos una colaboración en marcha.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (Universidad de Sevilla-CSIC)

41- Título: Developing a phage cocktail as a treatment for multi-drug resistant strains of Enterobacter

Director/a: Alba Lara Moreno

E-mail: alara9@us.es

Tutor/a: Francisco Merchán Ignacio

Resumen: Se realizaran estudios de aislamiento y caracterización de fagos activos sobre cepas multirresistentes a antibióticos de Enterobacter

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia

42- Título: Desarrollo de dispositivos genéticos de control en cianobacterias basados en riboswitches.

Director/a: María del Rocío López Igual

E-mail: mligual@us.es

Tutor/a:

Resumen: La biología sintética consiste en diseñar y crear nuevas piezas y dispositivos biológicos para realizar funciones novedosas que deben comportarse de manera predecible y reproducible. En nuestra línea de investigación estamos diseñando y construyendo nuevas herramientas genéticas para mejorar los protocolos de ingeniería genética en cianobacterias. Las cianobacterias son bacterias que realizan la fotosíntesis oxigénica siendo algunas especies capaces de fijar el nitrógeno atmosférico. Debido a este metabolismo fotoautotrófico sostenible, las cianobacterias tienen importancia biotecnológica y sus usos para diversas aplicaciones en la producción de biocombustibles y materias primas químicas están aumentando. Existe una necesidad en la mejora y actualización de las herramientas genéticas disponibles para cianobacterias. El control de la expresión génica es uno de los puntos a mejorar. En el laboratorio hemos analizado la actividad de diversos promotores constitutivos y, en el contexto de este trabajo, planeamos combinar estos promotores con riboswitches (RS) en cianobacterias. Los RS son interruptores que funcionan en la región no codificante de la molécula de RNA mensajero. Esta región forma una estructura que controla la expresión o traducción del gen en el que se localizan. La estructura del RS puede estar “encendida” o “apagada”, y esto se controla mediante la acción de una molécula. En este trabajo se pretende realizar una tarea sencilla: en primer lugar, clonaremos varios RS identificados en cianobacterias en combinación con los promotores mencionados anteriormente, así crearemos los nuevos dispositivos de control. Estos dispositivos modularán la expresión del gen de una proteína fluorescente (por ejemplo, la GFP). Por último, evaluaremos estos sistemas de control en cianobacterias utilizando microscopía de fluorescencia o confocal valorando las condiciones de “ON/OFF” de los dispositivos.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis - cicCartuja.

43- Título: Impacto de la cromatina en la terminación de la transcripción

Director/a: Ana García Rondón

E-mail: ana.rondon@cabimer.es

Resumen: La terminación de la transcripción es un proceso vital que garantiza la correcta síntesis de los transcritos, influyendo en su estabilidad, su información y en consecuencia en la regulación de la expresión génica. De hecho, los defectos en la terminación de la transcripción se han asociado con varios tipos de cáncer y pueden tener un impacto significativo en la prognosis. Esto es debido a que defectos no solo a los cambios de expresión de proto-oncogenes o supresores de tumores sino también a la generación de RNAs no codificantes como RNAs circulares. Resultados recientes sugieren que la estructura de la cromatina desempeña un papel fundamental en la modulación de la terminación de la transcripción, pero los mecanismos subyacentes siguen siendo poco conocidos. Durante el Trabajo de Fin de Master, investigarás cómo la modificación de la cromatina afecta a la terminación de la transcripción, analizando el papel de los

complejos remodeladores y modificadores de histonas en este proceso mediante técnicas genéticas y moleculares como CRISPR-Cas.

Centro de trabajo: CABIMER

44- Título: Papel de los fotorreceptores en la regulación por luz en el hongo *Fusarium*

Director/a: M. Carmen Limón Mirón

E-mail: carmenlimon@us.es

Resumen: El hongo *Fusarium fujikuroi* tiene fotorreceptores capaces de detectar luz de distinta longitud de onda que le permiten regular la respuesta a la luz. En nuestro grupo hemos estudiado varios fotorreceptores como el criptocromo DASH (CryD) y el complejo White Collar (WCC) formado por las proteínas WcoA y WcoB. El WCC regula la expresión de multitud de genes entre los que se encuentran los implicados en la síntesis de metabolitos secundarios. En *F. Fusarium* existe un segundo criptocromo, CryP (Phl1), que pertenece a la familia de criptocromos de plantas. En este trabajo se delecionará el gen *cryP/ phl1* mediante CRISPR/Cas para estudiar su papel en la regulación de la síntesis de carotenoides y otros metabolitos secundarios de interés. Se caracterizarán molecular y fenotípicamente los mutantes obtenidos.

