

1- Título: Sistemas de reducción de tiorredoxinas en cianobacterias. Estudio de mutantes en el sistema FTR 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, centrándose en la caracterización de mutantes en estos sistemas. En los organismos fotosintéticos, la señalización redox se lleva a cabo principalmente mediante dos vías principales, una es el sistema formado por las tiorredoxinas (Trxs), y sus proteínas diana, y la otra está conformada por el glutatión y las glutarredoxinas.

Las tiorredoxinas (Trxs) son proteínas termoestables de pequeño tamaño que se encuentran en todos los seres vivos y desempeñan un papel importante en la regulación de procesos celulares mediante la reducción de puentes disulfuros específicos en sus proteínas diana. En el genoma de la cianobacteria *Synechocystis sp.* PCC 6803, codifica cuatro tiorredoxinas solubles denominadas: TrxA (slr0623) de tipo m, TrxB (slr1139) de tipo x, TrxQ (slr0233) de tipo y y TrxC (sll1057).

Estas tiorredoxinas 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 fotosintética a través del fotosistema I (PSI). El sistema FTR/Trx está compuesto por una enzima llamada FTR, que consta de dos subunidades: una catalítica (FTRc) y una subunidad variable (FTRv), que parece desempeñar un papel en la estabilidad de la subunidad catalítica. Este proyecto de TFM se centra en el estudio de los sistemas tiorredoxina reductasa en cianobacterias, utilizando mutantes para caracterizar el papel de estas enzimas en la señalización redox y otros procesos celulares.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis.

2- Título: El estudio de la resistencia a antibióticos mediante la microencapsulación de bacterias

Director/a: María Antonia Sánchez Romero

E-mail: mtsanchez@us.es

Resumen: La resistencia a antibióticos es la pandemia silenciosa que amenaza la salud humana en todo el mundo. En este trabajo se pretenden estudiar cuáles son los mecanismos desarrollados por las bacterias para resistir a la acción de los antibióticos. Con el objetivo de estudiar las células bacterianas a nivel individual se encapsularán las bacterias individualmente en microcápsulas de alginato para observar el crecimiento y proliferación de dichas células bajo la exposición de diferentes antibióticos usados en la práctica clínica.

Centro de trabajo: Facultad de Farmacia

Departamento de Microbiología y Parasitología

3- Título: Development of new tools to infer the presence of R-loops

Director/a: Belén Gómez-González/María García-Rubio

E-mail: gomezb@us.es/mlrubio@us.es.

Resumen: The stability of the genome needs to be preserved to ensure proper cell function, being genetic instability a hallmark of cancer cells. R-loops, three-nucleic acids structures formed by DNA-RNA hybrids and the displaced ssDNA strand are a well-known source of genetic instability. They are commonly detected directly with the S9.6 DNA-RNA hybrid-specific antibody or indirectly by their effect on genome stability. DNA-RNA hybrids are formed in every Okazaki fragment during lagging strand DNA replication but hybridization of the nascent RNA with the DNA template during transcription can lead to harmful R-loop structures. Thus, there is a plethora of factors and mechanisms that prevent or counteract R-loops once formed, which mainly act on the RNA or the hybrid. These include RNA binding proteins that immediately coat the RNA and process it, DNA-RNA hybrid specific RNases (type H), DNA-RNA hybrid unwinding factors (helicases) and others. García-Muse & Aguilera Cell 2019

We have recently found a new human factor that counteracts R-loops specifically without targeting DNA-RNA hybrids that we want to exploit as a tool to infer the presence of these structures versus natural DNA-RNA hybrids (unpublished results). In order to do so, we propose to start by studying its effect in the yeast model organism *Saccharomyces cerevisiae*, where we have a vast experience in the biology of R-loop homeostasis.

Centro de trabajo: CABIMER

(<https://www.cabimer.es/en/belen-gomez-gonzalez/>)

4- Título: Papel de CCAR2 como sensor metabólico en la regulación de la recombinación

Director/a: Pablo Huertas

E-mail: pablo.huertas@cabimer.es

Resumen: CCAR2 es una proteína multifuncional con un papel relevante en la aparición y pronóstico del cáncer. Entre otras funciones, se ha determinado que CCAR2 es un sensor metabólico capaz de detectar cambios en el metabolismo. Por otro lado, datos de nuestro laboratorio han implicado a CCAR2 en la inhibición de la reparación del ADN por recombinación homóloga. En este trabajo exploraremos si estos dos papeles pueden estar conectados. En concreto, si la recombinación homóloga puede regularse en respuesta a cambios metabólicos a través de CCAR2. Eso abriría la puerta a que los cambios metabólicos asociados a la progresión tumoral tuvieran un impacto en la reparación del ADN. En ese escenario, estos cambios del metabolismo afectarían a la estabilidad genómica, un proceso especialmente relevante en la génesis y el tratamiento del cáncer.

Centro de trabajo: CABIMER

5- Título: Identificando nuevos actores implicados en la simbiosis rizobio-leguminosa a través del estudio de las vesículas extracelulares de membrana

Director/a: Francisco Pérez Montaña

E-mail: fperezm@us.es

Resumen: La simbiosis rizobio-leguminosa es uno de los procesos biológicos mejor estudiados de la naturaleza. Lejos de conocer todos los actores implicados en esta íntima relación, los últimos estudios han puesto de manifiesto la posible implicación de las vesículas extracelulares de membrana en la interacción simbiótica. En el trabajo propuesto analizaremos el contenido proteico de las vesículas extracelulares de membrana producidas por rizobios tanto en el inicio de la simbiosis como en las fases más tardías, cuando se diferencian en bacteroides. De esta forma, pretendemos identificar nuevos actores proteínicos implicados en el proceso simbiótico, que habrá que analizar mediante mutagénesis dirigida de los genes que lo codifican y ensayos de nodulación.

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

6- Título: Del microbioma al metaboloma: gestión del estrés e inoculación con biofertilizantes seleccionados para la modulación de compuestos de interés farmacéutico en plantas medicinales.

Director/a: Eloísa Pajuelo Domínguez

E-mail: epajuelo@us.es

Resumen: El objetivo del trabajo es la modulación del metaboloma de 2 plantas medicinales mediante una doble aproximación: por una parte, sometiendo a las plantas a estrés (sal, sequía, alta temperatura) para modular la acumulación de metabolitos secundarios; y por otra parte, inoculando las plantas con biofertilizantes (PGPR, Plant Growth Promoting Bacteria) para ayudarlas a gestionar el estrés. Con esto se persigue un aumento de los compuestos de interés farmacéutico, lo cual se determinará mediante análisis de metabolómica dirigida.

Además se estudiarán los mecanismos fisiológicos que acompañen a estos cambios en el metaboloma (fotosíntesis, eficiencia del uso del agua, respuesta a sequía, salinidad, colonización por parte de las bacterias, mecanismos de las bacterias en cuanto a la promoción del crecimiento).

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología

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

Director/a: Mercedes Tomé

E-mail: mercedes.tome@cabimer.es

Tutor/a: Socorro P. Murdoch

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 of 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 glioblastoma since is the most aggressive brain tumor and one of the deadliest cancers worldwide, 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. Still this therapeutic approach is still palliative rather than curative since tumor recurrence occurs within months after surgical resection and radio/chemotherapy period. The median survival of glioblastoma patients is less than 15 months with a 5-year survival rate of 5%. Glioblastoma encompasses a heterogeneous family of tumors at histological, cellular, genetic and metabolic levels but all of them sharing a high resistance to chemotherapy supporting a wide adaptability. Our studies are therefore orientated to determine the signaling and metabolic modifications adopted by glioblastoma cells to evade chemotherapy. In this sense, in this JAE-Intro proposal we will study:

- Metabolic and signaling modifications in temozolomide resistance.
- Nutritional imbalance in sensitization of glioblastoma cell 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 experimental approaches will get advantage of both standard and cutting-edge techniques routinely used in the group, including gain- and loss-of function approaches, cell viability and cell death assays, protein and gene expression analyses as well as metabolic assays (flow cytometry, confocal microscopy, western blot, qPCR, Seahorse, among others).

Centro de trabajo: Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa-CABIMER

8- Título: Traducción mediada por ribosomas aberrantes y especializados

Director/a: Carla V. Galmozzi y Jesús de la Cruz Díaz

E-mail: cgalmozzi@us.es; jdLCD@us.es

Resumen: La síntesis de ribosomas citoplasmáticos es un proceso celular fundamental que se ha conservado estructural y funcionalmente durante la evolución de los organismos eucariotas. En los últimos años, se han realizado avances significativos en el conocimiento de la síntesis de los ribosomas de células humanas, pero, sin duda, es en el organismo modelo *Saccharomyces cerevisiae* donde este proceso se encuentra mejor

estudiado. En levaduras, se ha demostrado que las proteínas ribosómicas participan activamente en el ensamblaje de los ribosomas, el cual sucede de manera jerárquica; grupos de proteínas ribosómicas vecinas se asocian de manera coordinada a las partículas pre-ribosómicas nacientes conformando y estabilizando sus distintos dominios. En este TFM, proponemos estudiar, en alta resolución, la actividad, fidelidad y la especificidad de la traducción proteínica en un grupo selecto de mutantes de proteínas ribosómicas situadas en lugares estratégicos del ribosoma. Nuestro objetivo es discernir los cambios en la homeostasis proteica que ocurren en estos mutantes fruto de su traducción y sus consecuencias fisiológicas y/o patológicas.

