

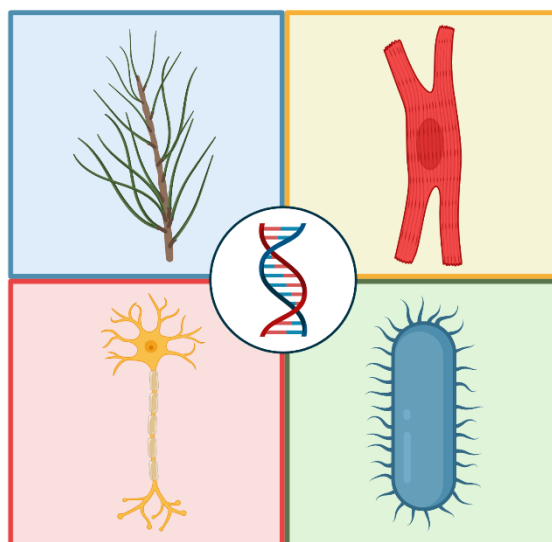


UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

| uma.es

Máster
BCM UMA

XXIII JORNADAS DE BIOLOGÍA CELULAR Y MOLECULAR



#JBCM22

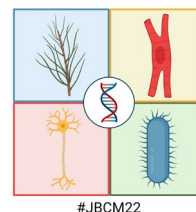
13-14 de junio de 2022

Green Ray, Universidad de Málaga

**Programa de Doctorado y Máster en
Biología Celular y Molecular**

Avances en Biología Celular y Molecular

Programa #JBCM22



Lunes 13 junio

9:00-9:15 Bienvenida.

Dres. Francisco Cánovas, Concepción Ávila, Francisco Cantón e Inés Moreno

9:15-12:15 Sesión I: Microbiología

Moderadores: Dras. Dolores Castro y Esther García

9:15-9:30 Ana María Colino Palomino. *Esclarecimiento de los determinantes moleculares que promueven la actividad nematocida del agente de biocontrol Bacillus amyloliquefaciens UMAF6639*

9:30-9:45 Sergio López Medina. *Evaluación del sistema celular RTG-pSsMx para la detección de infecciones víricas en peces*

9:45-10:00 Iván Pérez Fernández. *Caracterización fenotípica in vitro de mutantes en sistemas de Quorum sensing de Pseudomonas chlororaphis PCL1606*

10:00-10:15 Sonia Rohra Benítez. *Análisis preliminar del potencial postbiótico de probióticos piscícolas*

10:15-10:35 Laura Domínguez García. *Caracterización de la proteína amiloide Tasa en la membrana de Bacillus subtilis*

10:35-10:55 Sergio Ortega del Campo. *Estudio de la variabilidad genética y evolución de cuasiespecies de virus RNA y ssDNA y de la mutagénesis letal como terapia antiviral*

11:00-11:30 Pausa

11:30-11:50 Isabel Padilla Roji. *Control de Podosphaera xanthii mediante polinucleótidos*

11:50-12:10 Alicia Isabel Pérez Lorente. *Papel de componentes estructurales de la matriz extracelular del biofilm de Bacillus subtilis en la comunicación e interacción con hongos patógenos*

12:15-13:30 Sesión II: Biología del desarrollo

Moderadores: Dres. Adrián Ruiz y Juan Pascual

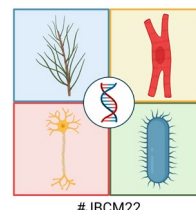
12:15-12:30 Fernando Lema Pérez. *Reprogramación de células humanas a iPSCs. Factores implicados y caracterización de los estados de pluripotencia*

12:30-12:45 María López Moreno. *Estudio de la proliferación de fibroblastos cardíacos en un contexto patológico*

12:45-13:00 Marco Taddei Tardón. *Análisis evolutivo del inflammasoma Nlrp3 y su posible papel en la hematopoyesis de vertebrados*

- 13:00-13:20 Ana María Sánchez Tévar. *Células mesenquimáticas madre de origen epicárdico en la enfermedad cardiovascular*
- 13:30-14:30 Conferencia**
 Dr. Miguel Alaminos Mingorance. Universidad de Granada.
Generación de medicamentos de terapias avanzadas mediante ingeniería tisular
- 14:30-15:45 Almuerzo**
- 15:45-17:30 Sesión III: Neurobiología**
 Moderadores: Dres. Alicia Rivera y David Baglietto
- 15:45-16:00 Francisco José Cantero Molina. *Implicación de la apolipoproteína E (ApoE) en la agregación de la proteína α -sinucleína*
- 16:00-16:15 Álvaro Esteban Martos. *Selección de moduladores de la interacción TREM2-DAP12 y búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para la enfermedad de Alzheimer*
- 16:15-16:30 Paula del Carmen Gonzalo Arroyo. *Estudio ultraestructural de la microglía oscura y su implicación en la enfermedad de Alzheimer*
- 16:30-16:45 Lucía Guerra Gil. *Estudio de la modulación de las neuronas dopaminérgicas de PAG por morfina y el receptor dopaminérgico D4R*
- 16:45-17:00 Cristina Anabel Muñoz de León López. *Contribución de los agregados Tau periféricos a la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer*
- 17:00-17:20 Juana Andreo López. *Estudio de procesos de agregación y propagación en modelos de la Enfermedad de Alzheimer*

Programa #JBCM22



Martes 14 junio

9:30-12:30 Sesión IV: Biología molecular e ingeniería biomolecular

Moderadores: Dres. José Lozano y Rafael Cañas

- 9:30-9:45 Raúl Gil Ruíz. *Identificación y estudio del mecanismo de acción molecular de compuestos con potencial antiinflamatorio en contextos patológicos*
- 9:45-10:00 Aminta Hernández Marín. Análisis de fidelidad de replicación de polimerasas de DNA
- 10:00-10:15 Jesús David López Arredondo. Análisis de la interacción entre la nutrición nitrogenada y el nivel de CO₂
- 10:15-10:30 Sergio Martínez García. *Caracterización funcional del promotor de la arginasa en Pinus pinaster Aiton*
- 10:30-10:45 Beatriz Medina Morales. *Del cloroplasto al citosol: transporte intracelular de aminoácidos aromáticos*
- 10:45-11:00 María Rosa Pete Pardo. *Prueba de concepto del uso de nanopartículas para la transformación de plántulas de pino*

11:00-11:30 Pausa

- 11:30-11:45 Jesús Pilo Ramajo. *Establecimiento de líneas knockout (K.O) para el locus KSR2*
- 11:45-12:00 Juan Antonio Serrano Jiménez. Metabolismo de la metionina en plantas: Análisis estructural y funcional de la familia génica metionina sintasa en pino
- 12:00-12:20 Isabel María Jiménez Sánchez. *Estudio del microbioma y de la respuesta inflamatoria mediada por especies reactivas y daño oxidativo en los fenotipos clínicos de hipersensibilidad a anti-inflamatorios no esteroideos*

12.30-13:30 Conferencia

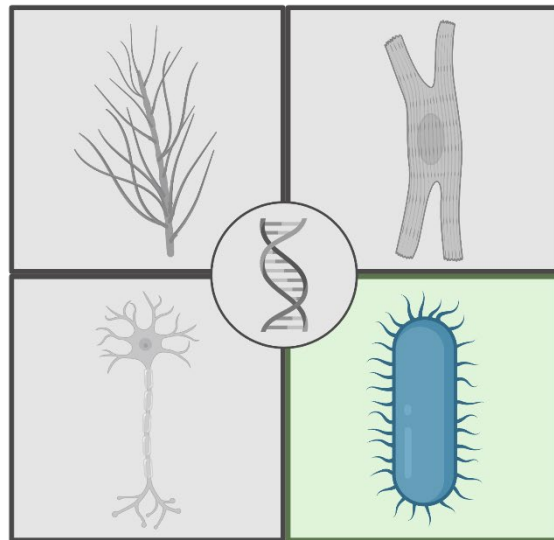
Dr. Rodrigo Morales, Profesor Titular de la Universidad de Texas. *Emerging vectors in natural prion diseases: edible plants and parasites*

13:30 Clausura

Dres. Francisco Cánovas, Concepción Ávila, Francisco Cantón e Inés Moreno

SESIÓN I

MICROBIOLOGÍA



#JBCM22

Nombre y apellidos: Ana María Colino Palomino

Estudios: Máster

Director/es del trabajo / Tutor: David Vela/ Diego Romero

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Esclarecimiento de los determinantes moleculares que promueven la actividad nematocida del agente de biocontrol *Bacillus amyloliquefaciens* UMAF6639

Resumen

Los nematodos productores de agallas (Root-knot nematode, RKN) son parásitos que colonizan las raíces de ciertas plantas afectando al crecimiento y productividad de estas (Huang *et al.*, 2016). Su control y erradicación se ha convertido en un grave problema debido a su localización, a esto se suma los efectos negativos a nivel medioambiental y saludable que contienen los agentes químicos para el tratamiento y eliminación de estos nematodos. Por ello, es necesario desarrollar un método más ecológico y beneficioso para el humano. En estudios previos se ha demostrado el potencial que posee la cepa *Bacillus amyloliquefaciens* UMAF6639 como agente de biocontrol sobre enfermedades de origen fúngico y bacteriano (Magno-Pérez-Bryan *et al.*, 2015). En este trabajo se aborda la exploración de la utilización de esta cepa como agente de biocontrol de enfermedades producidas por nematodos. Para ello se construyó una genoteca de *B. amyloliquefaciens* UMAF6639 y se trabajó con cada uno de los fósidos para determinar que producto de esta cepa ejercían una actividad nematocida, lo que permitió la identificación de una proteína con gran actividad nematocida y antimicrobiana en general.

