



III ENCUENTRO DE MIEMBROS DEL IBT

FECHA: 23 DE JUNIO 25

LUGAR: SALÓN DE GRADOS
(FACULTAD DE CIENCIAS UGR)

Organiza: Instituto de Biotecnología

Financia: Microdur e Instituto de Biotecnología



**UNIVERSIDAD
DE GRANADA**



Facultad de Ciencias





III Encuentro Miembros Instituto de Biotecnología

Granada, 23 de Junio 2025

Edita: Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada

Responsable de organización: Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada

Organizadores: Lara Bossini Castillo, Francisco David Carmona López y Susana Vílchez Tornero

Diseño: Rocío Sánchez Gómez



ÍNDICE

PRESENTACIÓN.....	3
PROGRAMACIÓN.....	4
ABSTRACTS.....	6
LISTA DE PARTICIPANTES.....	15



PRESENTACIÓN

La dirección y Junta Directiva del Instituto de Biotecnología (**IBt**) de la Universidad de Granada presenta la celebración del **III Encuentro de Miembros del Instituto de Biotecnología (III EMIB)**, que tendrá lugar el 23 de Junio de 2025, en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada, en el Salón de Grados. Este año, Lara Bossini Castillo y Francisco David Carmona López, del **grupo BIO-109: Genómica Funcional y Evolutiva**, han sido los responsables de la organización del evento. Nuestro más sincero agradecimiento por la labor realizada.

El **IBt**, desde su creación en 1989 al amparo de la LRU, realiza, coordina, financia y organiza actividades con el objeto de promover la Biotecnología, la investigación de calidad y la transferencia de conocimientos a la sociedad.

El **EMIB** pretende ser una herramienta de comunicación entre los Miembros del Instituto, a través de una jornada anual de difusión científica, con objeto de fomentar el trabajo conjunto, explorar nuestras sinergias y favorecer futuras colaboraciones entre sus miembros. En esta tercera edición en el **EMIB** se presentarán, a todos los miembros del IBt, los resultados de los microproyectos financiados en la **II Convocatoria de Microproyectos del IBt**, programa que se inició en 2022 para impulsar la colaboración de los grupos del **IBt** entre sí. El encuentro tiene lugar dos semanas después del **VII Workshop de Jóvenes Biotecnólogos (VII WJB)**, otro evento organizado por el IBt para fomentar la Biotecnología.

Esperamos que la jornada sea fructífera y que sea de vuestro agrado.

En Granada, a 23 de Junio de 2025.

Susana Vílchez Tornero

Directora del Instituto de Biotecnología



PROGRAMACIÓN

9:30 – 9:55

Manuel Montalbán López (BIO160). **“Estudio del efecto sinérgico de hiptermia y antibióticos”**

9:55 – 10:20

Manuel Martínez Bueno (BIO160) y Emilia Guadix Escobar (BIO110). **“Caracterización de péptidos con actividad biológica y ensayos de toxicidad sobre *C. elegans* como modelo subrogado”**

10:20 – 10:45

Ana I. González García (FQM-368) y Luis Miguel de Pablos (CTS-183). **“Estudio de la capacidad de los polioxometalatos como sensor de actividad metabólica en células quiescentes”**

10:45 – 11:10

María del Carmen Hernández Valladares (FQM-208). **“Aislamiento y análisis proteómico basado en cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de lectinas en alimentos procesados”**

11:10 – 11:35

Javier Murciano Calles (FQM171). **“Generación de bibliotecas en péptidos cíclicos en fagos mediante ciclación química para la búsqueda de agentes antivirales y antimetastásicos”**

11:35 – 12:00 Café



12:00 – 12:25

Patricia Sánchez Lucas (BIO188). **“Evaluación de la capacidad de protección de bacterias halotolerantes con actividad *quorum quenching* frente a fitopatógenos en frutos”**

12:25 – 12:50

Francisco Rivas Sánchez (FQM-139). **“Derivados del ácido maslínico como agentes inhibidores de la proteasa del hiv-1”**

12:50 – 13:15

Francisco Conejero Lara (FQM-171) y Susana Vílchez Tornero (CTS 183). **“Caracterización termodinámica y estructural de la oxalato descarboxilada producida por *Bacillus pumilus* 15.1”**

13:15 – 13:40

Andrés Torres Llamas (BIO176). **“Estudio de la microbiota intestinal del principal vector de la leishmaniosis en España, *Phlebotomus perniciosus* y su interacción con *Leishmania infantum*”**

ABSTRACTS:

ESTUDIO DEL EFECTO SINÉRGICO DE HIPERTERMIA Y ANTIBIÓTICOS

M. Montalbán-López¹, M. Fernández Rodríguez¹, M. Jiménez Carretero², S. Zerbetto¹, S. Gaspari¹, G. R. Iglesias³, C. Jiménez López²

¹ Grupo de investigación: Estudio de Sustancias Antagonistas Producidas Por Microorganismos (BIO-160)

