

1.- **Título:** Molecular mechanisms of protein sorting in membrane trafficking

Director: Manuel Muñoz Guinea

e-mail: mmuniz@us.es

Tutor:

Resumen: *Protein sorting upon vesicular transport is essential for eukaryotic life. Export from the endoplasmic reticulum (ER) is the first sorting event in the secretory pathway by which a third of all eukaryotic proteins are delivered to their final destiny. This critical step selectively captures correctly folded proteins, which are distinguished from misfolded proteins and ER residents. Our proposal aims at elucidating molecular mechanisms of protein sorting upon ER export. To tackle this fundamental problem of biomedical relevance, we will use a combination of molecular biology, genetic, biochemistry and live cell microscopy approaches in the Saccharomyces cerevisiae model system*

Centro de Trabajo: Facultad de Biología

2.- **Título:** Estudio de la síntesis de ribosomas

Director: Jesus de la Cruz

e-mail: jdlcd@us.es

Tutor:

Resumen: *Por definir. Nuestro grupo intenta esclarecer los principios de la síntesis de los ribosomas citoplásmicos en levaduras y células animales. Se estudian tantos aspectos académicos como aspectos biomédicos.*

Centro de Trabajo: Instituto de Biomedicina de Sevilla

3.- **Título:** Modulando la producción de compuestos bioactivos en plantas medicinales: del microbioma al metaboloma.

Director: Eloísa Pajuelo Domínguez e Ignacio D. Rodríguez-Llorente

e-mail: epajuelo@us.es; irodri@us.es

Tutor:

Resumen: *El TFM está enfocado en la utilización de una planta costera (la halótita Mesembryanthemum crystallinum) con propiedades medicinales en control de la obesidad y de la diabetes, así como propiedades cosméticas. Esto es debido a la acumulación de compuestos bioactivos como ácidos grasos omega-3 y omega 6, polioles, flavonoides, etc. Se pretende incrementar la cantidad de estos compuestos (modulación del metaboloma) mediante la gestión de ciertas condiciones de estrés y la inoculación con bacterias beneficiosas (Plant Growth Promoting Rhizobacteria). estos compuestos son de gran interés en las industria farmacéutica, cosmética y alimentaria).*

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

4.- **Título:** Estudio de la resistencia a antibióticos mediante la encapsulación de bacterias en microesferas

Director: María Antonia Sánchez Romero

e-mail: mtsanchez@us.es

Tutor:

Resumen: *El trabajo consistirá en aplicar un protocolo de encapsulación de células individuales de la bacteria Salmonella en microcápsulas para estudiar cómo la heterogeneidad fenotípica contribuye a la resistencia a antibióticos.*

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

5.- **Título:** El Sistema de Secreción de Tipo VI en la interacción planta-microorganismo

Director: Francisco Pérez Montaña

e-mail: fperezm@us.es

Tutor: No procede

Resumen: *Gran parte de las bacterias tienen algún sistema de secreción que les ayuda en multitud de funciones. El sistema de secreción de tipo VI es capaz de participar en los procesos infecciosos y en la competencia interbacteriana gracias a los muchos y variados efectores que posee, los cuales se translocan tanto a células eucariotas como procariotas. En este trabajo vamos a profundizar en la estructura y funciones de este sistema, haciendo hincapié en su modo de acción y en su regulación. Al mismo tiempo que intentamos comprender como las bacterias se comportan al interactuar con células eucariotas y más específicamente con plantas.*

Centro de Trabajo: Departamento de Microbiología

6.- **Título:** Papel de las fibrilinas 7a y 7b en la defensa de la planta frente a estrés lumínico

Director: Ángel Mérida

e-mail: angel@ibvf.csic.es

Tutor: Mercedes García González

Resumen: *Las fibrilinas (FBNs) son proteínas cloroplásticas cuyas funciones son poco conocidas. Se ha propuesto que algunas FBNs intervienen en la protección de la planta frente a estrés lumínico, pero sus mecanismos de acción son desconocidos. En nuestro Grupo hemos aislado un mutante doble carente de las FBNs 7a y 7b. Este mutante crece como la planta silvestre en condiciones de crecimiento de día corto (SD, 8 h luz/16 h oscuridad). Sin embargo, cuando se transfiere a condiciones de crecimiento de día largo (LD, 16 h luz/8 h oscuridad) la planta manifiesta varios síntomas de estrés: gran acumulación de antocianinas, parada del crecimiento y curvatura de las hojas para disminuir la superficie expuesta a la luz. El trabajo de TFM consistirá en caracterizar a este mutante en diferentes condiciones de cultivo, como transición de SD a LD, o aumento de la intensidad lumínica en la que crecen. Se analizarán diferentes parámetros fotosintéticos mediante fluorimetría de amplitud de pulso modulada para caracterizar el funcionamiento del fotosistema II. De forma paralela se fusionarán traduccionalmente las proteínas FBN7a y FBN7b a la proteína testigo GFP para estudiar la localización de estas proteínas en el cloroplasto. Para ello se expresarán de forma transitoria estas construcciones en hojas de Nicotiana benthamiana y se detectará la señal de GFP mediante microscopía confocal. Mediante inmunoblots empleando anticuerpos específicos contra estas proteínas, obtenidos por el Grupo, se determinará la localización de estas proteínas en las diferentes fracciones cloroplásticas. Estos análisis formarán parte de una caracterización completa de las funciones de estas FBNs en la defensa de la planta frente a estrés lumínico.*

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

7.- **Título:** Relación entre fototropinas y CONTANS en la regulación de la floración por fotoperiodo

Director: Federico Valverde Albacete

María Teresa Ruiz Pérez

e-mail: federico@ibvf.csic.es

teresa@ibvf.csic.es

Tutor: José M^a Romero Rodríguez

Resumen: *En Arabidopsis, la proteína CONSTANS (CO) integra las señales lumínicas que regulan el proceso de floración. CO está rigurosamente regulada por el reloj circadiano y la luz, mediante la interacción con distintos fotoreceptores. EL objetivo es determinar si las fototropinas, receptores de luz azul implicados en varios procesos, participan también en esta regulación.*

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

8.- **Título:** Identificación de mecanismos de toma activa de Cloruro de la Familia NPF de plantas mediante Minería de Datos y Expresión Funcional en la Levadura Saccharomyces cerevisiae

Director: José M Colmenero Flores

Codirector: Miguel A. Villegas

e-mail: chemacf@irnase.csic.es

Tutor: M^a Rosario Álvarez Morales

Resumen: *El Laboratorio RIH (Regulación Iónica e Hídrica en Plantas) del Departamento de Biotecnología Vegetal del IRNAS (CSIC) ofrece un puesto para el desarrollo de un Trabajo Fin de Máster (TFM curso 2020-2021) basado en objetivos que constituyen la continuación del Proyecto del Ministerio actualmente financiado en nuestro Laboratorio (RTI2018-094460-B-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 (Proyectos AGL2015-71386-R y RTI2018-094460-B-I00) cuestionan este paradigma, ya que hemos demostrado: 1) que las plantas usan gran cantidad de energía metabólica en 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 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-NO₃- 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 requiere 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 homólogos en maíz (ZmNPF6.4 y ZmNPF6.6), que transportan

Cl⁻ de forma activa en el rango de 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,

Centro de Trabajo: IRNAS (CSIC). Av. Reina Mercedes 10, Sevilla

9.- **Título:** Exploring the oxidative side of chloroplast redox regulation in *Arabidopsis thaliana*