Estas valoraciones se hicieron a través de técnicas de química analítica y aproximaciones genómicas para identificar los productos responsables de dicha actividad. Se obtuvo ciertos productos a los cuales se realizó ensayos de actividad fungicida y bactericida para estudiar sus propiedades y sus posibles usos. Este estudio abre una oportunidad para estudiar más productos de esta cepa y que puedan aplicarse como producto de biocontrol.

Referencias

- Huang, W. K., Cui, J. K., Liu, S. M., Kong, L. A., Wu, Q. S., Peng, H., ... & Peng, D. L. (2016). *Biological control*, 92, 31-37.
- Magno-Pérez-Bryan, MC, Martínez-García, PM, Hierrezuelo, J, Rodríguez-Palenzuela, P, Arrebola, E, Ramos, C, de Vicente, A, Pérez-García, A, & Romero, D (2015). *MPMI*, 28(10), 1102–1116.

Financiación

Este trabajo ha sido financiado por el Plan Nacional de I+D+I Conv. 2019-Generación del conocimiento del Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2019-107724GB-I00).

Nombre y apellidos: Sergio López Medina

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Patricia Moreno García/ M^a Esther García Rosado

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Evaluación del sistema celular RTG-pSsMx para la detección de infecciones víricas en peces

Resumen

Las enfermedades virales causan importantes pérdidas económicas en las instalaciones de acuicultura, una de las industrias más emergentes en los últimos años. Por este motivo, el desarrollo y mejora de métodos de control de este tipo de enfermedades resulta de vital importancia, siendo esencial su detección precoz lo que permitiría establecer mecanismos de prevención eficientes.

El presente Trabajo de Fin de Máster trata de evaluar la utilidad como herramienta de detección del sistema celular RTG-pSsMx, desarrollado por Álvarez-Torres *et al.* (2014). RTG-pSsMx son células RTG-2 transfectadas con el vector que contiene el gen de la luciferasa bajo el control del promotor del gen *mx* de lenguado senegalés, SsMx. La activación de dicho promotor requiere la inducción del sistema IFN I celular, lo cual tiene lugar por infección vírica. En este hecho se fundamenta su utilización como herramienta de detección. Con el fin de evaluar este posible uso, se realizará la inoculación del sistema RTG-pSsMx con diversos virus de importancia en acuicultura (VHSV G3, VHSV F1, SJNNV, RGNNV, RGNNV/SJNNV, e IPNV), midiéndose la actividad luciferasa inducida por la infección a distintos tiempos post-inoculación.

La gran ventaja que supone la utilización de este tipo de sistemas para la detección de virus radica en que solo requiere el reconocimiento del genoma viral por receptores celulares, no siendo necesario que el virus sea infectivo para ese sistema celular concreto.

Referencias

Alvarez-Torres, D.; M.C. Alonso, E. Garcia-Rosado, B. Collet and J. Bejar (2014). Differential response of the Senegalese sole (*Solea senegalensis*) Mx promoter to viral infections in two salmonid cell lines. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 161: 251-257. DOI: 10.1016/j.vetimm.2014.08.005

Financiación:

Proyecto FEDER: Evaluación de sistemas pmx-luciferasa como herramientas biotecnológicas en acuicultura (ref.: UMA20-FEDERJA-020)

Nombre y apellidos: Iván Pérez Fernández

Estudios: Master

Director/es del trabajo / Tutor: Francisco Manuel Cazorla López y Eva María Arrebola Díez

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Caracterización fenotípica *in vitro* de mutantes en sistemas de Quorum sensing de *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606

Resumen

El quorum sensing (QS) es un mecanismo de comunicación bacteriano por el cual las bacterias de un medio determinado pueden conocer la densidad de población y desencadenar respuestas como la producción de exopolisacáridos, regulación de la movilidad y motilidad celular o la expresión de genes implicados en la producción de compuestos antimicrobianos. En bacterias gram negativas las señales que emplean son las Acil homoserin lactonas (AHL) que son captadas y secretadas por proteínas de la familia *LuxR/LuxI*. *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606 (PcPCL1606) es una bacteria aislada de la rizosfera de aguacates sanos localizados en zonas afectadas por podredumbre blanca radicular, y se ha demostrado que es capaz de inhibir el desarrollo del hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix* produciendo entre otros compuestos, antifúngicos como HCN o HPR (Cazorla et al., 2006; Calderón et al., 2013). Esta bacteria ha suscitado gran interés a nivel agrícola como tratamiento biológico de enfermedades radiculares causadas por hongos. Dos cluster génicos implicados en el QS: *rhl* y *afm* han sido identificados en el genoma de PcPCL1606, los cuales poseen cada uno 2 componentes que codifican para el receptor de la señal (R) y la proteína sintasa de la señal (I) (Calderón et al., 2015). El objetivo de este estudio es caracterizar ambos sistemas en PcPCL1606, conocer su función biológica analizando procesos relacionados con QS, para ello se han utilizado mutantes en ambos sistemas de QS, en los genes R e I, en ensayos de antagonismo en placa, formación de biofilm, movilidad celular, morfología de colonia y biosíntesis de HPR y AHL.

Referencias

- Calderón, C. E., et al (2013). Plant-Microbe Interactions, 26(5), 554-565.
- Calderón, C. E., et al (2015). Molecular Plant-Microbe Interactions, 28(3), 249-260.
- Cazorla, F. M., et al (2006). plant-microbe interactions, 19(4), 418-428.

Financiación

UMA18-FEDERJA-046 (Junta de Andalucía), y B4-2021-03 (Plan Propio Universidad de Málaga)

Nombre y apellidos: Sonia Rohra Benítez

Estudios: Máster en biología celular y molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Miguel Ángel Morínigo Gutiérrez y Silvana Teresa Tapia Paniagua

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Análisis preliminar del potencial postbiótico de probióticos piscícolas

Resumen

Los postbióticos son productos resultantes de la actividad metabólica de un probiótico o cualquier molécula liberada capaz de conferir efectos beneficiosos al huésped de forma directa o indirecta (2). Incluyen una amplia gama de compuestos como ácidos grasos de cadena corta (AGCC), enzimas, péptidos, ácidos teicoicos, proteínas de la superficie celular, endo y exopolisacáridos y ácidos orgánicos (3). Además, no presentan alguna de las limitaciones del uso de probióticos como el posible riesgo de translocación microbiana (1) o las políticas sobre el uso de microorganismos dificultan la aceptación de especies bacterianas no lácticas como seguras (GRAS). El grupo de investigación de la UMA aisló y caracterizó las cepas probióticas *Shewanella putrefaciens* SpPdp11 y *Vibrio proteolyticus* DCF12.2., que han demostrado ejercer diferentes efectos beneficiosos tras la administración dietética a peces de piscifactoría. Sin embargo, hasta el momento no se ha estudiado su potencial como generador de postbióticos. En el presente trabajo se va a evaluar el potencial postbiótico de SpPdp11 y DCF12.2, analizando la presencia de determinadas actividades enzimáticas, así como la capacidad antagonista frente a cepas patógenas de peces. Los resultados obtenidos hasta el momento muestran que los extractos de SpPdp11 presentaron actividad lipasa y gelatinasa, mientras la cepa DCF 12.2 presentó actividad caseínasa, gelatinasa, amilasa, destacando la actividad fitasa únicamente presente cuando la cepa se ha cultivado en un medio elaborado con pienso comercial. Los resultados preliminares obtenidos son muy prometedores ya que la presencia de estas enzimas favorecería la digestión y un mejor aprovechamiento del alimento por parte del animal.

Referencias

1. Muniesa, et al. (2020) Transbound Emerg Dis 67:1089.
2. Assefa & Abunna (2018) Vet Med Inter 2018, ID 5432497.
3. Miccoli et al., (2019) Fish Shellfish Immunol 94:800

Financiación

PID2020-113637RB-C22

Nombre y apellidos: Laura Domínguez García

Estudios: Doctorado de Biología Celular

Director/es del trabajo / Tutor: Diego Francisco Romero Hinojosa

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Caracterización de la proteína amiloide TasA en la membrana de *Bacillus subtilis*

Resumen

Las bacterias forman comunidades llamadas biopelículas, donde las células se encuentran embebidas en una matriz extracelular (MEC). La MEC es clave como elemento estratégico en la ecología bacteriana, de ahí que nuestro interés esté dirigido en diseccionar su naturaleza química con el fin de comprender su implicación en la interacción con otros organismos. La MEC de *B. subtilis* consiste principalmente en exopolisacáridos (EPS) y proteínas TasA y BslA. La proteína amiloide TasA no sólo tiene un papel estructural formando fibras resistentes que confieren a las biopelículas estabilidad, sino que también presenta un papel importante en el mantenimiento de la homeostasis celular, encontrándose localizada en la membrana de *B. subtilis* concretamente en la fracción resistente a detergentes (DRM). El hecho de que células mutantes en TasA presenten una elevada tasa de muerte celular, que la expresión ectópica de una versión mutada de TasA no rescate la formación de biofilm pero restablezca el estado fisiológico de las células, y que la ausencia de TasA provoque una deslocalización de una proteína propia de microdominios de membrana, sugieren como papel no conocido de TasA la organización de ciertos dominios funcionales de membrana. En este estudio se pretende investigar: i) la naturaleza divergente pero complementaria de la MEC a nivel celular, químico y estructural; ii) la función de TasA de *B. subtilis* en el mantenimiento de la integridad celular.

Referencias

1. Cámara-Almirón, J., Caro-Astorga, J., de Vicente, A., Romero, D., (2018). *Critical Reviews in Microbiology*, 1–14.
2. Romero, D., Aguilar, C., Losick, R., and Kolter, R. (2010) *Proc Natl Acad Sci USA* **107**: 2230–2234.
3. Cámara-Almirón, J., Navarro, Y., Díaz-Martínez, L. et al. 2020. *Nature Communications* 11, 1859.