² Grupo de investigación: Biomineralización (RNM-938)

³ Grupo de investigación: Física de interfases y sistemas coloidales (FQM-144)

Email: manuelml@ugr.es, cjl@ugr.es

La aparición y diseminación de resistencias a antibióticos constituyen hoy día un desafío global para la salud pública, por lo que distintos organismos alertan de la necesidad de nuevas moléculas y estrategias para combatirlas. Este proyecto estudia la capacidad de nanopartículas magnéticas biomiméticas (BMNPs) como vehículo de antibióticos para su direccionamiento al foco de infección y el empleo de las mismas como agentes capaces de generar hipotermia al ser sometidos a un campo magnético alterno. La hipótesis de partida es que efecto combinado de hipotermia y antibióticos puede facilitar la eliminación de infecciones localizadas.

Los antibióticos empleados (ampicilina, gentamicina, tetraciclina y ciprofloxacino) se pueden unir a las BMNPs, alcanzándose el equilibrio entre 1 y 7 h. Las nanoformulaciones generadas son un complejo estable con una desorción menor al 10% en 10 días de almacenamiento.

Los conjugados antibiótico-BMNPs fueron ensayados frente a especies modelo de los microorganismos patógenos *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterococcus faecalis*. Se determinó la concentración mínima inhibidora para cada antibiótico frente a estas especies, observándose un aumento de ésta al emplear antibiótico-BMNP por una desorción incompleta. Los cultivos bacterianos fueron sometidos a 45 °C y a hipotermia magnética a igual temperatura y tratados con los nanoconjugados durante 30 min, realizándose un recuento de células viables al terminar el tratamiento y tras 24 h de incubación. El recuento de viables tras los 30 min de exposición a hipotermia magnética no muestra grandes diferencias salvo cuando se emplea ciprofloxacino y ampicilina contra *P. aeruginosa* y *E. faecalis*, respectivamente. Sin embargo, tras la incubación durante 24 h se pudo observar un menor crecimiento en las muestras sometidas a hipotermia magnética, incluso a concentraciones inferiores a la concentración mínima inhibidora en algunos casos.

Los datos de este proyecto indican que las BMNPs son vehículos apropiados para el direccionamiento de tratamientos antibióticos y que, en conjunción con hipotermia magnética, consiguen una reducción del crecimiento bacteriano *in vitro*, abriendo la puerta a nuevas investigaciones para optimizar el efecto letal de los nanoconjugados.

CARACTERIZACIÓN DE PÉPTIDOS CON ACTIVIDAD BIOLÓGICA Y ENSAYOS DE TOXICIDAD SOBRE *C. ELEGANS* COMO MODELO SUBROGADO

M. Martínez-Bueno¹, C. Berraquero², C. Teso-Pérez¹, F.J. Espejo-Carpio², R. Pérez-Gálvez², P.J. García-Moreno², A. Guadix², E.M. Guadix²

¹Grupo de investigación: Estudio de sustancias antagonistas producidas por microorganismos (BIO-160)

²Grupo de investigación: Biorreactores (BIO-110)

Email: mmartine@ugr.es

Los péptidos bioactivos (PBs) son moléculas derivadas de proteínas que, una vez liberadas, adquieren funciones fisiológicas relevantes. Su importancia radica en la amplia gama de potenciales efectos beneficiosos que pueden ejercer en el organismo, entre los que se incluyen actividades antimicrobianas, antioxidantes y antihipertensivas, entre otras. Debido a estas propiedades, los PBs representan una herramienta prometedora tanto en la prevención como para el tratamiento de diversas enfermedades, lo que ha impulsado su estudio y aplicación en áreas como la salud, la nutrición funcional y la industria alimentaria.

Por su parte, *C. elegans* es un nematodo de vida libre ampliamente empleado como modelo experimental, debido en parte a su corto ciclo vital, bajo coste de mantenimiento y facilidad de manipulación.

El objetivo principal de este trabajo fue implementar un sistema de caracterización de péptidos con actividad biológica, así como evaluar su seguridad utilizando el nematodo *C. elegans* como modelo subrogado.

Para ello, se realizó la hidrólisis enzimática de fuentes proteicas sostenibles, tales como harina de *Tenebrio molitor* (TN – T20), hueso de aceituna (OS), torta prensada de girasol (SP7.5), con el fin de obtener diversos tipos de hidrolizados enriquecidos en péptidos con potencial actividad antiinflamatoria o reguladora del índice glicémico. El efecto de estos hidrolizados sobre la supervivencia de *C. elegans* se evaluó a lo largo de un periodo de 21-23 días, utilizando un total de 20 individuos con tres réplicas por tratamiento. Todos los compuestos fueron ensayados a una concentración final de 5 mg/ml.

Los resultados obtenidos muestran una ligera reducción de la supervivencia (< 10%) de los nematodos expuestos a los extractos SP7.5, T20 y TN, en comparación con el grupo control. No se observaron diferencias significativas entre los individuos tratados con el extracto OS y los del grupo control.

