UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Propuesta TFG. Curso 2026/2027

GRADO: Grado en Biología

CÓDIGO DEL TFG: 200-028-2026/2027

1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Metabolismo de nucleótidos y su influencia en enfermedades raras

Descripción general (resumen y metodología):

Las **enfermedades mitocondriales (MD)** constituyen un importante grupo de trastornos genéticos raros que representan un desafío tanto para su diagnóstico como para su tratamiento, ya que representan una gran heterogeneidad en todos los niveles: clínico, bioquímico y genético[1-3]. Los datos epidemiológicos indican que aproximadamente 1 de cada 4,300 personas es afectado por MD[4].

Entre los múltiples subtipos de MD, los defectos en el mantenimiento del ADN mitocondrial (mtDNA) son trastornos particularmente frecuentes y graves, y menos estudiados. En estas condiciones, variantes patogénicas primarias en genes del ADN nuclear (nDNA) provocan una inestabilidad secundaria del mtDNA, que se manifiesta como depleción del mtDNA, múltiples deleciones, o ambas[5]. Estudios en pacientes afectados han demostrado que unas de las condiciones causantes de MD son las variantes patogénicas bialélicas en el gen GUK1, que codifica la guanilato quinasa 1, una enzima que cataliza la fosforilación del monofosfato de guanosina y del monofosfato de desoxiguanosina (GMP y dGMP [(d)GMP]) a difosfato de guanosina y difosfato de desoxiguanosina (GDP y dGDP [(d)GDP]), y existe en dos variantes: citosólica y mitocondrial[6]. La reducción de la actividad de GUK1 lleva al desbalance del pool dNTP mitocondrial y agotamiento de mtDNA, lo cual se manifiesta en el síndrome de depleción de DNA mitocondrial (MDDS).

La generación de un modelo animal que reproduzca la enfermedad humana causada por GUK1 es fundamental para la evaluación preclínica de estrategias terapéuticas. Recientemente se ha desarrollado un nuevo modelo de ratón knock-in/knock-out ($cGuk1^{KI/KO}$) de inicio tardío inducido por tamoxifeno (a los 2.5 meses de vida), que manifiesta la disfunción orgánica sistémica[7]. Hace falta caracterizar completamente el modelo para comprender mejor como el metabolismo de los nucleótidos influye en el MDDS. Los datos se analizarán a los 25 días después de la inducción del transgén), cuando todos los ratones están vivos pero son sintomáticos. Los ratones $Guk1^{KI/LoxP}$ CRE-ER-negativos servirán como controles.

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

Objetivos planteados:

Hito:

Caracterizar un nuevo modelo de ratón knock-in/knock-out ($cGuk1^{KI/KO}$) de inicio tardío inducido por tamoxifeno, para comprender mejor el metabolismo de nucleótidos; al igual que evaluar cómo se afecta la respiración mitocondrial.

Objetivos planteados:

1. Se evaluará el metabolismo de nucleótidos utilizando tanto los tejidos afectados (músculo esquelético, cerebro, hígado, bazo, timo, intestino) como los no afectados (p. ej., riñón). Para esto se analizarán los niveles de mRNA de las proteínas clave de la síntesis de purinas y pirimidinas: isoformas mitocondrial y citosólica de GUK1, DGUOK, TK1, TK2, DHODH, AK mediante RT-qPCR con sondas Taqman. Al mismo tiempo, se medirán los niveles de expresión de las proteínas mediante Western blot (WB).
2. Se estudiará la bioenergética mitocondrial. La deficiencia de GUK1 provoca una disminución de la función mitocondrial. Se evaluará la funcionalidad mitocondrial mediante la medición de los complejos respiratorios mitocondriales individualmente por espectrofotometría. Si se encuentran diferencias entre grupos experimentales, plantearemos realizar estudio de función mitocondrial a través de respiración mitocondrial con el analizador de flujo Seahorse (Agilent).