Financiación

Proyecto PID2019-107724GB-I00

Nombre y apellidos: Sergio Ortega Del Campo

Estudios: Doctorando en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Ana Grande Pérez / Enrique Viguera Mínguez

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Estudio de la variabilidad genética y evolución de cuasiespecies de virus RNA y ssDNA y de la mutagénesis letal como terapia antiviral

Resumen

Los virus de RNA y ssDNA experimentan altas tasas de mutación y se organizan en cuasiespecies, reservorios de genomas variantes, pero estrechamente relacionados genéticamente. La generación de poblaciones altamente variables permite a los virus adaptarse a distintos ambientes y a situaciones desfavorables para su supervivencia y éxito replicativo, llevando al fracaso a las estrategias antivirales convencionales. Estos virus emergentes están en el origen de nuevas epidemias, con consecuencias devastadoras para la salud y la economía global. Generalmente, la mayoría de los estudios de epidemiología y genómica se realizan usando como referencia las secuencias consenso. Sin embargo, la secuencia consenso es un valor abstracto que puede no estar presente en la población que representa. Es por ello por lo que el objetivo de mi Tesis es discernir en la naturaleza y organización de los virus en sus hospedadores. Llevaré a cabo estudios en cuasiespecies de virus de RNA animales y de ssDNA de plantas durante los procesos de adaptación al huésped y bajo la acción de la mutagénesis viral, en combinación con péptidos inhibitorios. Caracterizar las estructuras genéticas y la dinámica mutacional de las poblaciones virales nos proporcionaría información sobre el origen de la variabilidad y de la diversidad genética, punto de partida para el desarrollo de nuevas estrategias antivirales, poniendo énfasis en la identificación y bloqueo de la selección de las variantes resistentes.

Referencias

- Domingo, E., Martín, V., Perales, C., Grande-Pérez, A., García-Arriaza, J., & Arias, A. (2006). *Current Topics in Microbiology and Immunology*, 299, 51–82.
- Moreno, E., Gallego, I., Gregori, J., Lucía-Sanz, A., Soria, M. E., Castro, V., Beach, N. M., Manrubia, S., Quer, J., Esteban, J. I., Rice, C. M., Gómez, J., Gastaminza, P., Domingo, E., & Perales, C. (2017). *Journal of Virology*, 91(10), e02505-16.
- Seoane, P., Díaz-Martínez, L., Viguera, E., Claros, M. G., & Grande-Pérez, A. (2022). (p. 2022.04.05.487169). bioRxiv.

Nombre y apellidos: Isabel Padilla Roji

Estudios: Doctorado en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Alejandro Pérez García; Dolores Fernández Ortuño

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Control de *Podosphaera xanthii* mediante polinucleótidos

Resumen

La enfermedad del oídio de cucurbitáceas, producida por el hongo biotrofo *Podosphaera xanthii*, limita seriamente la producción de estos cultivos. Aunque se intenta llevar a cabo un control integrado de la enfermedad, su control es aún muy dependiente del uso de fungicidas; sin embargo, este hongo ha sido catalogado por el FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) como un patógeno con un alto riesgo de desarrollo de resistencia al poco tiempo de ser estos compuestos autorizados para su uso. Si a esto le sumamos las restricciones que estos productos fitosanitarios están teniendo a nivel europeo, debido al Pacto Verde Europeo y su estrategia “de la granja a la mesa”, nuevas herramientas fitosanitarias que permitan un control sostenible de esta enfermedad son hoy en día muy necesarias. Entre los objetivos del proyecto (PID2019-107464RB-C21), estamos evaluando si la tecnología del ARNi denominada silenciamiento génico inducido por pulverización (SIGS) y el uso de aptámeros podrían ser usadas como nuevas estrategias para combatir el oídio de las cucurbitáceas. Para ello, en el primer caso se están sintetizando *in vitro* ARN de doble cadena (ARNdc) dirigidos frente a nuevas dianas fúngicas las cuales son esenciales para el desarrollo del hongo. En el segundo caso, se sintetizarán aptámeros (pequeñas secuencias de ADN o ARN de cadena sencilla, capaces de reconocer un blanco específico con gran afinidad) frente a proteínas de la pared celular de *P. xanthii*. En ambos casos, se llevarán a cabo distintos ensayos de interacción planta-patógeno en los cuales se aplicarán estas nuevas herramientas fitosanitarias con el fin de examinar su capacidad como nuevos posibles tratamientos para el control de la enfermedad.

Referencias

Fernández-Ortuño et al. (2006) Eur J Plant Pathol 115, 215-222.

López-Ruiz et al. (2010) Pest Manag Sci 66, 801-808.

McKeague and Derosa (2012) J Nucleic Acids 2012, 748913.

Nowara et al. (2010) Plant Cell, 22, 3130–3141.

Ruiz-Jiménez et al. (2021) J Fungi 7, 735. Pathol 19, 2502-2515.

Financiación

PID2019-107464RB-C21

Nombre y apellidos: Alicia Isabel Pérez Lorente

Estudios: Doctorado

Director/es del trabajo / Tutor: Dr. Diego Romero Hinojosa

Línea de investigación de máster o doctorado: Microbiología

Título: Papel de componentes estructurales de la matriz extracelular del biofilm de *Bacillus subtilis* en la comunicación e interacción con hongos patógenos.

Resumen

Los estudios de las interacciones entre distintos microorganismos son especialmente relevantes para entender las estrategias que entran en juego para mantener una cierta estructura de la población. Desde un punto de vista aplicado, este conocimiento básico sirve para entender cómo el antagonismo o competencia pueden ser usados para la búsqueda de microbios que puedan ser empleados en estrategias de control biológico de enfermedades de plantas. En nuestro laboratorio trabajamos con *Bacillus subtilis* y especies relacionadas como agentes de biocontrol, por tanto, antagonistas de microbios patógenos. En estudios previos hemos demostrado una estrecha relación entre la actividad antagonista y la formación de biofilm de *Bacillus* en la filosfera de melón. Los biofilms requieren del ensamblaje de una matriz extracelular, y hemos visto, que más allá de dar soporte a la comunidad microbiana, sus componentes participan de forma específica en la interacción mutualista con plantas y defensa frente a otras bacterias. En base a esos resultados es de esperar que la matriz extracelular medie en la interacción antagonista de *Bacillus* con el hongo necrotrofo *Botrytis cinerea*. Los resultados obtenidos hasta la fecha han demostrado que efectivamente la matriz extracelular facilita la eficiente colonización de las hifas del hongo. Específicamente: i) la proteína amiloide TasA posee colateralmente al papel estructural, cierta actividad antifúngica; ii) los lipopéptidos, previamente descritos por su actividad antifúngica, inducen respuestas fisiológicas y celulares claramente diferenciadas. Cómo estos eventos se combinan para desembocar la muerte del hongo está siendo recientemente estudiado mediante una aproximación multidisciplinar.

Referencias

Dragoš A, Kovács ÁT. 2017. The Peculiar Functions of the bacterial extracellular matrix. Trends in Microbiology 25(4):257-266.

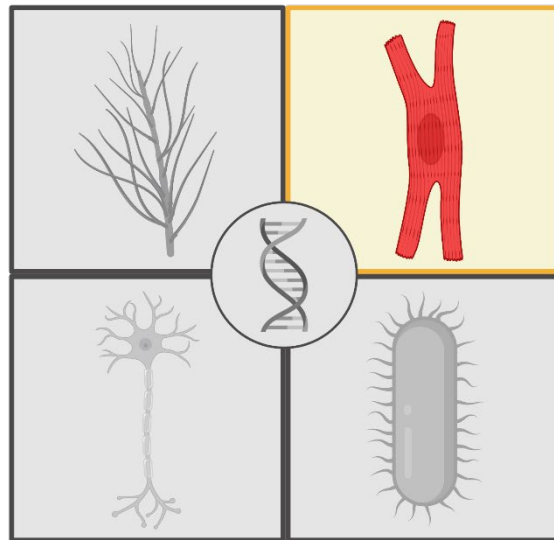
Romero *et al.* 2010. Amyloid fibers provide structural integrity to *Bacillus subtilis* biofilms. Proceedings of the National Academy of Sciences 107(5): 2230-2234.

Financiación

A.P.L. posee un contrato predoctoral del programa FPU (FPU19/00289). D.R. posee financiación del Ministerio de Ciencia (PID2019-107724GB-I00), de la European Research Council, (StartingGrant BacBio 637971) y de la Junta de Andalucía (Proyectos I+D+I PAIDI 2020, P20_00479).

SESIÓN II

BIOLOGÍA DEL DESARROLLO



#JBCM22

Nombre y apellidos: Fernando Lema Pérez

Estudios: Master

Director/es del trabajo / Tutor: Elena González Muñoz

Línea de investigación de máster o doctorado: Biología del desarrollo

Título: Reprogramación de células humanas a iPSCs. Factores implicados y caracterización de los estados de pluripotencia.

Resumen

La reprogramación celular consiste en la transformación de una célula somática en una célula pluripotente mediante la expresión ectópica de una combinación de factores específicos publicados por S. Yamanaka y K. Takahashi en 2006 usando la ya extendida combinación de c-Myc, Oct4, Sox2 y Klf4 (OSKM). El resultado fue la obtención de células que presentaban características de células madre pluripotentes, las células pluripotentes inducidas o iPSCs. Este proceso es aún considerado ineficiente y comprende una serie de mecanismos moleculares que son actualmente objetos de estudio en la investigación. Varios grupos entre los que se incluye donde se realiza este trabajo estudian los factores implicados en el proceso de reprogramación y nuevos candidatos para mejorar su eficiencia con énfasis en los factores característicos del ovocito, así como la importancia de las células somáticas de las que parte la reprogramación. Algunos de estos nuevos factores identificados son: la chaperona de histonas ASF1A (Gonzalez-Muñoz et al., 2014) o el factor Sox15 (Lopez-Caraballo et al., 2020). Estos factores son capaces (junto con Oct4) de inducir la desdiferenciación celular hacia un estado pluripotente. Además, se han identificado las células estromales derivadas de sangre menstrual (MnSCs), como un tipo celular con gran eficiencia para su reprogramación (Lopez-Caraballo et al., 2020). En este TFM se pretende evaluar el uso de MnSCs como célula nodriza para el mantenimiento de las células iPSCs reprogramadas con la combinación canónica OSKM y la basada en el ovocito, comprobando la expresión de factores de pluripotencia mediante las técnicas de inmunofluorescencia y PCR.