Centro de trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla

9- 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-traduccionales. 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 cardíaco/esquelético o la diferenciación de tipo endodérmico. Para ello contamos con modelos celulares de diferenciación así como con modelos embrionarios

Centro de trabajo: CABIMER

10- Título: Señalización y tolerancia al daño en el ADN durante replicación en células humanas

Director/a: Néstor García Rodríguez

E-mail: nestor.garcia@cabimer.es

Resumen: Durante la duplicación de la información genética codificada en el ADN, pueden existir perturbaciones o daños que impidan la correcta finalización de dicho proceso, generándose lo que se denomina estrés replicativo. Aunque las células presentan mecanismos de protección ante tal estrés, existen situaciones que pueden ocasionar su acumulación y promover en último término la formación de tumores. De hecho, múltiples oncogenes deben su fenotipo pro-tumoral en causar un aumento de este tipo de estrés. Nuestro laboratorio utiliza diferentes aproximaciones para tratar de entender en detalle los mecanismos moleculares que señalizan y resuelven las situaciones de estrés replicativo. Entendiendo este proceso se podrán diseñar nuevas

estrategias terapéuticas para matar selectivamente a las células tumorales, que presentan como característica altos niveles de estrés replicativo.

Centro de trabajo: Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER)

11- Título: Ubiquitinación en estrés replicativo y cáncer.

Director/a: Román González Prieto

E-mail: roman.gonzalez@cabimer.es

Resumen: Las células necesitan replicar sus genomas en el preciso momento y de manera fidedigna. Sin embargo, son múltiples los agentes dañinos para el DNA que pueden afectar a la integridad del genoma. Nuestras células están equipadas con una gran variedad de rutas de señalización y mecanismos de reparación del DNA que, en su conjunto, se conocen como Respuesta al Daño en el DNA (DDR). La DDR tiene como finalidad preservar la integridad del genoma o, en el caso de que los daños en el genoma sean tan extensos que no sean reparables, inducir la muerte celular por apoptosis. Defectos en la DDR pueden derivar en inestabilidad genómica y favorecer el desarrollo de enfermedades tales como el cáncer.

Esta DDR se haya regulada entre otras enzimas por las ubiquitina (o similares) ligasas o enzimas E3. Mediante una técnica desarrollada en el laboratorio conocida como TULIP2, el/la estudiante identificará los sustratos de ubiquitinación de una de estas enzima en el contexto de la DDR en respuesta a estrés replicativo, formándose en menor o mayor medida en técnicas de cultivos celulares, ingeniiería genética, microscopía de fluorescencia y purificación , análisis e inmunoprecipitación de proteínas, así como análisis de proteómica por espectrometría de masas.

Centro de trabajo: Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER)

12- Título: Desvelando las funciones extracelulares de las catepsinas en la regulación del ciclo celular y la respuesta frente a daño en el ADN en células tumorales

Director/a: Jonathan Martínez Fábregas

E-mail: jmartinez9@us.es

Resumen: Los lisosomas, inicialmente descritos como la planta de reciclaje celular, están implicados en la regulación de múltiples aspectos de la fisiología celular. Esto nos ha permitido racionalizar el por que su malfuncionamiento se encuentra en la base del desarrollo de múltiples patologías humanas, entre ellas enfermedades neurodegenerativas y el cáncer. De hecho, la sobreexpresión de estas proteasas ha sido demostrada en una amplia variedad de tumores. Recientemente, el descubrimiento de que las proteasas lisosomales desempeñan funciones fuera del lisosoma, abre nuevas posibilidades para comprender a nivel molecular el papel real de estos compartimentos en la regulación de múltiples procesos biológicos, y por lo tanto su papel real en la aparición y desarrollo del cancer. Datos preliminares generados en el laboratorio indican que estas proteasas se localizan en el núcleo celular y regulan múltiples procesos fisiológicos, desde expresión de genes hasta el control del ciclo celular y la reparación de daño en el ADN. Este proyecto pretende revelar el papel de distintas proteasas

lisosomales (Catepsina B, Catepsina D y Catepsina V) en la regulación del ciclo celular y la reparación de daño en el ADN en distintos modelos tumorales, como cáncer de colon, cáncer de mama, glioblastoma, etc. Para ello se pretende caracterizar:

1. Localización subcelular de las distintas proteasas lisosomales mediante microscopia de fluorescencia y western blot.
2. Silenciamiento mediante shRNA de la expresión de estas proteasas.
3. Caracterización del papel de estas proteasas en la regulación del ciclo celular.
4. Determinar el posible papel de estas proteasas en la reparación y señalización frente a daño en el ADN.
5. Caracterización proteómica de los cambios generados por el silenciamiento de estas proteasas y caracterización de sus posibles dianas moleculares.

Centro de trabajo: Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa

13- Título: Determinación mecanística del efecto neuroprotector de la modulación del metabolismo del azufre en roedores

Director/a: Alejandro Martín-Montalvo

E-mail: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Tutor/a: David Pozo

Resumen: En los últimos años ha aumentado la esperanza de vida hasta los 83 años. Sin embargo, durante el envejecimiento aparecen numerosas enfermedades neurodegenerativas, lo que hace que las personas mayores sufran una mala calidad de vida. Por tanto, es necesario desarrollar intervenciones que prevengan las enfermedades neurocognitivas que se desarrollan en el envejecimiento. 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

14- Título: Evaluación de las modificaciones post-transcripcionales alteradas en el cáncer y su modulación como una nueva aproximación terapéutica.

Director/a: Alejandro Martín-Montalvo

E-mail: alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Tutor/a: David Pozo

Resumen: Envejecer con buena salud es uno de los principales retos que tenemos en la actualidad. La identificación de marcadores asociados con un envejecimiento saludable puede proporcionar nuevas dianas terapéuticas para prevenir las enfermedades asociadas con la vejez. Nuestro grupo está definiendo ciertos tipos de modificaciones post-transcripcionales que ocurren en los individuos que mantienen una óptima salud durante el envejecimiento. El objetivo de este proyecto es evaluar el efecto que tiene la

modulación de modificaciones posttranscripcionales que han sido descubiertas recientemente (por ejemplo, la lactilación) 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

15- Título: Caracterización genética y molecular de la reparación de horquillas de replicación

Director/a: Félix Prado

E-mail: felix.prado@cabimer.es

Tutor/a: María García Rubio

Resumen: El material genético está sometido a numerosos daños que comprometen su integridad. La reparación de estos daños es esencial para el correcto funcionamiento celular, y en consecuencia defectos en los mecanismos que los detectan y reparan están asociados a cáncer y numerosas enfermedades genéticas. Entre estos daños destacan los cortes de doble cadena (DSBs, del inglés double-strand break), ya que un solo DSB sin reparar es letal. La respuesta celular a DSBs ha sido ampliamente estudiada, gracias fundamentalmente al uso de nucleasas específicas de sitio que permiten analizar la reparación del corte mediante técnicas moleculares específicas de secuencia de ADN (e.g., PCR y southern blot). Una de las principales fuentes de inestabilidad genética está asociada a la integridad de las horquillas de replicación, por lo que las células disponen de mecanismos específicos de control de ciclo “checkpoints” que responden a daños en estas estructuras. A pesar de su importancia para la integridad genómica y la duplicación del genoma, poco se sabe acerca de los mecanismos implicados en la reparación de roturas en las horquillas de replicación, ya que no pueden ser abordados mediante el uso de nucleasas específicas de sitio. A diferencia de los DSBs inducidos por estas nucleasas, donde el DSB genera dos extremos, la rotura de las horquillas de replicación genera un único extremo (en la cadena naciente que se rompe), por lo que cabe esperar una respuesta de reparación diferencial. En nuestro grupo hemos generado en el organismo modelo *Saccharomyces cerevisiae* una estirpe que expresa una quimera de la subunidad mayor del complejo RPA con la nucleasa micrococcal (Rfa1-MN). RPA se une al DNA de cadena sencilla (ssDNA) que se acumula de manera dinámica y transitoria en la horquilla de replicación. Hemos demostrado que la quimera Rfa1-MN introduce DSBs en las horquillas de replicación, y usamos esta construcción para buscar genes necesarios para la reparación de horquillas rotas. Este escrutinio genético ha revelado 52 genes implicados. El objetivo de este trabajo es caracterizar algunos de estos genes a nivel genético y molecular. Este estudio permitirá al estudiante familiarizarse con la genética de levaduras, con ensayos de inestabilidad genética y con el análisis de intermediarios replicativos y recombinogénicos. Además, este estudio le permitirá profundizar en los mecanismos de reparación de DNA que protegen al genoma de reordenamientos deletéreos.

