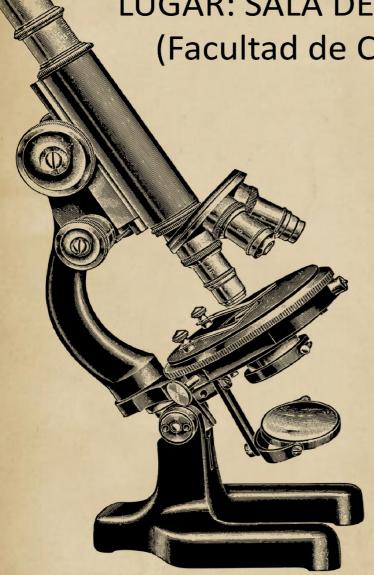
VIIWORKSHOP

DE JÓYENES BIOTECNÓLOGOS

Fecha: 6 de junio 2025

LUGAR: SALA DE EXPOSICIONES

(Facultad de Ciencias UGR)



Organiza: Instituto de Biotecnología Financia: Bonsailab e Instituto de Biotecnología









Edita: Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada

ISBN: ISBN 979-13-87522-17-9 Número Depósito Legal: DL GR 971-2025

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	4
PROGRAMACIÓN	5
ABSTRACTS	7
LISTA DE PARTICIPANTES	43

PRESENTACIÓN

La dirección y Junta directiva del Instituto de Biotecnología (**IBt**) de la Universidad de Granada presenta la celebración del **VII Workshop de Jóvenes Biotecnólogos (VII WJB**), que tendrá lugar el 6 de Junio de 2025, en la Sala de Exposiciones de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Granada (Avda. Severo Ochoa s/n18071, Granada).

Este año, Lara Bossini Castillo y Francisco David Carmona López, del grupo **BIO-109**: **Genómica Funcional y Evolutiva**, asistidos por la becaria Ícaro Rocío Sánchez Gómez, han sido los encargados de su organización. Nuestro más sincero agradecimiento de parte de todos.

El **VII WJB** está dedicado a los alumnos del Máster en Biotecnología y Másteres relacionados con la Biotecnología de la UGR. La participación en el **VII WJB** representa una actividad formativa para los estudiantes, al ser una oportunidad para presentar resultados de investigación en un foro científico y experimentar de primera mano el proceso comunicación científica, desde la preparación hasta la defensa.

Esperamos que la jornada sea fructífera y que la disfrutéis.

En Granada, a 6 de Junio de 2025.

Susana Vílchez Tornero Directora del IBt

PROGRAMACIÓN

9:15 Colocación de Posters y Registro

10:00 - 10:30

Arroyo Carmona, Aurora. "Caracterización termodinámica y estructural de la oxalato descarboxilasa producida por *Bacillus pumilus* 15.1". Panel 1.

Palma Toro, Ana Isabel. "Papel del biocarbón de alperujo en la reducción de emisiones de óxido nitroso y en la fijación biológica de nitrógeno en suelo de olivar". Panel 2.

Castillo Fonce, Eliana. "La actividad enzimática como indicador de la salud del suelo de la región mediterránea andaluza". Panel 3.

10:30 - 11:00

Correro Aragón, Claudia. "Micorremediación de plásticos con hongos nativos: aproximación mediante estudios *in vitro*". Panel 4.

Pereira Pérez, Víctor Roger. "Evaluación de nuevos tratamientos para la enfermedad cardiovascular en diabetes tipo 2". Panel 5.

García Sánchez, Arturo. "Análisis calorimétrico del factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF)". Panel 6.

11:00 - 11:30

Blanco Rodríguez, Lucía. "Uso de modelos celulares 3D para investigar las interacciones huésped-microbio en el útero". Panel 7.

Ruiz Moreno, Adrián. "Modelo de pez cebra para el estudio de deficiencias primarias de CoQ: impacto de la mutación Coq2A260V". Panel 8.

Salcedo Hernández, Lucas Ulises. "Electrodiálisis aplicada a digestión anaerobia para la obtención de compuestos de alto interés" Panel 9.

11:30 Café

12:00 - 12:30

Hita Martínez, Ana. "Caracterización de la cepa bacteriana HE05 con interés agronómico". Panel 10.

Botella Galera, Antonio. "Estabilización de biopéptidos antidiabéticos de hueso de aceituna mediante encapsulación por secado por atomización en coaxial". Panel 11.

Villanueva Valdés, Samanta. "New dual inhibitors of GO and LDH to decrease oxalate biosynthesis in primary hiperoxalurias". Panel 12.

12:30 - 13:00

Ruiz López, Paula. "Evaluación de diferentes estrategias terapéuticas para el tratamiento de la deficiencia primaria en CoQ". Panel 13.

Vega Soto, Carlos. "Estudios de evolución dirigida en consorcios microbianos frente al parásito de la abeja de la miel *Lotmaria passim*". Panel 14.

García Pedrosa, Miguel Ángel. "Estudio de la interacción rizobio-leguminosa en presencia de mutantes del depredador bacteriano *M. xanthus*". Panel 15.

13:00 - 13:30

Serna Ostalaza, Marina. "Biopolímeros bacterianos activados con c-di-GMP en la biorremediación de aguas contaminadas por colorantes sintéticos". Panel 16.

García Sánchez, Lidia. "Evaluación de la inserción cromosómica del gen pleD* en la colonización de raíces por *Paraburkholderia phymatum* STM815". Panel 17.

Román Moreno, Ismael. "¿Pueden ocurrir en la Estación Internacional Espacial (EEI) las relaciones simbióticas hongo-planta en condiciones de microgravedad?". Panel 18.

13:30 Entrega de certificados y clausura.

ABSTRACTS



VII Workshop de Jóvenes Biotecnólogos

Granada, 6 de Junio 2025

CARACTERIZACIÓN TERMODINÁMICA Y ESTRUCTURAL DE LA OXALATO DESCARBOXILASA PRODUCIDA POR BACILLUS PUMILUS 15.1.

A. Arroyo-Carmona,¹ D. Polo-Megías², F. Conejero-Lara², J.A. Gavira³ y S. Vílchez¹.

Email: auroraarroyo@correo.ugr.es

La cepa *Bacillus pumilus* 15.1, aislada por nuestro grupo de investigación, es una bacteria que presenta actividad frente al insecto *Ceratitis capitata* [1], una plaga que afecta a más de 350 especies de frutas a nivel mundial. Esta bacteria hiperproduce la enzima oxalato descarboxilasa en forma de inclusiones paraesporales cristalinas durante el proceso de esporulación [2]. La enzima lleva a cabo la transformación del oxalato, su sustrato principal, a formiato, liberando CO₂ durante este proceso [3].

El gen que codifica la oxalato descarboxilasa se encuentra dentro del cromosoma de la bacteria y no en los elementos extracromosomales, ya que la cepa curada *B. pumilus* 15.1C, también produce los cristales paraesporales, a pesar de no presentar elementros extracromosomales [2]. La enzima es resistente a la acción de proteasas como la tripsina, parcialmente resistente a la quimiotripsina y sensible a otras proteasas como la papaína y la proteinasa K de *Bacillus subtilis* [2].

Un comportamiento curioso que presentan los cristales de oxalato descarboxilasa producidos por *B. pumilus* 15.1 es que se solubilizan cuando se incuban a bajas temperaturas (-20°C). Este comportamiento, inusual, merece la pena ser caracterizado. Para ello nos planteamos la caracterización biofisica, termodinamica y enzimática, y estructural de esta enzima, para compararlas con el resto de oxalatos descarboxilasas descritas en la bibliografía.

Para conseguir estos objetivos se utilizaron técnicas como la espectroscopía de dicroísmo circular (CD), con la que se determinó el plegamiento que presenta la enzima; o la dispersión dinámina de luz (DLS), con la que se evaluó el estado de agregación de la

¹ Grupo de investigación CTS 183: Bioquímica y Parasitología Molecular. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada.

² Grupo de investigación FQM-171: Biofísica y Biotecnología Molecular. Departamento de Química Física. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada.

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

proteína. Asimismo, se utilizó la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) para analizar la estabilidad termodinámica de esta proteína. La caracterización se realizó con proteína soluble a distintos pHs.

Por otro lado, empleamos la técnica de difusión de vapor en su configuración de gota sentada para la busqueda de condiciones de cristalización frente a kits de cristalización comercial. En este barrido de condiciones se evaluaron los efectos en cambios en la concentración del agente precipitante, de las sales presentes en el medio de cristalización y pH del medio en el que se encontraba la proteína. Una vez obtenidos los cristales se determinó la estructura tridimensional de la enzima mediante difracción de rayos X. Los cristales obtenidos se crio-protegieron y difractaron en la linea XALOC del sincrotrón ALBA (Barcelona). A partir de los datos y empleando el método de reemplazamiento molecular hemos obtenido el modelo estructural de la enzima que será depositado en el PDB.

Agradecimientos: Este proyecto ha sido financiado por el I y II Programa de Microproyectos del Instituto de Biotecnología de la Universidad de Granada, Ref. IMP4 y IIMP8 respectivamente.

^[1] Molina, C. A., Caña-Roca, J. F., Osuna, A., Víchez, S. Selection of a *Bacillus pumilus* strain Highly Activate against *Ceratitis capitata* (Wiedemann) larvae. Applied and Environmental Microbiology. 2010, Vol 76(5)., 1320-1327.

^[2] Garcia-Ramón, D. C., Molina, A., Osuna A., Vílchez, S. 2016. An in-depth characterization of the entomopathogenic strain *Bacillus pumilus* 15.1 reveals that it produces inclusion bodies similar to the parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis*. Appled Microbiology and Biotechnology. 100: 3637-54. doi: 10.1007/s00253-015-7259-9.

^[3] Garcia-Ramón, D. C., Berry, C., Tse, C., Fernández-Fernández A, Osuna A, Vílchez, S. The parasporal crystals of *Bacillus pumilus* strain 15.1: a potential virulence factor? Microbial Biotechnology 2017 Oct 12. doi: 10.1111/1751-7915.12771.



Granada, 6 de Junio 2025

Papel del Biocarbón de Alperujo en la Reducción de Emisiones de Óxido Nitroso y en la Fijación Biológica de Nitrógeno en Suelo de Olivar

A.I. Palma-Toro*1; G.Tortosa; B. Gómez-Muñoz

¹ Departamento de Biotecnología y protección ambiental, EEZ-CSIC, Granada. España. ² Departamento de Microbiología del suelo y la planta, EEZ-CSIC, Granada. España.

Email: anabelptoro@gmail.com

La intensificación agrícola ha incrementado significativamente las emisiones de gases de efecto invernadero (GEI), especialmente el óxido nitroso (N_2O), cuya contribución al calentamiento global es 298 veces superior a la del CO_2 [1]. En suelos mediterráneos, como los del olivar, la aplicación de fertilizantes nitrogenados inorgánicos no solo aumenta estas emisiones, sino que también provoca la degradación del suelo a largo plazo y otros muchos impactos medioambientales. En este contexto, el biocarbón se presenta como una estrategia prometedora para mitigar las emisiones de N_2O y mejorar la sostenibilidad agrícola.

Este estudio analiza el efecto de biocarbón de alperujo, sobre la reducción de emisiones de N_2O y la fijación biológica de nitrógeno (FBN) en suelos de olivar. Resultados previos mostraron que la aplicación de estos materiales estimuló la actividad microbiana del suelo (medida a través de emisiones de CO_2), lo que provocó una inmovilización de nitrógeno durante los primeros 30 días tras su aplicación. Por ello, en este estudio se evalúa su capacidad de adsorción de nitrógeno y su influencia sobre bacterias diazotróficas mediante la prueba de reducción de acetileno (ARA), un indicador de la actividad de la enzima nitrogenasa.

Los resultados preliminares sugieren que la adición de biocarbón e hidrochar de alperujo podría reducir las emisiones de N_2 O al modificar la disponibilidad de nitrógeno en el suelo y la actividad microbiana. Además, algunos tratamientos muestran una mayor actividad ARA, lo que sugiere un posible efecto estimulante sobre la fijación biológica de nitrógeno. Estos hallazgos destacan el potencial del biocarbón e hidrochar como herramientas para mejorar la eficiencia del uso del nitrógeno y mitigar el impacto ambiental de los cultivos leñosos mediterráneos.

El objetivo final de esta investigación es la búsqueda de un consorcio de microorganismos que al ser inoculados en el biocarbón mejoren la disponibilidad de nitrógeno en suelo, a la par que se reducen las emisiones de óxido nitroso y se favorecen el secuestro de carbono a largo plazo [2].

Agradecimientos:

Este trabajo es parte de la subvención RYC2022-035772-I, financiada por MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por FSE+.

Los autores agradecen a Amata Green S.L. para las muestras de biocarbón.

[2] Pramod Jha, P. J., Biswas, A. K., Lakaria, B. L., & Rao, A. S. Current Science, 1218-1225, 2010



Granada, 6 de Junio 2025

LA ACTIVIDAD ENZIMÁTICA COMO INDICADOR DE LA SALUD DEL SUELO DE LA REGIÓN MEDITERRÁNEA ANDALUZA

E. Castillo-Fonce¹, M. M. López-Rodríguez¹, T. Robledo-Mahón^{1,2}, E. Aranda^{1,2}

¹Instituto Universitario de Investigación del Agua, Universidad de Granada ²Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada

Email: elianacafo@gmail.com

El suelo constituye el soporte de los ecosistemas terrestres y el recurso natural que sustenta la agricultura. Las actividades antropogénicas, especialmente la agricultura intensiva, junto a condiciones climáticas desfavorables que caracterizan a la región mediterránea, contribuyen a que los suelos de dicha zona presenten altas tasas de erosión, reducida capacidad de retención hídrica y un bajo contenido de materia orgánica. Estos factores afectan directamente a la biodiversidad del suelo y juegan un papel clave en los ciclos biogeoquímicos del C, P, N y S, así como en el balance de nutrientes [1]. El estudio de la actividad enzimática se presenta como un indicador de la salud del suelo, ya que permite analizar la capacidad del mismo, en unión con la microbiota, para descomponer o transformar diversos sustratos implicados en el reciclaje de estos nutrientes. Por tanto, el objetivo de este estudio se fundamentó en el análisis de las actividades enzimáticas βglucosidasa, fosfatasa ácida, arilsulfatasa y proteasa en suelos rurales de distintas zonas de Andalucía. Para ello, se siguió la metodología descrita por Bell et al., (2013) basada en fluorescencia [2]. Se realizó un estudio con sitios comparados, seleccionando suelos con distintos usos en la provincia de Sevilla (bosque natural y olivar) y Almería (suelo en barbecho y olivar), dentro de los suelos analizados en el proyecto SHARInG-MeD. En las muestras de suelos de la provincia de Sevilla, se registró una actividad β-glucosidasa de 18,65 nM h⁻¹g⁻¹ en el suelo de bosque de nogales, mientras que el suelo del cultivo de olivo mostró una actividad de 1,48 nM h⁻¹g⁻¹. En suelos en barbecho localizados en Almería se detectaron concentraciones de fosfatasa ácida de 420,55 nM h⁻¹g⁻¹ y de arilsulfatasa de 798,25 nM h⁻¹g⁻¹. Por otro lado, en suelos de cultivo de olivo se obtuvieron concentraciones de arilsulfatasa de 41,37 nM h⁻¹g⁻¹ con ausente actividad fosfatasa. Dichos hallazgos concuerdan con estudios previos donde se ha reportado una disminución significativa de la actividad enzimática en suelos agrícolas y se ha resaltado la importancia de un retorno constante de sustratos orgánicos para preservar la funcionalidad del microbioma del suelo [3]. Los resultados obtenidos sugieren que la actividad enzimática puede ser un indicador óptimo ya que actividades enzimáticas más altas se han relacionado con suelos en barbecho. Esto podría indicar que la implementación de prácticas agrícolas más sostenibles podría favorecer la actividad enzimática del suelo y con ello su salud, aspecto principalmente relevante ante eventos de cambio climático. No obstante, más estudios con el contenido de carbono y otros nutrientes son necesarios para esclarecer una correlación más directa entre ambos parámetros.

Financiación: Este estudio es parte del proyecto SHARINg-MeD GAN 2211. PRIMA call Section 1 – RIA – 2022.

- [1] Salazar S., Sánchez L.E., Alvarez J., Valverde A., Galindo P., Igual J.M., Santa-Regina I. Ecological Engineering. Pub. 2011, Vol 27, 1123-1131
- [2] Bell C., Fricks B.E., Rocca J.D., Steinweg J.M., McMahon S.K., Wallenstein M.D. JoVE. Pub. 2013, Vol. 81, 50961.
- [3] Mir Y.H., Ganie M.A., Shah T.I., Bangroo S.A., Mir S.A., Shah A.M., Rahman S.U. PeerJ. Pub 2023, Vol. 11, e15993.



Granada, 6 de Junio 2025

Micorremediación de plásticos con hongos nativos: aproximación mediante estudios in vitro

C. Correro¹, L. Guirado-Mendoza^{1,2}, G. Ángeles-de Paz^{1,2}, E. Aranda^{1,2}

¹Instituto de investigación del Agua, Universidad de Granada ²Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

Email: coarclaudia@correo.ugr.es

El tereftalato de polietileno (PET) constituye un polímero de uso muy extendido en diversas industrias, dadas sus excelentes propiedades físicas y químicas [1]. Cada año se producen en el mundo alrededor de 400.000 millones de botellas de PET, las cuales producen residuos sólidos no degradables y que se acumulan en los ecosistemas terrestres y acuáticos, causando un importante impacto medioambiental [2]. Este hecho, exige la búsqueda y desarrollo de estrategias eficaces para eliminarlo de manera urgente. En comparación con otros procesos de degradación, la biodegradación del plástico se presenta como una alternativa idónea, debido a su mecanismo no contaminante, su naturaleza ecológica, su rentabilidad y eficacia [3]. En este proceso, los hongos juegan un papel fundamental, ya que actúan sobre los plásticos de manera tanto física, generando biodeterioro en el material, como química, mediante la secreción de enzimas degradadoras. En este estudio se pretende evaluar el potencial degradador de tres cepas de hongos (HM49, F3 y F5), aislados de pilas de compostaje de lodos de depuradora, para degradar el PET mediante ensayos *in vitro*.

Para ello, se llevó a cabo un ensayo de degradación en medio líquido. En primer lugar, se obtuvieron los preinóculos, en el caso de HM49, a partir de una suspensión celular y se ajustó el volumen del inóculo para alcanzar una densidad celular inicial deseada de 1×10⁶ células/mL. Para F3 se obtuvo a partir de un triturado mediante ultraturrax y para F5 se obtuvo de una suspensión de esporas a partir de una placa sembrada previamente y, de la misma forma, se ajustó el volumen del inóculo. Se preparó un ensayo para cada hongo con matraces de sacrificio durante 45 días, en el que los preinóculos se inocularon en matraces individuales que contenían el medio M9 Biffinger con y sin glucosa y con 14 piezas de film de PET puro (Goodfellow®, Inglaterra), previamente pesadas y esterilizadas. Se tomaron muestras a tiempo 0, 30 y 45 días. En cada tiempo, se analizó el biodeterioro de la superficie de los films de PET mediante análisis gravimétrico (por diferencia de peso) y de microscopía electrónica de barrido (SEM). Por otro lado, se analizó la degradación biológica mediante la determinación de la actividad enzimática (lipasa y esterasa) (Lesuisse et al., 1993) [4]. Se evaluó, además, la producción de metabolitos de degradación del PET: bis (2-hidroxietil) tereftalato (BHET), ácido tereftálico (TPA) y tereftalato de mono (2hidroxietil) (MHET) por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y espectrometría de masas (UPLC-MS) con un detector cuadrupolo y tiempo de vuelo (QTOF). Los resultados mostraron una disminución del peso del plástico extraído tras los distintos tratamientos en los diferentes tiempos tanto en F3 como en HM49. Se observó cómo, bajo estas condiciones de experimentación, los hongos no fueron capaces de generar biofilm para adherirse a la superficie de los plásticos, a diferencia de ensayos previos en medio sólido. Mediante los análisis de cromatografía, se pudo comprobar la presencia de productos de degradación del PET en las muestras obtenidas a los 30 días de incubación de HM49 y notablemente en aquellas procedentes de los matraces con medio con glucosa, y que a su vez se correspondió con un mayor aumento en la actividad enzimática. A los 45

días de tratamiento, se obtuvo una disminución tanto en la concentración de productos de degradación del PET como de la actividad enzimática en HM49 y F3. Los resultados obtenidos hasta el momento confirman el potencial degradador de PET de F3 y HM49, el análisis de F5 están siendo evaluados en la actualidad.

Este proyecto está financiado por MCIN/El/10.13039/501100011033/ y por FEDER Una manera de hacer Europa (PID2021-123164OB-100).

- [1] Ahmaditabatabaei, S. Kyazze, G. Igbal, et al. J. Fungi. 2021,7-931.
- [2] Malafatti-Picca, L.Bucioli, E.C. de Barros, et al. Polymers. 2023,15-1581.
- [3] M. Srikanth, T.S.R.S Sandeep, Kuvala Sucharitha, et al. Bioresources and Bioprocessing. 2022,9-42.
- [4] Sehroon Khan, Sadia Nadir, Zia Ullah Shah, et al. Environmental Pollution. 2017,225.



Granada, 6 de Junio 2025

EVALUACIÓN DE NUEVOS TRATAMIENTOS PARA LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR EN DIABETES TIPO 2

V. R. Pereira ¹, A. Yessenbekova, B. Ussipbek, D. Colombaretti, A. Nicois, I. Molina, J. Gutiérrez, I. Rusanova¹.

Grupo de investigación CTS-101 "Comunicación intercelular", Instituto de Biotecnología, Centro de Investigación Biomédica de la Universidad de Granada.

Email: irusanova@ugr.es

La principal causa de morbimortalidad en los pacientes de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es la enfermedad cardiovascular (ECV); esto ocurre por la disfunción endotelial que sufren estos pacientes debido al estrés oxidativo e inflamación crónica que padece su endotelio [1]. Con el objetivo de encontrar nuevos tratamientos dirigidos a la disfunción endotelial que sufren los pacientes DM2, se han cultivado células endoteliales de vena umbilical humana (HUVECs) sometidas a condiciones de hiperglucemia (HG): Glucosa 25mM y tratadas con Melatonina (Mel) y Coenzima Q10 (CoQ) durante 5 días, posteriormente se han realizado diferentes análisis bioquímicos para evaluar el rol de estos tratamientos. Los resultados de viabilidad celular muestran una disminución de la viabilidad en el grupo HG en comparación con el grupo control de normoglucemia (NG), y una recuperación de la misma a diferentes concentraciones de Mel y CoQ, tanto por separado como en co-tratamiento. La determinación de especies reactivas de oxígeno (ROS) desveló el estrés oxidativo que sufría el grupo HG en comparación al NG, y como los tratamientos lo revertían. También se hizo análisis de respiración celular (Agilent Seahorse XF Pro Analyzer) para evaluar el efecto de la HG en la respiración de las HUVECs a lo largo de los días y se observó una disminución en el consumo de oxígeno y en la producción de ATP a lo largo de los

5 días en comparación con NG. Se determinó la expresión de ciertos genes relacionados con el estrés oxidativo y la inflamación mediante RT-qPCR (ARNm) y Western Blot (Proteína) como NRF2, eNOS, NF-κB, HO-1. Esta enfermedad, también cursa con modificaciones epigenéticas como los microARNs (miRs) que son responsables de que la disfunción endotelial perdure a pesar de un control glucémico adecuado del paciente, es por ello que también se han determinado las concentraciones de diversos miRs relacionados con el estrés oxidativo y la inflamación, mediante RT-qPCR, para ver que efecto tienen estos tratamientos en esas modificaciones epigenéticas. Se han medido miR-21, miR-126, miR-155 y miR-

484. Todos estos resultados apuntan a que la Mel y la CoQ tienen potencial terapéutico y preventivo en la ECV de los pacientes de DM2 mediado por la actividad antioxidante de cada molécula y por su capacidad de incrementar la maquinaria antioxidante y antiinflamatoria de la célula, dirigiendo especialmente su acción a la mitocondria, que es el orgánulo peor parado bajo condiciones de HG.

Agradecimientos: F. Olivieri, Department of Clinical and Molecular Sciences, Disclimo, Università Politecnica delle Marche, por envío de las células, G. Escames, Directora del grupo.

[1] Duisenbek, A., Avilés Pérez, M. D., Pérez, M., Aguilar Benitez, J. M., Pereira Pérez, V. R., Gorts Ortega, J., Ussipbek, B., Yessenbekova, A., López-Armas, G. C., Ablaikhanova, N., Olivieri, F., Escames, G., Acuña-Castroviejo, D., & Rusanova, I. *International Journal of Molecular Sciences*. Pub. 2024, Vol., 25(21).



Granada, 6 de Junio 2025

ANÁLISIS CALORIMÉTRICO DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS BÁSICO (bFGF)

<u>A. García-Sánchez</u>,¹ M.C. Salinas-García,² J.C. Martínez-Herrerías,¹ C. Moreno-Molero,¹ J. Murciano-Calles¹

¹Grupo de investigación: Grupo de Biofísica y Biotecnología Molecular (FQM-171) ²Grupo de investigación: Grupo de Estructura de Proteínas (BIO-328)

Email: argarsanchez@ugr.es

Los Factores de Crecimiento de Fibroblastos (FGFs) son una familia de proteínas con una alta homología en su estructura primaria, cuyas características y aptitudes como agentes mitógenos abarcan un amplio espectro de aplicaciones.[1] Específicamente, el Factor de Crecimiento de Fibroblastos básico (bFGF) juega un papel fundamental en la angiogénesis y cicatrización de úlceras, llegando a utilizarse sinérgicamente con productos farmacéuticos para la regeneración tisular cutánea, promoviendo la migración, proliferación y diferenciación celular.[2, 3] Es por todo ello que someter a esta proteína a estudios de estrés con los cuales establecer las condiciones experimentales en las que se alcance la máxima estabilidad es de suma relevancia. En este trabajo, se presenta la caracterización energética del desplegamiento del bFGF mediante Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). De acuerdo con los resultados obtenidos, se ha constatado que la estabilidad de la proteína está bajo control cinético (no termodinámico) y que el proceso de desnaturalización sigue el ya conocido Modelo de Dos Estados Irreversible, en el que se describe como el bFGF, al sufrir ciertas alteraciones irreversibles, termina llegando a un estado final (F) a partir del cual no puede regresar al estado nativo (N) funcional.[4] Gracias al ajuste por mínimos cuadrados de este modelo a los datos experimentales, se han podido llegar a cuantificar ciertos parámetros derivados de las trazas calorimétricas como la temperatura de desnaturalización (Tm) y la energía de activación aparente (Eap) de la reacción irreversible. Con ellos, se ha consequido determinar la constante de velocidad (k) del desplegamiento en el rango de temperaturas de los experimentos DSC, indicador clave de la escala de tiempo fisiológica en la que el bFGF puede permanecer activo biológicamente.[5]

Agradecimientos: "Este trabajo está enmarcado en el proyecto Cronisan, financiado por la Agencia Estatal de Investigación, referencia CPP2022.009544"

^[1] Jiménez, M. A., Lozano, M.R., Giménez-Gallego, G. Fibroblast Growth Factor in the Cardiovascular System. 3-926098-05-08., I. Holzapfel Verlag GmbH, Munich. 2002

^[2] Chen, J., Zhang, G., Zhao, Y., Zhou, M., Zhong, A., & Sun, J. *Advanced Composites And Hybrid Materials*. Promotion of skin regeneration through co-axial electrospun fibers loaded with basic fibroblast growth factor. 2022, *5* (2), 1111-1125.

^[3] Zare, R., Abdolsamadi, H., Asl, S. S., Radi, S., Bahrami, H., & Jamshidi, S. *Reports Of Biochemistry And Molecular Biology*. The bFGF can improve angiogenesis in oral mucosa and accelerate wound healing. 2023, 11 (4), 547-552.

- [4] Sanchez-Ruiz, J.M. *Biophysical Journal*. Theoretical analysis of Lumry-Eyring models in differential scanning calorimetry. 1992, *61* (4), 921-935.
- [5] Sanchez-Ruiz, J.M. Biophysical Chemistry. Protein kinetic stability. 2010, 148 (1-3), 1-15



Granada, 6 de Junio 2025

USO DE MODELOS CELULARES 3D PARA INVESTIGAR LAS INTERACCIONES HUÉSPED-MICROBIO EN EL ÚTERO

L. Blanco-Rodríguez 1,2* A. Sola-Leyva 2-3-4, S. Altmäe 1,3,4,5

¹Departamento de Bioquímica y Biología Molecular I, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Granada, 18071, España

²Celvia CC, Tartu, 50411, Estonia
 ³División de Obstetricia y Ginecología, Departamento de Ciencias Clínicas, Intervención y Tecnología, Instituto Karolinska, Huddinge, Estocolmo, 14183, Suecia
 ⁴Departamento de Ginecología y Medicina Reproductiva, Hospital Universitario Karolinska, Huddinge, Estocolmo, 14183, Suecia
 ⁵Instituto de Investigación Biosanitaria ibs.GRANADA, Granada, 18012, España

Email: luciablancordr@correo.ugr.es.

El endometrio, capa interna del útero, es un tejido altamente dinámico y fundamental para la implantación embrionaria [1]. Aunque tradicionalmente se consideraba un entorno estéril, estudios recientes han detectado la presencia de microorganismos en la cavidad uterina, lo que ha abierto nuevas perspectivas sobre su posible implicancia en la salud reproductiva [2]. En este contexto, la endometriosis, una enfermedad inflamatoria crónica frecuentemente asociada a problemas de infertilidad, ha sido vinculada a alteraciones en la composición de las comunidades microbianas del tracto reproductivo [3]. Sin embargo, aún no se ha determinado si estas modificaciones en las comunidades microbianas representan una causa o una consecuencia de la enfermedad. Para explorar esta interacción, los organoides epiteliales endometriales (EEO, de sus siglas en inglés, Epithelial Endometrial Organoids) constituyen un modelo tridimensional in vitro que reproduce fielmente la arquitectura, diversidad celular y funciones del tejido endometrial [4-5]. Este modelo ofrece una herramienta innovadora para estudiar los mecanismos mediados por el microbioma en enfermedades como la endometriosis. El presente estudio evalúa el efecto de compuestos bacterianos asociados a un microbioma eubiótico (D-lactato) o disbiótico (lipopolisacárido, LPS) sobre la expresión génica en EEO derivados de mujeres sanas (Figura 1). Los EEO fueron expuestos a diferentes concentraciones de estos metabolitos y se analizó su viabilidad mediante un ensayo de resazurina [6]. Posteriormente, se realizó un análisis transcriptómico (RNA-Seq) para identificar las vías moleculares moduladas por la exposición de los compuestos bacterianos. Los resultados indicaron que ninguna de las concentraciones de estudio afectó la viabilidad de los organoides. Asimismo, el análisis transcriptómico reveló respuestas específicas frente al LPS que indujo la sobreexpresión de genes relacionados con la respuesta inmunitaria humoral y antimicrobiana. Estos hallazgos ofrecen una evidencia preliminar sobre los mecanismos mediante los cuales ciertos compuestos derivados bacterianos podrían favorecer un fenotipo endometriósico y reducir la receptividad endometrial. En conjunto, este estudio destaca el potencial de los organoides endometriales y los enfoques multiómicos para profundizar en la comprensión de la fisiopatología de la endometriosis y su relación con la infertilidad.

Figura 1. Flujo de trabajo del estudio. Figura de elaboración propia creada con BioRender.com.

Agradecimientos: Agradecemos profundamente a las mujeres que donaron muestras endometriales para este estudio. Su generosidad y compromiso fueron fundamentales para la realización de esta investigación.

- [1] L. A. Salamonsen, J. C. Hutchison, C. E. Gargett. Development (Cambridge). Pub. 2021, Vol. 148(17).
- [2] J. M. Baker, D. M. Chase, M. M. Herbst-Kralovetz. Frontiers in Immunology. Pub. 2018, Vol. 9.
- [3] C. Uzuner, J. Mak, F. El-Assaad, G. Condous. Frontiers in Endocrinology. Pub. 2023, Vol. 14.
- [4] M. Boretto, B. Cox, M. Noben, N. Hendriks, A. Fassbender, H. Roose, F. Amant, D. Timmerman, C. Tomassetti, A. Vanhie, C. Meuleman, M. Ferrante, H. Vankelecom. Development (Cambridge). Pub. 2017, Vol. 144(10), 1775–1786.
- [5] L. Garcia-Alonso, L. F. Handfield, K. Roberts, K. Nikolakopoulou, R. C. Fernando, L. Gardner, B. Woodhams, A. Arutyunyan, K. Polanski, R. Hoo, C. Sancho-Serra, T. Li, K. Kwakwa, E. Tuck, V. Lorenzi, H. Massalha, M. Prete, V. Kleshchevnikov, A. Tarkowska, ... R. Vento-Tormo. Nature Genetics. Pub. 2021, Vol. 53(12), 1698–1711.
- [6] D. Lavogina, K. Samuel, A. Lavrits, A. Meltsov, D. Sõritsa, Ü. Kadastik, M. Peters, A. Rinken, A. Salumets. Reproductive BioMedicine Online. Pub. 2019, Vol. 39(4), 556–568.



Granada, 6 de Junio 2025

Modelo de pez cebra para el estudio de deficiencias primarias de CoQ: impacto de la mutación $Cog2^{A260V}$.

<u>A. Ruiz-Moreno</u>¹, J. Corral-Sarasa¹, S. López-Herrador¹, I. Gallego-López¹, P.Ruiz-López¹, M.E. Díaz-Casado^{1,2}, L.C. López García^{1,2}

¹Departamento de Fisiología, Facultad de Medicina, Universidad de Granada ²Instituto de Biotecnología, Universidad de Granada

Email: adrianrm@correo.ugr.es

Las deficiencias primarias de coenzima Q (CoQ) constituyen un grupo de enfermedades mitocondriales autosómicas recesivas raras causadas por mutaciones en genes involucrados en la biosíntesis de CoQ. Estas enfermedades presentan una notable variabilidad clínica, que podría estar asociada a alteraciones metabólicas dependientes del genotipo y a disfunciones bioenergéticas. Sin embargo, el conocimiento actual sobre los factores que explican esta variabilidad clínica sigue siendo limitado [1].

Con el objetivo de comprender mejor los mecanismos moleculares y fisiopatológicos subyacentes a estas enfermedades, este trabajo se ha centrado en la caracterización de un modelo de pez cebra (*Danio rerio*) mutante para el gen *Coq2*, uno de los genes esenciales en la ruta de biosíntesis de la CoQ. Estos resultados se acompañan con resultados de fibroblastos de un paciente con una mutación en *COQ2*.

Los análisis morfológicos mostraron que los ejemplares mutantes presentan un tamaño significativamente reducido en comparación con los grupos control, lo que sugiere un retraso en el desarrollo. Asimismo, los estudios de motilidad revelaron alteraciones comportamentales graves, con una reducción significativa en la actividad locomotora y patrones convulsivos. Se determinaron los niveles de CoQ10, demostrando una reducción significativa en los animales mutantes, confirmando el efecto esperado de la alteración en *Coq2* sobre esta vía metabólica. Desde el punto de vista molecular, los embriones mutantes presentan alteraciones en proteínas involucradas en la biosíntesis de CoQ10, concretamente se detectaron cambios significativos en las proteínas Coq2, Coq4 y Coq6. Además, se llevaron a cabo estudios de respiración mitocondrial, que evidenciaron una reducción en la capacidad bioenergética de las larvas *Coq2*^{A260V}.

Adicionalmente, el modelo $Coq2^{A260V}$ presenta un aumento significativo de las proteínas proinflamatorias NLRP3, Caspasa1, IKB- \square e IL-1 \square , evidenciando un estado inflamatorio característico en las deficiencias primarias en CoQ. Como consecuencia de todas las alteraciones descritas, el modelo $Coq2^{A260V}$ presenta una reducción significativa en la esperanza de vida y reproduce las manifestaciones clínicas características de los pacientes con esta patología.

[1] Alcázar-Fabra M, Rodríguez-Sánchez F, Trevisson E, Brea-Calvo G. Primary Coenzyme Q deficiencies: A literature review and online platform of clinical features to uncover genotype-phenotype correlations. Free Radic Biol Med. 2021 May 1;167:141-180.



Granada, 6 de Junio 2025

ELECTRODIÁLISIS APLICADA A DIGESTIÓN ANAEROBIA PARA LA OBTENCIÓN DE COMPUESTOS DE ALTO INTERÉS

L. U. Salcedo, E. Jiménez-Páez, Á. Trujillo-Reyes, A. Serrano

Grupo de investigación: *Departamento de Microbiología*, Instituto del Agua, Universidad de Granada

Email: Lukises@correo.ugr.es

Los ácidos grasos volátiles (AGV), como el acético o propiónico, son moléculas de gran interés por su aplicación en numerosos procesos de biorrefinería para la producción de bioplásticos, biocombustibles o productos químicos. Estudios previos sobre la fermentación de alperujo (FA) con cultivos microbianos mixtos han demostrado que la acumulación de AGV puede optimizarse controlando parámetros operacionales clave como el pH o el tiempo de residencia hidráulico (TRH) [1]. Sin embargo, la propia acumulación de AGV conlleva un proceso de inhibición por producto, lo que resulta en bajos ratios de hidrólisis [2]. Este estudio evalúa si un sistema de electrodiálisis (ED) acoplado a la FA (sistema FA-ED) podría ser la solución a dicha inhibición por producto. Para ello, se operan reactores de fermentación de 3,0 L a los que, dos veces por semana, se les realiza una operación de by-pass para extraer los AGV de 0,25 L de efluente mediante ED, y posteriormente, se les devuelve el efluente extractado. En paralelo, se operan dos reactores sin ED como control. Tras el primer TRH de operación de los reactores, no se observan diferencias significativas en la capacidad de acumulación de materia orgánica entre el control y el sistema FA-ED (Figura 1). No obstante, sí que se observa que el sistema FA-ED presenta una mayor caída en conductividad, asociada posiblemente a la recuperación de compuestos durante la ED (Figura 1). De acuerdo con Jiménez-Páez et al. [2], la inhibición por producto se observó a concentraciones de materia orgánica soluble en torno a 20 g O2/L. Por tanto, es necesario seguir operando los reactores durante más tiempo para alcanzar dicho rango de concentraciones y comprobar si la ED permite una mayor generación de AGV.

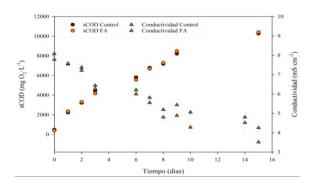


Figura 1. Datos de conductividad y demanda química de oxígeno soluble (DQOs) del grupo control y FA-ED durante el primer TRH.

^[1] E. Jiménez-Páez, A. Serrano, J. Purswani, D. Correa-Galeote, J.Cubero-Cardoso, F.G. Fermoso. Environmental Technology & Innovation. Impact on the microbial population during biological volatile fatty acid production from olive mill solid waste. 2023, 32:103409. [2] E. Jiménez-Páez, A. Serrano, R. Hueso, F.G. Fermoso, J. Cubero-Cardoso. Processes. Evaluation of semi-continuous anaerobic fermentation of alperujo by methanogenesis inhibition. 2025, 13(3):600.



Granada, 6 de Junio 2025

CARACTERIZACIÓN DE LA CEPA BACTERIANA HE05 CON INTERÉS AGRONÓMICO

<u>A. Hita-Martínez</u>,¹ M. Ramírez-Aguado, V. Torres-Aguado, L. Salido- Navarro, S. Vílchez-Tornero

¹ Grupo de investigación: CTS-183

Email: anahitamar@gmail.com

Las bacterias rizosféricas promotoras del crecimiento vegetal son muy interesantes a nivel agronómico, ya que contribuyen en el desarrollo de la planta mediante la fijación de nitrógeno, la solubilización de nutrientes y la protección frente a patógenos [1]. En este trabajo se caracterizó una cepa bacteriana de interés agronómico proporcionada por Herogra Group y aislada de la rizosfera de plantas. Para ello, se emplearon técnicas microbiológicas y moleculares.

Se realizaron distintos ensayos para estudiar el crecimiento y el comportamiento del microorganismo en un medio de cultivo sintético. La curva de crecimiento mostró una fase exponencial entre las 3 y 12 horas posteriores a la inoculación, tiempo tras el cual se indujo el proceso de esporulación. La densidad óptica de los cultivos y el pH de estos se siguieron hasta 72 horas después de la inoculación.

Al realizar un antibiograma mediante el método de difusión en disco [2], se observó que la cepa mostraba sensibilidad a una amplia variedad de antibióticos, entre los que destacaron la ampicilina, la rifampicina, la kanamicina y la penicilina. Posteriormente, se determinó la concentración mínima inhibitoria [3], lo que permitió demostrar que el microorganismo presentaba una baja sensibilidad a antibióticos como la penicilina y la ampicilina, y una alta sensibilidad frente a antibióticos como la tetraciclina y la actinomicina.

A nivel molecular, se obtuvo el perfil proteico de la cepa mediante electroforesis SDS-PAGE. Se observó un cambio en el patrón de bandas tras la inducción del proceso de esporulación, aproximadamente a las 24 horas del inicio del cultivo. Por otro lado, la extracción de ADN total mostró la presencia de al menos un plásmido. Además, se amplificó y secuenció el gen 16S rRNA de la cepa [4]. El análisis bioinformático de la secuencia del gen 16S rRNA permitió identificar la cepa como un *Bacillus* perteneciente al grupo *Bacillus subtilis* donde destacan especies como *Bacillus velezensis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus atrophaeus* y *Bacillus mojavensis*, entre otras. Estos resultados permiten avanzar en la caracterización y evaluación del potencial biotecnológico de esta cepa con interés agronómico.

^[1] P.N. Bhattacharyya, D.K. Jha. World J Microbiol Biotechnol. Pub. 2012, Vol. 28, 1327-1350.

^[2] A.W. Bauer, W.M. Kirby, J.C. Sherris, M. Turck. Am. J. Clin. Pathol. Pub. 1966, Vol. 45, 493-496.

^[3] D.C. Garcia-Ramon, C.A. Molina, A. Osuna, S. Vílchez. Appl. Microbiol. Biotechnol. Pub. 2016,

Vol. 100, 3637-3654.

[4] C.A. Molina, J.F. Caña-Roca, A. Osuna, S. Vilchez. Appl. Environ. Microbiol. Pub. 2010, Vol. 76, 1320-1327.



Granada, 6 de Junio 2025

ESTABILIZACIÓN DE BIOPÉPTIDOS ANTIDIABÉTICOS DE HUESO DE ACEITUNA MEDIANTE ENCAPSULACIÓN POR SECADO POR ATOMIZACIÓN EN COAXIAL

<u>A. Botella-Galera</u>, F. J. Espejo-Carpio, R. Pérez-Gálvez, A. Guadix, P. J. García-Moreno, E. M. Guadix

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de Granada, Granada, España Email: antoniobotella@correo.ugr.es

El desarrollo de alimentos funcionales que contienen péptidos con actividad antidiabética se plantea como una alternativa complementaria para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo II, una enfermedad que se prevé afectará a 700 millones de personas para el año 2045. En particular, los péptidos capaces de inhibir la enzima dipeptidil peptidasa-IV (DPP-IV) son especialmente relevantes, ya que al bloquear esta enzima se prolonga la duración de acción de las hormonas incretinas, como el péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) y el polipéptido inhibidor gástrico (GIP), que estimulan la liberación de insulina en el páncreas. Por ello, la inhibición de DPP-IV mediante péptidos bioactivos contribuye a un mejor control de los niveles de glucosa en sangre, sin los efectos secundarios asociados a fármacos. No obstante, la incorporación de estos péptidos en matrices alimentarias presenta desafíos técnicos importantes, ya que pueden degradarse durante el procesamiento, almacenamiento y digestión gastrointestinal, lo que reduce su bioactividad y biodisponibilidad [1].

La encapsulación de estos péptidos antidiabéticos es una alternativa prometedora para garantizar la estabilidad y actividad de estos ingredientes durante el desarrollo de la fórmula funcional y su ingesta. En investigaciones previas, se ha empleado la técnica de secado por atomización monoaxial, que utiliza una boquilla de dos fluidos o un atomizador rotatorio, debido a su capacidad para minimizar la pérdida de actividad de los péptidos bioactivos durante el secado. Sin embargo, el secado por atomización coaxial, que involucra una boquilla con tres fluidos y posibilita la creación de microcápsulas con estructura de núcleo-carcasa mediante el secado simultáneo de dos soluciones diferentes, permanece poco explorado. Esta técnica podría ofrecer una barrera más efectiva contra la migración de los péptidos hacia la superficie de la cápsula, incrementando así su protección y regulando la liberación [2].