Referencias

1. Takahashi, K., & Yamanaka, S. (2006). *Cell*, 126(4), 663–676.
2. Gonzalez-Muñoz, E., Arboleda-Estudillo, Y., Otu, H. H., & Cibelli, J. B. (2014). *Science (New York, N.Y.)*, 345(6198), 822–825.
3. Lopez-Caraballo, L., Martorell-Marugan, J., Carmona-Saez, P., & Gonzalez-Muñoz, E. (2020). *iScience*, 23(8), 101376.

Financiación

Proyecto UMA18-FEDERJA-107. IP: Elena González Muñoz

Nombre y apellidos: María López Moreno

Estudios: Master

Director/es del trabajo / Tutor: Adrián Ruiz Villalba

Línea de investigación de máster o doctorado: Biología del desarrollo

Título: Estudio de la proliferación de fibroblastos cardiacos en un contexto patológico

Resumen

Los fibroblastos cardiacos son células mesenquimales que residen en el intersticio cardiaco junto con otros tipos celulares, donde mantienen una organización compleja. Principalmente, los fibroblastos cardiacos se encargan de mantener un funcionamiento adecuado del corazón mediante la producción y remodelación de la matriz extracelular tanto en el desarrollo como en el adulto en condiciones fisiológicas. Se conoce que, en un estado patológico, estas células actúan como los efectores celulares centrales de la fibrosis cardiaca. Sin embargo, esta población celular es heterogénea tanto a nivel transcripcional como desde el punto de vista de su ontogenia. Esto es fundamental, ya que se ha descrito que, en el corazón isquémico, son los fibroblastos cardiacos mayoritariamente de origen epicárdico los que proliferan llevando a cabo una cicatrización del músculo cardiaco. No obstante, pese a que se conoce bastante sobre los fibroblastos que participan en la cicatrización de heridas agudas, no ocurre de la misma forma para modelos de fibrosis crónica. Determinar el origen embrionario, la actividad, y las respuestas de este tipo celular bajo estas condiciones patológicas, es un área de investigación en curso. Por tanto, en este estudio se pretende generar un modelo murino de fibrosis crónica, abordando específicamente la naturaleza de estas células, que permita llevar a cabo un análisis de proliferación celular basado en su origen ontogénico. Además, para complementar este modelo se han llevado a cabo una serie de análisis *in vitro* que permiten distinguir entre linajes celulares y analizar cambios proliferativos asociados a ellos.

Referencias

- Frangogiannis, N. G. (2021). *Cardiovascular Research* (Vol. 117, Issue 6, pp. 1450–1488). Oxford University Press.
- Fu, X., Khalil, H., Kanisicak, O., Boyer, J. G., Vagnozzi, R. J., Maliken, B. D., Sargent, M. A., Prasad, V., et al. (2018). *Journal of Clinical Investigation*, 128(5), 2127–2143.
- Pogontke, C., Guadix, J. A., Ruiz-Villalba, A., & Pérez-Pomares, J. M. (2019). *Anatomical Record* (Vol. 302, Issue 1, pp. 58–68). Blackwell Publishing Inc.
- Ruiz-Villalba, A., Simón, A. M., Pogontke, C., Castillo, M. I., Abizanda, G., Pelacho, B., Sánchez-Domínguez, R., Segovia, J. C., et al (2015). *Myocardial Infarction Scar*.

Financiación

Plan Propio de la Universidad de Málaga. Retos-modalidad Jóvenes Investigadores (JIN), convocatoria 2020, Agencia Estatal de Investigación. Proyectos de Excelencia, Junta de Andalucía.

Nombre y apellidos: Marco Taddei Tardón

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Juan Pascual Anaya

Línea de investigación de máster o doctorado: Biología del desarrollo

Título: Análisis evolutivo del inflamasoma Nlrp3 y su posible papel en la hematopoyesis de vertebrados.

Resumen

La hematopoyesis es un proceso finamente regulado mediante el cual se forman las células sanguíneas y del sistema inmune (eritrocitos, macrófagos, linfocitos, etc.) durante toda la vida de un organismo [1]. Por tanto, no es sorprendente que fallos en la regulación del mantenimiento de las células madre progenitoras hematopoyéticas (HPSC's) implicadas en la hematopoyesis deriven en enfermedades sanguíneas, como la leucemia. A pesar de su importancia, los mecanismos que regulan la aparición y mantenimiento de las HPSC's no son del todo conocidos.

El inflamasoma NLRP3 es un complejo proteico del sistema inmune innato con un papel recientemente descrito en la aparición, migración y expansión de HPSC's [2, 3]. Dada su potencial importancia, en este proyecto estudiamos desde un punto de vista evolutivo, el origen y evolución del inflamasoma NLRP3 en vertebrados. Para ello, realizamos una búsqueda exhaustiva de genes codificantes para proteínas de la familia NLRP (componente principal de los inflamasomas) en los genomas y transcriptomas de especies representantes de los linajes vivos de vertebrados. Un análisis filogenético preliminar sugiere un escenario evolutivo más complejo de lo que previamente establecido: en primer lugar, observamos una drástica expansión de esta familia génica en ciertos linajes independientes a lo largo de la evolución; y, en segundo lugar, una alta conservación de la secuencia aminoacídica de la proteína NLRP3 en el linaje de mamíferos. Especulamos que además de la hematopoyesis, la aparición del inflamasoma NLRP3 podría estar ligado a adaptaciones evolutivas exclusivas de los mamíferos, como puede ser el origen de la placentación.

Referencias

- [1] Orkin, S. H. & L. I. Zon (2008). Hematopoiesis: an evolving paradigm for stem cell biology. *Cell* 132(4): 631-644
- [2] Ratajczak, M. Z. & Kucia, M. (2021) The Nlrp3 inflammasome – the evolving story of its positive and negative effects on hematopoiesis. *Curr Opin Hematol* 28(4): 251-261
- [3] Tyrkalska, S. D. et al. (2019) Inflammasome regulates hematopoiesis through cleavage of the master erythroid transcription factor GATA1. *Immunity* 51, 50-63

Nombre y apellidos: Ana María Sánchez Tévar

Estudios: Doctorado en Biología Celular y Molecular.

Director/es del trabajo / Tutor: Juan Antonio Guadix Domínguez / José María Pérez Pomares

Línea de investigación de máster o doctorado: Biología del desarrollo

Título: Células mesenquimáticas madre de origen epicárdico en la enfermedad cardiovascular.

Resumen

El intersticio cardíaco es el espacio que se encuentra entre los cardiomiocitos. Este microambiente está habitado por una población heterogénea de células de diverso origen embrionario que sobrevive hasta la edad adulta. La miocardiopatía arritmogénica (ACM) es una enfermedad cardíaca, que da lugar a la degeneración de los cardiomiocitos y su reemplazo por tejido fibroso y adiposo [1]. Varias evidencias sugieren que el mesénquima embrionario, derivado del epicardio, que es el principal origen conocido de las células del intersticio cardíaco, está involucrado en el componente fibroadiposo de la ACM, hipótesis apoyada por el potencial fibroblástico [2] y adipogénico [3] de las células del linaje epicárdico. Paradójicamente, trabajos recientes sugieren que la grasa epicárdica adulta contiene una población de progenitores mesenquimales con propiedades reparativas [4], pero se desconoce si esas células son derivados del tejido epicárdico, como otras células intersticiales, o si derivan de alguna otra fuente de tejido conectivo. Nuestra hipótesis de trabajo es que la sustitución fibro-adiposa característica de los cardiomiocitos dañados en la ACM resulta de la activación patológica de un progenitor de origen epicárdico. Nuestro objetivo, por lo tanto, es aislar y caracterizar células mesenquimales de la grasa epicárdica para después estudiar su potencial de diferenciación *in vitro*, además de estudiar sistemáticamente los cambios que tienen lugar en el intersticio cardíaco durante la progresión de la ACM e identificar la relación de linaje de fibroblastos y adipocitos en el contexto de esta enfermedad. Otro objetivo de esta investigación es valorar la existencia de un progenitor de tipo fibro- adiposo/conectivo cardíaco.

Referencias

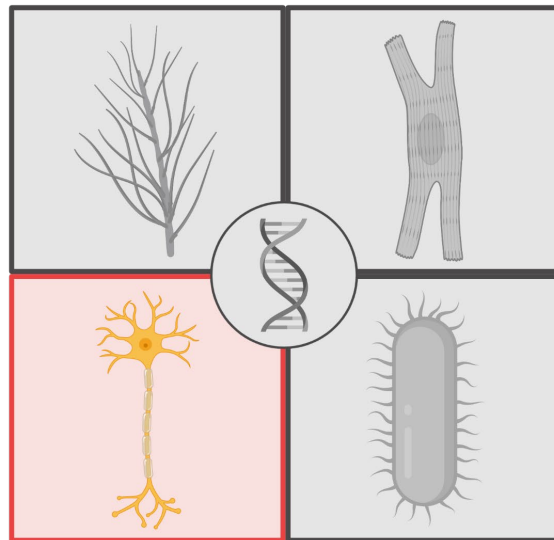
- [1] Asimaki A et al. (2015). Can J Pathol, 31:1313-1324.
- [2] Ruiz-Villalba A et al. (2015). J Am Coll Cardiol, 65:2057-66.
- [3] Yamaguchi Y et al. (2015). Proc Natl Acad Sci U S A, 112:2070-5.
- [4] Naftali-Shani N et al. (2013). J Am Heart Assoc; 2:e000253.