Bibliografía básica:

1. DiMauro, S. et al. Nat Rev Neurol **9**, 429-444, doi:10.1038/nrneurol.2013.126 (2013).
2. Schon, E. A. et al. Nature reviews. Genetics **13**, 878-890, doi:10.1038/nrg3275 (2012).
3. Gorman, G. S. et al. Nat Rev Dis Primers **2**, 16080, doi:10.1038/nrdp.2016.80 (2016).
4. Schaefer, A. M. et al. Ann Neurol **63**, 35-39, doi:10.1002/ana.21217 (2008).
5. Hirano, M. in The Molecular and Genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease 177-185 (Lippincott Williams & Wilkins, 2007).
6. Jong, A. Y. et al. J Biomed Sci **5**, 62-68, doi:10.1007/BF02253357 (1998).
7. Hidalgo-Gutierrez, A. et al. Ann Neurol **96**, 1209-1224, doi:10.1002/ana.27071 (2024).

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

El estudiante tiene que comprometerse a aprender y realizar las técnicas propuestas, tener capacidad de análisis de los resultados, y participar en la toma de decisiones.
El conocimiento de la lengua extranjera (inglés) es importante para leer artículos científicos y realizar su análisis crítico.
Al igual que se debe aprender a usar el sistema Stratagene QuantStudio 7 Pro (Applied Biosystems) para las qRT-PCR y el software 1D Image Analysis. También se aprenderá a emplear técnicas de espectrofotometría. El uso de Searhorse se aplicará para alcanzar determinados objetivos. La representación y el análisis de los datos se realizarán con el programa GraphPad Prism 9. Capacidad para trabajar en equipo, iniciativa y espíritu emprendedor.

Plazas: 1

2. DATOS DEL TUTOR/A:

Nombre y apellidos: IRYNA RUSANOVA RUSANOVA

Ámbito de conocimiento/Departamento: BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR I

Correo electrónico: irusanova@ugr.es

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

Nombre y apellidos: AGUSTIN HIDALGO GUTIERREZ

Ámbito de conocimiento/Departamento: FISIOLOGÍA

Correo electrónico: ahg@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: VALENTINA SANCHEZ RAMOS

Correo electrónico: valentinasr@correo.ugr.es

TFG1 2025-26

Valentina Sánchez Rámos, 49302403V

valentinasr@correo.ugr.es

Metabolismo de nucleótidos y su influencia en enfermedades raras

Descripción general (resumen y metodología)

Las **enfermedades mitocondriales (MD)** constituyen un importante grupo de trastornos genéticos raros que representan un desafío tanto para su diagnóstico como para su tratamiento, ya que representan una gran heterogeneidad en todos los niveles: clínico, bioquímico y genético[1-3]. Los datos epidemiológicos indican que aproximadamente 1 de cada 4,300 personas es afectado por MD[4].

Entre los múltiples subtipos de MD, los defectos en el mantenimiento del ADN mitocondrial (mtDNA) son trastornos particularmente frecuentes y graves, y menos estudiados. En estas condiciones, variantes patogénicas primarias en genes del ADN nuclear (nDNA) provocan una inestabilidad secundaria del mtDNA, que se manifiesta como depleción del mtDNA, múltiples deleciones, o ambas[5]. Estudios en pacientes afectados han demostrado que unas de las condiciones causantes de MD son las variantes patogénicas bialélicas en el gen GUK1, que codifica la guanilato quinasa 1, una enzima que cataliza la fosforilación del monofosfato de guanosina y del monofosfato de desoxiguanosina (GMP y dGMP [(d)GMP]) a difosfato de guanosina y difosfato de desoxiguanosina (GDP y dGDP [(d)GDP]), y existe en dos variantes: citosólica y mitocondrial[6]. La reducción de la actividad de GUK1 lleva al desbalance del pool dNTP mitocondrial y agotamiento de mtDNA, lo cual se manifiesta en el síndrome de depleción de DNA mitocondrial (MDDS).