Centro de trabajo: CABIMER

16- Título: El papel de la válvula de malato en la protección frente al daño oxidativo en plantas

Director/a: María de la Cruz González García

E-mail: maryacruz@us.es

Resumen: El metabolismo de los cloroplastos es altamente dinámico, ajustándose a las condiciones medioambientales y permitiendo modular las proporciones entre NADPH/NADP⁺ y ATP/ADP de acuerdo a dichos cambios. El exceso de electrones asociado a la acumulación de un exceso de poder reductor en el cloroplasto puede provocar la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que al acumularse a altas concentraciones generan daño oxidativo en la planta.

Entre los distintos mecanismos que existen para prevenirlo, el funcionamiento de la válvula de malato permite la salida de poder reductor del cloroplasto en forma de malato. Para ello, la malato deshidrogenasa plastidial dependiente de NADPH (NADP-MDH) cataliza la reducción del oxalacetato a malato, usando NADPH como fuente de poder reductor. Esta enzima está sujeta a regulación redox (Mirginiac-Maslow y Lancelin, 2002). Se ha descrito que las diferentes Tiorredoxinas (Trxs) reducen con distinta afinidad a la NADP-MDH. Nuestro grupo ha estudiado recientemente la regulación por las Trxs tipo m y la NADPH- tiorredoxina reductasa C (NTRC) de la NADP-MDH (Delgado-Requerey et al., 2023) en base a la caracterización de mutantes múltiples deficientes en Trxs m y NTRC.

A pesar del papel importante de la válvula de malato en la extrusión de poder reductor del cloroplasto, las plantas mutantes en NADP-MDH analizadas hasta la fecha no muestran un fenotipo alterado con respecto a las silvestres, sugiriendo la posible compensación de su deficiencia por el sistema NTRC-2 Cys Peroxirredoxinas (Hebbelmann et al., 2012). Estudios recientes de nuestro grupo muestran que, a diferencia de lo descrito en la literatura, las plantas analizadas no son mutantes carentes sino deficientes en NADP-MDH. Por tanto, para poder analizar la función de esta enzima se propone utilizar la herramienta de CRISPR-Cas9 para generar plantas carentes de NADP-MDH. El análisis del fenotipo, la actividad fotosintética y el estado de reducción de diferentes enzimas en las plantas generadas, permitirán establecer la relación de la válvula de malato con otros sistemas de protección de la planta.

Centro de trabajo: INSTITUTO DE BIOQUÍMICA VEGETAL Y FOTOSÍNTESIS (US-CSIC)

17- Título: Estudio del estrés nutricional prolongado en la microalga *Chlamydomonas reinhardtii* y sus aplicaciones biotecnológicas.

Director/a: Inmaculada Couso

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

Tutor/a: Mercedes García González

Resumen: Este TFM pretende buscar la señalización celular de la que depende la correcta integración de señales nutricionales en microorganismos fotosintéticos. Utilizaremos mutantes de la microalga modelo *Chlamydomonas reinhardtii* relacionados con la ruta biosintética de los inosítoles polifosfato y estudiaremos el impacto en la producción de lípidos en estas estirpes.

Centro de trabajo: IBVF-CIC cartuja

18- 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: Un modelo clásico de células con una división asimétrica es el de las células madre de animales, que son esenciales durante el desarrollo del organismo y para el mantenimiento de la homeostasis tisular. Para coordinar la correcta distribución del material genético con el reparto diferencial de ciertos componentes celulares durante una división asimétrica, el huso mitótico debe alinearse a lo largo de un eje de polaridad pre-establecido. El huso es un haz bipolar de microtúbulos que emanan desde centros organizadores de microtúbulos (MTOCs) y que permiten la segregación de los cromosomas. No obstante, esta maquinaria también es empleada por las células para establecer asimetría durante su división. Entre los procesos de asimetría asociados al huso, un fenómeno fascinante es la distribución no aleatoria durante mitosis de los propios MTOCs que orquestan la formación del huso. 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, en las que los MTOCs del huso se denominan centrosomas. Nuestro grupo ha contribuido al descubrimiento de nuevos reguladores clave para la distribución no aleatoria de estos MTOCs (eLife (2020). 2(9):e61488) 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 del huso es esencial para mantener el potencial replicativo de *S. cerevisiae* (Nat Cell Biol (2019). 21(8):952-965), al permitir la distribución diferencial de 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: Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa (CABIMER)

19- Título: Estudio de estrategias neuroprotectoras frente a la radioterapia en el cáncer cerebral infantil.

Director/a: Vivian Capilla González

E-mail: vivian.capilla@cabimer.es

Resumen: Los tumores cerebrales son los tumores sólidos más comunes en los niños y representan la segunda causa de mortalidad por cáncer. Los últimos avances en diagnóstico y tratamientos han mejorado las tasas de supervivencia en estos pacientes. Sin embargo, los efectos secundarios de los tratamientos oncológicos siguen afectando la salud y calidad de vida de muchos niños que sobreviven a la enfermedad. En concreto, la radioterapia craneal puede inducir disfunción cognitiva, siendo estas secuelas más

severas en los pacientes pediátricos ya que el cerebro en desarrollo es más sensible a la radiación. En este proyecto, el candidato investigará nuevas estrategias (terapia con células madre) que ayuden a minimizar los efectos secundarios de la radiación. Para ello, el estudiante se formará en el cultivo de distintos tipos celulares (iPSC, células madre mesenquimales, microglia, etc), así como en el uso de técnicas de biología molecular y celular (inmunofluorescencia, citometría de flujo, transwell assay, RT-PCR, western blot, etc). Este plan formativo permitirá avanzar en el conocimiento de la biología de las células madre y evaluar su potencial terapéutico. El candidato se formará en un entorno dinámico y participará en las reuniones semanales del grupo de investigación para discutir los resultados obtenidos. Para más información del proyecto, no dude en ponerse en contacto con el director o visitar la web del grupo: <https://www.cabimer.es/en/research-groups/stem-cells-and-translational-neurology/>

Centro de trabajo: CABIMER

20- Título: Role of persulfidation in chloroplast redox regulation

Director/a: Valle Ojeda Servián

E-mail: vojeda@us.es

Resumen: Plants, as sessile organisms, need to respond to changes in the environment like light availability. For this reason, plants have developed regulatory mechanisms that allow the rapid adaptation of their metabolism. Redox regulation based on disulfide-dithiol exchange constitutes a rapid and reversible post-translational modification, which affects protein conformation and activity. Chloroplasts are equipped with a complex redox network including up to 20 thioredoxins (TRXs) and an NADPH-dependent redox system, termed NTRC, which maintains the redox balance of 2-Cys peroxiredoxin (2-Cys PRX), an antioxidant enzyme. On the other hand, H₂S has long been considered a poisonous substance hazardous to life and the environment, but it is now accepted as a relevant signaling molecule in physiology. One of the mechanisms of action of H₂S is based on its chemical reactivity to modify proteins by the oxidation of cysteine residues to persulfide. It has been suggested that thioredoxins could be an important regulator of H₂S levels from persulfide pools, even that that persulfidation can serve to protect protein thiols from oxidative damage.

The aim of this project is using a biotin switch assay for persulfide detection in vivo in Arabidopsis plants deficient in key elements of chloroplast redox regulation. We want to elucidate if protein persulfide levels are controlled by the thioredoxin system and which redox regulated targets suffer this post-translational modification.

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

Dpto Bioquímica Vegetal y Biología Molecular (Facultad de Biología)

21- Título: Papel del sulfuro de hidrógeno como regulador de la mitofagia.

Director/a: Angeles Aroca y Cecilia Gotor

E-mail: aaroca@us.es; gotor@ibvf.csic.es

Tutor/a: Angeles Aroca

Resumen: La autofagia (del griego: "autocomerse"), también conocida como macroautofagia, es un importante proceso catabólico en las células eucariotas para degradar componentes celulares disfuncionales o innecesarios, ya sea de forma no selectiva o selectiva. Tiene funciones conservadas en el desarrollo, la homeostasis celular y las respuestas al estrés en todos los organismos eucariotas. En los mamíferos, la autofagia está implicada en el cáncer, la enfermedad hepática, la neurodegeneración, la enfermedad cardíaca, la infección por patógenos, entre otros síntomas patológicos. En las plantas, la autofagia es de vital importancia en muchos aspectos de la vida, incluyendo la germinación, el desarrollo de las plantas, la resistencia al estrés, el metabolismo y la reproducción. La autofagia se caracterizó inicialmente como una vía de degradación masiva inducida por la limitación de nutrientes, como un mecanismo de reciclaje y por lo tanto útil para permitir la supervivencia celular, pero se sabe que las células también degradan selectivamente proteínas agregadas, mitocondrias dañadas, ribosomas, macromoléculas tóxicas, exceso de peroxisomas, y patógenos para prevenir la toxicidad. El sulfuro de hidrógeno (H₂S) es una molécula de señalización gaseosa generada endógenamente, y recientemente se ha descrito que está implicado en la regulación de la autofagia tanto en plantas como en mamíferos, tanto de la autofagia masiva como de autofagia selectiva de retículo endoplásmico. La degradación selectiva de las mitocondrias por autofagia se denomina mitofagia. La mitofagia en plantas ha sido escasamente estudiada y la inducción de la mitofagia no se ha establecido bien, ya que los tratamientos utilizados en levaduras y mamíferos para inducir la mitofagia también inducen autofagia no selectiva de manera concomitante. El objetivo general de este proyecto es arrojar luz sobre el papel del sulfuro en la regulación de la autofagia selectiva de las mitocondrias. Este estudio se abordará en plántulas de Arabidopsis como organismo modelo, las cuales serán tratadas con distintos inductores de mitofagia descritos en mamíferos, como desacoplantes mitocondriales como cianuro de carbonilo m-clorofenilhidrazona (CCCP) o el herbicida paraquat o dinitrofenol (DNP) así como la condición de limitación de carbono la cual se sabe que induce eficientemente la mitofagia. Además del estudio de la inducción de la mitofagia en plantas, se estudiará el efecto del sulfuro regulando dicho mecanismo. Para ello las plantas se tratarán con 200 μM de NaHS como donador de sulfuro tanto en condiciones de mitofagia inducida como en plantas control. La determinación de la mitofagia se realizará mediante westernblot detectando tanto el incremento de la proteína ATG8 con anticuerpos específicos (marcador específico de autofagia), como la degradación de proteínas mitocondriales específicas como la isocitrato deshidrogenasa (IDH) de la matriz mitocondrial y la proteína Canal 1 selectivo de aniones dependiente del voltaje (VDAC1) de la membrana externa mitocondrial. La mitofagia también se probará en plantas ATG8-CFP tratadas con los diferentes tratamientos anteriores, y la localización de las mitocondrias se controlará mediante una sonda MitoTracker Red CMXRos. de la membrana.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis. CicCartuja