Director: Juan Manuel Pérez Ruiz

e-mail: jperez4@us.es

Tutor:

Resumen: *The chloroplast is the organelle where photosynthesis is performed, thus playing an essential role on plant growth and development. In addition, the biosynthetic potential of chloroplasts has a great impact on plant productivity, thus with possible biotechnological application to crops improvement. Thiol-dependent redox regulation, based on thiol-disulfide exchange between well-conserved cysteine residues of proteins, largely relies on the protein disulfide reductase activity of thioredoxins (Trxs) and constitutes a rapid mechanism that adjust chloroplast performance to light availability. Indeed, photosynthetic metabolism relies on the reductive activation of metabolic enzymes in the light and their rapid oxidative inactivation in the night. 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 recently proposed a novel model according to which redox regulatory systems (Trxs and NADPH-Trx Reductase C) and antioxidant systems (2-Cys peroxiredoxins) are functionally associated (Perez-Ruiz et al., 2017; Ojeda et al., 2018; Ojeda et al., 2021). Nevertheless, the molecular mechanism of enzyme oxidation, i.e., the oxidative side of chloroplast redox regulation, remains poorly understood. In this study, we will combine genetic, biochemical, and physiological approaches to explore the molecular basis of oxidative mechanisms in chloroplast redox regulation, focusing on atypical Trxs.*

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

10.- **Título:** "Regulación de la síntesis de carotenoides mediada por los inositoles polifosfato en microalgas"

Director: Inmaculada Couso Liañez

e-mail: icouso@hotmail.com

Tutor:

Resumen: *Los inositoles polifosfato son una moléculas señalizadoras que están presentes en todos los eucariotas. Sin embargo, su función es altamente desconocida sobre todo en organismos fotosintéticos. Recientemente, hemos descubierto que estas moléculas ejercen un importante control sobre la fotosíntesis y sus mecanismos de compensación. En este sentido, durante el desarrollo de este proyecto pretendemos averiguar si estas moléculas controlan también la síntesis de carotenoides y si modifican por tanto la capacidad antioxidante de estos compuestos isoprenoides.*

Centro de Trabajo: Instituto de bioquímica vegetal y fotosíntesis

11.- **Título:** Papel de la por la ruta de la insulina en control de la proliferación celular y el desarrollo en *C. elegans*

Director: María Olmedo

e-mail: mariaolmedo@us.es

Tutor:

Resumen: *El crecimiento y la proliferación celular dependen de la presencia de nutrientes que los sustenten. Las mutaciones en las rutas que acoplan la detección de nutrientes con el crecimiento celular pueden provocar la proliferación descontrolada dando origen a células cancerosas. La insulina es uno de los principales reguladores metabólicos que conectan la detección de nutrientes con la proliferación celular. La hiperinsulinemia, junto a otros factores de riesgo relacionado con la obesidad, se ha relacionado con el desarrollo de varios tipos de cáncer . Los efectos mitogénicos de la insulina están fundamentalmente mediados por su interacción con la ruta RAS-MAPK/ERK (Rat Sarcoma-Mitogen-Activated Protein Kinase/ERK). Aproximadamente el 25% de los cánceres humanos presentan mutaciones de ganancia de función en genes de la ruta RAS, lo que ha fomentado el interés en la identificación de terapias que modulen esta ruta. La finalidad de este proyecto es profundizar en la relación entre estas dos rutas, con importantes implicaciones en la aparición de cáncer. El modelo biológico que utilizaremos para abordar este estudio es el desarrollo postembrionario del nematodo *Caenorhabditis elegans*. Este sistema aúna las ventajas del uso de un organismo modelo genético, con la complejidad de un sistema multicelular, en el que varias células se dividen de forma estereotípica durante la progresión del desarrollo a través de cuatro fases larvarias.*

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

Centro de Trabajo: Departamento de Genética. Facultad de Biología

12.- **Título:** Desarrollo de protocolos de PCR en tiempo real (qPCR) para detección y cuantificación de hongos de almendro de la familia Botryosphaeriaceae

Director: CAPOTE MAÍNEZ María Nieves

e-mail: marian.capote@juntadeandalucia.es

Tutor: María del Rosario Espuny Gómez

Resumen: *El almendro es uno de los cultivos de frutos secos más importantes de España. En los últimos años, ha experimentado importantes cambios en el sistema de producción, convirtiéndose en un cultivo altamente tecnificado, en regadío, con uso de nuevas variedades y cultivos de alta densidad, encaminados al aumento de la producción. Sin embargo, este nuevo escenario conlleva la aparición de enfermedades y una importante demanda por parte del sector para su correcto diagnóstico. Entre estas enfermedades emergentes, destacan las ocasionadas por hongos de la familia Botryosphaeriaceae de los géneros Botryosphaeria, Diplodia, Dothiorella, Lasiodiplodia y Neofusicoccum. Los síntomas consisten en chancros en el tronco, ramas y heridas de poda, acompañadas de abundante gomosis, necrosis del tejido interno y, en ocasiones, muerte de la planta. Los hongos de la familia Botryosphaeriaceae infectan a través de heridas y producen infecciones latentes que se tornan en patogénicas cuando el huésped se encuentra en condiciones de estrés. Esta infección asintomática dificulta enormemente su detección y favorece la comercialización de plantas de vivero*

infectadas que no presentan síntomas de enfermedad. En este trabajo se propone el desarrollo de herramientas moleculares basadas en qPCR para la detección sensible y específica de los hongos de la familia Botryosphaeriaceae y de sus principales especies patógenas de almendro. Con ello se dispondrá de una herramienta fiable de diagnóstico y una estrategia de control preventivo aplicables en vivero y en campo.

Centro de Trabajo: IFAPA- Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria, Pesquera, Alimentaria y de la Producción Ecológica

13.- **Título:** Papel no recombinogénico de Rad51 en mutagénesis

Director: Félix Prado Velasco

e-mail: felix.prado@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *Las rutas de tolerancia a daños replicativos facilitan el avance de las horquillas de replicación en presencia de daños que bloquean las polimerasas replicativas. Estos procesos pueden ser recombinogénicos o mutagénicos. En los primeros la recombinación homóloga (HR) utiliza la cromátida hermana para baipasear el daño, mientras que en los segundos se reclutan polimerasas capaces de complementar la base dañada con un nucleótido al azar (TLS; síntesis translesion). La decisión de tolerar los daños por una u otra vía está altamente regulada ya que alteraciones en estas rutas pueden derivar en reordenamientos genómicos y/o altas tasas de mutagénesis, características del cáncer y numerosas enfermedades genéticas. En nuestro grupo hemos demostrado recientemente que Rad51, proteína esencial en HR conservada desde levaduras a humanos, participa en la ruta de TLS mediante funciones no recombinogénicas. Esta inesperada función convierte a Rad51 en un candidato a regular la decisión de tolerar por HR o TLS (Cano-Linares et al., EMBO R 2021; Cabello-Lobato et al., Cell R 2021). El objetivo de este trabajo de Máster es estudiar los mecanismos mediante los cuales Rad51 promueve TLS. Para ello se analizarán diferentes mutantes de levadura de rad51 defectivos específicamente en la unión a DNA, en el intercambio de cadenas con la cromátida hermana y en la interacción con la helicasa MCM. El trabajo permitirá al estudiante familiarizarse con técnicas de genética, biología molecular y celular, y bioquímica, y profundizar en los aspectos teóricos generales de la estabilidad genética.*