Financiación

Ayudas para contratos predoctorales para la formación de doctores 2019: PRE2019-091562. Ministerio de Ciencia e Innovación.

SESIÓN III

NEUROBIOLOGÍA



#JBCM22

Nombre y apellidos: Francisco José Cantero Molina

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: David Baglietto Vargas

Línea de investigación de máster o doctorado: Neurobiología

Título: Implicación de la apolipoproteína E (ApoE) en la agregación de la proteína α -sinucleína

Resumen

La agregación y propagación de proteínas patológicas es una característica fundamental de diversas enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer (EA) o la enfermedad de Parkinson (EP). Estudios previos han demostrado que la patología causada por α -sinucleína (α -syn) es capaz de progresar y propagarse como los priones (Jucker y Walker, 2013). Es decir, formas con conformaciones alternativas, intermedias y oligoméricas de la proteína α -syn pueden actuar sobre monómeros nativos del dicho péptido, e inducirlos a plegarse incorrectamente y agregar, generándose una reacción en cadena, expandiendo la patología. Dentro de los mayores factores de riesgo genético para la EA, y de otras enfermedades neurodegenerativas como las sinucleinopatías, se incluye la apolipoproteína E (ApoE) (Scheltens et al., 2021). Estudios previos han demostrado que diferentes isoformas de ApoE influyen en la progresión patológica del péptido β -amiloide en la EA (Jansen et al., 2019), por lo que hipotetizamos, que, de forma similar, ApoE puede afectar a los procesos de agregación de la proteína α -syn. Para ello, con el fin de observar el impacto de distintas variantes de ApoE sobre la progresión de esta patología, en el actual TFM se propone estudiar la agregación de α -syn de distintos pacientes con cuerpos de Lewy con diferentes alelos de ApoE (ApoE3/3, ApoE3/4 y ApoE4/4). A lo largo de este proyecto se emplearán tanto técnicas celulares como moleculares para determinar la cantidad de agregados, su morfología y composición de formas oligoméricas presente en las muestras de estos pacientes.

Referencias

- Jansen, et al. (2019). *Nature genetics*, 51(3), 404–413.
- Jucker, M., & Walker, L. C. (2013). *Nature*, 501(7465), 45–51.
- Scheltens et al. (2021). *Lancet (London, England)*, 397(10284), 1577–1590.

Financiación

Este estudio ha sido financiado por los siguientes proyectos: El Ministerio de Ciencia e Innovación PID2019-108911RA-I00 (D.B.V), el programa Beatriz Galindo BAGAL18/00052 (D.B.V) y la Asociación de Alzheimer AARG-22-928219 (D.B.V).

Nombre y apellidos: Álvaro Esteban Martos

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Directora del trabajo / Tutor: José Luis Royo / Antonia Gutiérrez

Línea de investigación de máster: Neurobiología

Título: Selección de moduladores de la interacción TREM2-DAP12 y búsqueda de nuevas dianas terapéuticas para la enfermedad de Alzheimer

Resumen

La enfermedad de Alzheimer es la principal causa de demencia en el mundo (1), pese a lo cual aún no existe ninguna terapia plenamente efectiva para su tratamiento (2). El análisis genético es una fuente de información fundamental para el estudio de esta enfermedad, habiendo permitido la identificación de importantes factores de riesgo mediante rastreos completos del genoma, o GWAS por sus siglas en inglés (3). Uno de los factores de mayor impacto es el gen *TREM2*, que codifica un receptor microglial implicado en el fenotipo neuroinflamatorio mediante la interacción de su dominio alfa-hélice transmembrana con el de la proteína DAP12 (4).

En este proyecto hemos planteado dos líneas de trabajo. En la primera, nuestro laboratorio ha desarrollado un sistema de doble híbrido que permite la búsqueda de moduladores de la interacción entre TREM2 y DAP12. Usando este sistema se han cribado 124 moléculas, de entre las cuales se han identificado dos posibles activadores. En la segunda línea se han analizado informáticamente los resultados de un reciente GWAS (5) para encontrar nuevas rutas bioquímicas involucradas en la fisiopatología del Alzheimer, lo que nos ha permitido estudiar cuáles de estas rutas son intervenibles con los fármacos actualmente aprobados por los organismos reguladores europeos y americanos. Estas dos aproximaciones permitirán el reposicionamiento de fármacos para su uso como nuevas terapias en la enfermedad de Alzheimer.

Referencias

1. Livingston, G. *et al. Lancet* (2017).
2. Long, J. M. & Holtzman, D. M. *Cell* (2019).
3. Harold, D. *et al. Nat. Genet.* (2009).
4. Deczkowska, A. *et al. Cell* (2018).
5. Bellenguez, C. *et al. Nat. Genet.*, (2022).

Financiación

Financiado con cargo a dos contratos OTRI firmados entre el investigador principal José Luis Royo, del departamento de Especialidades Quirúrgicas, Bioquímica e Inmunología de la Facultad de Medicina de la Universidad De Málaga, la fundación Santangela y la fundación ACE.

Nombre y apellidos: Paula del Carmen Gonzalo Arroyo

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Directoras del trabajo: Dras. Antonia Gutiérrez Pérez y Laura Trujillo Estrada

Línea de investigación de máster: Neurobiología

Título: “Estudio ultraestructural de la microglía oscura y su implicación en la enfermedad de Alzheimer”

Resumen

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un proceso neurodegenerativo incurable hasta la fecha, y la principal causa de demencia y discapacidad entre los mayores de 65 años. El cerebro de los pacientes acumula placas extracelulares de β -amiloide y ovillos neurofibrilares intracelulares, junto con una importante pérdida sináptica/neuronal y activación glial [1]. La microglía son las células inmunes innatas del cerebro y la primera barrera de defensa. Variantes genéticas microgliales se asocian con el riesgo de desarrollar Alzheimer esporádico. La microglía activada adquiere diferentes estados funcionales, sin embargo, aún no se ha caracterizado su impacto beneficioso y/o perjudicial en el curso de la EA [2, 3]. En este trabajo se analiza a la denominada microglía oscura (*dark microglia*), cuya significación biológica está aún por dilucidar. Se trata de una microglía poco frecuente en estado no patológico pero que es abundante en la EA [4], subrayando la importancia de entender la función de estas células. Se ha utilizado un modelo transgénico murino APP/PS1, y se ha realizado un análisis ultraestructural detallado para determinar sus características subcelulares y perfil funcional en la progresión de la enfermedad. A microscopía electrónica, esta microglía aparece asociada a las placas amiloides con un estado reactivo y un citoplasma y nucleoplasma electrodensos. Además, muestra marcadores de estrés oxidativo con cisternas del retículo endoplasmático dilatadas y parece interaccionar estrechamente con elementos sinápticos, sugiriendo que su presencia podría exacerbar la pérdida sináptica que ocurre en la EA [5]. Conseguir modular estas células gliales podría ser de interés terapéutico para la EA.

Referencias

1. Hansen et al. (2018). *Journal of Cell Biology*, 217(2), 459. doi: 10.1083/JCB.201709069
2. Heneka et al. (2015). *Lancet Neurol.* 14(4), 388. doi: 10.1016/S1474-4422(15)70016-5
3. Bisht et al. (2016). *Glia*, 64(5), 826–839. doi: 10.1002/GLIA.22966
4. Bisht et al. (2016). *Commun. Integr. Biol.* 9(6). doi: 10.1080/19420889.2016.1230575
5. Breijyeh & Karaman (2020). *Molecules*, 25(24). doi: 10.3390/MOLECULES25245789

Financiación

Proyectos FIS PI18/01557 y PI21/00915, Instituto Salud Carlos co-financiados con fondos FEDER; CIBERNED; Proyectos P18-RT-2233 y UMA18-FEDERJA-211 de la Consejería de Economía y Conocimiento de la Junta de Andalucía co-financiados con el programa operativo FEDER 2014-2020.

Nombre y apellidos: Lucía Guerra Gil

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Alicia Rivera y María Ángeles Real

Línea de investigación de máster o doctorado: Neurobiología

Título: Estudio de la modulación de las neuronas dopaminérgicas de PAG por morfina y el receptor dopaminérgico D4R.

Resumen

La Asociación Internacional para el Estudio del Dolor definió el dolor como "una experiencia sensitiva y emocional desagradable, asociada a una lesión tisular real o potencial", siendo un problema de salud pública muy relevante ya que está presente en la mayoría de las enfermedades y lesiones que pueden sufrir los individuos a lo largo de su vida.

La sustancia gris periacueductal (PAG) es una zona del mesencéfalo involucrada en la integración y coordinación de respuestas nociceptivas^{1 2}, además de ser uno de los principales sitios de acción de fármacos opioides, que se usan para el tratamiento del dolor. Existe una pequeña población de células dopaminérgicas en esta zona implicadas en la modulación de la nocicepción.

La morfina es un fármaco opioide agonista del receptor MOR. Estos receptores MOR se encuentran entre otros sitios, en PAG, y contribuyen a la antinocicepción mediada por opioides. Los estudios de nuestro grupo de investigación³ sugieren que la estimulación de D4R durante el tratamiento con morfina previene la desregulación de la señalización dopaminérgica en el estriado, evitando los cambios neuroplásticos que contribuyen al desarrollo de adicción. Sin embargo, se ha observado que esta estrategia farmacológica no afecta a la analgesia inducida por morfina.

