



1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Análisis de la actividad helicasa de Pif1 sobre estructuras secundarias del ADN

Descripción general (resumen y metodología):

El ADN repetitivo se encuentra presente en el genoma de bacterias, plantas y animales. Concretamente, en humanos, representa casi el 50% del genoma. Una gran proporción de secuencias repetitivas aparecen en tándem, pudiéndose expandir o contraer durante los procesos metabólicos del ADN. Estas expansiones conducen a la aparición de enfermedades neurodegenerativas como el Huntington o el Síndrome de X frágil. Además, las secuencias repetitivas pueden formar estructuras secundarias como "G-Quadruplex", "hairpins" o "triplex". En un estudio anterior, demostramos que las secuencias repetitivas del ADN actúan como barrera para la maquinaria de replicación. Esto se debe a la formación de estructuras secundarias en el ADN que han de ser resueltas por helicasas accesorias como Pif1. En este TFG hipotetizamos que algunas de estas secuencias repetitivas pueden bloquear la actividad helicasa de Pif1.

Plan de trabajo:

- La preparación de sustratos se llevará a cabo utilizando un protocolo de hibridación de ADN establecido en el laboratorio. La purificación de Pif1 se llevará a cabo utilizando equipamiento FPLC y resinas de afinidad siguiendo el protocolo descrito en Deegan TD et al. Mol Cell, 2019. Para medir la actividad helicasa se realizarán ensayos helicasa siguiendo el protocolo descrito en Casas-Delucchi & Daza-Martin et al. Nat Commun, 2022.

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

Objetivos planteados:

- Preparación de hebras de doble cadena para medir la actividad helicasa.
- Purificación de proteína recombinante Pif1 y Pif1 K264A.
- Ensayos enzimáticos de actividad helicasa in vitro combinando las hebras de doble cadena y la proteína recombinante.

Bibliografía básica:

Deegan TD, Baxter J, Ortiz Bazán MÁ, Yeeles JTP, Labib KPM. Pif1-Family Helicases Support Fork Convergence during DNA Replication Termination in Eukaryotes. Mol Cell. 2019 Apr 18;74(2):231-244.e9. doi: 10.1016/j.molcel.2019.01.040. Epub 2019 Mar 5. PMID: 30850330; PMCID: PMC6477153.

Casas-Delucchi CS, Daza-Martin M, Williams SL, Coster G. The mechanism of replication stalling and recovery within repetitive DNA. Nat Commun. 2022 Jul 19;13(1):3953. doi: 10.1038/s41467-022-31657-x. PMID: 35853874; PMCID: PMC9296464

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Actividades y dedicación estimada:

Planteamiento, orientación y supervisión; 10 horas

Exposición del trabajo: 2 horas

Desarrollo del trabajo: 238 horas

Preparación de la memoria: 50 horas

Total: 300 horas (12 ECTS)

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: INMACULADA LÓPEZ FLORES

Ámbito de conocimiento/Departamento: GENÉTICA

Correo electrónico: ilopez@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: Manuel Daza Martín

Correo electrónico: manuel.daza@ipb.csic.es

Nombre de la empresa o institución: Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra"

Dirección postal: Parque Tecnológico de Ciencias de la Salud. Avenida del Conocimiento, 17. 18016 Armilla (Granada)

Puesto del tutor en la empresa o institución: Jefe de Grupo - Programa Ramón y Cajal

Centro de convenio Externo: Instituto de Parasitología y Biomedicina "López-Neyra"

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos: PAULA VIVAS VILCHEZ

Correo electrónico: paulavivas@correo.ugr.es