Centro de Trabajo: CABIMER

14.- **Título:** Metabolismo y señalización celular del cáncer: nuevas terapias dirigidas

Director: Raúl V. Durán

e-mail: raul.duran@cabimer.es

Tutor: socorro@us.es

Resumen: *El Grupo de Metabolismo y Señalización Celular dirige sus investigaciones a comprender la interacción biológica entre el metabolismo y la señalización celular en células humanas, un aspecto fundamental para conocer mejor cómo estos procesos se desregulan en las enfermedades, particularmente en el cáncer. Recientemente, nuestro grupo de investigación ha identificado un nuevo mecanismo de muerte celular inducido por el metabolismo, al que hemos denominado "glutamoptosis". Durante la glutamoptosis, la activación desequilibrada de mammalian target of rapamycin (mTOR, una proteína reguladora del crecimiento celular) en condiciones restrictivas de nutrientes causa una inducción no canónica de muerte celular por apoptosis en células cancerosas.*

Sin embargo, las consecuencias fisiológicas de la glutamoptosis tanto en la enfermedad como en la homeostasis normal de la célula no están claras. El objetivo de nuestras investigaciones es determinar si la glutamoptosis y el desequilibrio nutricional (sistémico o en el microambiente tumoral) se pueden utilizar como una estrategia revolucionaria para prevenir la progresión del cáncer. Usando enfoques tanto in vitro como in vivo, determinaremos si la inducción de la glutamoptosis se puede utilizar para prevenir la progresión y la invasión del cáncer (metástasis). Nuestras investigaciones cubren áreas de bioquímica, síntesis de péptidos, modelos in vivo, biología tumoral, metabolómica, proteómica y biología translacional, y se llevará a cabo en estrecha colaboración con equipos nacionales e internacionales. La glutamoptosis podría constituir una oportunidad innovadora para usar las características metabólicas únicas del cáncer para matar selectivamente las células tumorales.

Centro de Trabajo: CABIMER

15.- **Título:** Estudio de los mecanismos de radioresistencia en el cáncer cerebral infantil.

Director: Vivian Capilla González

e-mail: vivian.capilla@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *El meduloblastoma es el tumor cerebral maligno más común en niños. Aunque la tasa de supervivencia de estos pacientes se sitúa en torno al 80%, el cerebro en desarrollo de estos niños sufre los efectos secundarios nocivos de los tratamientos oncológicos. Por ello, es fundamental estudiar estrategias que nos permitan reducir la dosis de los tratamientos sin perder efectividad. En concreto, nuestro grupo pretende aumentar la sensibilización del meduloblastoma humano a la radiación. Para ello, estamos identificando procesos celulares o moleculares involucrados en la radioresistencia de las células tumorales. Trabajaremos con cultivos celulares y aplicaremos técnicas celulares que nos permitan evaluar la supervivencia, apoptosis, proliferación y migración de las células tumorales irradiadas (inmunofluorescencia, citometría de flujo, transwell, etc). Además, analizaremos el secretoma y el perfil molecular de las células (ELISA, RT-PCR, western blot, etc). Con la información obtenida de éstas técnicas, desarrollaremos una estrategia que permita reducir la dosis de radiación sin afectar a la eficacia en modelos de meduloblastoma en ratón.*

Centro de Trabajo: CABIMER

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

Director: Mario García Domínguez

e-mail: mario.garcia@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *ETV6 es un supresor de tumores asociado a leucemia. En nuestro grupo hemos identificado que en condiciones de diferenciación se modifica por unión del polipéptido SUMO, un proceso conocido como sumoilación. SUMO es un pequeño polipéptido similar a la ubiquitina capaz de unirse covalentemente a otras proteínas como modificador post-traducciona. La sumoilación modula la función o propiedades de las proteínas diana. Actualmente se conocen más de mil proteínas diana de SUMO. Esta modificación participa en la mayoría de procesos celulares relevantes y es esencial, ya que su bloqueo conduce a letalidad en estado embrionario. En nuestro grupo pretendemos estudiar la*

función de esta modificación sobre el factor de transcripción ETV6 en el establecimiento de distintos programas de diferenciación durante el desarrollo, incluyendo la diferenciación neuronal, a músculo 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

17.- **Título:** Asimetrías asociadas al huso mitótico e implicaciones en envejecimiento celular, cáncer y neurodegeneración

Director: Fernando Monje Casas

e-mail: fernando.monje@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *El establecimiento de asimetría durante la división celular es esencial para la proliferación de muchos microorganismos y para el desarrollo y morfogénesis tisular en animales y plantas. De los múltiples ejemplos de divisiones celulares asimétricas descritos en la naturaleza, quizás el de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y el de las células madre de animales sean los más representativos, respectivamente, entre los organismos unicelulares y pluricelulares. Un fenómeno extremadamente interesante relacionado con las divisiones asimétricas, que se ha demostrado que está conservado evolutivamente y que puede observarse tanto en *S. cerevisiae* como durante la división de distintas células madre de múltiples organismos desde *Drosophila* hasta humanos, es la herencia diferencial de los centros organizadores de microtúbulos (MTOCs). Estas estructuras, situadas en los extremos del huso, orquestan la formación del mismo. Tras la duplicación del único MTOC que porta la célula cuando esta comienza a dividirse, estudios iniciales en *S. cerevisiae* permitieron demostrar que, de forma fascinante, el MTOC pre-existente siempre es heredado por la célula hija, mientras que el MTOC nuevamente generado es retenido por la célula madre. Usando una estirpe generada en nuestro laboratorio que muestra un patrón de herencia constitutivamente invertido de los MTOCs del huso, hemos demostrado recientemente que la herencia asimétrica de estas estructuras es esencial para mantener el potencial replicativo de las células de *S. cerevisiae* (*Nature Cell Biology* (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 la división asimétrica de este organismo. Este estudio abre la puerta al conocimiento de nuevos mecanismos que podrían conducir al envejecimiento prematuro de las células madre y, por tanto, estar relacionados con el desarrollo de enfermedades relacionadas con la edad como el cáncer o procesos neurodegenerativos. El trabajo de investigación a desarrollar por el estudiante se centrará en elucidar los mecanismos por los que se establece la asimetría en la distribución de los MTOCs del huso mitótico y en profundizar en las causas por las que los problemas en su herencia diferencial determinan un envejecimiento celular prematuro.*

Centro de Trabajo: CABIMER

18.- **Título:** Caracterización de nuevos reguladores de la estabilidad genómica relacionados con cáncer

Director: Andrés Joaquín López-Contreras

e-mail: andres.lopez@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *The focus of our group is the study of genomic instability and the DNA damage Response (DDR) in the context of cancer. The DDR is intimately linked to cancer development and cancer therapy. Indeed, many conventional chemotherapy agents and radiation therapy boost the levels of DNA damage to kill cancer cells. Our final aim is identifying novel therapeutic opportunities to treat cancer. For this, we perform cellular studies including proteomics, CRISPR genetic and drug screens to identify novel factors involved in the DDR. In addition, we use genetically modified mouse models and cellular systems to characterize the relevance of novel factors for cancer development and to develop novel anti-cancer therapies.*

The master project will be focused on the cellular and molecular characterization of a novel factor identified in the laboratory on proteomics or genetic screens. The master student will get experience in a number of molecular and cellular methods including cell transfection, generation of KO cell lines with CRISPR technology, western blotting, qPCR and high content microscopy

Centro de Trabajo: CABIMER

19.- **Título:** Determinación mecanística del efecto neuroprotector de la modulación del metabolismo de la homocisteína en roedores

Director: Isabel Espadas Villanueva y Alejandro Martín-Montalvo

e-mail: isabel.espadas@cabimer.es y alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Tutor:

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 asociadas al envejecimiento. El objetivo de este proyecto es determinar las consecuencias fisiológicas de la modulación del metabolismo de la homocisteína 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 de la homocisteína en la prevención de la aparición de marcadores neurocognitivos asociados con el envejecimiento.*

Centro de Trabajo: CABIMER

20.- **Título:** Evaluación de las modificaciones post-transcripcionales que se asocian con enfermedades osteomusculares, cáncer y enfermedades metabólicas.

Director: Isabel Espadas Villanueva y Alejandro Martín-Montalvo

e-mail: isabel.espadas@cabimer.es y alejandro.martinmontalvo@cabimer.es

Tutor:

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 envejecimiento. La experimentación se realizará estudiando tejidos de ratones que han tenido un envejecimiento con buena salud o que han sufrido enfermedades de la vejez. Entre otras técnicas de biología molecular realizaremos RNAseq, ChIP-seq, inmunohistoquímica, western blot, real time PCR y determinaciones por ELISA.

Centro de Trabajo: CABIMER

21.- **Título:** Impacto de la replicación del ADN sobre la regulación de la expresión génica y su relación con enfermedades humanas

Director: Cristina González Aguilera

e-mail: cristina.gonzalez@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *El mantenimiento de la información epigenética es esencial para una correcta expresión génica y un buen funcionamiento celular. Sin embargo, cada vez que la célula se divide y el ADN se replica, las histonas viejas se mezclan con histonas nuevas para mantener la densidad de nucleosomas en las dos cadenas de ADN nacientes. Dado que las histonas nuevas no tienen las mismas modificaciones que las viejas, esto produce fluctuaciones de la información epigenética a lo largo del ciclo celular. En nuestro laboratorio utilizamos cultivos celulares humanos y las más novedosas técnicas de inmunoprecipitación de cromatina y secuenciación masiva para estudiar las consecuencias de esas fluctuaciones epigenéticas en el mantenimiento de la identidad celular y su posible papel en la generación y progresión de enfermedades humanas ligadas a una alta tasa de división como el cáncer. La participación en este proyecto es una excelente oportunidad para poder combinar aprendizaje en técnicas de biología molecular y herramientas bioinformáticas de análisis de datos genómicos de secuenciación masiva.*

Centro de Trabajo: CABIMER

22.- **Título:** Regulación de la expresión génica en respuesta a daño en el DNA producido por tratamientos de quimioterapia

Director: Silvia Jimeno González

e-mail: silvia.jimeno@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *Los patrones de expresión génica se ven influenciados por las condiciones concretas en las que se encuentre una célula. Estos cambios en los niveles de expresión de determinados genes se regulan fundamentalmente a nivel transcripcional, aunque también pueden variar otros procesos post-transcripcionales que afectan a la dinámica del RNA como la estabilidad, el transporte del núcleo al citoplasma o incluso la traducibilidad. En nuestro laboratorio, estamos estudiando la respuesta a nivel de expresión génica a la exposición a etopósido, un agente que genera cortes de doble cadena en el DNA y que es utilizado en tratamientos de quimioterapia. Disponemos de datos preliminares que muestran una relación entre la expresión de genes de respuesta temprana, que tienen una función muy importante en la regulación de la proliferación y, por tanto, algunos de ellos son considerados protooncogenes, y la respuesta al daño en el DNA producido por este tipo de tratamiento. El trabajo que se propone plantea*

abordar los mecanismos concretos mediante los cuales se regula su transcripción y otros procesos post- transcripcionales en estas condiciones, con la idea de obtener posibles claves para entender la aparición de tumores secundarios en pacientes que se han sometido a este tipo de tratamiento. Con este trabajo, el alumno tendrá la oportunidad de familiarizarse con la investigación en cultivos de líneas celulares humanas usando técnicas de Biología Molecular, Celular y Genética como inmunofluorescencia, inmunoprecipitación de cromatina (ChIP) o manipulación de DNA con CRISPR-Cas9.

Centro de Trabajo: CABIMER

23.- **Título:** Estudio de la organización espacio-temporal de CXCR4 durante la migración linfocitaria mediada por la quimioquina CXCL12.

Director: Laura Martínez Muñoz

e-mail: Laura.martinez@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *Las quimioquinas y sus receptores están implicados en multitud de procesos fisio-patológicos, desde la recirculación linfocitaria hasta el reclutamiento y la infiltración de leucocitos al tejido inflamado. Una de las principales funciones de las quimioquinas y sus receptores es dirigir la migración celular. Recientemente, hemos descrito cómo la formación de nanoclusters de uno de estos receptores de quimioquinas, CXCR4, modula la respuesta celular. El proyecto se centra en el estudio de la organización espacio-temporal de CXCR4 durante la migración linfocitaria, y qué mecanismos moleculares están regulando dicha organización. Abordaremos los objetivos del proyecto simulando la migración de los linfocitos T durante:*

- *el proceso de extravasación linfocitaria (quimioquinesis)*
- *y en la migración dirigida hacia un tejido inflamado (quimiotaxis)*
-

Para realizar este estudio, utilizaremos técnicas punteras tanto de biología molecular y celular como de microscopía, “single particle tracking-TIRF microscopy” y microscopía de super-resolución (STORM), que nos permitirán seguir a nivel nanoscópico partículas individuales y estudiar su organización en la membrana celular.

El trabajo que realice el estudiante de máster estará centrado en el estudio de algunas de las proteínas identificadas como posibles reguladores de la organización del receptor CXCR4 durante la migración linfocitaria (quimioquinesis). Las proteínas implicadas en la agregación de estos receptores en la membrana celular podrían ser potenciales dianas terapéuticas, ya que modulando la agregación de estos receptores podríamos regular la migración del linfocito T, y por tanto la infiltración a tejidos inflamados.

Centro de Trabajo: CABIMER

24.- **Título:** Terapia Celular en Encefalopatías Epilépticas Infantiles.

Director: Manuel Álvarez Dolado

e-mail: manuel.alvarez@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *Las encefalopatías epilépticas infantiles tempranas (EIEE) agrupan una serie de síndromes y enfermedades raras que se caracterizan por tres criterios diagnósticos principales: crisis médicamente refractarias, encefalopatía difusa y fuerte retraso en el desarrollo psicomotor. En esta clasificación se incluyen el Síndrome de Dravet (SD); el de*

espasmos epilépticos infantiles ligado al cromosoma-X, también conocido como Síndrome de West (SW); y la denominada como EIEE4, causada por mutaciones en el gen que codifica para la proteína de unión a sintaxina (STXBP1), también conocida como Munc18-1. Desgraciadamente, todas estas patologías carecen de un tratamiento farmacológico eficaz, bien definido y sin efectos secundarios graves. Por ello es necesario el desarrollo de terapias alternativas.

Resultados previos de nuestro grupo avalan la eficacia del trasplante de precursores neuronales GABAérgicos para modular la actividad inhibitoria cerebral y frenar las crisis epilépticas en modelos de epilepsia farmacoresistente. Actualmente, estamos ensayando en modelos murinos del SD y del STXBP1 la eficacia de estos trasplantes. Para ello, realizamos análisis a nivel electrofisiológico, histológico y de comportamiento. Estudiamos la distribución, supervivencia y diferenciación de las células derivadas del trasplante; comprobamos su capacidad de frenar/aminorar las crisis epilépticas; y realizamos pruebas de comportamiento psicomotor, cognitivas, stress, hiperactividad, interacción social, etc& .

En su conjunto, el Proyecto avanza de forma integral

Centro de Trabajo: CABIMER

25.- **Título:** Stimulation of endogenous regeneration of pancreatic β -cells: Towards a regenerative medicine for diabetes

Director: Petra I. Lorenzo and Benoit R. Gauthier

e-mail: petra.lorenzo@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *Diabetes Mellitus is a chronic condition characterized by abnormal glucose metabolism due to insufficient production of the pancreatic hormone insulin. Currently, there is no cure for diabetes and exogenous insulin administration is the only treatment for these patients, however, insulin therapy is solely a palliative treatment.*

Diabetes progression, both type 1 or autoimmune diabetes and type 2 diabetes, is characterized by a progressive loss of functional insulin-producing pancreatic β -cells by cell-death or cell-dedifferentiation, thus the replacement of functional β -cells is a central component in the development of novel curative therapies for diabetes. In our group we are interested in the replenishment of the β -cell mass by the stimulation of the endogenous regeneration capacity of the β -cells. Nowadays is well known that pancreatic islets have an intrinsic degree of plasticity that allows them to cope with stress conditions safeguarding the glucose homeostasis of the organism. Thus we believe that stimulation of this cell-plasticity, which includes cell-transdifferentiation and cell re-differentiation, as well as enforcing the resistance of these β -cells against stress conditions could be the base of curative therapies for diabetes

The proposed master-project will be within this line of research. We will study in vitro, in murine and human islet cell lines as well as islet primary cultures and in vivo in mouse-model the effect of the activation/inhibition of different signaling pathways such as LRR-1 and HMG20A on the plasticity of islet cells By analyzing the signalling pathways activated during the progression of diabetes and studying the defense mechanism of the islet cells and how chemical treatments can enforce this response will be of high relevance for future development of curative treatments for diabetes.

The candidate will be formed in the technology required for the realization of these experiments including cell culture of both established cell lines and primary cultures

(including silencing or overexpression of the genes of interest), RT-PCR, immunocytochemistry and immunohistochemistry, fluorescence microscopy, flow cytometry, animal studies and genotyping.

Competencias requeridas del estudiante: Highly motivated and willing to learn.

Centro de Trabajo: CABIMER

26.- **Título:** Desarrollo de una nueva terapia de remplazo celular para la degeneración macular asociada a la edad (DMAE) basada en células pluripotentes inducidas (iPSC).

Director: Álvaro Plaza Reyes y Francisco Javier Díaz Corrales

e-mail: alvaro.plaza@cabimer.es y francisco.diaz@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *La terapia celular esta surgiendo como una herramienta segura y eficaz para el trasplante de epitelio pigmentario de la retina (EPR) en pacientes con DMAE. Nuestro grupo de investigación tiene amplia experiencia en la producción de EPR a partir de iPSC humanas. En este proyecto el estudiante aprenderá a cultivar iPSC y aplicará protocolos de diferenciación de EPR a partir de células obtenidas de pacientes con diferentes polimorfismos en el gen CFH, principal polimorfismo de riesgo asociado a la DMAE. Posteriormente caracterizará el EPR y evaluará la viabilidad de los trasplantes en un modelo murino de DMAE. Al culminar sus experimentos se espera concluir si el trasplante de EPR con polimorfismos de riesgo en el gen CFH es eficaz y seguro para revertir el fenotipo de la enfermedad en el modelo experimental. Durante las practicas del TFM el estudiante aprenderá técnicas de cultivo celular, biología molecular y protocolos de experimentación en modelos murinos de DMAE incluyendo inyecciones intraoculares y pruebas in vivo para el estudio morfológico y funcional de la retina.*

Centro de Trabajo: CABIMER

27.- **Título:** Estudio preclínico para evaluar la terapia combinada de edición génica ex vivo mediante CRISPR/Cas9 y terapia celular para retinosis pigmentaria

Director: Berta de la Cerda y Francisco Javier Díaz Corrales

e-mail: berta.delacerda@cabimer.es y francisco.diaz@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *La retinosis pigmentaria (RP) es una enfermedad hereditaria debida a mutaciones en diferentes genes que produce una degeneración progresiva en los fotorreceptores de la retina y cuya manifestación clínica es un deterioro progresivo de la capacidad visual hasta la ceguera. Tiene un gran impacto en la calidad de vida de los pacientes y carecía de opciones terapéuticas hasta el desarrollo de la terapia génica. Existen genes de gran tamaño implicados en ceguera hereditaria que no son candidatos a terapia génica por la dificultad de su empaquetamiento en vectores virales. Entre ellos se encuentra el gen EYS y el gen CRB1 cuyas mutaciones afectan a la viabilidad de los fotorreceptores en la retina humana. Además de la terapia génica, para enfermedades degenerativas de la retina se está avanzando en la terapia celular de sustitución, especialmente para el epitelio pigmentario de la retina, pero con poco desarrollo aún en la sustitución de los fotorreceptores dañados. En este proyecto se pretende probar una posible vía de tratamiento para pacientes afectados por mutaciones en estos genes. Esta aproximación incluiría la terapia celular de reemplazo de fotorreceptores, partiendo de células del propio paciente para evitar el rechazo inmune. Previamente, será necesario editar el genoma de las células para corregir su defecto genético. En concreto, un ensayo*

de posible terapia requerirá la preparación de células iPS a partir de material biológico de los pacientes, su edición génica mediante CRISPR, la diferenciación in vitro a fotorreceptores y la selección de las células a trasplantar en un modelo animal. El objetivo último será evaluar a nivel preclínico la seguridad y la viabilidad de esta aproximación para el tratamiento de la RP.

Centro de Trabajo: CABIMER

28.- **Título:** Análisis de autofagia en células expuestas a estrés oxidativo

Director: Ralf Wellinger

e-mail: ralf.wellinger@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *La vía de señalización TOR (Target Of Rapamycin, o diana de la rapamicina) coordina los procesos metabólicos y anabólicos en respuesta a señales exógenas y endógenas. TOR inhibe la autofagia (reciclaje de los residuos y moléculas dañadas de la célula), estimula la síntesis de proteínas, ADN y ARN, inhibe la apoptosis y regula el metabolismo de la glucosa. De esta manera TOR evita el envejecimiento prematuro, la diabetes, la obesidad, las enfermedades cardiovasculares y el cáncer. Notablemente, la restricción calórica modula los niveles de TOR, aumenta la autofagia y amplía la vida cronológica. Un factor importante que acelera el envejecimiento celular es el estrés oxidativo. En este proyecto queremos estudiar nuevas conexiones entre estrés oxidativo, TOR y autofagia.*

Centro de Trabajo: CABIMER

29.- **Título:** Análisis de los daños en el genoma y la respuesta celular a la inducción de ROS en células eucariotas

Director: Hélène Gaillard

e-mail: helene.gaillard@cabimer.es

Tutor:

