



1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Modificación de las propiedades redox de la tioredoxina atípica ACHT2 de *Arabidopsis thaliana* mediante mutagénesis dirigida del sitio activo.

Descripción general (resumen y metodología):

Las tioredoxinas (TRXs) clásicas son proteínas de pequeño tamaño con un sitio activo del tipo CGPC y reducen puentes disulfuro en sus dianas. En plantas, las TRXs cloroplastídicas son importantes señalizadores redox de procesos dependientes de luz y que se pueden clasificar en diferentes tipos. Por ejemplo, las TRXs f regulan el ciclo de Calvin-Benson y la biosíntesis de azúcares en cloroplastos. Además de estas TRXs clásicas, en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* existen las TRXs atípicas, las ACHTs (Atypical Cysteine and Histidine rich Thioredoxins). Estas proteínas poseen un sitio activo del tipo CASC además de una extensión C-terminal que no poseen las TRXs clásicas y que funcionan como TRXs oxidantes.

El cDNA de ACHT2a de *Arabidopsis* se encuentra ya clonado en el vector de expresión pET28b. El alumno/a diseñará oligonucleótidos para llevar a cabo la mutagénesis dirigida del sitio activo, que pasaría del tipo CASC a CGPC. Este cambio provocaría una mayor capacidad reductora de ACHT2a. Para validar esta hipótesis, la proteína se expresaría en *Escherichia coli* y se purificaría con columnas de afinidad por Co²⁺. Una vez purificada, se probaría la capacidad de activación de la fructosa-1,6-bisfosfatasa (cFBP1). En los ensayos de activación, la nueva versión de ACHT2a se compararía con la versión silvestre y con el reductor fisiológico de cFBP1, la TRX f.

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

Objetivos planteados:

El objetivo del TFG consistirá en modificar la proteína ACHT2 para obtener una versión más reductora de esta TRX. Se valorará una posible aplicación biotecnológica en plantas.

Bibliografía básica:

- 1) Dangoor, I., Peled-Zehavi, H., Levitan, A., Pasand, O., & Danon, A. (2009). A small family of chloroplast atypical thioredoxins. *Plant physiology*, 149(3), 1240-1250. <https://doi.org/10.1104/pp.108.128314>
- 2) Yokochi, Y., Sugiura, K., Takemura, K., Yoshida, K., Hara, S., Wakabayashi, K. I., Kitao, A., & Hisabori, T. (2019). Impact of key residues within chloroplast thioredoxin-f on recognition for reduction and oxidation of target proteins. *The Journal of biological chemistry*, 294(46), 17437-17450. <https://doi.org/10.1074/jbc.RA119.010401>
- 3) Yokochi, Y., Fukushi, Y., Wakabayashi, K. I., Yoshida, K., & Hisabori, T. (2021). Oxidative regulation of chloroplast enzymes by thioredoxin and thioredoxin-like proteins in *Arabidopsis thaliana*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(51), e2114952118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2114952118>

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: JOSÉ ÁNGEL TRAVERSO GUTIÉRREZ

Ámbito de conocimiento/Departamento: BIOLOGÍA CELULAR

Correo electrónico: traverso@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: Antonio Jesús Serrato Recio

Correo electrónico: antonio.serrato@eez.csic.es

Nombre de la empresa o institución: Estación Experimental del Zaidín (CSIC)

Dirección postal: C/Profesor Albareda. Granada 18006

Puesto del tutor en la empresa o institución: Científico Titular

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos:

Correo electrónico: