UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Propuesta TFG. Curso 2024/2025

GRADO: Grado en Biología

CÓDIGO DEL TFG: 200-154-2024/2025

1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Generación de partículas lentivirales para expresión constitutiva de variantes genéticas asociadas a Hipofosfatasia

Descripción general (resumen y metodología):

La Hipofosfatasia (HPP) es una enfermedad genética rara y, en algunos casos letal, caracterizada principalmente por defectos en la mineralización ósea y dental (1). La prevalencia de esta enfermedad es difícil de estimar debido al desconocimiento de este trastorno, a la alta tasa de infradiagnóstico de la enfermedad, y al solapamiento de la sintomatología con otros trastornos más frecuentes. En España se ha estimado que la prevalencia de las formas moderadas de HPP podría ser de 1/3.100 (2). Esta enfermedad está causada por una o más mutaciones en el gen ALPL que codifica la proteína fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNSALP) (3) cuya función es la hidrólisis de los enlaces monoéster de diversas moléculas fosforiladas para producir fosfato inorgánico (Pi). Entre los sustratos de TNSALP podemos destacar el pirofosfato inorgánico (PPi) cuya hidrólisis da lugar a Pi, (necesario para la producción de cristales de hidroxiapatita (4) implicados en la formación ósea). El piridoxal-5-fosfato (PLP), también conocido como vitamina B6, es otro sustrato importante de TNSALP y un precursor de algunos neurotransmisores (1) por lo que algunos pacientes afectados presentan además trastornos a nivel neurológico. Entre otros sustratos de TNSALP se encuentran algunos precursores inflamatorios como lipopolisacáridos bacterianos (LPS) (5), adenosin trifosfato (ATP) (6) y osteopontina fosforilada (7), lo que sugiere una potencial función de TNSALP a nivel inflamatorio, aunque este aspecto no ha sido estudiado hasta la fecha en humanos. Para estudiar el papel de TNSALP a nivel inflamatorio, se pretende llevar a cabo este proyecto, con objeto de realizar la caracterización funcional de nuevas variantes identificadas en el gen ALPL en el contexto de la inflamación. Para ello se construirán partículas lentivirales para la expresión de las variantes genéticas a estudiar en distintas líneas celulares inmunitarias. Tras la expresión de las variantes, se realizarán distintos ensayos de actividad que se detallan en la metodología. Con esta aproximación, pretendemos caracterizar la proteína TNSALP en el contexto inflamatorio/inmunitario, ya que actualmente no existen evidencias científicas en esta línea. Así, este proyecto pretende avanzar en el conocimiento a nivel molecular de la relación entre actividad fosfatasa alcalina y desarrollo de alteraciones autoinmunes y/o inflamatorias.

Tipología: Trabajos experimentales, de toma de datos de campo o de laboratorio.

Objetivos planteados:

El objetivo general de esta trabajo es estudiar el papel regulador de TNSALP en respuesta a estímulos proinflamatorios en Linfocitos, Monocitos y Neutrófilos mediante ensayos in vitro por generación de partículas lentivirales, para lo cual se establecen los siguientes objetivos específicos: 1. Construcción de plásmidos lentivirales con las variantes del gen ALPL identificadas en la cohorte de pacientes HPP. 2. Producción de partículas lentivirales y determinación de la titulación para la transducción de distintas líneas celulares. 3. Ensayos de actividad de ALP en las distintas líneas celulares transducidas y ensayos in vitro de inflamación.

Bibliografía básica:

1. Villa-Suárez, J. M. et al. Hypophosphatasia: A Unique Disorder of Bone Mineralization. Int. J. Mol. Sci. 22, 4303 (2021). 2. García-Fontana, C. et al. Epidemiological, Clinical and Genetic Study of Hypophosphatasia in A Spanish Population: Identification of Two Novel Mutations in The Alpl Gene. Sci. Rep. 9, 9569 (2019). 3. Whyte, M. P. Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis,

diagnosis and treatment. Nat. Rev. Endocrinol. 12, 233 -246 (2016). 4. Mornet, E. Hypophosphatasia. Metab. - Clin. Exp. 82, 142 -155 (2018). 5. Pettengill, M. et al. Human alkaline phosphatase dephosphorylates microbial products and is elevated in preterm neonates with a history of late-onset sepsis. PloS One 12, e0175936 (2017). 6. Rader, B. A. Alkaline Phosphatase, an Unconventional Immune Protein. Front. Immunol. 8, 897 (2017). 7. Narisawa, S., Yadav, M. C. & Millán, J. L. In vivo overexpression of tissue-nonspecific alkaline phosphatase increases skeletal mineralization and affects the phosphorylation status of osteopontin. J. Bone Miner. Res. Off. J. Am. Soc. Bone Miner. Res. 28, 1587 -1598 (2013).

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: FRANCISCO DAVID MARTÍN OLIVA

Ámbito de conocimiento/Departamento: BIOLOGÍA CELULAR

Correo electrónico: dmoliva@ugr.es

3. COTUTOR/A DE LA UGR (en su caso):

Nombre y apellidos:

Ámbito de conocimiento/Departamento:

Correo electrónico:

4. COTUTOR/A EXTERNO/A (en su caso):

Nombre y apellidos: Beatriz García Fontana

Correo electrónico: bgfontana@fibao.es

Nombre de la empresa o institución: Instituto de Investigación Biosanitaria de Granada - FIBAO

Dirección postal: Avda. Madrid, 15. Granada

Puesto del tutor en la empresa o institución: Investigadora Postdoctoral Miguel Servet

Centro de convenio Externo:

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos: CARLOS MARTIN VILLEGAS

Correo electrónico: carlosmxrtin@correo.ugr.es