No obstante, será necesario llevar a cabo estudios adicionales, como RNAseq, estrés oxidativo, que incluyan diferentes concentraciones de estos compuestos, así como condiciones experimentales más diversas, con el fin de confirmar y ampliar los resultados obtenidos.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido desarrollado en el marco del microproyecto IIMP7 financiado por Instituto de Biotecnología

ESTUDIO DE LA CAPACIDAD DE LOS POLIOXOMETALATOS COMO SENSOR DE ACTIVIDAD METABÓLICA EN CÉLULAS QUIESCENTES

P. García Olmedo,¹ J. M. Domínguez-Vera,² A. González,² L. M. De Pablos¹

¹Grupo de investigación: Bioquímica y Parasitología Molecular (CTS-183)

² ¹Grupo de investigación: Bionanopartículas Metálicas (FQM-368)

Email: agongar@ugr.es; lpablos@ugr.es

La quiescencia celular, un estado de detención proliferativa reversible, es fundamental en la formación de biopelículas, que representan un riesgo para la salud. En parásitos de la abeja de la miel, como *Lotmaria passim*, las biopelículas se componen de células plantónicas unicelulares o promastigotes que se transforman a biopelículas de haptomonas quiescentes o semiquiescentes con metabolismo reducido [1] Esta baja actividad dificulta su evaluación por métodos colorimétricos convencionales.

Los Polioxometalatos (POMs) son materiales electrocromáticos que aceptan electrones, generando especies coloreadas cuya intensidad se relaciona con la actividad biológica.[2] Este microproyecto explora el uso de POMs como una alternativa innovadora para medir la actividad metabólica en biopelículas parasitarias de *L. passim*.

Al evaluar el poder reductor del sobrenadante de *L. passim* sobre PMO ($\text{Na}_6[\text{P}_2\text{Mo}^{\text{VI}}_{18}\text{O}_{62}]$), se observó que el propio medio de cultivo ejercía reducción, sin diferencias con los promastigotes. Sin embargo, se encontró una disminución significativa de la absorbancia (menor actividad redox) en el sobrenadante de biopelículas (fase estacionaria), especialmente en cultivos tempranos (7 días), siendo más pronunciado en muestras sin filtrar. Esto sugiere que los productos secretados por los parásitos en esta fase, modulan la actividad redox de su microambiente cercano. La incubación directa de pellets de parásitos con PMO no mostró reducción aparente, lo que podría indicar la ausencia de capacidad reductora directa del parásito o un estrés irreversible. Estos resultados sugieren la posible implicación de mecanismos redox en la diferenciación del parásito.

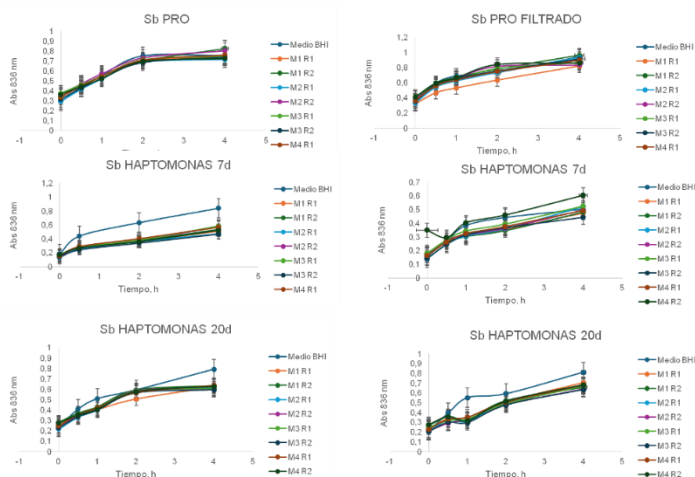


Figura 1. Medida redox de sobrenadantes (Sb) de cultivo de *L. passim* filtrados (a la derecha) y sin filtrar (a la izquierda) en cada una de las fases PRO (Promastigote), Haptomonas 7 días (d) y Haptomonas 20 d.

Agradecimientos: Agradecemos al programa de microproyectos del IBT UGR la ayuda que forma parte de la tesis doctoral de D. Pedro García Olmedo dentro del Programa de Doctorado de Biología Fundamental y de Sistemas de la UGR.

[1] J. Carreira de Paula; P. García Olmedo; T. Gómez-Moracho; M. Buendía-Abad; M. Higes; R. Martín-Hernández; A. Osuna; L. M. De Pablos. Biofilms Microbiomes. 2024, 10, 27.

[2] A. González; N. Gálvez; M. Clemente-León; J. M. Domínguez-Vera. Chem. Commun. 2015, 51 (50), 10119-10122.

