



1. DATOS DEL TFG OFERTADO

Título del trabajo: Sistemas proteolíticos de tipo Clp de <i>Bradyrhizobium japonicum</i>
Resumen (máx 250 palabras) estructurado en Objetivos y Plan de trabajo, reflejando una estimación de tiempo requerido para cada actividad presencial del alumno. Se debe incluir en folio adjunto. Palabras clave: Clp proteasas, FixK ₂ , microaerobiosis, <i>Rhizobium</i> , simbiosis
Número de alumnos por trabajo ofertado (máximo 3): 1
Ofertado por: 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 checked="" type="checkbox"/>). En el caso de TFG ofertados por alumno, por favor completar la siguiente información: Nombre y apellidos del alumno: M ^a Carmen Rodríguez López e-mail institucional: mcarmen_93@hotmail.com

2. MODALIDAD

1. Trabajo bibliográfico <input type="checkbox"/> 2. Trabajo experimental (<input checked="" type="checkbox"/>) 3. Informe o proyecto de naturaleza profesional (<input type="checkbox"/>)	<input checked="" type="checkbox"/>
(<input checked="" type="checkbox"/>) 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 Nombre de la empresa/institución: Estación Experimental del Zaidín, CSIC Domicilio social: c/Profesor Albareda 1, 18008-Granada CIF de la entidad: Q2818002D Teléfono/ Fax/ e-mail: 958 181600 (Ext. 201)/958 181609/socorro.mesa@eez.csic.es	

3. DATOS DEL TUTOR Y COTUTOR (en su caso) DEL TFG OFERTADO

Nombre y apellidos del tutor: María Socorro Mesa Banqueri		
Teléfono: 958 181600 (Ext. 201)	Fax: 958 181609	e-mail: socorro.mesa@eez.csic.es
Nombre y apellidos del cotutor: Antonio Ocaña Cabrera		
Empresa o Institución: Universidad de Granada		
Teléfono: 958 240500	Fax:	e-mail: aocana@ugr.es

Granada, 11 de Junio 2014

Fdo: Director/a del Departamento de Fisiología Vegetal

Las proteínas de tipo Clp son sistemas proteolíticos dependientes de ATP muy conservados que reconocen sustratos específicos (1). En el genoma del endosimbionte de la soja *Bradyrhizobium japonicum* (<http://genome.microbedb.jp/rhizobase/>) existen genes que codifican proteínas de tipo Clp: bll5153 (ClpA), bll4943 (ClpX), dos copias de *clpB* (blr1404, ClpB₁; bll3587, ClpB₂) y dos copias de *clpP* (bll4944, ClpP₁; blr0611, ClpP₂). A excepción de Blr0611 y Bll3587, estas proteínas se expresan en bacteroides de nódulos soja (2), lo que indica que pudieran tener una función en simbiosis. Sin embargo, en el orden Rhizobiales, sólo se ha descrito hasta la fecha que una cepa $\Delta clpB$ de *Mesorhizobium ciceri* tiene afectada su capacidad de nodular plantas de garbanzo (3). Además, resultados recientes de nuestro grupo de investigación demuestran la implicación del sistema ClpAP₁ en el control por proteólisis del factor transcripcional FixK₂ (4), un regulador clave que controla genes esenciales del metabolismo microaeróbico de *B. japonicum*, tanto en vida libre como en simbiosis (5).

El tema del Trabajo Fin de Grado consistirá en estudiar la función *in vivo* de los sistemas proteolíticos de tipo Clp de *B. japonicum*. Para ello, se construirán cepas mutantes en los genes *clpA*, *clpX* y *clpB*₁ mediante la técnica de delección en fase. En un primer lugar, se amplificarán las regiones 5' y 3' de cada uno de los genes mediante PCR y se clonarán a continuación en vectores suicidas. Una vez verificada la secuencia correcta de los plásmidos obtenidos, se procederá a su transferencia a la cepa parental de *B. japonicum* mediante conjugación. Finalmente, se emplearán distintas combinaciones de oligonucleótidos para verificar su recombinación cromosómica. Dependiendo de los resultados obtenidos, se analizará el fenotipo de las cepas mutantes en vida libre y en simbiosis con plantas de soja. Así mismo se analizarán los niveles de la proteína FixK₂ en extractos celulares de la cepas parental y mutantes crecidas en diferentes condiciones de cultivo (aerobiosis, microaerobiosis, bacteroides) mediante inmunodetección.

1. Schmidt *et al.* (2009) Res. Microbiol. 160:629-636
2. Delmotte *et al.* (2010) Proteomics 10:1391-1400
3. Brígido *et al.* (2012) Mol. Plant-Microbe Interact. 25:1594-1604
4. Bonnet *et al.* (2013) FEBS Lett. 587:88-93
5. Mesa *et al.* (2008) J. Bacteriol. 190:6568-79

Cronograma: desglose orientativo de las actividades

Actividades presenciales	Planteamiento, orientación y supervisión	10 horas
	Exposición del trabajo	1 hora
Actividades no presenciales	Preparación del trabajo	249 horas
	Elaboración de la memoria	40 horas
Total (12 ECTS)		300 horas