El objetivo de este estudio ha sido investigar la encapsulación de un hidrolizado proteico antidiabético mediante secado por atomización coaxial, evaluando el efecto de diferentes ratios (1:1, 1:2 y 1:4) entre los caudales de la solución del núcleo (con hidrolizado y goma arábiga) y la carcasa (solo goma arábiga). El hidrolizado, con un DH

= 20%, se ha obtenido por hidrólisis enzimática con Alcalasa y Flavourzyme de harina de hueso de aceituna, valorizando un subproducto de la industria oleícola. Los encapsulados han sido caracterizados por su tamaño, morfología y estructura núcleo- carcasa usando microscopía electrónica y confocal, y se ha determinado la eficiencia de encapsulación mediante espectroscopía XPS. La estabilidad durante 4 semanas a 5 °C, 25 °C y 45 °C se ha analizado a través de la inhibición in vitro de DPP-IV, comparando con hidrolizado sin encapsular y cápsulas monoaxiales. Estos resultados amplían el uso del secado en coaxial, fundamentalmente aplicado a fármacos, para encapsular ingredientes bioactivos en la

^[1] C. Berraquero-Garcia, P.J. Garcia-Moreno, R. Pérez-Gálvez, F.J. Espejo-Carpio, E.M. Guadix. Gastrointestinal stability of Dipeptidyl peptidase IV (DPP-IV)-inhibitory peptides identified in Tenebrio molitor. Journal of Insects as Food and Feed. 2025 Feb 25, in press.

^[2] C. Berraquero-García, R. Pérez-Gálvez, F. J. Espejo-Carpio, A. Guadix, E. M. Guadix, P. J. García-Moreno. Encapsulation of Bioactive Peptides by Spray-Drying and Electrospraying. *Foods*. 2023, 12(10), 2005.



Granada, 6 de Junio 2025

NEW DUAL INHIBITORS OF GO AND LDH TO DECREASE OXALATE BIOSYNTHESIS IN PRIMARY HIPEROXALURIAS

S. Villanueva-Valdes¹, P. M. Luque¹, Y. S. Lopez¹, J. A. Gómez-Vidal¹, M. Díaz-Gavilán¹

¹ Grupo BIO 250. Departamento de Química Farmacéutica y Orgánica, Facultad de Farmacia, Campus de Cartuja S/n, 18071, Granada, Spain

Email: monicadg@ugr.es

Primary Hyperoxalurias (PHs) are a group of rare genetic disorders caused by an impairment of glyoxylate metabolism. PHs are characterized by an oxalate accumulation leading to kidney malfunctioning and oxalate urolithiasis. Because the endogenous synthesis of oxalate is regulated by glycolate oxidase (GO) and lactate dehydrogenase (LDHA), both enzymes are clinically validated targets for treating PHs. [1,2]

It is pointed out that multi-target enzyme inhibitors are more effective and safer in contrast to single-target agents as therapeutic option in the treatment of PHs. Taking this into consideration, this work focuses on the synthesis of dual small molecule inhibitors designed to improve drug administration, chemical stability, and affordability in contrast to the actual treatments based on iRNA. [1]

Recent studies have shown that salicylic acid (SA) derivatives behave as noncompetitive inhibitors against GO and LDHA. The presence of an amino group in the side chain of the molecule reinforces the drug-target interaction by hydrogen bond formation. [2] The candidate **MDMG-935P**, which bears a polar SA head and a propargylamine group, became a hit to lead due to its effective activity on decreasing urine oxalate after oral administration to a PH1 murine model. [3] In order to analyze the phenol group's contribution to the activity, we have designed a library of compounds that modify the polar head of SA derivatives, replacing the phenol group with a benzylic alcohol (Figure 1). In addition, different secondary and tertiary amines, both aliphatic and aromatic, were tested. Not only the dual targeting but also the ease and affordable synthetic process of these compounds turn them into promising drug candidates for PHs.

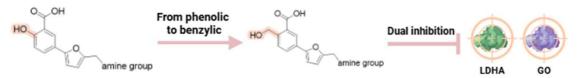


Figure 1. SA polar head modification.

Acknowledge:

We thank to Secretaría de Ciencias, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) for postgraduate scholarship, as well as the funding support of the project PID2022- 141783OB-C21, financiered by MCIN/AEI/10.13039/501100011033/ and FEDER Una manera de hacer Europa.

- [1] M.D. Moya, J.A. Gomez, A. Alejo, et al. J Pers Med. (2021), 11(2): 74.
- [2] M.D. Moya, B. Rodriguez, C. Martin, et al. Eur J Med Chem. (2022), 237:114396.
- [3] S. Das, A.C. Finney, S.K. Anand, et al. Nat Metab. (2024), 6, 1939–1962.



Granada, 6 de Junio 2025

EVALUACIÓN DE DIFERENTES ESTRATEGIAS TERAPEÚTICAS PARA EL TRATAMIENTO DE LA DEFICIENCIA PRIMARIA EN COQ.

<u>P. Ruiz López</u>¹, A. Ruiz Moreno¹, E. Barriocanal- Casado¹, P. González-García, C. J. Venegas
Maldonado¹, S. López-Herrador¹, J. Corral-Sarasa¹, M. E. Díaz-Casado¹, L. C. López¹, L. Jiménez Sánchez¹.

¹ Grupo de investigación: CTS-101, CIBM, Granada, Spain.

Email: paularl@correo.ugr.es, ruizlopezpaula1@gmail.com

Las deficiencias primarias de coenzima Q (CoQ) están causadas por mutaciones en proteínas implicadas en su ruta de síntesis endógena, y se caracterizan por una sintomatología clínica heterogénea. El tratamiento actual, la suplementación exógena con CoQ, tiene una limitada eficacia debido a su carácter lipofílico. En el presente estudio empleamos el modelo murino Coq9^{R239X}, (1) un modelo knock-in que presenta una mutación en el gen Coq9, provocando una disminución de la síntesis de CoQ. Los ratones presentan alteraciones en la respiración mitocondrial y en la producción de ATP, así como en aquellas rutas metabólicas donde CoQ es esencial, como el metabolismo del azufre. Estos animales desarrollan una encefalopatía espongiforme en el tronco del encéfalo, con neuroinflamación y neurodegeneración, manifestada como astrogliosis y microgliosis reactiva severa. (2) Como consecuencia, los animales sufren parálisis de las extremidades traseras y la muerte prematura entre los 3 y 6 meses de edad. (1) Además, estudios de metabolómica de nuestro laboratorio han identificado una disminución marcada en los niveles de N-acetilglucosamina (NAG), esencial en procesos como la N-glicosilación. Alteraciones en esta se han vinculado con procesos de neuroinflamación en enfermedades neurodegenerativas como la Esclerosis. (3) Este trabajo estudia el desarrollo temporal de los procesos de inflamación y desmielinización en el modelo Cog9^{R239X}. Además, dado que este modelo presenta alteraciones severas en el metabolismo de CoQ y una marcada neuroinflamación, se evalúa la eficacia de dos estrategias terapéuticas diferentes: la administración exógena de NAG (1mg/ml) y dos terapias génicas in vivo, AAV9 y AAV9P31. De acuerdo con los resultados obtenidos, el inicio de la neuroinflamación en el modelo murino $Coq9^{R239X}$ es anterior a las primeras alteraciones motoras. Así, la administración de NAG produjo un importante efecto antiinflamatorio disminuyendo la actividad de diferentes rutas. Por otro lado, en el caso de la terapia génica, el serotipo AAV9, tras su administración, aunque mejoró los niveles de CoQ9 en distintos órganos periféricos. fue incapaz de corregir las alteraciones metabólicas en el cerebro y en el riñón. Para solventar este problema, se usó un vector adenoviral con tropismo por cerebro (AAV9P31), cuya administración consiguió aumentar de manera significativa la síntesis de CoQ9 en cerebro. Estos resultados sientan las bases para el desarrollo de una terapia combinada para el tratamiento de enfermedades mitocondriales que afectan mayoritariamente al sistema nervioso central.

- 1. García-Corzo L, Luna-Sánchez M, Doerrier C, García JA, Guarás A, Acín-Pérez R, et al. Dysfunctional Coq9 protein causes predominant encephalomyopathy associated with CoQ deficiency. Hum Mol Genet. 15 de marzo de 2013;22(6):1233-48.
- 2. González-García P, Díaz-Casado ME, Hidalgo-Gutiérrez A, Jiménez-Sánchez L, Bakkali M, Barriocanal-Casado E, et al. The Q-junction and the inflammatory response are critical pathological and therapeutic factors in CoQ deficiency. Redox Biol. 15 de julio de 2022;55:102403.
- 3. Pradeep P, Kang H, Lee B. Glycosylation and behavioral symptoms in neurological disorders. Transl Psychiatry. 8 de mayo de 2023;13:154.