AISLAMIENTO Y ANÁLISIS PROTEÓMICO BASADO EN CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA ACOPLADA A ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE LECTINAS EN ALIMENTOS PROCESADOS

A. Perea Aldehuela, F.J. Lopez Jaramillo¹, M. Hernandez Valladares²

¹Grupo de investigación: Glicoquímica y Bioconjugación (FQM-208)

²Grupo de investigación: Biofísica y Biotecnología Molecular (FQM-171)

Email: jfljara@ugr.es; mariahv@ugr.es

Las lectinas son proteínas con afinidad por los carbohidratos y juegan un papel importante en procesos fisiológicos y patológicos. Existe una cierta controversia en su implicación en alergias alimentarias y en este contexto, el objetivo de este proyecto es la preparación de soportes funcionalizados con azúcares para aislar y analizar, mediante técnicas de proteómica, las lectinas presentes en alimentos elaborados.

Se han sintetizado dos tipos de glicosopores: gliconanopartículas magnéticas y glicosílice. Los materiales de partida fueron nanopartículas magnéticas aminadas (MNP) y sílica aminada (SiO₂-NH₂), respectivamente, que se funcionalizaron con lactosa vía aminación reductiva y con vinil sulfona manosa (ManVS) vía adición de Michael. Los glicomateriales se emplearon como soportes para experimento tipo *pull-down* en *batch*. La incubación de los mismos con un extracto de fabada en lata y su posterior elución con 0.5 M de manosa o lactosa, permitió el aislamiento de fracciones enriquecidas en proteínas con afinidad por la lactosa o la manosa cuya capacidad de interacción con el azúcar permaneció inalterado durante el proceso de elaboración y conservación del alimento. Mediante SDS-PAGE se detectaron distintas bandas que confirmaban la presencia de proteínas con pesos moleculares que oscilan entre 14 y 68 kDa.

Para el análisis mediante técnicas de proteómica con espectrometría de masas, el eluido se centrifugó, para retirar las partículas en suspensión, y el sobrenadante se concentró mediante una unidad de filtración de 10 kDa de MWCO (molecular weight cut off). A continuación, se llevó a cabo el protocolo de single-pot, solid-phase-enhanced sample preparation (SP3) a las soluciones de los concentrados, en donde se realizó la digestión con tripsina [2]. Los péptidos obtenidos fueron liofilizados y tras resuspenderlos en buffer de ácido fórmico al 0.5%, se comprobó realizando espectros UV-Vis que se obtenía el perfil esperado de soluciones peptídicas, con absorción característica del enlace peptídico (a 220 nm) y de aminoácidos aromáticos (a 275/280 nm).

Las muestras peptídicas se analizaron mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en la Unidad de Espectrometría de Masas del Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba, donde se detectaron cuatro lectinas de 30.64 kDa, 30.26 kDa, 29.55 kDa y 26.96 kDa entre los datos analizados, lo que confirmó la presencia de lectinas activas a pesar del tratamiento térmico al que se sometieron para la elaboración de la conserva de fabada.

[1] Lopez-Jaramillo, F.J., Ortega-Muñoz, M., Megía-Fernández, A., Hernández-Mateo, F. Santoyo-González, F. *Bioconjugate Chem.* **2012**, 23, 846-855. Doi: 10.1021/bc200681c.

[2] Hughes CS, Moggridge S, Müller T, Sorensen PH, Morin GB, Krijgsveld J. *Nat Protoc.* **2019**, 68-85. Doi: 10.1038/s41596-018-0082-x.

GENERACIÓN DE BIBLIOTECAS DE PÉPTIDOS CÍCLICOS EN FAGOS MEDIANTE CICLACIÓN QUÍMICA PARA LA BÚSQUEDA DE AGENTES ANTIVIRALES Y ANTIMETASTÁSICOS

Cristina Fernández,^{1,2} Patricia Fernández-Galindo¹, Alicia Megía-Fernández², Mariano Ortega-Muñoz², Javier Murciano-Calles¹

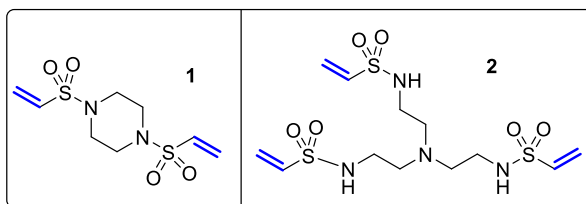
¹Grupo de investigación: Biofísica y Biotecnología Molecular (FQM-171)

²Grupo de investigación: Glicoquímica y Bioconjugación (FQM-208)

Email: jmurciano@ugr.es

Para la obtención de péptidos cíclicos para que actúen como agentes antivirales y antimetastásicos se ha trabajado con bibliotecas de fagos que expresan péptidos para ser ciclados químicamente. Para la ciclación, se realiza una modificación postraducciona en la que una molécula orgánica ejerce de anclaje entre dos o tres residuos del péptido. El trabajo experimental tiene dos partes: (i) la síntesis orgánica de los compuestos para anclaje, que, en este caso, une residuos de cisteína (Cys) a través de sus grupos tiol, y (ii) la generación de las bibliotecas peptídicas de fagos a las que se añade el compuesto sintetizado para la ciclación del esqueleto.