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

Director/a: H  l  ne 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, Pāli-Gulli MP, Fernández-García E, Tom   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, Avenida Américo Vespucio 24, 41092 Sevilla

23- 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 dise  naran y optimizaran nuevos vectores y sistemas CRISPR minimizados para facilitar la manipulación genética en estos microorganismos.

Centro de trabajo: IBVF, Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotos  nteis, Av Américo Vespucio 49

24- Título: Eliminación de sistemas de restricción de la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120 para facilitar su manipulación genética

Director/a: María del Rocío López Igual

E-mail: mligual@us.es

Resumen: En comparación con bacterias de crecimiento rápido, como por ejemplo *Escherichia coli*, construir un mutante de *Anabaena* puede llevar más de un mes de trabajo. La transferencia genética desde *E. coli* a *Anabaena* se realiza mediante un protocolo desarrollado en los años 90 y basado en la conjugación tri-parental. En bacterias, los sistemas de Restricción-Metilación (RM) codifican para una endonucleasa, o enzima de restricción, y una metilasa. Este sistema RM funciona de forma que la metilasa modifica el ADN y lo protege frente al ataque de la endonucleasa. Éste es un sistema de defensa para destruir el ADN exógeno que puede provenir de infecciones por virus, entre otras opciones. El protocolo de conjugación triparental tiene dos estirpes bacterianas que actúan como donadoras: la estirpe conjugativa y la estirpe llamada "helper" (ayudante), que contiene las metilasas de *Anabaena*. De esta manera, el ADN que se va a transferir por conjugación viene metilado para protegerlo de las endonucleasas de *Anabaena*. Así, para realizar ingeniería genética en cianobacterias seguimos utilizando las estirpes silvestres. Para este trabajo, se pretende construir una estirpe de *Anabaena* mutante en los tres sistemas RM (o en alguno de ellos). El mutante generado será analizado para probar que podemos obtener transconjugantes utilizando una única estirpe parental (donadora). En el caso de comprobar que hemos mejorado la conjugación, podremos plantearnos la sustitución de la estirpe silvestre de *Anabaena* y realizar ingeniería genética en esta nueva cianobacteria.

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

25- Título: Inestabilidad genética asociada a defectos en la horquilla de replicación y su reparación por la ruta Anemia de Fanconi

Director/a: Ivan Valle Rosado

E-mail: ivrosado@us.es

Resumen: La reparación del genoma es esencial para garantizar la transmisión fiel de la información genética de una célula madre a su hija. Con el fin de evitar la inestabilidad genética, las células han desarrollado varias vías de reparación como la ruta Anemia de Fanconi, la cual detecta y repara las lesiones del ADN que ocurren en el contexto de la replicación. Mediante técnicas novedosas de biología molecular, celular y bioquímica, novedosos escrutinios genéticos y modelos animales de inestabilidad genética estudiamos el proceso por el cual se produce el fenómeno de inestabilidad genética y los mecanismos que evitan las consecuencias fatales del daño en el DNA.

Centro de trabajo: CABIMER

26- 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@ibvf.csic.es

Resumen: La quinasa SnRK1 juega un papel clave en la respuesta celular ante situaciones de estrés en todos los organismos identificados. En plantas, la caracterización de su función se encuentra aun en estadios tempranos. En el laboratorio, hemos identificado recientemente que, tras una situación de estrés, SnRK1 se localiza en unos complejos citoplasmáticos conocidos como gránulos de estrés (stress granules; SGs). SGs son condensados biomoleculares (biomolecular condensates; BMCs) constituidos por moléculas de RNA y proteínas que aparecen en el citoplasma celular en situaciones de estrés. La función que la proteína de estudio desempeña en estos complejos citoplasmáticos aun se desconoce. En base a los datos disponibles, el trabajo del estudiante se centrará en responder a las siguientes preguntas, ¿La proteína SnRK1 es necesaria para el correcto ensamblaje de los SGs?, ¿La localización de SnRK1 en los SGs es dependiente del tipo de estrés?, ¿SnRK1 interacciona con otros componentes de los SGs?. Para la respuesta de las preguntas planteadas se emplearán numerosas técnicas de biología molecular o/y celular, tales como co-immunoprecipitación (co-IP), complementación de fluorescencia bimolecular (BiFC), o estudios de localización celular in vivo, usando para ello marcadores fluorescentes como la GFP (verde), RFP (rojo) o YFP (amarillo). En el estudio se emplearán las plantas modelo Arabidopsis thaliana y Nicotiana benthamiana. Para una mayor descripción del proyecto no dude en ponerse en contacto con el director a través de la cuenta de correo electrónica proporcionada. Link de la web del lab: <http://egutierrez.ibvf.us-csic.es/>

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

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

Director/a: / Vicente Mariscal Romero

E-mail: consolacion@ibvf.csic.es / vicente.mariscal@ibvf.csic.es

Tutor/a: Consolación Álvarez Núñez

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

28- Título: Caracterización del papel de las enzimas de reparación de RNA en la respuesta a estrés

Director/a: Ignacio Luque Romero

E-mail: ignacio.luque@ibvf.csic.es

Tutor/a: Rocío López Igual

Resumen: El estudiante de Máster investigará el papel de dos enzimas con actividad RNA ligasa en la adaptación a condiciones de estrés y en el reciclaje de moléculas de tRNA y rRNA en la cianobacteria *Anabaena* sp. PCC 7120. El estudiante generará mutantes de pérdida de función de las enzimas RtcB y Hen1-PnkP, así como un mutante doble de ambas y analizará el fenotipo de los mutantes en condiciones de estrés en las que previamente hemos observado que la expresión de ambas enzimas se induce. La caracterización del fenotipo incluirá analizar la integridad de moléculas de tRNA y rRNA que son posibles dianas para la actividad de reparación de estas enzimas.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis. Avda Américo Vespucio 49. 41092, Sevilla.

29- Título: Producción de aceites de interés industrial en nuevos cultivos oleaginosos

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

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

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

E-mail: ventosa@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.

31- 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.

32- Título: Detección y mejora de los problemas de fertilidad femenina con herramientas de Inteligencia Artificial

Director/a: Alfonso Fernández Álvarez

E-mail: alfonso.fernandez.alvarez@csic.es

Tutor/a: Fernando Romero Balestra

Resumen: La meiosis es el tipo especializado de división celular donde a partir de una célula progenitora diploide se generan cuatro gametos haploides genéticamente distintos. De esta manera, la meiosis o gametogénesis es un proceso esencial para promover la diversidad genética y la generación de nuevos individuos. Fallos en la gametogénesis como consecuencia del envejecimiento de la maquinaria molecular que lo sustenta, conducen a problemas de fertilidad. En humanos, el retraso de la edad media en madres primerizas supone que los problemas de infertilidad sean cada vez más frecuentes en España, y las previsiones para la próxima década son que los problemas de fertilidad estarán aún más extendidos. Con la idea de conciliar el retraso en la edad de la maternidad con los intereses actuales de la mujer, este proyecto tiene como objetivo el desarrollar nuevas estrategias para facilitar a mujeres durante la treintena a ser madres.

En este proyecto rastreamos el impacto de diversas mutaciones en la fertilidad femenina gracias a una nueva metodología que hemos desarrollado en el lab. Esta nueva metodología está fundamentada en la visualización in vivo de la dinámica de cromosomas durante la meiosis y un posterior análisis con herramientas de Inteligencia

Artificial (Deep Learning) con el que trataremos de generar un modelo predictivo con el que seamos capaces de anticipar tanto problemas de fertilidad en mujeres jóvenes como diseñar posibles soluciones a los mismos.