Granada, 6 de Junio 2025

ESTUDIOS DE EVOLUCIÓN DIRIGIDA EN CONSORCIOS MICROBIANOS FRENTE AL PARÁSITO DE LA ABEJA DE LA MIEL Lotmaria passim

C. Vega Soto, 1, J. Carreira, P. Olmedo, L.M. de Pablos

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

Email: <u>kaly507@hotmail.com</u>

La abeja de la miel (*Apis mellifera*) es un insecto ampliamente distribuido que cumple funciones ecológicas fundamentales, como la polinización de plantas, además de tener un papel clave en la industria apícola.

Existen diversos tipos de abejas, cuyas poblaciones se han visto afectadas por múltiples factores, incluyendo actividades antropogénicas como el uso de pesticidas, herbicidas o mal manejo de las colmenas y enfermedades casuadas por distintos patógenos, lo que ha contribuido a su declive poblacional [1]. Cualquier alteración que afecte a las abejas también puede incidir directamente sobre su microbiota intestinal, la cual está compuesta por ocho grupos de especies bacterianas que predominan en el intestino de abeja de la miel [3]. En este estudio, nos enfocamos en explorar la interacción entre la microbiota intestinal de *Apis mellifera* y el parásito *Lotmaria passim*, un protozoo flagelado ampliamente distribuido en diversas especies de abejas a nivel global y que coexiste en el microambiente del intestino posterior de la abeja [2]. Nuestro objetivo es comprender las posibles relaciones simbióticas, tanto antagonistas como agonistas.

Para ello, hemos desarrollado un sistema experimental *in vitro* que permite el cocultivo de *L. passim* con bacterias intestinales aisladas de abejas y su posterior medida espectrofotométrica mediante tinción cristal-violeta en placa de microtitulación de 96 pocillos. Esta metodología facilita la evaluación de las interacciones parásito-bacteria bajo diferentes condiciones experimentales. Como resultado, a 7 días de co-cultivo existe un efecto agonista parásito-bacterias, teniendo una medida de 45-48 veces mayor en relación a bacterias y de 6 a 6,8 en relación a parasito. Ademas, estandarizamos una serie de marcadores de ARN de *L. passim* específicos de estadio, con el objetivo de cuantificar la expresión génica de las distintas forma de *L.passim* (promastigotes y biofilm de haptomonas) en los co-cultivos. Usando estos marcadores moleculares, se logró detectar las formas parasitarias sin interferencia del ADN bacteriano. Estos resultados sugieren una posible relación agonista de la bacterias en los parásitos. Este estudio aporta al conocimiento de la dinámica microbiana y parasitaria en el intestino de la abeja, dentro del contexto de la microecología intestinal.

Agradecimientos: Este trabajo fue financiado por el Programa Español para la Generación de Conocimiento y el Fortalecimiento Científico y Tecnológico del Sistema de I+D+i, subvención PID2021-126938OB-I00, MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y por "FEDER/UE". Carlos Vega ha recibido el apoyo del programa de becas Doctorado de investigación 2023 del SENACYT gobierno de Panamá.

- [1] A. Vargas1, M.F. Polanco2. Corpoica ciencia y tecnología agropecuaria. Acciones antropogénicas y su incidencia sobre el declive de poblaciones de polinizadores (abejas nativas) en agroecosistemas cafeteros. 2023, Vol.,24(3).
- [2] C.I. MacInnis1, L.T. Luong2, S.F. Pernal3. International journal for parasitology. Effects of Nosema ceranae and Lotmaria passim infections on honey bee foraging behaviour and physiology. 2025, Vol.,55(3), 213-223.
- [3] N. A. Moran. Current Opinion in Insect Science. Genomics of the honey bee microbiome. 2015, Vol. 10, 22-28.



Granada, 6 de Junio 2025

Estudio de la interacción rizobio-leguminosa en presencia de mutantes del depredador bacteriano *M. xanthus*

M. A. García Pedrosa,¹ A. Moraleda Muñoz¹, F. J. Marcos Torres¹, J. Pérez Torres¹ y J. Muñoz Dorado¹

¹ Grupo de investigación: Desarrollo Procariótico (BIO-318)

Email: magp@correo.ugr.es

La simbiosis entre Sinorhizobium meliloti y plantas leguminosas como Medicago sativa es una interacción con una implicación importante para la fijación biológica de nitrógeno en suelos agrícolas [1]. Sin embargo, este proceso puede verse alterado por la presencia de bacterias como Myxococcus xanthus, un microorganismo depredador facultativo del suelo, con capacidad de atacar activamente a otras bacterias mediante secreción de enzimas hidrolíticas y metabolitos secundarios, como antibióticos [2]. Análisis transcriptómicos han identificado varios genes en M. xanthus pertenecientes al mismo clúster cuya expresión incrementa significativamente durante la interacción con S. meliloti, y que parece estar implicado en la detección y consumo de gránulos de poli- 3hidroxibutirato (PHB), un polímero de reserva energética producido por muchas bacterias, S. meliloti entre ellas [3, 4]. El PHB presenta numerosas aplicaciones biotecnológicas y como bioplástico, aunque su acumulación en el medio ambiente puede tener consecuencias imprevisibles. M. xanthus parece utilizar este polímero para integrarlo en su metabolismo de lípidos o como molécula precursora de numerosos metabolitos secundarios [4]. El mencionado clúster génico de M. xanthus está regulado por un represor tipo TetR (MXAN 0214), que ha sido denominado PhbR, pero cuyo papel en la interacción de M. xanthus con S. meliloti aún no ha sido analizado, como tampoco lo ha sido la posible implicación del metabolismo del PHB en esta interacción. Por ello, se ha estudiado la interacción depredador-presa mediante ensayos en placa con mutantes de M. xanthus para el regulador PhbR en co-cultivos con cepas productoras y no productoras de PHB de S. meliloti. Posteriormente, para determinar cómo afecta la interacción en el establecimiento de la simbiosis rizobio-planta, se han realizado análisis con las mismas cepas de depredador y presa sobre la leguminosa *M. sativa*.

^[1] Penttinen, P., Räsänen, L.A., Lortet, G. y Lindström, K. FEMS Microbiology Letters. Pub. 2013, Vol. 349(2), 117–126. https://doi.org/10.1111/1574-6968.12303

- [2] Contreras-Moreno, F.J., Pérez, J., Muñoz-Dorado, J., Moraleda-Muñoz, A. y Marcos-Torres, F.J. Frontiers in Microbiology. Pub. 2024, Vol. 15, 1339696. https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1339696
- [3] Pérez, J., Contreras-Moreno, F.J., Muñoz-Dorado, J. y Moraleda-Muñoz, A. Frontiers in Microbiology. Pub. 2022, Vol. 13, 1004476. https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1004476
- [4] Grupo BIO-318, comunicación personal, 2024.



Granada, 6 de Junio 2025

BIOPOLÍMEROS BACTERIANOS ACTIVADOS CON C-DI-GMP EN LA BIORREMEDIACIÓN DE AGUAS CONTAMINADAS POR COLORANTES SINTÉTICOS

M. S. Ostalaza, L. Ruiz-Sáez, M.C. Espinosa, S. Muñoz, J. Sanjuán, D. Pérez-Mendoza.

Grupo de investigación: Interacciones Planta-Bacteria, Dpto. del Suelo y la Planta, Estación experimental del Zaidín (EEZ-CSIC)

Email: msernaostalaza@correo.ugr.es

La emergencia de contaminantes químicos se ha posicionado recientemente como una de las problemáticas ambientales más acuciantes a nivel global. Entre los diversos tipos de sustancias contaminantes en medios acuáticos destacan los colorantes sintéticos, y dentro de estos, los tipo Azoico dado que son mayoritarios, persistentes, resistentes a la degradación por métodos convencionales y peligrosos tanto para la salud humana como para el medio ambiente, incluso a bajas concentraciones [1].

Las estrategias de biorremediación basadas en el uso de microorganismos se han propuesto como potenciales soluciones para la restauración de medios contaminados por esta clase de vertidos, suponiendo una alternativa más eficaz, económica y respetuosa con el medio ambiente que otros métodos convencionales. La biorremediación puede darse a través de un proceso conocido como biosorción, donde la biomasa se utiliza para adsorber y acumular los colorantes pudiendo ser retirados, reduciendo así su concentración en el agua. A nivel molecular, son a menudo la producción de biopolímeros microbianos los que intervienen en esta biosorción. La ingeniería genética ha abierto la puerta al uso de cepas bacterianas con capacidades mejoradas en la biorremediación por biosorción de colorantes sintéticos.

En el presente trabajo se ha evaluado la capacidad de biorremediar aguas contaminadas con colorantes sintéticos por cepas de *Rhizobium etli* genéticamente modificadas para la sobreproducción de exopolisacáridos (EPS). El aumento de EPS se ha realizado mediante el incremento de los niveles intracelulares del segundo mensajero c-di-GMP, el cual ha demostrado tener un papel protagonista en la regulación de su síntesis [2]. Para este fin, se han realizado ensayos de decoloración de los colorantes azoicos: Congo Red, Brilliant Yellow y Azul Tripán, mediante cepas mutantes de *R. etli* en la producción de sus EPS predominantes: celulosa y MLG [2].

Los resultados obtenidos muestran altos porcentajes de decoloración para las cepas sobreproductoras de EPS, en comparación con las cepas control con niveles fisiológicos de c-di-GMP. Al mismo tiempo, estos ensayos evidencian especificidad, con una mayor afinidad de los colorantes Congo Red y Brilliant Yellow por la celulosa, mientras que el Azul Tripán se une preferentemente a MLG.