Como compuestos orgánicos reactivos frente a tioles se diseñaron las vinilsulfonamidas **1** y **2**, di y trivalentes respectivamente. La síntesis de **1** se llevó a cabo con éxito, para el compuesto **2** la purificación requería considerable optimización por lo que se continuó con el compuesto **1**.



La generación de las bibliotecas se realizó por tanto con el compuesto **1**, y se cribaron las bibliotecas frente a la proteína NEDD4-WW3, que es una diana que, al ser inhibida, se bloquea la gemación de virus encapsulados como los retrovirus (VIH, Ébola...)¹. Generamos las bibliotecas de péptidos lineales de forma estándar^{1,2}, las cuales contenían fijados dos residuos de Cys y el resto aleatorios. Después de un paso de reducción con TCEP, se añadió **1** y se hicieron los cribados. Se intentó realizar un ensayo ELISA para seleccionar los candidatos después de los cribados, pero no fue posible por interferencias en el ensayo con los procesos de purificación requeridos para la ciclación química. Por ello, la doctoranda Patricia Fernández-Galindo del grupo FQM-171 está haciendo actualmente una estancia de investigación en Suiza con el Dr. Heinis, un experto consolidado en este tipo de bibliotecas.

Agradecimientos: Agradecemos al Instituto de Biotecnología la financiación para llevar a cabo este proyecto de investigación.

[1] Castillo, F., et al. (2022) Int. J. Biol. Macromol. 207, 308-323

[2] Murciano-Calles, J., et al. (2024) Int. J. Biol. Macromol. 274, 133233

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE PROTECCIÓN DE BACTERIAS HALOTOLERANTES CON ACTIVIDAD *QUORUM QUENCHING* FRENTE A FITOPATÓGENOS EN FRUTOS.

Patricia Sánchez², Ana Monzón², Dolores Garrido¹, Inmaculada Sampedro², Inmaculada Llamas², Francisco Palma¹

¹ Grupo de investigación: Fisiología de la Poscosecha en Frutos (AGR-209)

² Grupo de investigación: Exopolisacáridos Microbianos (BIO-188)

Email: (fpalma@ugr.es; isampedro@ugr.es).

A nivel mundial, las enfermedades infecciosas que afectan a la agricultura producen pérdidas del 20-40% de las cosechas, lo que se refleja en un 25% de pérdidas económicas en este sector. Entre las bacterias patógenas responsables de estas enfermedades hay que destacar el género *Dickeya* que produce un estrés oxidativo en los tejidos vegetales induciendo la aparición de lesiones. Una alternativa novedosa y prometedora para controlar estas enfermedades en agricultura es la interrupción de la comunicación bacteriana tipo *quorum sensing*, mediante la degradación enzimática de las moléculas señales, conocido como *quorum quenching* (QQ) [1].

En el marco de esta ayuda, hemos realizado un estudio sobre la protección que ejercen dos bacterias con actividad QQ, *Pseudomonas kilonensis* B34 y *Psychrobacter* sp. B38, frente al ataque del patógeno *Dickeya solani* 2222^T en frutos. Para ello, hemos diseñado un ensayo *in vitro* de virulencia en patata en el que los frutos se han inoculado con suspensiones de las bacterias QQ y de la bacteria fitopatógena y cocultivos de ambas, determinando la incidencia y severidad de la infección y el metabolismo oxidativo del tejido vegetal.

En relación con la determinación de la incidencia y severidad de la infección, se detectaron signos de maceración y crecimiento bacteriano en las rodajas de patata tratadas con *D. solani*. En cuanto a las patatas tratadas con los cocultivos, la cepa B38 fue la más efectiva consiguiendo inhibir completamente la sintomatología producida por este fitopatógeno. En el material vegetal analizado, se incrementó el contenido de ROS y peroxidación lipídica debido a *D. solani*. Sin embargo, en el material tratado con cocultivo con ambas cepas, se redujo este daño oxidativo, observándose un incremento en la capacidad antioxidante del tejido y en el porcentaje de inhibición del radical superóxido, así como una reducción en el contenido de peróxido de hidrógeno y peroxidación lipídica. Además, el contenido fenólico en las muestras de patata inoculadas con el patógeno, se redujo debido al incremento a las actividades peroxidasa y polifenol oxidasa. Por el contrario, en aquellas tratadas con los cocultivos, ambas actividades disminuyeron, y por lo tanto el tejido vegetal mantuvo un elevado contenido en polifenoles. En este estudio se demuestra por lo tanto, que las dos bacterias con actividad QQ ensayadas reducen la incidencia y severidad de *D. solani* en patata, incrementando los mecanismos de defensa antioxidante [2].