La generación de un modelo animal que reproduzca la enfermedad humana causada por GUK1 es fundamental para la evaluación preclínica de estrategias terapéuticas. Recientemente se ha desarrollado un nuevo modelo de ratón knock-in/knock-out ($cGuk1^{KI/KO}$) de inicio tardío inducido por tamoxifeno (a los 2.5 meses de vida), que manifiesta la disfunción orgánica sistémica[7]. Hace falta caracterizar completamente el modelo para comprender mejor como el metabolismo de los nucleótidos influye en el MDDS. Los datos se analizarán a los 25 días después de la inducción del transgén), cuando todos los ratones están vivos pero son sintomáticos. Los ratones $Guk1^{KI/LoxP}$ CRE-ER-negativos servirán como controles.

Hito:

Caracterizar un nuevo modelo de ratón knock-in/knock-out ($cGuk1^{KI/KO}$) de inicio tardío inducido por tamoxifeno, para comprender mejor el metabolismo de nucleótidos; al igual que evaluar cómo se afecta la respiración mitocondrial.

Objetivos planteados:

1. Se evaluará el metabolismo de nucleótidos utilizando tanto los tejidos afectados (músculo esquelético, cerebro, hígado, bazo, timo, intestino) como los no afectados (p. ej., riñón). Para esto se analizarán los niveles de mRNA de las proteínas clave de la síntesis de purinas y pirimidinas: isoformas mitocondrial y citosólica de GUK1, DGUOK, TK1, TK2, DHODH, AK mediante RT-qPCR con sondas Taqman. Al mismo tiempo, se medirán los niveles de expresión de las proteínas mediante Western blot

(WB).

2. Se estudiará la bioenergética mitocondrial. La deficiencia de GUK1 provoca una disminución de la función mitocondrial. Se evaluará la funcionalidad mitocondrial mediante la medición de los complejos respiratorios mitocondriales individualmente por espectrofotometría. Si se encuentran diferencias entre grupos experimentales, plantearemos realizar estudio de función mitocondrial a través de respiración mitocondrial con el analizador de flujo Seahorse (Agilent).

Bibliografía básica

1. DiMauro, S. *et al. Nat Rev Neurol* **9**, 429-444, doi:10.1038/nrneurol.2013.126 (2013).
2. Schon, E. A. *et al. Nature reviews. Genetics* **13**, 878-890, doi:10.1038/nrg3275 (2012).
3. Gorman, G. S. *et al. Nat Rev Dis Primers* **2**, 16080, doi:10.1038/nrdp.2016.80 (2016).
4. Schaefer, A. M. *et al. Ann Neurol* **63**, 35-39, doi:10.1002/ana.21217 (2008).
5. Hirano, M. in *The Molecular and Genetic Basis of Neurologic and Psychiatric Disease* 177-185 (Lippincott Williams & Wilkins, 2007).
6. Jong, A. Y. *et al. J Biomed Sci* **5**, 62-68, doi:10.1007/BF02253357 (1998).
7. Hidalgo-Gutierrez, A. *et al. Ann Neurol* **96**, 1209-1224, doi:10.1002/ana.27071 (2024).

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante

El estudiante tiene que comprometerse a aprender y realizar las técnicas propuestas, tener capacidad de análisis de los resultados, y participar en la toma de decisiones.
El conocimiento de la lengua extranjera (inglés) es importante para leer artículos científicos y realizar su análisis crítico.Al igual que se debe aprender a usar el sistema Stratagene QuantStudio 7 Pro (Applied Biosystems) para las qRT-PCR y el software 1D Image Analysis. También se aprenderá a emplear técnicas de espectrofotometría. El uso de Searhorse se aplicará para alcanzar determinados objetivos. La representación y el análisis de los datos se realizarán con el programa GraphPad Prism 9. Capacidad para trabajar en equipo, iniciativa y espíritu emprendedor.