UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

Propuesta TFG. Curso 2026/2027

GRADO: Grado en Biología

CÓDIGO DEL TFG: 200-027-2026/2027

1. DATOS BÁSICOS DEL TFG:

Título: Mecanismos moleculares de terapia propuesta para el síndrome de deficiencia del ADN mitocondrial

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]. El síndrome de depleción de ADN mitocondrial ("mitochondrial DNA depletion syndrome" – MDDS) debido a una deficiencia primaria de GUK1 es una enfermedad debilitante y progresiva para la cual actualmente no existen tratamientos disponibles. Estudios preliminares en células de pacientes han mostrado eficacia con forodesina, dG o la combinación de ambos.

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[6] y se asemeja a los síntomas desarrollados en humanos. Trasladaremos estas terapias a ratones cGuk1KI/KO, iniciando el tratamiento el mismo día de la inyección de tamoxifeno, antes de la aparición de los síntomas, con el fin de evaluar la posible prevención de estos. Anticiparemos una reducción de los niveles de ADNmt y disfunción mitocondrial en los tejidos afectados. Se evaluará el efecto del tratamiento sobre el metabolismo de nucleótidos. Se usarán 3 grupos de ratones (($GUK1^{KI/LOXP}$ control, $cGUK1^{KI/KO}$, $cGUK1^{KI/KO}$ + tratamiento).

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

Objetivos planteados:

Hito:

Evaluar la efectividad de la terapia farmacológica propuesta en el modelo cGuk1KI/KO de inicio tardío inducido por tamoxifeno, para comprender mejor el metabolismo de nucleótidos; y el efecto del tratamiento propuesto.

Objetivos planteados

1. Se evaluará el efecto del tratamiento sobre 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. Evaluación del metabolismo de nucleótidos: Se realizará qPCR para evaluar niveles de mtDNA, se usarán sondas específicas para mtDNA y se compararán con RNAasa P, nADN. Mediremos el transcrito total de Guk1 mediante qPCR utilizando una sonda TaqMan específica para GUK1, evaluaremos los niveles de proteína GUK1 mediante Western blot (WB) y determinaremos las actividades de GUK1 en citosol y mitocondrias.

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. Hidalgo-Gutierrez, A. et al. Ann Neurol **96**, 1209-1224, doi:10.1002/ana.27071 (2024).

Recomendaciones y orientaciones para el estudiante:

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.
Conocimiento de lengua extranjera (inglés) es importante para poder leer artículos científicos y hacer su análisis crítico.
Al igual que se debe aprender a usar sistema Stratagene QuantStudio 7 Pro (Applied Biosystems) para las qRT-PCR, software 1D Image Analysis y realizar Western blot. La representación y el análisis de los datos se realizarán con los programas GraphPad Prism 9. Capacidad de 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: OLIVER FERNANDEZ MARIN

Correo electrónico: oliverfm@correo.ugr.es

TFG2 2025-26

Oliver Fernández Marín 79249291P

oliverfm@correo.ugr.es

Por asignar

Mecanismos moleculares de terapia propuesta para el síndrome de deficiencia del ADN mitocondrial

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]. El síndrome de depleción de ADN mitocondrial ("mitochondrial DNA depletion syndrome" – MDDS) debido a una deficiencia primaria de GUK1 es una enfermedad debilitante y progresiva para la cual actualmente no existen tratamientos disponibles. Estudios preliminares en células de pacientes han mostrado eficacia con forodesina, dG o la combinación de ambos.
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[6] y se asemeja a los síntomas desarrollados en humanos. Trasladaremos estas terapias a ratones cGuk1KI/KO, iniciando el tratamiento el mismo día de la inyección de tamoxifeno, antes de la aparición de los síntomas, con el fin de evaluar la posible prevención de estos. Anticiparemos una reducción de los niveles de ADNmt y disfunción mitocondrial en los tejidos afectados. Se evaluará el efecto del tratamiento sobre el metabolismo de nucleótidos. Se usarán 3 grupos de ratones (($GUK1^{KI/LOXP}$ control, $cGUK1^{KI/KO}$, $cGUK1^{KI/KO}$ + tratamiento).

Hito:

Evaluar la efectividad de la terapia farmacológica propuesta en el modelo cGuk1KI/KO de inicio tardío inducido por tamoxifeno, para comprender mejor el metabolismo de nucleótidos; y el efecto del tratamiento propuesto.

Objetivos planteados

1. Se evaluará el efecto del tratamiento sobre 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. Evaluación del metabolismo de nucleótidos: Se realizará qPCR para evaluar niveles de

mtDNA, se usarán sondas específicas para mtDNA y se compararán con RNAasa P, nADN. Mediremos el transcrito total de Guk1 mediante qPCR utilizando una sonda TaqMan específica para GUK1, evaluaremos los niveles de proteína GUK1 mediante Western blot (WB) y determinaremos las actividades de GUK1 en citosol y mitocondrias.

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. 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.
Conocimiento de lengua extranjera (inglés) es importante para poder leer artículos científicos y hacer su análisis crítico.
Al igual que se debe aprender a usar sistema Stratagene QuantStudio 7 Pro (Applied Biosystems) para las qRT-PCR, software 1D Image Analysis y realizar Western blot. La representación y el análisis de los datos se realizarán con los programas GraphPad Prism 9.
Capacidad de trabajar en equipo, iniciativa y espíritu emprendedor.