Resumen: *Debido a la gran variedad de lesiones de DNA que se dan continuamente en las células vivas, las diferentes vías de reparación tienen que actuar conjuntamente para asegurar la estabilidad del genoma. A pesar de su importancia, los mecanismos que permiten la coordinación entre los procesos de reparación del DNA y la progresión del ciclo celular aún son muy poco conocidos. Los daños en el ADN inducidos por las especies de oxígeno reactivo (reactive oxygen species, ROS) son muy frecuentes. Estas especies ROS se forman a partir de fuentes exógenas o endógenas, como por ejemplo durante el proceso de respiración mitocondrial. En situaciones de estrés oxidativo, el alto nivel de ROS daña, de forma directa o indirecta, los ácidos nucleicos (DNA y RNA), proteínas y lípidos, por lo que se ha relacionado con muchas enfermedades y procesos patológicos, tales como carcinogénesis, neurodegeneración o envejecimiento. Quedan por descubrir muchos aspectos del impacto que las lesiones inducidas por ROS en el DNA tienen en el ciclo celular, y viceversa. En este proyecto proponemos utilizar la levadura de gemación como organismo modelo eucariota para estudiar la formación y reparación del daño oxidativo del DNA tanto en células quiescentes como en células en proceso activo de división.*

Centro de Trabajo: CABIMER

30.- **Título:** Estudio de estirpes con expresión controlada de transportadores solubles fotosintéticos.

Director: Luis López Maury

e-mail: llopez1@us.es

Tutor:

Resumen: *Los metales son elementos esenciales para la vida y son especialmente necesarios para los organismos fotosintéticos. En las cianobacterias, el citocromo c6 (una hemo-proteína) y la plastocianina (una cobre-proteína), actúan como transportadores de electrones alternativos entre los complejos fotosintéticos citocromo b6f y fotosistema I. La plastocianina (PC) se expresa en presencia de cobre, mientras que en ausencia de este metal se expresa el citocromo c6 (Cc6). Recientemente hemos descrito el sistema que regula estos genes, y que está compuesto por un factor de transcripción (PetR) y una proteasa (PetP), que controla los niveles de PetR en respuesta a la presencia de cobre (García-Cañas et al., 2021). Mutantes carentes de uno de los transportadores, o afectados en el sistema de regulación, presentan defectos fotosintéticos y de crecimiento cuando se cultivan en condiciones en las que no expresan la PC o el Cc6 (Durán et al., 2004; García-Cañas et al., 2021). En este trabajo se caracterizarán, mediante técnicas de biología molecular, bioquímicas y biofísicas, diferentes estirpes que expresan los transportadores solubles fotosintéticos (PC y Cc6) de forma controlada. Para ello se aplicarán técnicas como la purificación de proteínas, análisis genéticos y de regulación de la expresión, análisis fisiológicos, microscopía, PAM o termoluminiscencia.*

Referencias:

Durán, R. V, Hervás, M., De La Rosa, M. A., and Navarro, J. A. (2004). The efficient functioning of photosynthesis and respiration in Synechocystis sp. PCC 6803 strictly requires the presence of either cytochrome c6 or plastocyanin. J. Biol. Chem. 279, 7229–7233.

García-Cañas, R., Giner-Lamia, J., Florencio, F. J., and López-Maury, L. (2021). A protease-mediated mechanism regulates the cytochrome c6/plastocyanin switch in Synechocystis sp. PCC 6803. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 118, e2017898118.

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

31.- **Título:** Nuevas funciones del ácido abscísico en las respuestas a la nutrición con cloruro durante el desarrollo vegetativo temprano

Director: Miguel Ángel Rosales Villegas y José Manuel Colmenero Flores

e-mail: mrosales@irnas.csic.es

Tutor: María Rosario Álvarez Morales

Resumen: *El Laboratorio de Regulación Iónica e Hídrica en Plantas del Departamento de Biotecnología Vegetal del IRNAS (CSIC) ofrece un puesto para el desarrollo de un Trabajo Fin de Máster (TFM curso 2021-2022) dentro de uno de los objetivos del Proyecto Europeo ChlorPlant financiado en nuestro grupo (Regulation of plant development and crop management through chloride nutrition: a novel tool to improve water- and nitrogen-use efficiency; <https://cordis.europa.eu/project/id/895613/es>).*

El cloruro es un micronutriente esencial que recientemente se ha definido como un macronutriente beneficioso para el crecimiento de las plantas. Así, en nuestro grupo hemos descubierto nuevas funciones biológicas del cloruro a nivel de desarrollo foliar que mejoran la eficiencia en el uso del agua (WUE; Franco-Navarro et al., 2016, 2021),

del CO₂ (Franco-Navarro et al., 2019) y del nitrógeno (NUE; Rosales et al., 2020), así como una mayor resistencia al déficit hídrico (Franco-Navarro et al., 2021). Por tanto, la nutrición de cloruro emerge como una estrategia potencial para manipular procesos de desarrollo, WUE y NUE en plantas, con el propósito de mejorar el rendimiento de los cultivos, especialmente durante los episodios de sequía cada vez más fuertes debido a los efectos del cambio climático.

La hormona vegetal ácido abscísico (ABA) juega un papel importante tanto en el crecimiento y desarrollo de las plantas como en sus respuestas al estrés abiótico (Rosales et al., 2019). Publicaciones recientes muestran que el contenido relativo de agua (RWC) de las células foliares es el primer desencadenante de la biosíntesis de ABA en las células del mesófilo (McAdam and Bodribb 2018) Así, considerando nuestra demostración de que el cloruro incrementa el RWC en hojas de tabaco (Franco-Navarro et al., 2016), nosotros hipotetizamos que el cloruro puede inducir un menor contenido de ABA en hojas, abordando una serie de respuestas de desarrollo específicas (por ejemplo, células más grandes que contienen un mayor número de cloroplastos más pequeños).

Por tanto, este trabajo de formación se centrará en el estudio del papel del ABA en las respuestas a la nutrición con cloruro durante el desarrollo vegetativo temprano en p

Centro de Trabajo: IRNAS-CSIC (Av. Reina Mercedes 10, junto a la Facultad de Informática)

32.- **Título:** Producción y caracterización de enzimas termoestables

Director: Juan Miguel Gonzalez Grau

e-mail: jmgrau@irnase.csic.es

Tutor: María José Huertas Romera

Resumen: *El trabajo consistirá en la producción de enzimas termoestables y su caracterización. EL origen de esos enzimas será de microorganismos extremófilos. Las fases del mismo serán: Búsqueda de secuencias en bases de datos de ADN, expresión heteróloga, purificación, caracterización de las propiedades y actividad del enzima en distintas condiciones y distintos substratos. Un ejemplo de la aplicación de esta estrategia sería para la producción de glucanasas para su utilización en la degradación de residuos vegetales destinados a producir biocombustibles.*

Centro de Trabajo: Instituto de Recurso Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Avda. Reina Mercedes 10, Sevilla.