El objetivo del presente trabajo es estudiar si el tratamiento crónico con morfina modifica la función de las neuronas dopaminérgicas de PAG, así como la posible modulación de D4R. Para ello se realizarán técnicas inmunohistoquímicas en tejido de cerebro de ratas tratadas durante 7 días con morfina y/o un agonista de D4R (PD168,077).

Referencias

1. Li, C., Sugam, J., Lowery-Gionta, E. et al. *Neuropsychopharmacol* 41, 2122–2132 (2016).
2. Suckow, S. K., Deichsel, E. L., Ingram, S. L., Morgan, M. M., & Aicher, S. A. (2013). *Synapse* (New York, N.Y.), 67(2), 94–108.
3. Rivera, A., Gago, B., Suárez-Boomgaard, D., Yoshitake, T., Roales-Buján, R., Valderrama-Carvajal, A., Bilbao, A., Medina-Luque, J., et al. (2017). *Addiction biology*, 22(5), 1232–1245.

Financiación

UMA20-FEDERJA-122

Nombre y apellidos: Cristina Anabel Muñoz de León López

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Inés Moreno González

Línea de investigación de máster o doctorado: Neurobiología

Título: Contribución de los agregados Tau periféricos a la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer

Resumen

Actualmente, no existe ninguna terapia capaz de evitar o retrasar el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer (EA). Debido al creciente envejecimiento de la población y la incidencia concomitante de EA, es importante comprender los mecanismos patológicos moleculares y celulares asociados a ella. Entre ellos, son relevantes los relacionados con la etiología de la EA y la propagación de los agregados proteicos de beta amiloide ($A\beta$) y tau hiperfosforilado (pTau), que se suponen responsables de la toxicidad neuronal. La importancia de este proyecto radica en determinar la contribución de los agregados de pTau presentes en sangre en el desarrollo de la EA. Se ha sugerido que la patología asociada a $A\beta$ y pTau podría transmitirse a través de un mecanismo priónico entre individuos. El objetivo principal de este proyecto consiste en evaluar si los agregados de pTau presentes en sangre se propagan hasta el sistema nervioso central (SNC) y, allí, podrían acelerar la patología Tau asociada con la EA. Nuestra hipótesis de trabajo propone que los agregados de pTau presentes en la sangre aumentan la acumulación de pTau en el SNC, acelerando los cambios patológicos asociados a la EA. Para ello, se utilizarán modelos transgénicos para la proteína Tau y controles. Se analizará el efecto de la inyección de sangre sobre la capacidad de memoria y aprendizaje, la patología de pTau y la respuesta inflamatoria. Este estudio permitiría explorar la manipulación periférica de agregados de Tau como diana de diagnóstico y terapéutica para la EA y otras tauopatías.

Referencias

- Atri, A. (2019). *Medical Clinics of NA*, 103(2), 263–293.
- Goedert, M. (2015). *Science*, 349(6248), 1–9.
- Scheltens, P., et al (2021). *Lancet*, 397(10284), 1577–1590.

Financiación

Este estudio ha sido financiado por el Programa Ramón y Cajal RYC-2017-21879 del Ministerio de Ciencia e Innovación y el proyecto Fondecyt Regular 2021 ID1210622 de la Agencia Nacional de Investigación y Desarrollo de Chile.

Nombre y apellidos: Juana Andreo López

Estudios: Doctorado de Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Dr. David Baglietto Vargas / Dra. Antonia Gutiérrez Pérez

Línea de investigación de máster o doctorado: Neurobiología

Título: Estudio de procesos de agregación y propagación en modelos de la Enfermedad de Alzheimer

Resumen

La mayoría de trastornos neurodegenerativos asociados con la edad implican la agregación de proteínas en el sistema nervioso, como ocurre en la enfermedad de Alzheimer (EA). Se trata de una proteinopatía en la que, a nivel microscópico, los cerebros de los pacientes presentan acumulación extracelular del péptido beta amiloide o Abeta ($A\beta$) en las llamadas placas seniles o amiloides. Esta característica patológica resulta de la agregación y propagación de péptidos $A\beta$ con un plegamiento alternativo al fisiológico, de forma que generan estructuras que son neurotóxicas [1].

Estudios liderados por los laboratorios de los doctores Soto y Jucker [2,3] han demostrado que una vez se inicia la patología amiloide, ésta es capaz de progresar y propagarse mediante un mecanismo priónico. Esto es, formas mal plegadas, intermedias y oligoméricas de la proteína beta amiloide pueden actuar sobre monómeros nativos del péptido $A\beta$ e inducir un cambio conformacional en ellos, favoreciendo la propagación de la patología.

Por tanto, durante el desarrollo de esta tesis doctoral, se pretende analizar cómo ocurren los procesos de agregación y propagación del péptido $A\beta$ empleando diferentes modelos murinos transgénicos para la EA, tales como el h $A\beta$ -KI y el 3xTg-AD, además de investigar cómo los distintos tipos celulares participan en estos procesos de agregación.

Referencias

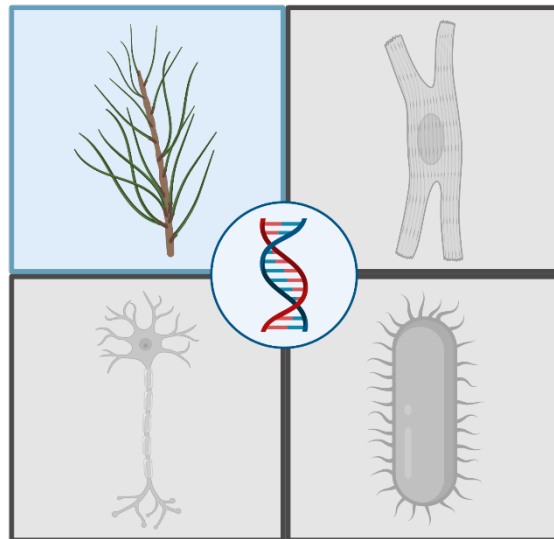
1. Jucker, M., & Walker, L. C. (2018). Propagation and spread of pathogenic protein assemblies in neurodegenerative diseases. *Nature neuroscience*, 21(10), 1341–1349.
2. Morales, R., Duran-Aniotz, C., Castilla, J., Estrada, L. D., & Soto, C. (2012). De novo induction of amyloid- β deposition in vivo. *Molecular psychiatry*, 17(12), 1347–1353.
3. Jucker, M., & Walker, L. C. (2018). Propagation and spread of pathogenic protein assemblies in neurodegenerative diseases. *Nature neuroscience*, 21(10), 1341–1349.

Financiación

Ministerio de Ciencia e Innovación PID2019-108911RA-I00 (DBV); Programa Beatriz Galindo BAGAL18/00052 (DBV); Alzheimer's Association AARG-22-928219 (DBV); Pilot project UCIMIND (DBV); Instituto Nacional de la Salud (NIH) U54-AG054349 (FML).

SESIÓN IV

BIOLOGÍA MOLECULAR E INGENIERÍA BIOMOLECULAR



#JBCM22

Nombre y apellidos: Raúl Gil Ruiz

Estudios: Máster

Director/es del trabajo / Tutor: Beatriz Martínez Poveda

Línea de investigación de máster: Biología molecular

Título: Identificación y estudio del mecanismo de acción molecular de compuestos con potencial antiinflamatorio en contextos patológicos

Resumen

La inflamación es una respuesta fisiológica ante un daño tisular o infección por patógenos, cuyo inicio y desenlace están altamente regulados. Sin embargo, en diversas patologías, la inflamación escapa de esta regulación manifestándose como una respuesta crónica, contribuyendo al progreso de la enfermedad¹. La identificación de compuestos bioactivos con potencial antiinflamatorio abre un camino en la búsqueda de fármacos para el tratamiento de enfermedades que cursan con procesos de inflamación crónica², tales como la aterosclerosis o el cáncer, entre otras.

El oleocantal (OC) y la oleaceína (OL) son compuestos polifenólicos naturalmente presentes en la aceituna y el aceite de oliva, cuyo potencial bioactivo se ha estudiado en diversos contextos patológicos, entre los que se encuentra la inflamación^{3,4}. Sin embargo, sus efectos sobre la respuesta inflamatoria endotelial no están bien definidos en la literatura. En este Trabajo Final de Máster (TFM) proponemos evaluar la actividad antiinflamatoria del OC y la OL sobre células endoteliales humanas en cultivo. Para ello estudiaremos el efecto de los compuestos sobre la expresión de moléculas implicadas en respuesta inflamatoria endotelial, usando para ello técnicas de PCR cuantitativa y de *Western-blot*. Exploraremos también la capacidad del OC y la OL para inhibir rutas de señalización celular moduladoras de la inflamación, mediante *Western-blot* e inmunocitoquímica, con objeto de perfilar el mecanismo de acción molecular responsable de los efectos antiinflamatorios de los compuestos en el endotelio. Los resultados de este TFM pueden contribuir a entender los efectos cardioprotectores del aceite de oliva en patrones dietéticos saludables⁵.

Referencias

- 1- Furman, D. et al. (2019) *Nature Medicine*. 25, 1822-1832.
- 2- Newman, D.J., Cragg, G.M. (2020) *Journal of Natural Products* 83(3), 770-803.
- 3- Segura-Carretero, A., Curiel, J.A. (2018) *International Journal of Molecular Science*. 19(10)
- 4- Carpi, S. et al. (2019) *Nutrients*. 11(12), 2855.
- 5- Estruch, R. et al. (2018) *The New England Journal of Medicine*. 378(25)

Financiación

Este Trabajo Final de Máster está financiado con los proyectos UMA18-FEDERJA-220 (Junta de Andalucía-FEDER) y PID2019-105010RB-I00 (Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España).