El laboratorio de Biología Cuantitativa de la dinámica de cromosomas en Meiosis está situado en el Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC/USAL), actualmente nuestro dinámico equipo está formado por dos postdocs y dos estudiantes de tesis. Somos un laboratorio joven donde lo más importante es el interés y las ganas por aprender. El estudiante recibirá formación en biología molecular y genética, microscopía in vivo de alta resolución (DeltaVision y Spinning Disc) así como formación en biología computacional. No se requiere conocimiento previo en programación, aunque sí ganas y paciencia por aprender R y Phyton. Alrededor del 80% del tiempo es trabajo experimental y el 20% ordenador. También se plantea la opción de llevar exclusivamente el trabajo computacional del proyecto, con esta alternativa se podría ejecutar el TFM en remoto con reuniones periódicas presenciales. Complementariamente, participará en las reuniones semanales on line del grupo, así como las discusiones de artículos de investigación. Creemos que el ambiente en nuestro equipo y en el IBFG, en general, es una buena oportunidad para iniciaros en vuestros primeros pasos en la carrera científica.
Centro de trabajo: Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC/USAL)

33- Título: POTENCIAL CONTAMINACIÓN POR TRANSFERENCIA DE GLUTEN EN ALIMENTOS DEBIDO AL USO DE ENVASES Y MENAJE BIOBASADO: RIESGO EMERGENTE PARA EL COLECTIVO CELIACO

Director/a: Isabel María Comino Montilla, Ángela Ruiz Carnicer

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

Tutor/a:

Resumen: La reducción del consumo de plástico y otros materiales contaminantes que tardan millones de años en desaparecer ha sido una de las medidas adoptadas por la población mundial para cuidar del planeta. Para fomentarlo, existe una Directiva Europea que regula el consumo de plásticos y prohíbe los plásticos de un sólo uso para elaborar elementos de menaje. Actualmente, se están desarrollando envases y menaje de un sólo uso a partir de materiales alternativos, más respetuosos con el medio ambiente que, en principio, resultan inocuos y seguros para la salud de los seres humanos. Sin embargo, se han encontrado problemas en el caso del colectivo celíaco debido a que los productos más utilizados provienen de fibras vegetales, incluidas las que provienen de cereales con gluten como el salvado de trigo o el centeno. Con estos antecedentes, el objetivo de este trabajo es comprobar si se produce contaminación de gluten por migración entre los alimentos libres de gluten que son manipulados con distintos tipos de envases biodegradables elaborados a base de cereales con gluten.

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

34- Título: Estudio de la movilidad de SP5G desde la hoja al meristemo apical en tomate

Director/a: Federico Valverde Albacete, Carolina Camacho Fernández y Mateus Henrique Vicente

E-mail: federico.valverde@ibvf.csic.es

Tutor/a: José María Romero

Resumen: El gen SP5G es un represor de la floración en tomate que se expresa mayoritariamente en hojas. Sin embargo, su mutación afecta al desarrollo de la flor, lo que podría indicar movimiento de la proteína desde la hoja al meristemo, como su homólogo FT de Arabidopsis. Para demostrar ese movimiento visualizaremos fusiones de SP5G a GFP en el microscopio confocal en transformantes de Arabidopsis con diferentes promotores y estudiaremos el fenotipo de injertos de tomate entre diferentes genotipos de interés.

Centro de trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

35- Título: Papel de las 2-Cys peroxirredoxinas en la regulación de las ω -3 desaturasas por estreses medioambientales en Arabidopsis thaliana

Director/a: María Luisa Hernández Jiménez

E-mail: mhjimenez@us.es

Tutor/a:

Resumen: Está bien establecido en la literatura que los niveles de ácidos grasos trienoicos (16:3 y 18:3) tienen un papel fundamental en la tolerancia de las plantas a temperaturas extremas. La regulación de la actividad de las ω -3 desaturasas en respuesta a estrés por temperatura permite la modificación de la fluidez de la membrana y la adaptación de las plantas a los cambios de temperatura extremos. Aunque se han observado diferencias en los mecanismos que controlan la expresión de los genes FAD7 y FAD8 en respuesta a diferentes estreses ambientales, los mecanismos moleculares a través de los cuales se lleva a cabo dicha regulación no se conocen aún. Teniendo en cuenta el papel que tiene las 2-Cys Prxs en el control de la homeostasis redox del cloroplasto, estas enzimas podrían estar participando en la respuesta de las plantas a los cambios ambientales modulando la composición lipídica de las membranas tilacoidales. Resultados previos en nuestro laboratorio han confirmado que el estrés por alta temperatura disminuye los niveles de proteína FAD8 en extractos totales de hojas, como ha sido descrito previamente por otros autores. Además, en nuestro laboratorio, hemos observado este mismo efecto sobre los niveles de FAD8 cuando las plantas son sometidas a alta intensidad de luz. El análisis de líneas mutantes y transgénicas de Arabidopsis, con alteraciones en los niveles de expresión de las 2-Cys Prxs y/o las ω -3 desaturasas plastidiales, sometidos a diferentes condiciones de temperatura y luz, nos ayudará a comprender el papel que tienen las 2-Cys Prxs en la adaptación de las plantas a estos cambios ambientales.

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

36- Título: Estudio de los mecanismos moleculares que rigen el ensamblaje y la regulación del complejo transcripcional SAGA.

Director/a: Alberto Elías Villalobos

E-mail: aelias1@us.es

Tutor/a:

Resumen: La mayoría de las proteínas de una célula forman parte de complejos proteicos, muchos de ellos formados por diferentes subunidades. Estas subunidades deben encontrarse en el saturado ambiente citoplasmático y ensamblarse en el orden adecuado para producir un complejo funcionalmente activo. Aunque sabemos bastante

acerca del papel de cada subunidad individualmente, nuestro conocimiento acerca de cómo se ensamblan estas macromoléculas es muy escaso. Defectos en su ensamblaje ocasiona la acumulación de subunidades mal plegadas o sin ensamblar (subunidades huérfanas), que pueden agregarse generando estrés proteotóxico, o interaccionar inespecíficamente con otras proteínas, comprometiendo su función. Así mismo, pueden dar lugar a la aparición de complejos incompletos y/o no funcionales, afectando a los procesos en los que éstos participen. Estos defectos comprometen la homeostasia celular y favorecen la aparición de enfermedades. El objetivo de este trabajo es el de contribuir a esclarecer los mecanismos moleculares que permiten el correcto ensamblaje de complejos multi-proteicos. Para ello, emplearemos el complejo transcripcional SAGA como modelo, cuya función es esencial para controlar la diferenciación celular. Defectos en SAGA se relacionan con numerosas enfermedades, incluyendo distintos tipos de cáncer y enfermedades neurodegenerativas. En el desarrollo de este proyecto, el alumno tendrá la oportunidad de familiarizarse con técnicas de biología molecular, genética y bioquímica, como la inmunoprecipitación de ARN (RIP) o de cromatina (ChIP), la PCR cuantitativa (qPCR), o la purificación por afinidad de proteínas y complejos proteicos.

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

37- Título: Estudio de la regulación del punto de control mitótico en la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas

Director/a: María del Mar Mora Santos y Joaquín Andrés Herrero Ruiz

E-mail: marmora@us.es

Tutor/a: Francisco Romero Portillo

Resumen: El punto de control mitótico (conocido como SAC) es crucial para asegurar que las cromátidas hermanas no se separen hasta que los cromosomas estén correctamente biorientados en la placa metafásica. Cualquier error a este nivel podría conllevar defectos en la segregación cromosómica con la consecuente pérdida o ganancia de cromosomas.

En el tratamiento del cáncer, unas de las drogas más utilizadas son las drogas antimitóticas que activan el SAC provocando una parada prolongada en mitosis e impidiendo la proliferación celular. Sin embargo, hay tumores deficientes en el SAC que reducen la eficiencia de las drogas y por tanto del tratamiento. Por ello, es importante conocer cómo funciona la regulación de este mecanismo para poder encontrar dianas terapéuticas más efectivas.

El trabajo que se presenta estará centrado en el estudio de una nueva proteína reguladora del SAC conocida como Spindly. Para estudiar su papel en el SAC, se generarán líneas celulares estables inducibles mutadas en diferentes residuos que se fosforilan in vivo con la finalidad de estudiar su efecto en la activación del SAC y, como consecuencia, su repercusión en la respuesta a las drogas antimitóticas. El trabajo incluye un amplio abanico de técnicas de bioquímica y biología molecular y celular, así como de microscopía.