Centro de trabajo: epartamento de Genética, Facultad de Biología

45- Título: Análisis funcional la ruta de la glucolisis en la biología de las células troncales germinales de *Drosophila melanogaster*

Director/a: Patricia Rojas Ríos

E-mail: projas@us.es

Resumen: Las células troncales son esenciales para el desarrollo de los organismos multicelulares y para la regeneración de los tejidos y órganos que tiene lugar de forma natural, así como después de un daño o patología en organismos pluricelulares. Estos procesos fundamentales se sustentan gracias al potencial de las células troncales para auto-renovarse y generar células diferenciadas. Nuestro laboratorio usa las células troncales germinales (GSCs, del inglés Germline Stem Cells) de la hembra de *Drosophila melanogaster* como modelo para el estudio de la biología de las células troncales adultas. Recientemente, hemos descrito que la ruta de la glucolisis se encuentra activa en las GSCs como se había descrito anteriormente en otras poblaciones de células troncales así como en células cancerígenas (proceso conocido como “Warburg”). Esta característica metabólica de las GSCs está regulada por pequeños RNAs denominados piRNAs. Actualmente, nuestros proyectos se centran en analizar la función de ciertas enzimas de la glucolisis, particularmente la enzima Aldolasa, en el control de la regulación de la expresión génica dado que las enzimas glucolíticas han sido identificadas como proteínas de unión a los mRNAs y, algunas de ellas, como reguladores esenciales de la expresión génica (hipótesis RNA-Enzima-Metabolito (REM)). En este contexto, el/la estudiante de máster tendrá la oportunidad de aprender el manejo de *Drosophila melanogaster* y llevará a cabo experimentos genéticos, disección e inmunohistoquímica de ovarios y microscopía confocal.

Centro de trabajo: Departamento de Genética/Facultad de Biología

46- Título: Papel del factor de transcripción HLH-30 en el control de la proliferación celular en *C. elegans*

Director/a: María Olmedo López y Marta Muñoz Barrera

E-mail: mariaolmedo@us.es

Resumen: La capacidad de cualquier organismo para detectar y responder a condiciones adversas de su entorno es esencial para su supervivencia. Existen rutas de señalización que permiten al organismo detectar estas condiciones y responder de manera adecuada. La mayoría de estas vías implican cambios transcripcionales, en particular de genes relacionados con la respuesta a estrés, el envejecimiento y la longevidad. Uno de los factores de transcripción implicados en la regulación de la proliferación y el crecimiento ante condiciones adversas es TFEB (transcription factor EB), que ha sido descrito como un regulador de la biogénesis lisosomal y la autofagia y relacionado con la respuesta a la inanición. Todos estos procesos están íntimamente relacionados con el metabolismo, el envejecimiento y la longevidad. El objetivo de este proyecto es profundizar en el papel de TFEB en la regulación de la proliferación celular. Para abordarlo, usaremos *Caenorhabditis elegans* como organismo modelo, que presenta un ortólogo cercano a TFEB humano, HLH-30. Este nematodo reúne las ventajas del uso de un organismo modelo genético, con la complejidad de un sistema multicelular, en el que varias células se dividen de forma estereotípica durante la progresión del desarrollo a través de cuatro fases larvarias.

Centro de trabajo: Departamento de Genética, Facultad de Biología

47- Título: Caracterización del complejo TREX-2 en *Schizosaccharomyces pombe*

Director/a: Alberto Elías Villalobos

E-mail: aelias1@us.es

Resumen: TREX-2 es un complejo implicado en la exportación del ARNm del núcleo al citoplasma. Cumple un papel fundamental en la regulación de la expresión génica y se coordina con el proceso de transcripción mediante su subunidad Sus1, la cual comparte con el complejo transcripcional SAGA. Experimentos preliminares sugieren que en *S. pombe* la composición de TREX-2 y el mecanismo molecular por el que se coordinan transcripción y exportación de ARNm dependiente de SAGA y TREX-2, respectivamente, difiere de la descrita en *Saccharomyces cerevisiae*, sugiriendo una relación más íntima entre ambos procesos. El objetivo de este proyecto es caracterizar la composición del complejo TREX-2 de *S. pombe* y su relación con SAGA y los procesos en los que ambos complejos están implicados. Durante el mismo el alumno se familiarizará con técnicas de biología molecular, genética y bioquímica, incluyendo purificación de complejos por afinidad, experimentos de genética clásica, PCR cuantitativa e inmunoprecipitaciones de ARN.

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)

48- Título: Estudio de la regulación del ensamblaje del complejo transcripcional SAGA dependiente de nutrientes.