Agradecimientos: PID2023-150154OB-I00 /AEI /10.13039/501100011033, PID2019-106704RB-100/AEI/10.13039/501100011033 y FEDER/Junta de Andalucía-Consejería de Transformación Económica, Industria, Conocimiento y Universidades (B-AGR-222-UGR20). Ayuda Microproyectos Instituto de Biotecnología 2024

[1] P. Sánchez, I. Castillo, F. Martínez-Checa, I. Sampedro, I. Llamas. **Frontiers in Plant Science** 2025, 16:1605131. doi: 10.3389/fpls.2025.1605131.

[2] P. Sánchez, A. Monzón, D. Garrido, I. Sampedro, I. Llamas*, F. Palma. **Journal Agricultural and Food Chemistry**. Enviado a publicar.

DERIVADOS DEL ÁCIDO MASLÍNICO COMO AGENTES INHIBIDORES DE LA PROTEASA DEL HIV-1

**F. Rivas,¹ F. Conejero-Lara,² M. Cano-Muñoz,² M. Medina-O'Donnell,¹
A. Martínez,¹ M.B. Jiménez¹**

¹ Grupo de investigación: Biotransformación y Química de Productos Naturales (FQM-139)

² Grupo de investigación: Biofísica y Biotecnología Molecular (FQM-171)
Email: frivas@ugr.es

Una vez sintetizados los derivados aminoacilados en C-28 y acilados en C-2 y C-3 del ácido maslínico, empleando técnicas de síntesis orgánica en disolución y en fase sólida (SOPS), el siguiente paso era realizar los ensayos *in vitro* de estos derivados frente a la proteasa del HIV-1 [1]. Para ello se utilizó la proteasa recombinante de *E. coli* (Merck SRP2152). Como sustrato se utilizó el péptido sintético fluorescente (Abz-Ala-Arg-Val-Nle-Tyr(NO₂)-Glu-Ala-Nle-NH₂, Merck H0790), correspondiente al sitio de escisión p-24-p17. Su actividad se midió mediante la técnica de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET). Como paso previo, antes de realizar los ensayos con los diferentes derivados del ácido maslínico, se determinó la Km del sustrato, así como la concentración óptima de la enzima y de los sustratos a ensayar. Los conjugados del ácido maslínico se disolvieron en DMSO, utilizando un tampón preparado al momento (acetato de sodio 50 mM, EDTA 1 mM, DTT 0,5 mM, NaCl 1 M, glicerol 2,5%), añadiendo el DTT justo antes de medir, para evitar su degradación. Se utilizó la acetil-pepstatina como control positivo.

El problema surge cuando se comprueba que los derivados del ácido maslínico se excitaban (320 nm) o emitían (420 nm) fluorescencia a prácticamente la misma longitud de onda que el sustrato fluorescente de la proteasa del HIV, pero con una intensidad al menos cien veces mayor (Figura 1). Esta circunstancia nos impidió hacer las mediciones de fluorescencia programadas. La solución que buscamos fue la de utilizar otro sustrato fluorescente que se excitara o emitiera en un rango de longitudes de onda (490-520 nm) para que no interfiriera con nuestros derivados del ácido maslínico. Con este nuevo sustrato fluorescente (HIV Protease Substrate HF 488 – 0.1 mg, Anaspec AS-60635), los ensayos realizados no han sido concluyentes, por lo que nos hemos puesto en contacto con el IP del grupo de Inmumovirología del Instituto de Biomedicina de Sevilla (CSIC) para que realicen unos ensayos *in vitro* de nuestros compuestos frente al HIV.

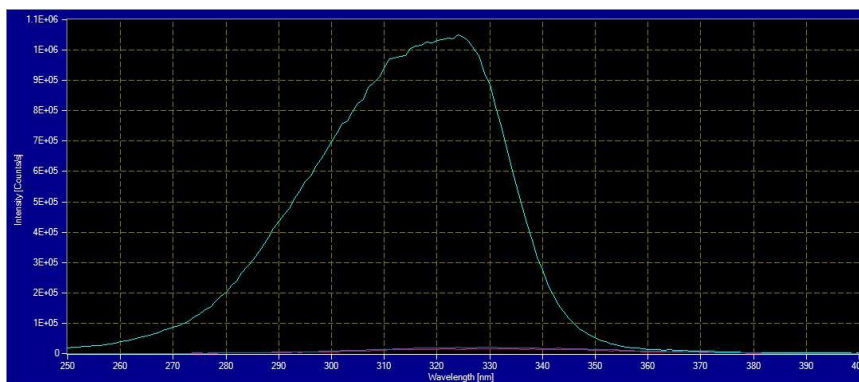


Figura 1. Espectros de excitación del sustrato fluorescente y de derivado del ácido maslínico.

Agradecimientos: a la Junta de Andalucía por la financiación del Proyecto B-FQM-650-UGR20 y al Instituto de Biotecnología por la financiación de este Microproyecto.

