



UNIVERSIDAD
DE GRANADA



Facultad de Ciencias



BIOTECNOLOGÍA
UGR

Propuesta TFG_BIOTEC
Curso: 2017-18
DEPARTAMENTO:

CÓDIGO DEL TFG MIC-05

1. DATOS DEL TFG OFERTADO:

Título: Estudio de la expresión de la enzima responsable de la reducción del gas invernadero óxido nitroso en bacterias

Resumen (máx 250 palabras, estructurado en Introducción, Objetivos y Plan de trabajo):

Introducción. El óxido nitroso (N_2O) es un potente gas de efecto invernadero (GHG) y una de las principales causas de la destrucción de la capa de ozono. Las actividades agrícolas representan las principales fuentes de emisión de N_2O , siendo la desnitrificación uno de los procesos bacterianos implicados en su producción, y la enzima óxido nitroso reductasa (Nos) la implicada en su reducción.

Objetivos. El principal objetivo de este TFG es profundizar en el conocimiento de la regulación de la expresión de los genes *nosRZDFYLX* responsables de la síntesis de la enzima Nos, enzima poco explorada hasta ahora y que constituye la clave para reducir las emisiones de N_2O .

Plan de Trabajo. Se llevará a cabo el análisis de la actividad β -galactosidasa de cepas bacterianas que contienen fusiones transcripcionales de estos genes al gen informador *lacZ*. De forma complementaria, se analizará la expresión del gen estructural *nosZ* utilizando la técnica de PCR cuantitativa a tiempo real (qRT-PCR) tras el aislamiento de ARN de los cultivos celulares. Por otro lado, se llevará a cabo un estudio de la expresión de la enzima Nos mediante la detección de la misma utilizando técnicas de inmunodetección y de actividad enzimática. Las proteínas de las células se separarán mediante electroforesis en geles de poliacrilamida, y se transferirán a membranas donde se detectarán mediante el uso de anticuerpos. Para el análisis de la actividad Nos, se analizará el N_2O en la atmósfera gaseosa de los cultivos celulares mediante un cromatógrafo de gases.

Tabla de actividades y dedicación estimada:

Planteamiento, orientación, supervisión, y preparación de la memoria	20
Preparación de la memoria	9
Desarrollo del trabajo	120
Exposición del trabajo	1
TOTAL (6 ECTS)	150 horas

OFERTADO POR:

Profesor del Departamento

Profesor del Departamento junto con Empresa o Institución

Propuesto por alumno (*)



(*) En el caso de TFG propuesto por alumno, por favor completar la siguiente información sobre el mismo:

Apellidos: Pérez Lorente

Nombre: Alicia Isabel

e-mail institucional: aliciapl@correo.ugr.es

2. MODALIDAD:

1. Estudio de casos, teóricos o prácticos, relacionados con la temática del Grado

2. Elaboración de un informe o un proyecto de naturaleza profesional
3. Elaboración de un plan de empresas
4. Simulación de encargos profesionales
5. Trabajos experimentales, de toma de datos.
6. Trabajos bibliográficos sobre el estado actual de una temática relacionada con el Grado.
7. Trabajos derivados de la experiencia desarrollada en prácticas externas. ■

3. COMPETENCIAS Y RESULTADOS DEL APRENDIZAJE:

CG1 - Capacidad para la modelización, simulación y optimización de procesos y productos Biotecnológicos.

CG5 - Capacidad para comprender los mecanismos de modificación de los sistemas biológicos y proponer procedimientos de mejora y utilización de los mismos.

CG7 - Diseñar nuevos productos a partir de la modificación de organismos y modelización de fenómenos biológicos.

CB2 - Que los estudiantes sepan aplicar sus conocimientos a su trabajo o vocación de una forma profesional y posean las competencias que suelen demostrarse por medio de la elaboración y defensa de argumentos y la resolución de problemas dentro de su área de estudio.

CB3 - Que los estudiantes tengan la capacidad de reunir e interpretar datos relevantes (normalmente dentro de su área de estudio) para emitir juicios que incluyan una reflexión sobre temas relevantes de índole social, científica o ética.

CB4 - Que los estudiantes puedan transmitir información, ideas, problemas y soluciones a un público tanto especializado como no especializado.