Director/a: Alberto Elías Villalobos

E-mail: aelias1@us.es

Resumen: La mayoría de las proteínas de la célula forman parte de complejos proteicos. El correcto ensamblaje de éstos es fundamental para su adecuado funcionamiento y el mantenimiento de la homeostasia celular. Nuestro conocimiento de este proceso es escaso, pero aún lo es más el mecanismo por el que se regula el proceso de ensamblaje. Este proyecto pretende contribuir a descifrar estos mecanismos regulatorios empleando el complejo transcripcional SAGA como paradigma. SAGA es un complejo compuesto por 19 subunidades organizados entorno a 5 módulos funcionales. Su principal papel consiste en regular la expresión génica de genes inducibles. Así, es un complejo esencial en la regulación de genes que responden a cambios en las condiciones y estímulos del medio externo, como aquellos de respuesta a estrés o los implicados en procesos de diferenciación celular. Este proyecto pretende descifrar si el mecanismo por el que SAGA cumple su función depende de su propio ensamblaje en función de los estímulos externos a los que se someta la célula y no exclusivamente de su unión a promotores específicos como un único e invariable complejo. Durante el proyecto el alumno se familiarizará con técnicas de biología molecular, bioquímica y microscopía de fluorescencia, incluyendo inmunoprecipitaciones de ARN (RIP), PCR cuantitativa (qPCR) y ensayos de transferencia de energía por resonancia de bioluminiscencia (BRET).

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS)

49- Título: DESARROLLO DE NUEVOS BIOMARCADORES BASADOS EN PROTEÍNAS ALIMENTARIAS PARA LA EVALUACIÓN DE LA PERMEABILIDAD INTESTINAL

Director/a: Carolina Sousa Martín e Isabel María Comino Montilla

E-mail: csoumar@us.es, icomino@us.es

Resumen: El bienestar del tracto gastrointestinal es crucial para la salud general, dado que más del 40% de la población adulta padece de trastornos gastrointestinales inflamatorios y funcionales. Estos problemas subrayan la importancia de una barrera epitelial intestinal sana y de su regulación adecuada para la prevención de enfermedades. La permeabilidad intestinal (PI), es decir, la capacidad del intestino para regular el paso de sustancias, es fundamental en trastornos como la enfermedad inflamatoria intestinal, el síndrome de intestino irritable y la enfermedad celíaca. Un aumento en la PI se ha identificado como un factor clave en estas patologías, aunque no está claro si es causa o efecto. A pesar de su importancia, no existen pruebas estandarizadas y fiables para medir la PI en los servicios de salud públicos. Actualmente, no hay biomarcadores que midan la PI basada en proteínas alimentarias. Sin embargo, proteínas como las del gluten pueden resistir la digestión, produciendo péptidos inmunogénicos del gluten (GIP) que atraviesan la barrera intestinal y se excretan en la orina. Resultados preliminares indican que pacientes con lesiones intestinales excretan más péptidos de gluten en la orina que individuos sanos. Con estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es desarrollar nuevos biomarcadores para medir la PI mediante la ingesta controlada de gluten y la cuantificación de GIP en orina. Esta metodología

promete transformar la evaluación y manejo de enfermedades gastrointestinales, proporcionando una herramienta diagnóstica accesible y precisa.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia.

50- Título: Redes de señalización ramificadas en la bacteria extremófila *Chromohalobacter salexigens*: estudios de interacción *in vivo*

Director/a: Montserrat Argandoña Bertrán

E-mail: montseab@us.es

Resumen: En los últimos años se ha avanzado en el conocimiento de los circuitos reguladores implicados en el control del metabolismo de ectoínas (síntesis, degradación y transporte), compuestos de interés biomédico producidos por la bacteria halófila *Chromohalobacter salexigens*, a través de sistemas de dos componentes (TCS). Estos estudios revelan que el sistema de dos componentes EupK/EupR es un sistema clave en el control transcripcional de estos procesos y que forma parte de una red de regulación ramificada compleja en la que participan otros sistemas de dos componentes, de los cuales sólo se conocen las histidinas quininas (HKs) implicadas pero no la totalidad de sus reguladores de respuesta (RRs) asociados. Además, se han sugerido que otros TCS, no asociados al sistema EupK/EupR, también podrían intervenir en el control de la síntesis de ectoínas, y que dependerían de otros estímulos como la fuente de N, estres oxidativo, presencia de metales como el Fe, etc, estímulos que por otra parte se ha demostrado que influyen en la acumulación de estos solutos. En el presente trabajo se pretende avanzar en el estudio de algunos de estos TCS mediante técnicas ensayos de interacción proteína-proteína *in vivo* y/o caracterización de mutantes. Estos resultados servirán para avanzar en la generación de un modelo de regulación a escala genómica que servirá para el diseño de nuevas cepas mejoradas en la producción de ectoínas, relacionado con la Biología de sistemas aplicada a la Ingeniería metabólica.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología, Facultad de Farmacia.