[1] Medina-O'Donnell, M.; Rivas, F.; Reyes-Zurita, F. J.; Cano-Munoz, M.; Martínez, A.; Lupiáñez, J. A.; Parra, A. J. Nat. Prod. 2019, 82, 2886–2896.

CARACTERIZACIÓN TERMODINÁMICA Y ESTRUCTURAL DE LA OXALATO DESCARBOXILADA PRODUCIDA POR *Bacillus pumilus* 15.1

A. Arroyo-Carmona¹, D. Polo-Magías², F. Conejero-Lara², J.A. Gavira³ y S. Vilchez¹

¹ Grupo de investigación: Bioquímica y Parasitología Molecular (CTS-183).

² Grupo de investigación: Biofísica y Biotecnología Molecular (FQM-171)

³ Grupo de investigación: Crecimiento de cristales y cristalización industrial. Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (RNM-143).

Email: svt@ugr.es.

La cepa *Bacillus pumilus* 15.1 presenta actividad frente a *Ceratitis capitata*, insecto que afecta a muchas especies vegetales a nivel mundial [1]. Durante el proceso de esporulación, esta cepa hiperproduce cristales paraesporales de oxalato descarboxilasa (OxD), que se solubilizan a bajas temperaturas, de -20°C [2]. Se ha propuesto que la OxD sea un potencial factor de virulencia para insectos [3].

En este trabajo hemos purificado la OxD a partir de cultivos esporulados de *B. pumilus* 15.1. La OxD purificada y solubilizada presenta una estructura secundaria y un tamaño molecular que depende acusadamente del pH. A pH 7.4, la proteína es monomérica (3.3 nm) pero oligomeriza lentamente a 25°C y forma agregados a alta temperatura. A pH 4.5, 6 y 9, la OxD forma partículas de mayor tamaño (4.3 – 7.8 nm), compatibles con oligómeros. Los perfiles de desnaturalización térmica son complejos y poco reproducibles con diversas transiciones dependiendo del pH, las condiciones y el manejo de las muestras. Se han obtenido cristales de la proteína pura que han permitido determinar su estructura tridimensional con una resolución de 1,4 Å (Figura 1). En el cristal, la OxD forma un hexámero con dos capas de trímeros engarzadas entre sí. La estructura de cada monómero es casi idéntica a la de la OxDc de *B. subtilis* con dos dominios cupina que presentan sendos sitios activos de Mn(II).

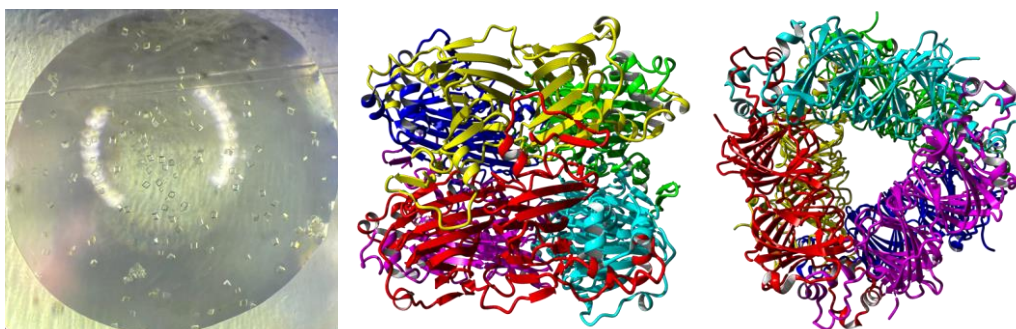


Figura 1. Cristales de OxD de *Bacillus pumilus* y estructura tridimensional del hexámero de OxD.

Agradecimientos: Este trabajo ha sido financiado por microproyectos IMP4 y IIMP8 del Instituto de Biotecnología.

[1] Molina et al. 2010. Applied and Environmental Microbiology 76(5), 1320-1327.

[2] Garcia-Ramón et al. 2016. Applied Microbiology and Biotechnology 100: 3637-54.

[3] Garcia-Ramón et al. 2017 Microbial Biotechnology 11(2) 302-316.

ESTUDIO DE LA MICROBIOTA INTESTINAL DEL PRINCIPAL VECTOR DE LA LEISHMANIOSIS EN ESPAÑA, *PHLEBOTOMUS PERNICIOSUS* Y SU INTERACCIÓN CON *LEISHMANIA INFANTUM*

A. Torres-Llamas,¹ A.M. Martín-Platero,² F. Martínez-Checa,² V. Díaz-Sáez,¹ M. Morales-Yuste,¹ J. Martín-Sánchez¹

¹Grupo de investigación: Leishmaniosis y Otras Zoonosis Parasitarias (BIO-176)

²Grupo de investigación: Exopolisacáridos Microbianos (BIO-188)

joaquina@ugr.es: Joaquina Martín-Sánchez

Introducción: La leishmaniosis es una enfermedad vectorial causada por protozoos parásitos del género *Leishmania* y transmitida por la picadura de hembras de flebotomos (Insecta, Diptera). En España, *Leishmania infantum* es responsable de las diferentes formas de leishmaniosis humana (visceral, cutánea y mucosa), y de la leishmaniosis canina [1]. *Phlebotomus perniciosus* es el principal vector de la leishmaniosis en la Península Ibérica. Dado que la microbiota intestinal de los vectores podría influir en la transmisión de patógenos [2], nuestro objetivo ha sido determinar la composición y diversidad de especies microbianas del intestino de ejemplares silvestres de *P. perniciosus*, e investigar su posible interacción con *L. infantum*.