CB5 - Que los estudiantes hayan desarrollado aquellas habilidades de aprendizaje necesarias para emprender estudios posteriores con un alto grado de autonomía.

CT1 - Capacidad de análisis y síntesis.

CT2 - Capacidad de organizar y planificar.

CT3 - Capacidad de aplicar los conocimientos en la práctica y de resolver problemas

CT4 - Capacidad de comunicar de forma oral y escrita en las lenguas del Grado.

CT5 - Razonamiento crítico.

CE5 - Ser capaz de diseñar modelos simples para la experimentación en un problema biotecnológico y extraer resultados de los datos.

CE27 - Adquirir las habilidades necesarias para diseñar nuevos procesos biotecnológicos mediante la obtención de productos con cualidades nuevas o mejoradas.

El desarrollo del TFG que se propone contribuirá a una adecuada y multidisciplinar formación investigadora de la estudiante de Grado mediante el aprendizaje de gran diversidad de técnicas relacionadas con la microbiología (cultivo de bacterias, centrifugación, fraccionamiento de las mismas, etc.), de expresión génica (fusiones transcripcionales al gen lacZ, aislamiento de ARN, qRT-PCR), y bioquímicas (aislamiento e inmunodetección de proteínas, análisis de N₂O mediante cromatografía gaseosa) entre otras. Por otro lado, la estudiante de Grado se formará en la lectura y discusión de referencias bibliográficas, y en la elaboración de una memoria conteniendo los resultados de la investigación que desarrolle.

. BIBLIOGRAFIA BÁSICA

Zumft, W. G. (1997). Cell biology and molecular basis of denitrification. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 61, 533–616.

Wunsch, P., and Zumft, W. G. (2005). Functional domains of NosR, a novel transmembrane iron-sulfur flavoprotein necessary for nitrous oxide respiration. *J. Bacteriol.* 187, 1992–2001. doi: 10.1128/JB.187.6.1992-2001.

Zumft, W. G. (2005). Biogenesis of the bacterial respiratory CuA, Cu-S enzyme nitrous oxide reductase. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.* 10, 154–166. doi: 10.1159/000091562

Zumft, W. G., and Kroneck, P. M. (2007). Respiratory transformation of nitrous oxide (N₂O) to dinitrogen by Bacteria and Archaea. *Adv. Microb. Physiol.* 52, 107–227. doi: 10.1016/S0065-2911(06)52003-X

Torres MJ, Simon J, Rowley G, Bedmar EJ, Richardson DJ, Gates AJ, Delgado MJ. 2016. Nitrous Oxide Metabolism in Nitrate-Reducing Bacteria: Physiology and Regulatory Mechanisms. *Adv Microb Physiol.* 68:353-432. doi: 10.1016/bs.ampbs.2016.02.007.

Bueno E, Robles EF, Torres MJ, Krell T, Bedmar EJ, Delgado MJ, Mesa S. 2017. Disparate response to microoxia and nitrogen oxides of the *Bradyrhizobium japonicum* *napEDABC*, *nirK* and *norCBQD* denitrification genes. *Nitric Oxide.* 68:137-149. doi: 10.1016/j.niox.2017.02.002.

Torres MJ, Bueno E, Jiménez-Leiva A, Cabrera JJ, Bedmar EJ, Mesa S, Delgado MJ. 2017. FixK₂ is the main transcriptional activator of *Bradyrhizobium diazoefficiens* *nosRZDYFLX* genes in response to low oxygen. *Frontiers in Microbiology*, 8:1621. doi: 10.3389/fmicb.2017.01621

5. ACLARACIONES PARA EL ESTUDIANTE:

3. DATOS DEL TUTOR/A UGR:

Apellidos: Martínez Bueno
Teléfono: 958243397

Nombre: Manuel
e-mail: mmartine@ugr.es

**En el caso de trabajos desarrollados en Empresas u otras Instituciones ajenas a la Universidad de Granada, por favor completar la siguiente información:

TUTOR/A DE LA EMPRESA O INSTITUCIÓN:

Apellidos: Delgado Igeño

Nombre: María Jesús

Empresa/Institución: Estación Experimental del Zaidín/CSIC

Teléfono: 958181600 (ext. 327) **e-mail:** mdelgado@eez.csic.es