Nombre y apellidos: Aminta Hernández Marín

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Enrique Viguera Mínguez

Línea de investigación de máster o doctorado: Biología Molecular

Título: Análisis de fidelidad de replicación de polimerasas de DNA

Resumen

Las secuencias de ADN repetidas se caracterizan por una alta inestabilidad, consistente en la delección o expansión de las unidades repetidas. Esta inestabilidad se produce in vivo durante la replicación del ADN. Para comprender el mecanismo molecular por el que se producen delecciones en el ADN, Viguera *et al* desarrollaron un sistema experimental consistente en un ensayo de replicación in vitro de un ADN molde conteniendo secuencias repetidas directas e inversas capaces de adoptar una estructura en horquilla que causa el bloqueo de la ADN polimerasa (Viguera et al, 2001a). ADN polimerasas de alta fidelidad de copia pertenecientes a las familias replicativas A, B y C generaron el error de tipo deslizamiento de hebra en este sustrato molde. Este error se produce incluso por ADN polimerasas hipertermófilas durante la amplificación por PCR a 65°C.

Únicamente aquellas ADN polimerasas con actividad de desplazamiento de hebra como la ADN Polimerasa del fago Phi-29 o T7 exo- (Sequenase®) no generan este tipo de error. En cuanto al mecanismo molecular, las delecciones en el ADN se producen como consecuencia del realineamiento del extremo 3' de la hebra de ADN recién sintetizada con la segunda repetición, tras el bloqueo y disociación de la ADN polimerasa en la estructura en horquilla (Viguera et al. 2001b). Estos ensayos, sin embargo, no permiten detectar expansiones en el ADN. Para estudiar este tipo de error, se han diseñado moléculas de ADN molde específicas y se ensayarán diferentes ADN polimerasas in vitro.

Referencias

- Viguera, E., Canceill, D., & Ehrlich, S. D. (2001a). In vitro replication slippage by DNA polymerases from thermophilic organisms. *Journal of Molecular Biology*, 312(2), 323–333.
<https://doi.org/10.1006/jmbi.2001.4943>
- Viguera, E., Canceill, D., & Ehrlich, S. D. (2001b). Replication slippage involves DNA polymerase pausing and dissociation. *EMBO Journal*, 20(10), 2587–2595.
<https://doi.org/10.1093/emboj/20.10.2587>

Nombre y apellidos: Jesús David López Arredondo

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Rafael A. Cañas Pendón

Línea de investigación de máster o doctorado: Ingeniería biomolecular

Título: Análisis de la interacción entre la nutrición nitrogenada y el nivel de CO₂

Resumen

La concentración ambiental de CO₂ es actualmente de 400 ppm y las proyecciones prevén un aumento de hasta 970 ppm para finales de siglo. El CO₂ elevado puede estimular el crecimiento de las plantas C₃, mientras que el nitrógeno es el principal nutriente limitante que las plantas adquieren de los suelos. Las plantas obtienen fundamentalmente dos fuentes de nitrógeno inorgánico del suelo: amonio (NH₄⁺) y nitrato (NO₃⁻). A niveles elevados de CO₂, el crecimiento de las plantas y el metabolismo del nitrógeno se ven afectados por la fuente de nitrógeno (Cohen et al., 2018). Recientemente se ha comprobado que las plantas C₃ tienen una respuesta diferencial al aumento del CO₂ dependiendo de la molécula nitrogenada suministrada en su fertilización (Bloom et al. 2012).

El pino marítimo (*Pinus pinaster* Aiton) es una de las coníferas más extendidas en el suroeste de la región mediterránea. Su amplia distribución implica una gran tolerancia a estreses abióticos. (Isajev et al. 2004). En el presente trabajo estudiamos la interacción entre la nutrición nitrogenada (nitrato o amonio) y la concentración de CO₂ como potencial modulador del transcriptoma en acículas, tallo y raíces de plántulas de pino marítimo.

Referencias

- Bloom, A.J., Asensio, J.S., Randall, L., Rachmilevitch, S., Cousins, A.B., & Carlisle, E.A. (2012) CO₂ enrichment inhibits shoot nitrate assimilation in C₃ but not C₄ plants and slows growth under nitrate in C₃ plants. *Ecology*, 93, 355-367.
- Cohen, I., Rapaport, T., Berger, R. T., & Rachmilevitch, S. (2018). The effects of elevated CO₂ and nitrogen nutrition on root dynamics. *Plant Science*, 272, 294-300.
- Isajev, V., Fady, B., Semerci, H., & Andonovski, V. (2004). EUFORGEN Technical Guidelines for genetic conservation and use for European black pine (*Pinus nigra*). Bioversity International.

Financiación

P20_00036. Junta de Andalucía. Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020

Nombre y apellidos: Sergio Martínez García

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Directora del trabajo / Tutor: Concepción Ávila Sáez

Línea de investigación de máster: Biología molecular

Título: Caracterización funcional del promotor de la arginasa en *Pinus pinaster* Aiton.

Resumen

La fitodisponibilidad de nitrógeno (N) en el suelo es un factor muy limitante para el crecimiento vegetal y su carestía, así como su exceso, pueden tener consecuencias negativas en el correcto desarrollo de las plantas (Cañas et al., 2016). La arginina (Arg) es el aminoácido que ostenta la ratio N:C más alta, característica que la hace idónea para el almacenamiento de N orgánico en proteínas de reserva, y que hace que juegue un papel crucial durante la embriogénesis y germinación en coníferas. La arginasa es la primera enzima que participa en el catabolismo de este aminoácido, permitiendo la síntesis de compuestos nitrogenados en etapas tempranas del desarrollo de pino (Llebrés et al., 2018). Dada la implicación de esta enzima en el metabolismo y economía del N en coníferas, y el poco conocimiento a nivel molecular de las arginasas vegetales, este estudio pretende caracterizar funcionalmente el promotor de este gen de copia única en pino marítimo (*Pinus pinaster*) y comprobar si, al igual que ocurre en otras especies como *Saccharomyces cerevisiae* o *Evernia prunastri*, esta hidrolasa ve su expresión potenciada en presencia de Arg (Brownfield.,2007). Para esto, se ha seguido una aproximación experimental basada en la expresión transitoria heteróloga de genes delatores (GUS y GFP) bajo el promotor de la arginasa de pino en hojas de tabaco y su posterior cuantificación por RT-qPCR.

Referencias

Brownfield, D. L. (2007). Isolation and Characterization of Arginase Promoters in Loblolly Pine (*Pinus taeda* L.) (Doctoral dissertation, University of Alberta).

Cañas, R. A., De la Torre, F., Pascual, M. B., Avila, C., & Cánovas, F. M. (2016). Nitrogen economy and nitrogen environmental interactions in conifers. *Agronomy*, 6(2), 26.

Llebrés, M. T., Pascual, M. B., Debille, S., Trontin, J. F., Harvengt, L., Avila, C., y Cánovas, F. M. (2018). The role of arginine metabolic pathway during embryogenesis and germination in maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Tree physiology*, 38(3), 471-484.

Financiación

Plan Nacional: Regulación molecular de la biosíntesis y transporte de aminoácidos esenciales en pino marítimo. Ref.: RTI2018- 094041-B-100

Nombre y apellidos: Beatriz Medina Morales

Estudios: Master

Director/es del trabajo / Tutor: Concepción Ávila, Vanessa Castro-Rodríguez, Francisco Cánovas

Línea de investigación de máster o doctorado: Ingeniería Biomolecular

Título: Del cloroplasto al citosol: transporte intracelular de aminoácidos aromáticos

Resumen

Los transportadores de aminoácidos (aa) son proteínas de membrana que intervienen en la movilización de aa y en diversas funciones biológicas como la carga y descarga del floema, desarrollo de la semilla, transporte intracelular y la asimilación del nitrógeno orgánico en las raíces (Dinkeloo *et al.* 2018). Recientemente, Widhalm y colaboradores (2015) confirmaron la existencia de un transportador de aa catiónico en *Petunia hybrida* (PhpCAT) que está involucrado en el transporte de fenilalanina (Phe) desde el cloroplasto al citosol. Phe es un aa aromático que sirve de esqueleto a compuestos fenilpropanoides, que en especies arbóreas como en *P. pinaster*, es de especial importancia debido a su interés forestal y biotecnológico en la producción de compuestos lignificados durante la formación de la madera. La búsqueda de transportadores de aa candidatos para el transporte de aminoácidos aromáticos desde el cloroplasto hasta el citosol supone el objetivo del presente trabajo (Qian *et al.* 2019). En nuestro grupo de investigación, mediante análisis transcriptómico, se han identificado 11 CATs en *P. pinaster* y se han estudiado tanto los perfiles de expresión como a nivel funcional 4 de ellos: PpCAT3, PpCAT9, PpCAT10 y PpCAT11. En los estudios filogenéticos encontramos la formación de 3 grupos, entre los que se encuentran, 5 CATs de *P. pinaster* y PhpCAT junto con otros transportadores localizados en el cloroplasto. En los estudios de localización subcelular realizados, PpCAT3 y PpCAT9 se localizan en la membrana plasmática mientras que PpCAT10 se localiza en la membrana del cloroplasto. La localización de PpCAT10 en la membrana plastidial supone el hallazgo del primer transportador que podría estar implicado en el flujo de aa desde el cloroplasto al citosol en *P. pinaster*.

Referencias

Dinkeloo et al. Seminars in Cell & Developmental Biology **2018**, 74,105–113.

Quian et al. Nature Communications **2019**, 10.

Widhalm et al. Nature Communications **2015**,6, 8142.

Financiación

Regulación molecular de la biosíntesis y transporte de aminoácidos esenciales en pino marítimo, MICINN(RTI2018-094041-B-I00)

Nombre y apellidos: María Rosa Pete Pardo

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Rafael A. Cañas y Francisco Ruiz Cantón

Línea de investigación de máster o doctorado: Ingeniería biomolecular

Título: Prueba de concepto del uso de nanopartículas para la transformación de plántulas de pino.