Material y métodos: Se han capturado flebotomos en una cuadra de ganado en la provincia de Granada utilizando trampas de luz CDC. Tras la identificación morfológica, se extrajo ADN de los intestinos diseccionados de los especímenes, de forma individualizada en las hembras y por grupos en los machos. Parte del ADN de las hembras se ha utilizado para detectar *L. infantum* por PCR. La composición del microbioma intestinal se ha analizado mediante secuenciación Illumina Miseq del gen 16S del ADN ribosómico. Los datos se han procesado con QIIME2.

Resultados y discusión: Se han analizado 21 grupos de flebotomos (5 grupos de 3 machos, y 16 grupos de 2-6 hembras, infectadas y no infectadas por *L. infantum*). Se identifican 233 géneros bacterianos, con predominio de Proteobacteria, Firmicutes, Actinobacteria y Bacteroidota. Dentro de Proteobacteria destaca *Wolbachia*; esta especie ha sido propuesta por distintos autores como posible método de control biológico en enfermedades de transmisión vectorial [3]. El sexo parece influir significativamente en la diversidad bacteriana de *P. perniciosus* ($p = 0.048$). Además, la infección por *L. infantum* parece afectar a la composición de la microbiota intestinal ($p = 0.021$).

Conclusiones: Los resultados sugieren que la infección por *L. infantum* modifica la composición de la microbiota intestinal de su principal vector, *P. perniciosus*, aunque es necesario analizar un mayor número de grupos.

Bibliografía:

- [1] Martín-Sánchez J, Rodríguez-Granger J, Morillas-Márquez F, et al. Transbound Emerg Dis. 2020; 67: 2423-34.
- [2] Kelly PH, Bahr SM, Serafim TD, et al. mBio. 2017;8:e01121-16.
- [3] Torres-Llamas A, Díaz-Sáez V, Morales-Yuste M, et al. Parasit Vectors. 2025; 18:155.

Agradecimientos: Al Instituto de Biotecnología (Universidad de Granada) por la financiación del microproyecto IBt 2023/24, y al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades y FEDER por la financiación a través del proyecto PID2022-142230NB-I00 (IP: J. Martín-Sánchez).



Lista de Participantes

C

Conejero Lara, Francisco..... conejero@ugr.es

D

De Pablos Torró, Luis Miguel.....lpablos@ugr.es

Díaz Sáez, Victoriano.....diazsaez@ugr.es

Dominguez Vera, Jose Manuel.....josema@ugr.es

E

Espejo Carpio, Francisco Javier.....fjespejo@ugr.es

F

Fernández Galindo, Patricia.....patriciafergal@ugr.es

G

García Moreno, Pedro J.pjgarcia@ugr.es

García Olmedo, Pedro.....pgolmedo@ugr.es

Garrido Garrido, Dolores..... dgarrido@ugr.es

Guadix Escobar, Emilia María..... eguadix@ugr.es

Guadix Escobar, Antonio.....aguadix@ugr.es

H

Hernández Valladares, María..... mariahv@ugr.es



J

Jiménez Carretero, Mónica..... monicajc@ugr.es

Jiménez López, Concepción.....cjl@ugr.es

L

Llamas Company, Inmaculada..... illamas@ugr.es

López Jaramillo, Francisco Javier.....fjljara@ugr.es

M

Martín Platero, Antonio Manuel.....ammartin@ugr.es

Martín Sánchez, Joaquina.....joaquina@ugr.es

Martínez Bueno, Manuelmmartine@ugr.es

Megía Fernández, Alicia.....amegia@ugr.es

Montalbán López, Manuel.....manuelml@ugr.es

Murciano Calles, Javier.....jmurciano@ugr.es

O

Ortega Muñoz, Mariano.....mortegam@ugr.es

P

Palma Martín, Francisco José.....fpalma@ugr.es

Pérez Gálvez, R.....rperezga@ugr.es

Polo Megías, Danieldanielpm@ugr.es

R

Rivas Sánchez, Francisco.....frivas@ugr.es



S

Sampedro Quesada, María Inmaculada..... isampedro@ugr.es

Sánchez Lucas, Patricia..... patriciasl@ugr.es

T

Teso Pérez, Claudia..... claudiatp@ugr.es

Torres Llamas, Andrés..... andrestll@ugr.es

V

Vílchez Tornero, Susana..... svt@ugr.es