Agradecimientos: Daniel Pérez Mendoza (tutor), EEZ, CSIC, Escuela Internacional de Posgrado.

on strategies, toxicity assessment, mechanisms, bottlenecks and prospects. 2024. 954, 176426. [2] Pérez-Mendoza, D., et al. Biology. The Role of Two Linear β -Glucans Activated by c-di-GMP in Rhizobium etli CFN42. 2022. 11, 1364.



Granada, 6 de Junio 2025

Evaluación de la inserción cromosómica del gen *pleD** en la colonización de raíces por *Paraburkholderia phymatum* STM815

<u>L. García-Sánchez</u>¹ J.A. Marchante-Sánchez, S. Muñoz, J. Sanjuán, D. Pérez-Mendoza

Grupo de investigación: Interacciones Planta-Bacteria, Dpto. del Suelo y la Planta, Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC)

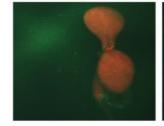
Email: lidiagarcias@correo.ugr.es

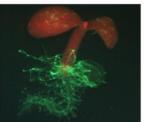
Durante la interacción entre bacterias y plantas, ya sea en relaciones mutualistas o patogénicas, el diguanilato cíclico (c-di-GMP) juega un papel clave regulando procesos como la motilidad, la formación de biopelículas, la producción de exopolisacáridos y la secreción de adhesinas y factores de virulencia [1]. En este estudio, se ha querido evaluar el impacto de altos niveles de este segundo mensajero en la capacidad de colonización de una importante bacteria promotora del crecimiento vegetal (PGPR): *Paraburkholderia phymatum* STM815. Para ello nos propusimos como objetivo específico la construcción de cepas portadoras de una inserción estable del gen *pleD** utilizando el sistema de transposición mini-Tn7 en esta bacteria. El gen *pleD** codifica una diguanilato ciclasa que genera un incremento notable en los niveles intracelulares de c-di-GMP [1]. Mediante conjugación bacteriana se obtuvieron inserciones *pleD** con resistencias tanto a Kanamicina (Km) como a Tetraciclina (Tc) de las mismas.

Tras 72 horas de crecimiento (~ 100 generaciones) en vida libre sin presión selectiva (sin antibiótico), las cepas Tn7-pleD* mostraron una estabilidad del 100% frente al 36% obtenido en condiciones análogas por la cepa STM815 portadora del gen pleD* en el plásmido pJBpleD* [1], mostrando su idoneidad para su ensayo en la colonización con la planta. Durante la interacción con *Arabidopsis thaliana*, los transposantes ensayados, no solo presentaron una gran estabilidad del gen pleD* (98,08%) sino que permitieron demostrar que el incremento de los niveles de c-di-GMP generados por la presencia de

pleD* permitió incrementar más de 20 veces la capacidad de colonización radicular por *P. phymatum* STM815.

Los resultados obtenidos demuestran la importancia de este segundo mensajero en la colonización radicular por *Paraburkholderia phymatum* STM815, lo que abre una importante mejora biotecnológica en el uso PGPR de esta bacteria.





Agradecimientos: Daniel Pérez Mendoza (Tutor), Juan Antonio Marchante Sánchez (Investigador doctoral), Estación Experimental del Zaidín (EEZ-CSIC) y Escuela Oficial de Posgrado.

- [1] M.D. Moya, J.A. Gomez, A. Alejo, et al. J Pers Med. (2021), 11(2): 74.
- [2] M.D. Moya, B. Rodriguez, C. Martin, et al. Eur J Med Chem. (2022), 237:114396.
- [3] S. Das, A.C. Finney, S.K. Anand, et al. Nat Metab. (2024), 6, 193



Granada, 6 de Junio 2025

¿PUEDEN OCURRIR EN LA ESTACIÓN INTERNACIONAL ESPACIAL (EEI) LAS RELACIONES SIMBIÓTICAS HONGO-PLANTA EN CONDICIONES DE MICROGRAVEDAD?

F.I. Román-Moreno, 12 M.I. Rodríguez-Lara, 1 P. Lupo 2

¹Grupo investigación CTS-993

²Departamento de Bioquímica y Microbiología, Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad del Valle de Guatemala, 18 Av. 11-95 zona 15, Vista Hermosa III. 01015, Ciudad de Guatemala, Guatemala.

Email: <u>ismael.aiesec@gmail.com</u> / <u>isma09@correo.ugr.es</u>

Con nuestra investigación queremos evaluar el efecto de la microgravedad simulada en la simbiosis entre hongos micorrícicos arbusculares (HMa, *Glomus intraradices* y *G. mosseae*) y el frijol (*Phaseolus vulgaris*) [1]. Nuestro objetivo es contribuir a la agricultura espacial y para ello nos hemos propuesto conocer la viabilidad de dicha interacción interespecífica [2].

Este experimento se había realizado anteriormente dos veces con una duración de 15 y 27 días [3]. Nuestro experimento tiene una duración de 10 días. Para reproducir las condiciones de la EEI hemos utilizado el clinostato, dispositivo que simula la microgravedad. Se someten las raíces de las plantas a H₂O₂ y, a un tratamiento que en los anteriores experimentos no se había aplicado, NaCl [4].

Los resultados de nuestra contribución han sido exitosos debido a que concluyeron que la aplicación de NaCl favorece la colonización simbiótica del hongo con el sistema radicular de la planta. Por tanto, el NaCl es un agente estresor más eficaz. Por otro lado, tras finalizar el experimento, procedimos a la medición de las raíces y, satisfactoriamente, todas habían aumentado su longitud, lo que puede sugerir que son proclives y adecuadas para resistir las condiciones de microgravedad en la EEI [5].

Finalmente sembramos en tierra los frijoles para conocer su adaptabilidad a una gravedad más tenaz, como un posible escenario de terraformación y colonización espacial, pero lamentablemente las especies vegetales presentaron una mayor incidencia a la contaminación de patógenos fúngicos, pensamos que quizá pueda deberse a un debilitamiento de sus mecanismos de defensa.

Agradecemos al CICODE de la Universidad de Granada por la financiación para elaborar este proyecto titulado "Evaluación del efecto de la microgravedad simulada en la simbiosis entre un hongo micorrícico arbuscular y el frijol (Phaseolus vulgaris)", a través de la "Convocatoria de ayudas para el desplazamiento internacional para la realización de actividades conducentes a la elaboración del TFG/TFM en proyectos de Cooperación al Desarrollo, curso 23/24". Asimismo, queremos agradecer a los integrantes del grupo BIO-109 "Genómica Funcional y Evolutiva", por la organización del VII Workshop de Jóvenes Biotecnólogos.

- [1] P. López-García, L. Eme, D. Moreira. Journal of Theoretical Biology. 2018, 434, 20-33.
- [2] C.U. Mussagy, J.F.B. Pereira, A. Pessoa. Trends in Biotechnology. 2024, 42, 810-814.
- [3] M.N. Gálvez-Bailey, S.N. Velez-Giraldo, A.G. Monzón-Cosillo, F. Bianchi-Veliz, J.D.D. López De León, P.E. Ubico-Ligorria, P. Lupo. Ciencias Espaciales. 2024, 15, 67-81.
- [4] R. Porcel, R. Aroca, J.M. Ruiz-Lozano. Agronomy for Sustainable Development. 2012, 32, 181-200.
- [5] D.T. Nhut, H.D. Khai, N.X. Tuan, L.T. Bien, H.T. Tung. Plant tissue culture: new techniques and application in horticultural species of tropical region. 3 ed., Springer, Singapore. 2022.

LISTA DE PARTICIPANTES

4	A	
4	_	·
		۱

Arroyo Carmona, Aurora.....auroraarroyo@correo.ugr.es

B

Blanco Rodríguez, Lucía.....<u>luciablancordr@correo.ugr.es</u>

Botella Galera, Antonioantoniobotella@correo.ugr.es

C

Castillo Fonce, Eliana.....elianacafo@gmail.com

Correro Aragón, Claudia<u>coarclaudia@correo.ugr.es</u>

G

García Pedrosa, Miguel Ángel <u>magp@correo.ugr.es</u>

García Sánchez, Arturo......argarsanchez@ugr.es

García Sánchez, Lidialidiagarcias@correo.ugr.es

H

Hita Martínez, Ana anahitamar@correo.ugr.es

P

Palma Toro, Anabel.....anabelptoro@gmail.com

Pereira Pérez, Víctor Rogervrpereiraperez@correo.ugr.es

R

Román Moreno, Francisco Ismael	ismael.aiesec@gmail.com
Ruiz López, Paula	paularl@correo.ugr.es
Ruiz Moreno, Adrián	adrianrm@correo.ugr.es

S

Salcedo Hernández, Lucas Ulises......<u>lukises@correo.ugr.es</u>

Serna Ostalaza, Marina....<u>msernaostalaza@correo.ugr.es</u>

V

 Vega Soto, Carlos
 kaly507@hotmail.com

 Villanueva Valdés, Samanta
 samantavv@correo.ugr.es