33.- **Título:** Establecimiento y caracterización de co-cultivos de organismos fotosintéticos de interés biotecnológico

Director: Mercedes Nieves Morión

e-mail: mercedes.nieves@ibvf.csic.es

Tutor: Mercedes García González

Resumen: *El conocimiento de las interacciones biológicas entre organismos que colonizan hábitats similares a nivel ecológico es crucial para comprender la dinámica de los ecosistemas que forman la Biosfera. En el medio marino son múltiples las interacciones que se desarrollan, siendo de especial interés el estudio de la asociación diatomea-cianobacteria debido a su contribución en los ciclos de C y N a nivel global. El objetivo de este trabajo es el establecimiento en el laboratorio de co-cultivos de dos organismos de naturaleza marina, una diatomea y una cianobacteria fijadora de*

nitrógeno atmosférico, y la caracterización fisiológica de esta asociación, la cual no necesitaría de la adición de nutrientes nitrogenados, ya que el nitrógeno se obtendría por parte de la cianobacteria. De esta forma se sentarían las bases para el desarrollo de co-cultivos con fines biotecnológicos en base al valor que presentan estos dos organismos entre los que destacan su capacidad de captación de CO₂ atmosférico y de producción de compuestos de alto valor añadido como lípidos, algunos pigmentos o productos farmacéuticos.

Centro de Trabajo: Instituto de bioquímica vegetal y fotosíntesis

34.- **Título:** Estudio de genes relacionados con la construcción de estructuras de conexión intercelular en una cianobacteria formadora de heterocistos

Director: Mercedes Nieves Mori6n

e-mail: mercedes.nieves@ibvf.csic.es

Tutor: Mercedes Garc3a Gonz3lez

Resumen: *Las cianobacterias formadoras de heterocistos son organismos fotosint3ticos que se caracterizan por su car3cter multicelular y su capacidad de fijaci3n de nitr3geno atmosf3rico. Anabaena sp. PCC 7120 es una cianobacteria modelo manipulable gen3ticamente y de inter3s para el estudio de las conexiones intercelulares conocidas como uniones septales que median la comunicaci3n intercelular. En este trabajo se propone la caracterizaci3n de dos nuevas prote3nas que pueden estar implicadas en la construcci3n de los septos identificadas previamente en estudios prote3micos. Se llevar3 a cabo la inactivaci3n de los genes correspondientes en Anabaena para la obtenci3n de mutantes que ser3n estudiados fenot3picamente, y se construir3n estirpes de Anabaena que produzcan prote3nas fusionadas con la GFP para el estudio de su localizaci3n subcelular mediante t3cnicas microsc3picas. Este estudio ha de ampliar el conocimiento de las estructuras de conexi3n intercelular que es de gran inter3s en organismos multicelulares sencillos como Anabaena.*

Centro de Trabajo: Instituto de bioquímica vegetal y fotosíntesis

35.- **Título:** An3lisis del desarrollo postembrionario mediante bioluminiscencia en *Drosophila melanogaster* y *Caenorhabditis elegans*.

Director: Mar3a Olmedo L3pez y Patricia Rojas R3os

e-mail: mariaolmedo@us.es y patricia.rojas-rios@igh.cnrs.fr

Tutor:

Resumen: *El desarrollo de organismos complejos es un proceso extremadamente reproducible controlado por la expresi3n de genes, la acci3n 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 biolog3a del desarrollo. Nuestro grupo est3 interesado en los mecanismos gen3ticos y moleculares que regulan la proliferaci3n y la senescencia celular en funci3n del estado nutricional usando como modelo experimental el desarrollo postembrionario de *C. elegans*. Recientemente, hemos desarrollado un m3todo cuantitativo basado en bioluminiscencia que permite el an3lisis de la ingesta durante el desarrollo postembrionario de *C. elegans* (1, 2). El estudiante analizar3 el desarrollo postembrionario de *C. elegans* mediante bioluminiscencia en diferentes condiciones nutricionales y gen3ticas. Asimismo, el estudiante probar3 la adecuaci3n del m3todo de la bioluminiscencia para el an3lisis del desarrollo larvario de *D. melanogaster*. 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 dos modelos animales ampliamente empleados en investigación.

1. Olmedo M*, M Geibel, M Artal-Sanz and M Merrow*. *A high-throughput method for the analysis of larval developmental phenotypes in Caenorhabditis elegans. Genetics. 2015*

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*

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

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

Director: Emilio Gutierrez Beltran

e-mail: egutierrez@ibvf.csic.es

Tutor:

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

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis (IBVF), CicCartuja, CSIC-Universidad de Sevilla.

37.- **Título:** Diseño, construcción y evaluación de circuitos genéticos complejos para su aplicación en biotecnología de bacterias fotosintéticas

Director: Ignacio Luque Romero

María del Rocío López Igual

e-mail: ignacio.luque@ibvf.csic.es y rocio.lopez@ibvf.csic.es

Tutor: María del Rocío López Igual

Resumen: *La ingeniería genética y la biología sintética se encuentran actualmente en plena revolución y por primera vez se empieza a hablar de organismos con genoma íntegramente sintético o con un código genético artificial^{1,2}. A ello también ha contribuido el desarrollo de los sistemas de edición genética de tipo CRISPR que*

constituyen una herramienta de manipulación muy específica. Estos avances abren horizontes con numerosas posibilidades en el campo de la biotecnología y la biomedicina.

Uno de los elementos más utilizados y necesarios en biotecnología son los circuitos genéticos, que permiten el control con alta precisión de la expresión de determinados genes en microorganismos, lo que puede utilizarse para la producción industrial de múltiples compuestos de interés. Actualmente nos encontramos en una etapa en la que los circuitos genéticos son cada vez más sofisticados y precisos, de modo que se pueden diseñar programas complejos de expresión de genes o conjuntos de genes.

Las cianobacterias son procariontes de creciente interés en Biotecnología dado el carácter sostenible de su metabolismo fototrófico y su amplísimo espectro metabólico³. El trabajo de máster que se ofrece consistirá en el diseño y construcción de circuitos genéticos de segunda generación. Dichos circuitos se basarán en elementos genéticos de cianobacterias ya caracterizados en el laboratorio y en elementos importados de otras bacterias o virus. Una vez construidos los circuitos se ensayarán y evaluarán en una cianobacteria modelo, en base a lo cual el/la estudiante deberá re-diseñar y construir nuevos circuitos para perfeccionar los anteriores o para explorar nuevas posibilidades en el control de la expresión de genes de interés. Algunos de estos circuitos se utilizarán para la implementación de sistemas de edición basados en CRISPR en cianobacterias modelo.

1. Gibson et al. (2010) Creation of a Bacterial Cell Controlled by a Chemically Synthesized Genome. *Science*, 329, 52-56.

2. Robertson et al. (2021) Sense codon reassignment enables viral resistance and encoded polymer synthesis. *Science*, 372, 1057-1062.

3. Thuan et al. (2019) Recent Advances in Exploration and Biotechnological Production of Bioactive Compounds in Three Cyanobacterial Genera: *Nostoc*, *Lyngbya*, and *Microcystis*. *Front Chem.* 604. doi: 10.3389/fchem.2019.00604. eCollection 2019.

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis – CSIC y Universidad de Sevilla

38.- **Título:** Bases moleculares de la señalización por estrés salino en plantas

Director: Fco. Javier Quintero Toscano

e-mail: fjquintero@ibvf.csic.es

Tutor: M^a Cruz González García

Resumen: La ruta SOS compuesta por la proteína SOS1, un transportador de sodio, y sus activadores SOS2, una proteína quinasa, y SOS3, una proteína unidora de calcio, resulta esencial para la adaptación de la planta al estrés salino. La activación del transporte de sodio a través SOS1 permite a la planta reducir la acumulación de este catión en la raíz evitando su muerte por toxicidad sódica. Además de esta función esencial llevada a cabo por la ruta SOS, algunos de sus miembros podrían actuar en la señalización del estrés salino. Datos preliminares sugieren que SOS3 podría ser un sensor de sodio y SOS1 podría actuar como “andamio molecular” interactuando con diferentes tipos de proteínas para transmitir la señal provocada por la acumulación de sodio. Mediante una combinación de herramientas genéticas, biofísicas y de biología molecular se demostrará el papel señalizador de SOS1 y SOS3.