Resumen

La nanotecnología es una ciencia que se centra en el estudio de los nanomateriales y su aplicación. Debido al pequeño tamaño y la alta relación superficie/volumen de las nanopartículas (Faraz *et al.*, 2019), en los últimos años su uso ha experimentado un gran auge en la biotecnología, utilizando diferentes tipos para la transformación de cultivos celulares y tejidos de plantas adultas (Demirer *et al.*, 2019; Sanzari *et al.*, 2019). El material para edición y transformación génica en las células vegetales principalmente son vectores plasmídicos administrados mediante *Agrobacterium* o bombardeo de partículas (Ghogare *et al.*, 2021). La transformación de coníferas es una tarea compleja y lenta con bajas tasas de éxito debido a la necesidad de usar herramientas como la embriogénesis somática para regenerar las plantas transformadas. Esto limita el análisis funcional de genes en estas especies. Por esta razón, se propone una prueba de concepto en pino marítimo (*Pinus pinaster*) para determinar la viabilidad del uso de nanopartículas a base de un dendrímero ramificado, polietilenamina (PEI), para introducir material genético utilizando la absorción radicular como método de administración no destructivo. Este nuevo enfoque en la transformación génica puede superar el obstáculo de la pared celular y transferir material genético de forma transitoria sin que el ADN externo se integre en el genoma de la planta (Demirer *et al.*, 2019).

Referencias

- Demirer, G. S., et al. (2019). High aspect ratio nanomaterials enable delivery of functional genetic material without DNA integration in mature plants. *Nature Nanotechnology*, 14, 456-464.
- Faraz, A., et al. (2019). Nanoparticles: Biosynthesis, translocation and role in plant metabolism. *IET Nanobiotechnology*, 13, 345-352.
- Ghogare, R., et al. (2021). Genome editing reagent delivery in plants. *Transgenic Research*, 30, 321-335.
- Sanzari, I., et al. (2019). Nanotechnology in Plant Science: To Make a Long Story Short. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 7, 1-12.

Financiación

P20_00036. Junta de Andalucía. Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020

Nombre y apellidos: Jesús Pilo Ramajo.

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular.

Director/es del trabajo / Tutor: Manuel Macías González y José Lozano Castro.

Línea de investigación de máster o doctorado: Ingeniería biomolecular.

Título: Establecimiento de líneas *knockout* (K.O) para el locus *KSR2*.

Resumen

El cáncer colorrectal (CCR) es el tercer tipo de cáncer más común a nivel global, diagnosticándose entre 1 y 2 millones de casos cada año ¹. Varias investigaciones apuntan a la inflamación crónica en tejido adiposo como un nexo entre la obesidad y el inicio y progresión de esta enfermedad ². Conjuntamente se ha observado que tanto la proteína *KSR1* (*Kinase Suppressor Of Ras 1*), como *KSR2* (*Kinase Suppressor Of Ras 2*), tienen la capacidad de modular el potencial oncogénico y proliferativo en CCR, no obstante, las vías de actuación parecen diferir ³. Hasta ahora, la mayoría de los estudios se han enfocado en *KSR1*, sin embargo, se ha observado que determinados polimorfismos de *KSR2* conducen no solo a alteraciones funcionales en la misma, sino que podrían estar estrechamente relacionado con el desarrollo de un fenotipo obeso y la regulación del CCR ⁴. Aunque, el papel a nivel molecular de estas mutaciones aún está por determinar, los estudios indican que pueden afectar negativamente a la función *scaffold* de *KSR2*, alterándose así la vía de señalización asociada a dicho gen ⁵. El objetivo del presente Trabajo Fin de Máster se trata de generar una colección de líneas celulares de CCR modificadas mediante la tecnología CRISPR-Cas9 en el loci *KSR2*, con el fin de incorporar las modificaciones descritas por Pearce, L. R. et al., (2013), y posteriormente determinar el impacto funcional, tanto *in vitro*, como *in vivo* de dichas mutaciones.

Referencias

1. Sung, H. et al. *CA Cancer J Clin* **71**, 209–249 (2021).
2. Lengyel, E. et al. *Trends in cancer* **4**, 374–384 (2018).
3. Fernandez, M. et al. *Mol Cell Biol* **32**, 3718–3731 (2012).
4. Pearce, L. R. et al. *KSR2 Cell* **155**, 765–777 (2013).
5. Revelli, J.-P. et al. *Obesity (Silver Spring)* **19**, 1010–1018 (2011).

Financiación

Convocatoria de subvenciones a proyectos de I+D+i Universidades y entidades públicas de investigación (Ref. P20-01270). Consejería de Conocimiento Investigación y Universidad. Junta de Andalucía.

Nombre y apellidos: Juan Antonio Serrano Jiménez

Estudios: Máster en Biología Celular y Molecular

Director/es del trabajo / Tutor: Francisco Javier Ruiz Cantón y Rafael Antonio Cañas Pendón

Línea de investigación de máster o doctorado: Ingeniería biomolecular

Título: Metabolismo de la metionina en plantas: Análisis estructural y funcional de la familia génica metionina sintasa en pino.

Resumen

La metionina es un aminoácido con un papel clave en el metabolismo de las plantas. Además de ser un aminoácido proteinogénico es el precursor de la S-adenosilmetionina, la cual no solo proporciona grupos metilo en la mayoría de las reacciones de metilación en todos los organismos, sino también actúa como precursor en la biosíntesis de las poliaminas, de compuestos quelantes de iones metálicos y de la hormona vegetal gaseosa etileno [1]. Este metabolito es, por tanto, esencial para el desarrollo vegetal. Sin embargo, a pesar de su importancia, la síntesis de metionina, S-adenosilmetionina y su regulación han sido muy poco estudiados en plantas. En el metabolismo de la metionina hay que distinguir entre la síntesis *de novo* y la síntesis de metionina como resultado de distintas vías de reciclaje en plantas. En ambos casos la enzima metionina sintasa interviene catalizando la síntesis de metionina [1, 2]. En el presente trabajo nos planteamos analizar la expresión de los 5 genes para esta enzima encontrados en *Pinus pinaster*, tanto en embriones como en plántulas y tejidos de árboles adultos. Para ello se llevarán a cabo análisis por RT-qPCR de estos genes, junto con genes adicionales asociados al metabolismo de la metionina. Estos análisis nos permitirán una clasificación funcional inicial de los distintos miembros de la familia génica de la metionina sintasa en pino.

Referencias

Sauter, et al. (2013). *Biochemical Journal*, 451, 145–154.

Ravanel et al. (2004) *Journal of Biological Chemistry*, 279, 22548–22557.

Financiación

RTI2018-094041-B-I00. Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

P20_00036. Junta de Andalucía. Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014-2020.

Nombre y apellidos: Isabel María Jiménez Sánchez.

Estudios: Programa de Doctorado Biología Celular y Molecular.

Director/es del trabajo: Dr. José Antonio Cornejo García, Dra. Inmaculada Doña Díaz.

Tutor: Dr. Fernando Nicolás de la Torre Fazio.

Línea de investigación de máster o doctorado: Biología Molecular.

Título: “Estudio del microbioma y de la respuesta inflamatoria mediada por especies reactivas y daño oxidativo en los fenotipos clínicos de hipersensibilidad a anti-inflamatorios no esteroideos”.

Resumen

Los anti-inflamatorios no esteroideos (AINEs) están entre los fármacos de mayor consumo, pero son también la causa principal de reacciones de hipersensibilidad (RHs) a medicamentos, que en muchos casos son muy graves. En las RHs a AINEs pueden participar mecanismos farmacológicos (intolerancia cruzada, IC), que son las más frecuentes, e inmunológicos (reacciones selectivas). En la actualidad se reconocen tres entidades clínicas en la IC: enfermedad respiratoria exacerbada por AINEs (NERD), en pacientes con rinitis y/o asma con o sin poliposis nasal; enfermedad cutánea exacerbada por AINEs (NECD), en pacientes con urticaria crónica; y urticaria/angioedema agudos inducidos por AINEs (NIUA), en pacientes sin otra patología de base (1, 2). Recientemente hemos descrito otra entidad, las reacciones mixtas, con afectación simultánea de piel y vía respiratoria, que ha demostrado ser la más frecuente tras la NIUA (3). La persistencia de la hipersensibilidad a AINEs se ha relacionado con la atopia y el sistema inmune innato (4).

El mecanismo subyacente en la IC a AINEs parece ser la inhibición de la ciclo-oxigenasa 1, que desvía el metabolismo del ácido araquidónico desde la síntesis de prostaglandinas hacia la de cisteinil-leucotrienos mediante la vía de la 5-lipooxigenasa. Ambas vías son, *per se*, oxidativas.

El objetivo de este trabajo es estudiar los mecanismos subyacentes de los principales fenotipos de IC, evaluando la implicación del sistema inmunitario innato, mediante el estudio del microbioma y de los sistemas de defensa antioxidante y de generación de especies reactivas, así como de los marcadores de daño oxidativo.

Referencias

1. Kowalski ML, et al. Allergy. 2013;68(10):1219-32.
2. Doña I, et al. Allergy. 2020;75(3):561-75.
3. Doña I, et al. Scientific reports. 2018;8(1):16710.
4. Doña I, et al. Allergy. 2017;72(9):1346-55.

Financiación

Proyecto de Investigación, Instituto de Salud Carlos III (referencia PI20/01540). IPs: Doña Díaz Cornejo García. Contrato Predoctoral de Formación en Investigación en Salud (P-FIS), Instituto de Salud Carlos III (referencia FI21/00274). Beneficiaria: Isabel María Jiménez Sánchez.