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

38- Título: Estudio de los reguladores que modulan la expresión del regulón nod de *S. fredii* HH103

Director/a: Catherine N. Jacott (Investigadora Juan de la Cierva, Dpto. Microbiología, US)

E-mail: cjacott@us.es

Tutor/a: José María Vinardell González (Catedrático del Dpto. Microbiología, US)

Resumen: *Sinorhizobium fredii* HH103 es un rizobio capaz de establecer una simbiosis fijadora de nitrógeno con numerosas leguminosas. HH103 posee dos copias del activador transcripcional NodD, perteneciente a la familia LysR, NodD1 y NodD2. NodD1 actúa como regulador positivo de los genes nod (responsables de la producción de moléculas señal implicadas en la simbiosis). En respuesta a flavonoides exudados por la planta, NodD1 se une a regiones promotoras llamadas cajas nod (NB) e induce la expresión de los genes que están aguas abajo. NodD2 parece actuar principalmente como un represor de los genes nod. TtsI es el regulador positivo de un sistema de secreción de tipo 3 (T3SS) simbiótico T3SS y los efectores secretados, ejerce su función uniéndose a promotores conservados denominados cajas tts (TB). Su gen codificante está regulado por NodD1 y flavonoides a través de una NB. (Lopez-Baena et al. 2008). Además de NodD1, NodD2 y TtsI, otros reguladores transcripcionales como SyrM y NoIR participan en la modulación fina de la expresión del regulón nod (Acosta-Jurado et al. 2019, 2020). Mediante RNAseq se ha comprobado que el regulón nod de *S. fredii* HH103 está compuesto por 100 genes diferencialmente expresados con genisteína (Perez-Montaña et al. 2016), de los cuales unos 70 están controlados por NB o TB. Del resto, se desconocen cómo son regulados. Entre ellos se encuentran dos reguladores transcripcionales de la familia TetR (SFHH103_03749 y SFHH103_05321) que regulan la expresión de bombas de expulsión de tóxicos. Dado que estos genes están regulados por flavonoides y que estos compuestos son tóxicos y candidatos a ser sustrato de dichas bombas de eflujo, en este TFM se propone estudiar estos dos reguladores TetR así como los genes que parecen estar bajo su control. Para ello se estudiarán sus patrones de expresión por qPCR, se obtendrán mutantes y se determinará su efecto en la expresión de los genes codificantes de la bomba de eflujo y en simbiosis con soja. Además, dado que estas bombas podrían afectar al nivel de flavonoides presente en la bacteria, se estudiará si las mutaciones en dichos genes tienen algún tipo de efecto en el nivel de activación de los genes regulados por NodD1 y flavonoides. Por otro lado, experimentos de Doble Híbrido ya realizados en nuestro grupo sugieren que las proteínas NodD1 y NodD2 podrían formar heterodímeros. En este TFM pretendemos comprobar esta hipótesis. En este TFM pretendemos corroborar esta hipótesis estudiando la interacción de estas proteínas utilizando métodos complementarios: (1) In vitro: expresión y purificación en *E. coli* de NodD1 y NodD2 con tags de histidina, seguido de cromatografía de exclusión por tamaño; (2) In vivo: expresión de las proteínas NodD1 y NodD2 en *S. fredii*, seguido de co-inmunoprecipitación.

Acosta-Jurado et al. 2019. *Environ Microbiol.* 21:1718-1739. doi: 10.1111/1462-2920.14584.

Acosta-Jurado et al. 2020. *Environ Microbiol.* 22:1104-1124. doi: 10.1111/1462-2920.14897.

López-Baena et al. 2008. *Microbiology* 154:1825-1836. doi: 10.1099/mic.0.2007/016337-0.

Pérez-Montaño et al. 2016. Sci Rep. 6:31592. doi: 10.1038/srep31592.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla.

39- Título: Papel de CONSTANS-FLOWERING LOCUS T en el desarrollo floral de Arabidopsis

Director/a: Federico Valverde Albacete y Gloria Serrano Bueno

E-mail: federico.valverde@ibvf.csic.es

Tutor/a:

Resumen: El factor de transcripción CONSTANS (CO) es clave para controlar la floración por fotoperiodo en Arabidopsis mediante la activación del florígeno FLOWERING LOCUS T (FT) (Valverde, 2011). Ambas proteínas han sido identificadas en órganos florales con nuevas funciones como la senescencia de la flor o la parada del meristemo floral (Serrano-Bueno et al., 2022; González-SUárez et al., 2023). En muestras florales de Arabidopsis hemos detectado mediante inmunoblot una forma modificada de FT. En esta propuesta de TFM caracterizaremos esa variedad, identificaremos su posible dependencia fotoperiódica a través de CO y describiremos su papel en el desarrollo floral. Para ello proponemos una aproximación proteómica, transcriptómica y genética en la planta modelo Arabidopsis thaliana.

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

40- Título: Mecanismos moleculares de la respuesta inflamatoria en enfermedades neurodegenerativas.

Director/a: Cintia Roodveldt

E-mail: cintia.roodveldt@cabimer.es

Resumen: Las enfermedades neurodegenerativas se caracterizan por la pérdida progresiva de neuronas, la formación de inclusiones de proteínas específicas y el desarrollo de neuroinflamación crónica. Si bien se sabe que desregulación de la respuesta inflamatoria es clave en el inicio y desarrollo de estas enfermedades, los mecanismos moleculares subyacentes a esta desregulación de la respuesta inmune se desconocen en gran medida. Nuestro laboratorio ha identificado una quinasa denominada MOK que participa en la respuesta inflamatoria de microglía y estaría involucrada en la esclerosis lateral amiotrófica (ELA/ALS) (Pérez-Cabello et al., PNAS 2023; PMID 37399380).

Mediante técnicas de bioquímica y biología molecular, y aproximaciones de proteómica, interactómica y transcriptómica, estamos identificando proteínas diana de MOK en cultivos celulares y organotípicos de médula espinal, y utilizando muestras humanas y modelos animales transgénicos para el estudio de la ELA. Contamos con colaboradores externos en la Universidad de Cambridge (Reino Unido) y en el Instituto de Neurociencias de Alicante. Las técnicas a utilizar de forma intensiva incluyen microscopía confocal de fluorescencia, cultivos primarios de diferentes células gliales y motoneuronas, análisis de la expresión de proteínas por Western blot, ELISA, qRT-PCR, CHIP-PCR, análisis transcripcional por RNA-Seq, y monitorización de la actividad motora in vivo.

Centro de trabajo: CABIMER - Centro Andaluz de Biología Celular y Medicina Regenerativa

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

Director/a: Ana García Rondón

E-mail: ana.rondon@cabimer.es

Resumen: La transcripción es un proceso fundamental para la proliferación celular que tradicionalmente se consideraba regulado exclusivamente en su inicio. Sin embargo, resultados recientes demuestran que el equilibrio entre la elongación o la terminación es un punto de regulación fundamental. La terminación de la transcripción está acoplado a la formación del extremo 3' del transcrito y, en consecuencia, determina su información y estabilidad. Controlando terminación de la transcripción, la célula cambia el perfil de expresión génica silenciando genes específicos o generando isoformas proteicas. Durante la elaboración del Trabajo de Fin de Master, el alumno generará mediante la tecnología CRISPR-cas mutantes puntuales de *Saccharomyces cerevisiae* afectados en la remodelación de la cromatina para analizar su papel en la terminación de la transcripción mediante técnicas genéticas y moleculares.

Centro de trabajo: Cabimer

42- Título: Papel del factor de transcripción HLH-30 en la regulación de la proliferación celular durante el desarrollo post-embrionario de *C. elegans*.

Director/a: María Olmedo López y Marta Muñoz Barrera

E-mail: mariaolmedo@us.es, mmunnoz6@us.es

Tutor/a:

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, a través del control de la proliferación celular. En este sentido, TFEB ha emergido como un factor clave en la biología del cáncer. 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 larvianas.

Más información: <http://grupo.us.es/olmedolab/>

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

43- Título: Papel de la ruta de la insulina en control del desarrollo en *C. elegans*

Director/a: María Olmedo López, Alejandro Mata Cabana

E-mail: mariaolmedo@us.es, amata@us.es

Resumen: Todos los organismos durante su vida tienen que hacer frente a periodos de escasez de alimentos, por lo que han desarrollado durante la evolución diferentes mecanismos de resistencia. Las rutas de señalización nutricional permiten ajustar los procesos de desarrollo, crecimiento y reproducción en respuesta a cambios en la disponibilidad de nutrientes. El nematodo *Caenorhabditis elegans* es capaz de ajustar su velocidad de desarrollo a las condiciones nutricionales, siendo incluso capaz de parar el desarrollo en ausencia de nutrientes y reanudarlo cuando el alimento vuelve a estar disponible. Una de las rutas más importantes que regulan este proceso, es la ruta de señalización de la insulina (IIS). IIS es una ruta muy conservada en animales que promueve el crecimiento en presencia de nutrientes. Además, se ha demostrado que esta ruta ejerce un papel regulador del envejecimiento y determina la esperanza de vida en mamíferos, incluido humanos, y en otros organismos como la mosca *Drosophila melanogaster* o *C. elegans*. La ruta IIS consiste en un receptor de insulina (DAF-2) al que se unen péptidos de insulina producidos como respuesta a la presencia de nutrientes. Esta unión inicia una cascada de fosforilación que termina en la fosforilación del factor de transcripción DAF-16 que queda retenido en el citoplasma. La carencia de nutrientes se traduce en la reducción de la señalización de insulina que conduce a una menor fosforilación de DAF-16, que en su estado desfosforilado migrará al núcleo y activará la transcripción de genes de respuesta a estrés y longevidad, responsables de detener el proceso de proliferación. En este trabajo de fin de máster usaremos el modelo *C. elegans* para el estudio del control que ejerce la ruta IIS en distintos aspectos del desarrollo larvario de este organismo en respuesta a condiciones nutricionales. Para ello, utilizaremos una técnica basada en luminometría que nos permite la cuantificación precisa de cada estadio del desarrollo de *C. elegans*.