Centro de Trabajo: Instituto de Bioquímica Vegetal y Fotosíntesis

39.- **Título:** Inoculantes de bajo coste: hacia una agricultura sostenible

Director: Ignacio D. Rodríguez Llorente y Eloísa Pajuelo Domínguez

e-mail: irodri@us.es

Tutor:

Resumen: *En este trabajo se desarrollarán medios de cultivo para el crecimiento de bacterias basados en residuos vegetales de plantas halófitas. El objetivo es crecer las bacterias de la microbiota de las plantas en medios fabricados con las propias plantas para una economía circular, así como estudiar qué componentes de esos medios favorecen el crecimiento de las bacterias. Esas bacterias a su vez se utilizarán para promover el crecimiento vegetal y modular su metaboloma.*

Centro de Trabajo: Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia de la US.

40.- **Título:** Connection of ER-associated protein degradation (ERAD) with the cell cycle.

Director: Veit Goder, PhD

e-mail: vgoder@us.es

Tutor:

Resumen: *Quality control of proteins and the efficient elimination of terminally misfolded proteins is pivotal for cellular homeostasis, and failure in these processes is cause for many human diseases. Misfolded proteins in the secretory pathway are degraded to a large degree by a process called ER-associated protein degradation (ERAD). Recent data might suggest that the efficiency of this process is linked to the cell cycle, but this is still debated, also because of conflicting data. The objective of this TFM is to set up a reporter assay in the model organism *S. cerevisiae* using a fluorescent substrate for ERAD whose cellular fate (degradation) can be followed using flow cytometry. Next, this assay will be combined with methods that allow synchronization of the cell cycle in the model organism with the ultimate goal to measure degradation rate of the fluorescent reporter at defined cell cycle stages at the single cell level.*

The candidate is expected to be highly motivated and to have prior experience in working in a laboratory (has done a practical TFG or similar). We offer work in a competitive field of research and provide access to state-of-the-art technical equipment.

Centro de Trabajo: University of Seville, Department of Genetics

41.- **Título:** FLUORESCENCE MICROSCOPY BASED ASSAYS TO DECIPHER MOLECULAR PLAYERS IN AGGREGAPHY.

Director: Leticia Lemus

e-mail: llemus@us.es

Tutor:

Resumen: *Aggregaphy is a selective form of autophagy which promotes degradation of toxic, misfolded proteins like α -synuclein and β -amyloid to maintain proteostasis. A disruption in this quality control process is the origin of several neurological diseases. In our lab, we study this process using the misfolded GPI-anchored protein Gas1* as model protein and the budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* as model organism. Overexpression of GFP-Gas1* results in aggregates that are visible by fluorescence microscopy as dots within the cell.*

In this study, we aim at deciphering which autophagy components (Atg proteins) are involved in the clearance of Gas1 aggregates. We will use molecular biology techniques to generate yeast mutants and fluorescence microscopy as the tool to investigate protein aggregation, trafficking and clearance.*

Centro de Trabajo: Dpto de Genética. Facultad de Biología

42.- **Título:** Mecanismos moleculares implicados en la regulación redox de la autofagia en microalgas

Director: M. Esther Pérez Pérez

e-mail: eperez@ibvf.csic.es

Tutor: Francisco Javier Florencio Bellido

Resumen: *La autofagia es un proceso degradativo mediante el cual las células eucariotas reciclan parte de su material celular y eliminan compuestos tóxicos o dañados. La autofagia se caracteriza por la formación de vesículas de doble membrana, denominadas autofagosomas, donde el contenido celular es englobado para ser finalmente degradado en la vacuola. Aunque la autofagia existe a nivel basal para mantener la homeostasis celular, es un proceso que se induce en condiciones limitantes o de estrés. Este proceso catabólico está altamente regulado, ya que su desregulación puede conllevar disfunción celular.*

Nuestro grupo ha demostrado que la autofagia está negativamente regulada por la ruta TOR en la microalga modelo Chlamydomonas reinhardtii. Nuestros resultados indican que la autofagia es un proceso de adaptación a condiciones de limitación de nutrientes o de estrés en Chlamydomonas. Además, hemos mostrado que existe una fuerte conexión entre la activación de la autofagia y la producción de ROS. Actualmente, estamos investigando los mecanismos moleculares implicados en la regulación redox de las proteínas del sistema de lipidación de ATG8, que tienen un papel esencial para la formación del autofagosoma y, por tanto, para la progresión de la autofagia.

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

43.- **Título:** Sistemas de reducción de tiorredoxinas en cianobacterias. Estudio de mutantes en el sistema FTR de Synechocystis sp PCC 6803.

Director: María José Huertas Romera y Francisco Javier Florencio

e-mail: mjhuertas@us.es

Tutor:

Resumen: *La señalización redox en los organismos fotosintéticos ocurre fundamentalmente 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 unas proteínas termoestables de pequeño tamaño (12 KDa) que se encuentran en todos los seres vivos que se caracterizan por contener un sitio activo redox conservado cuya secuencia de aminoácidos consenso es WC(G/P) C y mediante el cual pueden regular un gran número de procesos celulares a través de la reducción de puentes disulfuros específicos de sus proteínas diana. El genoma de Synechocystis sp. PCC 6803, (en adelante denominada Synechocystis) codifica cuatro tiorredoxinas solubles denominadas: TrxA (slr0623) de tipo m, TrxB (slr1139) de tipo x, TrxQ (slr0233) de tipo y y TrxC (slr1057). Las tiorredoxinas una vez*

oxidadas se reducen a través de las enzimas Tiorredoxina reductasas (TRs). Uno de los sistemas de reducción en los organismos fotosintéticos es el sistema FTR/Trx donde el poder reductor procede de la ferredoxina que a su vez es reducida por los electrones procedentes de la cadena de electrones fotosintética a través del fotosistema I (PSI). Este sistema está formado por la enzima FTR que es una metaloenzima formada por 2 subunidades: una catalítica (FTRc) y una segunda subunidad denominada variable (FTRv), cuyo papel parece estar relacionado con la estabilidad de la subunidad catalítica. Este proyecto de TFM tiene como objetivo fundamental determinar el papel de los sistemas tiorredoxina reductasa en cianobacterias a través de la caracterización de mutantes en estos.

Centro de Trabajo: Instituto de bioquímica vegetal y fotosíntesis

44.- **Título:** Edición génica del hongo *Fusarium* mediante CRISPR

Director: M Carmen Limón Mirón y Javier Avalos Cordero

e-mail: carmenlimon@us.es

Tutor:

Resumen: *Se utilizará la herramienta CRISPR-Cas para editar genéticamente el hongo *Fusarium fujikuroi*, un patógeno de arroz que se caracteriza por sintetizar carotenoides. La mutación de los genes de la ruta de síntesis de los carotenoides, así como de determinados reguladores de la misma, provoca un cambio en la pigmentación del micelio del hongo que permite la fácil identificación y selección de los mutantes con la edición deseada*

Centro de Trabajo: Departamento de Genética. Facultad de Biología