



UGR | Universidad
de Granada



Propuesta TFG. Curso 2015-16

Departamento Microbiología

1. DATOS DEL TFG OFERTADO

Título del trabajo: Determinantes moleculares de la interacción FixK₂-ADN	
Resumen (máx 250 palabras) estructurado en Objetivos y Plan de trabajo. Se debe incluir en folio adjunto. Palabras clave: <i>Bradyrhizobium japonicum</i> , caja FixK ₂ , microoxia, proteínas CRP/FNR, regulación	
Número de alumnos por trabajo ofertado (máximo 3): 1	
Ofertado por:	
<ul style="list-style-type: none"> 1. Profesor del Departamento <input type="checkbox"/> 2. Profesor del Departamento junto con Empresa ó Institución <input checked="" type="checkbox"/> 3. Propuesto por alumno (<input type="checkbox"/>) 	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>([*]). En el caso de TFG propuesto por alumno, por favor completar la siguiente información:</p> <p>Nombre y apellidos del alumno: Antonio Daniel Chaves Collantes e-mail institucional: antoniodanielcc@gmail.com</p>	

2. MODALIDAD

<ul style="list-style-type: none"> 1. Trabajo bibliográfico <input type="checkbox"/> 2. Trabajo experimental (<input checked="" type="checkbox"/>) 3. Informe o proyecto de naturaleza profesional (<input type="checkbox"/>) 	<input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
<p>([*]) En el caso de trabajos experimentales e informes o proyectos de naturaleza profesional desarrollados en empresas u otras instituciones ajenas a la Universidad de Granada, por favor, completar la siguiente información</p> <p>Nombre de la empresa/institución: Estación Experimental del Zaidín, CSIC Domicilio social: c/Profesor Albareda 1, 18008-Granada Teléfono/ e-mail de contacto: 958 181600 (ext. 201)/socorro.mesa@eez.csic.es</p>	

3. DATOS DEL TUTOR DE LA UGR Y TUTOR DE LA EMPRESA O INSTITUCIÓN (en su caso) DEL TFG OFERTADO

Nombre y apellidos del tutor/a UGR: Clementina Pozo Llorente	
Teléfono: 958 248308/249832	e-mail: clpozo@ugr.es
Nombre y apellidos del tutor/a de la empresa o institución: M^a Socorro Mesa Banqueri	
Empresa o Institución: Estación Experimental del Zaidín, CSIC	
Teléfono: 958 181600 (Ext. 201)	e-mail: socorro.mesa@eez.csic.es

Resumen (máximo 250 palabras) estructurado en Objetivos y Plan de trabajo. Se debe añadir una tabla con desglose orientativo de las actividades a desarrollar por el estudiante según el modelo que acompaña.

FixK₂ es un regulador transcripcional clave en la bacteria endosimbiótica *Bradyrhizobium japonicum*, que controla la expresión de genes esenciales para el metabolismo microóxico de esta bacteria, tanto en vida libre como en simbiosis con plantas de soja (1). FixK₂ es una proteína de tipo CRP/FNR, factores transcripcionales bacterianos que responden a un amplio espectro de señales intracelulares y medioambientales (2). Este tipo de proteínas presentan en su parte carboxilo-terminal una estructura hélice-vuelta-hélice implicada en la interacción con una secuencia conservada de ADN, la cual se localiza en la región promotora de los genes que regulan. En el caso concreto de la proteína FixK₂, la secuencia de reconocimiento de ADN es un palíndromo de 14 pares de bases (caja FixK₂, TTGA/C-N₆-T/GCAA), en el que las bases 1-5 y 10-14 son esenciales para la activación de la transcripción por la proteína FixK₂, tanto *in vitro* como en células de *B. japonicum* (3). Recientemente, la estructura cristalina de FixK₂ en asociación con ADN ha permitido identificar los aminoácidos L195, E196 y R200 como residuos clave en la interacción con residuos específicos de la caja FixK₂ (4).

El Trabajo de Fin de Grado consistirá en llevar a cabo una caracterización molecular de la interacción FixK₂-ADN. Para ello se introducirán mutaciones tanto en la proteína FixK₂ como en la secuencia de reconocimiento (caja FixK₂). Una vez verificadas las secuencias, se procederá a su transferencia a células de *B. japonicum* mediante conjugación. Finalmente, se llevará a cabo un análisis de expresión (actividad beta-galactosidasa de fusiones con el gen informador *lacZ*) en células crecidas en condiciones microóxicas. Dependiendo de los resultados obtenidos, se llevará a cabo la caracterización fenotípica de las cepas de *B. japonicum* que codifiquen versiones inactivas de FixK₂ (crecimiento en distintas condiciones de cultivo, fenotipo simbiótico). La ejecución de estos experimentos permitirá al estudiante iniciarse en el aprendizaje de técnicas de microbiología, biología molecular e interacción *Rhizobium*-leguminosa. El alumno preparará una Memoria donde incluirá una introducción al tema, la metodología utilizada, discusión y conclusiones de los resultados, y bibliografía.

Bibliografía

1. Mesa *et al.* (2008) J. Bacteriol. 190:6568-79
2. Körner *et al.* (2003) FEMS Microbiol. Rev. 27:559-592
3. Mesa *et al.* (2005) J. Bacteriol. 187:3329-3338
4. Bonnet *et al.* (2013) J. Biol. Chem. 288:14238-14246

Tabla de actividades y dedicación horaria estimada	
Planteamiento, orientación y supervisión	20 horas
Exposición del trabajo	1 hora
Desarrollo del trabajo	229 horas
Preparación de la memoria	50 horas
TOTAL (12 ECTS)	300 horas