Más información: <http://grupo.us.es/olmedolab/>

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

44- Título: The contribution of the plastid proteostasis machinery to the biogenesis and stability of chloroplasts in *Arabidopsis thaliana*

Director/a: Juan Manuel Pérez Ruiz

E-mail: jperez4@us.es

Resumen: Protein homeostasis, i.e., proteostasis, involves several pathways determining the fate of cell proteins, from synthesis and trafficking to correct folding, assembly and final degradation. 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. 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 chloroplast redox regulation of photosynthesis and chloroplast metabolism (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 reductive activation of metabolic enzymes in the light and their rapid oxidative inactivation in the night (Perez-Ruiz et al., 2017; Ojeda et al., 2018; Casatejada et al., 2023). Recently, we uncovered that the function of 2-Cys Prxs within chloroplasts affects cytosolic, hence extra-plastid, protein quality control (Ojeda et al., 2021), which is probably related to the chaperone activity of these enzymes. 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. 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)

45- Título: Sensibilización de las células tumorales senescentes a los quimioterápicos mediante la desestabilización de proteínas

Director/a: Alejandro Belmonte Fernández

E-mail: abelmonte1@us.es

Tutor/a: Francisco Romero Portillo

Resumen: La senescencia es un estado de parada proliferativa que evita la multiplicación de las células sometidas a diversos tipos de agresiones, como el estrés genotóxico o la activación de oncogenes. Tradicionalmente, ha sido considerada como un mecanismo de protección contra la progresión tumoral, al frenar la proliferación de las células cancerosas. Sin embargo, las células senescentes también pueden estimular el desarrollo tumoral, e incluso entrar en senescencia de manera transitoria, retomando la proliferación posteriormente. Por ello, resulta fundamental eliminar las células tumorales senescentes que puedan persistir en los tejidos tras un tratamiento.

Por otra parte, la ubiquitinación de proteínas es una modificación post-traducciona fundamental en la homeostasis celular. Las proteínas ubiquitinadas pueden seguir diferentes caminos, entre los que destaca su degradación. De entre todas las proteínas que intervienen en la ubiquitinación y degradación de sustratos, bTrCP está implicada en la destrucción de multitud de proteínas relacionadas con diversos procesos celulares.

Este trabajo está enfocado en sensibilizar a las células tumorales senescentes obtenidas tras aplicar dosis subletales de cisplatino. Se estudiará el impacto de la sobreexpresión de bTrCP sobre la adquisición y el mantenimiento del fenotipo senescente. Para ello, se realizarán ensayos en cultivos celulares 2D y 3D (formación de tumorosferas) en varias líneas celulares humanas cancerosas, estudios bioquímicos (Western-blots, degradación de proteínas, actividad b-galactosidasa lisosomal, etc.), técnicas básicas de biología molecular, microscopía y análisis bioinformáticos.

Centro de trabajo: Departamento de Microbiología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla.

46- Título: Función del fitocromo FphA en las respuestas a la luz en *Fusarium*

Director/a: F^o Javier Avalos Cordero y M^a Carmen Limón Mirón

E-mail: avalos@us.es; carmenlimon@us.es

Resumen: La síntesis de carotenoides es activada por la luz en el hongo *Fusarium fujikuroi*. Datos previos del grupo indican que la expresión de un gen clave de la carotenogénesis responde a la luz roja. El único gen para un fotoreceptor de luz roja en el genoma de *F. fujikuroi* es *fphA*, que codifica un fitocromo. Se dispone de un mutante que carece del gen *fphA*. Se llevarán a cabo análisis fenotípicos y moleculares del mutante disponible, y se analizará el efecto de la luz roja en los niveles de ARNm de los genes de la vía de los carotenoides en el tipo silvestre y en el mutante *fphA*. En función de los resultados obtenidos, se realizará la complementación del mutante con el gen silvestre. Se prestará también atención a posibles alteraciones en la producción de otros metabolitos, como las bikaverinas.

Centro de trabajo: Departamento de Genética, Facultad de Biología

47- Título: Análisis molecular y fenotípico de mutantes de catalasas obtenidos por CRISPR/Cas9 en *Fusarium*

Director/a: M^a del Carmen Limón Mirón y F. Javier Avalos Cordero

E-mail: carmenlimon@us.es; avalos@us.es

Resumen: Las catalasas son enzimas que protegen frente al estrés oxidativo provocado por las especies reactivas de oxígeno (ROS) degradando el peróxido de hidrógeno. Además del producido por su propio metabolismo, los hongos pueden enfrentarse a estrés oxidativo externo, por lo cual estas enzimas pueden ser clave para su supervivencia. En el hongo *Fusarium fujikuroi* hay varios genes con dominios catalasas. En nuestro grupo hemos encontrado que algunos de ellos se inducen por la luz. Una proteína reguladora implicada en la respuesta a la luz y la síntesis de carotenoides es CarS, una ligasa de ubiquitina, cuya mutación afecta a la inducción de un elevado número de genes, entre los que se encuentran varios con dominios catalasa. Análisis transcriptómicos por ARN-seq de un mutante del gen *carS* indicó que varios genes de la familia de las catalasas, como FFUJ_05128 (*cat4*) y FFUJ_11472 (*cat5*) se indican en ausencia de función *carS*. Se pretende estudiar el papel de *cat4* y *cat5* en el control del estrés oxidativo, la respuesta a la luz y la síntesis de carotenoides. Se obtendrán mutantes de *cat5* y dobles mutantes *cat4 cat5* mediante CRISPR/Cas9 a partir de mutantes *cat4* disponibles en el grupo. Se estudiará la respuesta al estrés de los mutantes *cat4* y se analizarán candidatos del gen *cat5*. Además, se analizarán los niveles de carotenoides de los mutantes, así como sus niveles internos de ROS.

Centro de trabajo: Departamento de Genética. Facultad de Biología. Universidad de Sevilla

48- Título: Desarrollo de nuevas tecnologías que superen la limitación de expresión genética en el desarrollo de procesos biotecnológicos.

Director/a: José Antonio Aznar Moreno

E-mail: jaaznar@ig.csic.es

Tutor/a: Rafael Ruiz de la Haba

Resumen: Los animales, las plantas y los hongos utilizan silenciamiento genético mediado por pequeñas moléculas de ARN como mecanismo general para controlar virus y otros elementos transponibles. Dado que los transgenes son una forma de ADN extraño que se asemeja a estos invasores celulares, también son objetivos de la maquinaria de silenciamiento del ARN del huésped. Por lo tanto, para que cualquier proyecto de biotecnología sea exitoso, la regulación en la expresión de genes foráneos debe superar los mecanismos de silenciamiento del genoma receptor. Está bien documentado que algunos promotores son más susceptibles al silenciamiento génico, como el promotor CaMV35S, mientras que otros parecen ser más resistentes, como el promotor de *Agrobacterium* pMAS (manopina sintasa), que ha demostrado mantener una expresión más estable a lo largo de generaciones. Además de esto, los terminadores juegan un papel importante en la regulación de la expresión génica al controlar la detención de la transcripción y la estabilidad del ARNm. Un informe reciente mostró que la elección de los terminadores influye en la fuerza de los promotores, ya que sus funciones no son independientes ni aditivas, sino combinatorias. Por lo tanto, en la actualidad es de gran interés caracterizar la combinación de promotores y terminadores para anticipar su comportamiento en términos de expresión génica y acumulación de proteínas. En este trabajo se realizarán amplificaciones tanto de promotores como terminadores, realizando combinaciones mediante el sistema GoldenBraid y su posterior análisis mediante su expresión en plantas.

Centro de trabajo: Instituto de la Grasa (CSIC)

49- Título: Identificación de mecanismos de toma activa de Cloruro de plantas mediante Expresión Funcional en la Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Director/a: José Manuel Colmenero Flores

E-mail: chemacf@irnase.csic.es

Tutor/a: Francisco Javier Cejudo

Resumen: El Laboratorio de Regulación Iónica e Hídrica en Plantas del Dept de Biotecnología Vegetal del IRNAS (CSIC) ofrece un puesto para el desarrollo de un Trabajo Fin de Máster basado en objetivos que incluyen objetivos del Proyecto del Ministerio actualmente financiado en nuestro Laboratorio (PID2021-125157OB-I00).

Pese a ser un micronutriente esencial, el anión cloruro (Cl⁻) se ha considerado tradicionalmente dañino para la agricultura por dos razones fundamentales: 1) su toxicidad en condiciones de estrés salino en determinadas especies (cítricos, vid, etc); 2) por considerarse antagonista del nitrato (NO₃⁻), fuente esencial de nitrógeno (N), y reducir su transporte y acumulación en plantas. Nuestros resultados previos cuestionan este paradigma, ya que hemos demostrado: 1) que las plantas usan gran cantidad de energía metabólica para acumular Cl⁻ a niveles muy superiores al requerido como micronutriente (unas 100 veces mayor); 2) que la acumulación a niveles propios de

macronutriente tiene efectos beneficiosos en el crecimiento, desarrollo y balance hídrico de las plantas; 3) que la acumulación a niveles propios de macronutriente permite aumentar la eficiencia de las plantas en el uso del agua, del N y del carbono (C), los tres pilares fundamentales de la nutrición vegetal [1, 2, 3, 4, 5].

Pese a la relevancia de este nutriente para las plantas, se desconocen los genes que regulan la toma de Cl⁻ desde la raíz. Por tratarse de un anión, la entrada de Cl⁻ en las células vegetales requieren de un cotransporte activo con protones (H⁺). La familia NPF (Nitrate Transporter 1/Peptide transporter Family) de plantas incluye diversos mecanismos de transporte activo de diversos aniones, oligopéptidos, hormonas y metabolitos. En la planta modelo *Arabidopsis thaliana*, el transportador AtNPF6.3 constituye el principal mecanismo de transporte y regulación de la toma de NO₃⁻ del suelo. Se han identificado a miembros de la subfamilia NPF6 de maíz (ZmNPF6.4 y ZmNPF6.6), presentes en la misma rama filogenética de AtNPF6.3, que transportan Cl⁻ de forma activa en alta y baja afinidad, respectivamente, cuando se expresan en ovocitos de *Xenopus laevis*. La participación de estos u otros genes en la toma de Cl⁻ desde la raíz no se ha demostrado aún.

Nuestro grupo de investigación ha tenido una participación relevante en la identificación y caracterización funcional de transportadores de Cl⁻ en plantas superiores, pero principalmente a nivel del transporte a larga distancia en la planta [1, 6, 7, 8]. El objetivo es abordar las tareas requeridas para iniciar la identificación de los posibles genes NPF involucrados en la toma de Cl⁻ desde la raíz. Se proponen tareas sencillas, técnicamente fáciles de abordar y que garanticen resultados seguros.

Más información en chemacf@irnase.csic.es y en publicaciones adjuntas.

1. Brumós J et al. *Plant Cell Environ* (2010) 33:2012–27.
2. Franco-Navarro et al (2016) *J Exp Bot* 67: 873-891
3. Franco-Navarro et al (2019) *Plant J*. 99: 815-831
4. Franco-Navarro et al (2020) *J Exp Bot* 72: 5246-5261
5. Rosales et al. *Front. Plant Sci.* (2021) 11 (442).
6. Brumós et al. *Funct Integr Genomics* (2009) 9:293–309.
7. Colmenero-Flores et al. (2007) *Plant J* 50(2).
8. Cubero-Font et al (2016) *Curr. Biol.* 26: 2213-2220.

Centro de trabajo: IRNAS (CSIC).

Av Reina Mercedes 10, Sevilla

50- Título: Regulación del Sistema de Secreción Tipo VI de *Pseudomonas putida*

Director/a: Patricia Bernal

E-mail: pbgzman@us.es

El Sistema de Secreción Tipo VI (T6SS) es una nanomáquina bacteriana que inyecta toxinas al interior de otras bacterias como mecanismo de competición y que se conoce como una “máquina de matar”. La bacteria del suelo *Pseudomonas putida*, usa el T6SS para eliminar patógenos de plantas y así proteger a los cultivos del ataque de patógenos evitando una infección. Por ello, su estudio resulta clave para mejorar el potencial biotecnológico de *P. putida* como agente de control biológico.

Hasta ahora, los estudios sobre T6SS se han sustentado en técnicas microbiológicas clásicas que reflejan el comportamiento bacteriano a nivel poblacional. No obstante, aunque los individuos de una población suelen ser idénticos genéticamente, no todos presentan el mismo patrón de expresión génica, lo que genera heterogeneidad fenotípica de unos individuos a otros. En el caso de *P. putida*, tan solo un pequeño porcentaje de la población expresa el T6SS en condiciones de laboratorio. No obstante, hemos observado una relación directa entre el número de individuos con un T6SS activo y la capacidad poblacional de biocontrolar a una presa. Identificar las señales ambientales que estimulan la activación del T6SS en la población nos permitirá modular la capacidad biocontroladora de *P. putida*.

En este contexto, estudios transcriptómicos previos han descrito diferentes condiciones que regulan la expresión del T6SS de *P. putida*, entre otros la fase de crecimiento o el estrés osmótico. Para explorar esta regulación, en este proyecto evaluaremos el efecto de diferentes reguladores globales sobre la activación del T6SS a nivel poblacional mediante fusiones transcripcionales y tradicionales y ensayos de β -galactosidasa; y a nivel individual mediante citometría de flujo, una técnica que permite obtener información sobre cada una de las células de la población de manera rápida y sencilla. Además, se llevarán a cabo ensayos de competición con las cepas que tengan una mayor capacidad de eliminar patógenos. En conjunto, este estudio nos permitirá investigar la regulación del T6SS usando diferentes técnicas experimentales y potenciar su capacidad de eliminar patógenos. La/el estudiante utilizará técnicas de microbiología (crecimiento), fisiología (ensayos de competición), biología molecular (PCR, clonación, minipreps, extracción de ADN genómico), bioquímica (ensayos β -galactosidasa) y citometría de flujo para el desarrollo de este proyecto.

Centro: Departamento de Microbiología (Facultad de Biología).

51-Análisis del desarrollo postembrionario mediante bioluminiscencia en *Drosophila melanogaster*

Director : María Olmedo López Y Patricia Rojas Ríos

e-mail del director: mariaolmedo@us.es Y projas@us.es

Resumen: El desarrollo de organismos pluricelulares es un proceso extremadamente reproducible controlado por la expresión de genes, la acción de hormonas y el ambiente. El uso de organismos invertebrados como la mosca de la fruta *Drosophila melanogaster* y el nematodo *Caenorhabditis elegans* ha permitido avanzar considerablemente en el conocimiento de la biología del desarrollo. Nuestro grupo está interesado en los mecanismos genéticos y moleculares que regulan la proliferación y la senescencia celular en función del estado nutricional usando como modelo experimental el desarrollo postembrionario de *D. melanogaster* y *C. elegans*. En el laboratorio, desarrollamos un método cuantitativo basado en bioluminiscencia que permite el análisis de la ingesta durante el desarrollo postembrionario de *C. elegans* (1, 2). Recientemente hemos adaptado este método para analizar el desarrollo postembrionario de *D. melanogaster* y cómo este proceso responde a cambios en la temperatura y las condiciones nutricionales. Durante este TFM, el estudiante probará el efecto de distintas mutaciones en la velocidad del desarrollo postembrionario de *D. melanogaster*. En concreto, se utilizarán condiciones mutantes de rutas de señalización

de nutrientes como la ruta de la insulina y la ruta TOR (Target of Rapamycin). En resumen, este proyecto de TFM es una excelente oportunidad para que el estudiante se familiarice con técnicas genéticas y el método de la bioluminiscencia en el modelo animal *D. melanogaster*.

Rodríguez-Palero MJ, López-Díaz A, Marsac R, Gomes JE, **Olmedo M***, Artal-Sanz M*. *An automated method for the analysis of food intake behaviour in Caenorhabditis elegans*. **Sci Rep. 2018**

2. **Olmedo M***, Mata-Cabana A, Rodríguez-Palero MJ, García-Sánchez S, Fernández-Yañez A, Merrow M, Artal-Sanz M*. *Prolonged quiescence delays somatic stem cell-like divisions in Caenorhabditis elegans and is controlled by insulin signaling*. **Aging Cell. 2020**

* Corresponding authors

Centro de Trabajo: Departamento de Genética, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla.

52. Identificación de virus y factores críticos en el líquido amniótico y su relación con la salud fetal

Director: 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 virus en el líquido amniótico y estudiar el papel de las defensinas y células inmunes en la salud fetal y las posibles implicaciones para los resultados del embarazo.

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

53- **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; 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 ImmunoPrecipitation) 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

54. **Título:** Relationship between DNA topology and RNA modifications in the regulation of gene expression

Director/a: Silvia Jimeno

E-mail: sjimeno@us.es

Resumen: Los venenos de las topoisomerasas se utilizan como quimioterapia en tratamientos contra distintos tipos de tumores. Un ejemplo de este tipo de droga es el etopósido, cuya acción se basa en la inducción de cortes de doble cadena en el DNA por el bloqueo de la actividad topoisomerasa II, enzima necesaria para la replicación, la transcripción, la segregación de cromosomas y la recombinación del DNA. Aunque las células cancerosas son especialmente sensibles al etopósido por el hecho de que se dividen de forma activa y, por tanto, necesitan más actividad topoisomerasa, el tratamiento con quimioterapia afecta también a las células que no forman parte del tumor. De hecho, se ha demostrado que este tipo de tratamientos incrementa el riesgo de presentar tumores secundarios.

El proyecto que se propone se centra en el estudio de las consecuencias a nivel de expresión génica de los tratamientos con etopósido. En nuestro equipo, disponemos de datos preliminares que indican que algunos factores implicados en la regulación de la e la elongación de la transcripción tienen una función importante en la señalización específica del daño en el DNA producido por etopósido. El trabajo pretende ahondar en el estudio de la función de estos complejos en la reparación de dicho daño. Este trabajo experimental va a permitir al estudiante la familiarización con herramientas novedosas como la

manipulación del DNA en líneas celulares humanas con CRISPR-Cas9 así como el manejo con técnicas estándar de Biología Molecular y Celular.

Centro de trabajo: CABIMER