



1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Aproximación PROTAC para antivirales de amplio espectro: inhibición sinérgica de NEDD4 como diana ESCRT

Descripción general (resumen y metodología):

DESCRIPCIÓN GENERAL Y METODOLOGÍA

El trabajo que se propone se enmarca en una línea de investigación cuyo objetivo general es el desarrollo de antivirales de amplio espectro dirigidos contra dianas humanas esenciales para la gemación de múltiples familias de virus, incluyendo retrovirus (VIH, HTLV), filovirus (Ebola, Marburgo), rhabdovirus (Rabia) y arnavirus (Lassa). En el contexto de proyectos anteriores se han identificado candidatos antivirales prometedores, que bloquean el reclutamiento de la ruta ESCRT (encargada de la gestión de membranas en la célula), que es esencial para la gemación y proliferación de muchas familias de virus. Una de las líneas de investigación que se están explorando para la optimización de dichos candidatos es el desarrollo de estrategias tipo PROTACS (proteolysis-targeting chimeras) diseñadas selectivamente para degradar componentes esenciales de la ruta ESCRT. Uno de estos componentes es la ligasa de ubiquitina NEDD4

NEDD4 es una proteína multidominio que consta de un dominio de unión a calcio (C2), cuatro dominios WW de reconocimiento de sustratos y un dominio catalítico tipo HECT.

En particular, uno de nuestros objetivos es aprovechar la actividad como ligasa de ubiquitina de la proteína ESCRT NEDD4 para abordar una estrategia de bloqueo sinérgico del reclutamiento ESCRT por dos vías (la interacción de NEDD4-WW3 con dominios L víricos y la inhibición de la actividad catalítica de NEDD4).

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

Objetivos planteados:

OBJETIVOS PLANTEADOS

El trabajo se realizará en el Departamento de Química Física de la UGR y tiene como objetivos:

1.- Puesta a punto de los protocolos de expresión y purificación del dominio catalítico HECT de la proteína NEDD4.

2.- Caracterización de la actividad catalítica y evaluación de la capacidad inhibitoria de candidatos seleccionados. Este objetivo se desarrollará en colaboración con profesor Marco Radi (Universidad de Parma), quien proporcionará candidatos antivirales optimizados para testar su capacidad de inhibición de la actividad ubiquitina-ligasa de NEDD4-HECT.

PLAN DE TRABAJO:

Objetivo 1.- Puesta a punto del protocolo de expresión y purificación de NEDD4-HECT

1. Búsqueda bibliográfica sobre la proteína NEDD4 (dominio HECT) y sus protocolos de expresión y purificación.
2. Expresión de la proteína mediante un plásmido de ADN recombinante en bacterias e-coli.
3. Purificación de la proteína expresada mediante distintas técnicas de cromatografía de afinidad
4. Seguimiento de todo el proceso mediante electroforesis en gel de poliacrilamida.

Objetivo 2.- Caracterización de la actividad catalítica y medida de la efectividad de candidatos inhibidores

5. Búsqueda bibliográfica sobre la proteína NEDD4 (dominio HECT) y sus protocolos de medida de su actividad catalítica. En caso necesario, la búsqueda se extenderá a otras ligasas de ubiquitina.

6. Identificación de los dos mejores ensayos basados en técnicas espectroscópicas ortogonales.
7. Puesta a punto del protocolo experimental para la medida de la actividad ubiquitina ligasa. Evaluación de la calidad de ensayos.
8. Caracterización de la capacidad inhibitoria de candidatos prometedores proporcionados por el Dr. Marco Radi.

Bibliografía básica:

Huang X, Chen J, Cao W, Yang L, Chen Q, He J, Yi Q, Huang H, Zhang E, Cai Z. The many substrates and functions of NEDD4-1. Cell Death Dis. 2019 Dec 2;10(12):904. doi: 10.1038/s41419-019-2142-8. PMID: 31787758; PMCID: PMC6885513.

Wang Y, Argiles-Castillo D, Kane EI, Zhou A, Spratt DE. HECT E3 ubiquitin ligases - emerging insights into their biological roles and disease relevance. J Cell Sci. 2020 Apr 7;133(7):jcs228072. doi: 10.1242/jcs.228072. Erratum in: J Cell Sci. 2020 Dec 21;133(24):jcs258087. doi: 10.1242/jcs.258087. PMID: 32265230; PMCID: PMC7157599.

Xu Q, Zhu N, Chen S, Zhao P, Ren H, Zhu S, Tang H, Zhu Y, Qi Z. E3 Ubiquitin Ligase Nedd4 Promotes Japanese Encephalitis Virus Replication by Suppressing Autophagy in Human Neuroblastoma Cells. Sci Rep. 2017 Mar 28;7:45375. doi: 10.1038/srep45375. PMID: 28349961; PMCID: PMC5368976.

Liang J, Wu Y, Lan K, Dong C, Wu S, Li S, Zhou HB. Antiviral PROTACs: Opportunity borne with challenge. Cell Insight. 2023 Mar 27;2(3):100092. doi: 10.1016/j.cellin.2023.100092. Erratum in: Cell Insight. 2025 Jan 11;4(2):100225. doi: 10.1016/j.cellin.2024.100225. PMID: 37398636; PMCID: PMC10308200.

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

Conocimientos de inglés a nivel B2 para la lectura y comprensión de artículos relacionados con la temática del trabajo

Interés en estudios biofísicos y biología estructural de proteínas

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: IRENE LUQUE FERNÁNDEZ

Ámbito de conocimiento/Departamento: QUÍMICA FÍSICA

Correo electrónico: iluque@ugr.es

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

Nombre y apellidos: PATRICIA FERNANDEZ GALINDO

Ámbito de conocimiento/Departamento: QUÍMICA FÍSICA

Correo electrónico: patriciafergal@ugr.es

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

Nombre y apellidos:

Correo electrónico:

Nombre de la empresa o institución:

Dirección postal:

Puesto del tutor en la empresa o institución:

Centro de convenio Externo:

5. DATOS DEL ESTUDIANTE:

Nombre y apellidos: NICOLAS CASADO RUIZ

Correo electrónico: niccr3435@correo.ugr.es