



ANEXO I

PLANES DE FORMACIÓN BECAS JAE INTRO ICU 2024 DE LA RED CONEXIONES LIFEHUB

JAEIntroICU-2024-LifeHub-01

EXPLORANDO LA PLASTICIDAD DEL BOUQUET TELOMÉRICO: COMPRENSIÓN EVOLUTIVA Y MOLECULAR

Investigador responsable: **Dr Alfonso Fernández Álvarez**, aferalv@usal.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Instituto de Biología Funcional y Genómica IBFG (CSIC-USAL), Salamanca**

PLAN DE FORMACIÓN

La diversidad genética, esencial para la evolución de las especies, se sustenta en eventos celulares clave. Entre estos, el emparejamiento y recombinación controlada entre cromosomas homólogos permitiendo el intercambio de información genómica es uno de los más importantes. Durante la profase meiótica, movimientos nucleares impulsados por el citoesqueleto, facilitan la búsqueda de los cromosomas homólogos en el nucleoplasma. En este contexto, los telómeros desempeñan un papel central al transmitir estos movimientos nucleares a los cromosomas mediante la formación del bouquet de telómeros, configuración tridimensional de los cromosomas donde los telómeros se agrupan en regiones concretas de la envoltura nuclear que recuerda a un ramo de flores en muchas especies [1]. La formación del bouquet ha sido observada en Opisthokonta, Chloroplastida y Alveolata, lo que sugiere un origen temprano en la evolución de los eucariotas, posiblemente junto con el programa meiótico [2].

A pesar de su conservación evolutiva, el bouquet muestra plasticidad conformacional, evidenciada en las variaciones en el número y distribución de los grupos de telómeros a lo largo de la envoltura nuclear, dando lugar a diferentes polarizaciones cromosómicas y, consecuentemente, diferentes tipos de trayectorias de los movimientos teloméricos. Desde un punto de vista molecular, las variaciones en la formación del bouquet incluyen la identidad de las proteínas meióticas específicas necesarias para la formación del mismo, así como otras que refuerzan esas asociaciones telómero-envoltura nuclear (Terb1/Terb2 y Majin, respectivamente, en animales) [3]. Uno de los casos descritos de mayor plasticidad en la formación del bouquet se manifiesta cuando el bouquet de telómeros puede ser reemplazado por un "bouquet de centrómeros" en determinados



escenarios [4, 5], planteando preguntas sobre hasta qué punto los telómeros pueden ser sustituidos por otras regiones de los cromosomas para desempeñar esta función tridimensional.

El objetivo general del plan de formación es investigar la plasticidad del bouquet telomérico desde una perspectiva evolutiva y molecular, identificando patrones en la evolución de proteínas clave y evaluando adaptaciones celulares en levaduras de fisión sin bouquet, con el fin de ampliar la comprensión de la variabilidad genómica y sus implicaciones en la diversidad celular en gametogénesis.

1. TAREAS A REALIZAR

Objetivo 1. Estudio del origen y evolución molecular de proteínas asociadas al bouquet de animales y hongos:

- Investigar el origen evolutivo y su posible presencia en otros grupos de eucariotas de los genes *Terb1*, *Terb2* y *Majin*, proteínas que forman el bouquet en animales, pero cuya posible presencia en otros linajes no ha sido suficientemente estudiada.
- Explorar la evolución de los genes *bqt1* y *bqt2*, funcionalmente equivalentes a *Terb1* y *Terb2* en ciertos hongos y cuyo origen evolutivo es desconocido.

Objetivo 2. Microevolución en levaduras de fisión sin bouquet:

- Realizar un experimento de microevolución basado en la competencia de esporas durante 15 generaciones utilizando el sistema ROTOR de Singer. De las estirpes que hayan conseguido mejorar la gametogénesis, se estudiará las conformaciones alternativas del bouquet por microscopía in vivo de alta resolución.

Cronograma estimado y cursos de formación: Estimamos 15 días al inicio de la beca para aprender el uso de herramientas bioinformáticas necesarias para el O.1, cuyas actividades se desarrollarán en paralelo a los experimentos del O.2. La formación obtenida con el O.1 se completará a finales del periodo de disfrute de la beca con la asistencia de él/la estudiante JAE al curso anual de filogenómica de la Universidad de Barcelona (20 días). Para la ejecución del O.2 se requieren 3 meses y se realizará en el IBFG de Salamanca donde se incluye la formación en el curso de microscopía in vivo del instituto.



Resultados esperados: Identificaremos las características clave en la evolución de los genes que codifican TERB1, TERB2 y MAJIN en el origen de animales y BQT1 y BQT2 en levaduras. Por otro lado, estudiaremos como evolucionan las células sin bouquet en levadura, alternativas a la conformación canónica serán evaluadas a nivel celular por microscopía.

Competencias de formación que se esperan adquirir por el/la estudiante JAE intro: Habilidades en análisis de secuencias y filogenómica. Microevolución experimental: diseño, ejecución y análisis de experimentos a lo largo de generaciones. Formación en microscopía in vivo de alta resolución. Además, el/la estudiante se beneficiará de la interacción con el resto de miembros de los laboratorios, participará semanalmente en los seminarios de los grupos y su progreso será evaluado semanalmente mediante reuniones con los IPs de los laboratorios participantes y mediante sendos seminarios en ambas instituciones en el último mes de la beca.

2. RELEVANCIA DENTRO DE LA TEMÁTICA

Este programa de formación se engloba en una colaboración estratégica entre dos laboratorios integrantes de la red LifeHUB.CSIC, el laboratorio de Ignacio Maeso, biólogo evolutivo en la Universidad de Barcelona y experto en genómica comparativa y evolución de nuevas familias génicas, y el de Alfonso Fernández Álvarez, experto en la formación del *bouquet* de telómeros y levaduras en el Instituto de Biología Funcional y Genómica del CSIC en Salamanca. A través de esta iniciativa, se promueve el intercambio de ideas y metodologías, capitalizando sus conocimientos en genómica y evolución para explorar la plasticidad del *bouquet* telomérico. Esta colaboración multidisciplinar crea un entrelazamiento y sinergias únicas entre la investigación genómica y la evolución molecular con la biología celular de los cromosomas, ofreciendo una perspectiva más profunda sobre el desarrollo fenotípico en respuesta a eventos celulares fundamentales como es la gametogénesis, una de las innovaciones clave de las células eucariotas.

Nuestra propuesta se alinea perfectamente con la temática "Origin, (Co)evolution, Diversity and Synthesis of Life". Su enfoque colaborativo va a reunir a dos grupos multidisciplinarios para abordar una pregunta fundamental en biología, cómo se encuentran los cromosomas en el espacio para intercambiar información genética y la plasticidad de este mecanismo, cuestión directamente relacionada con el origen y diversidad de la vida pero que tradicionalmente ha sido más estudiada desde un punto de vista de la biología celular y molecular que desde una perspectiva evolutiva. Esta propuesta generará nuevas ideas y proyectos futuros transversales a largo plazo. En primer lugar, a través de la formación del/la estudiante, que adquirirá un conjunto único de habilidades y conocimientos, a caballo entre las técnicas más avanzadas de biología



celular y microscopía y la evolución molecular y la genómica comparativa, lo que constituirá un impulso fundamental para su futura carrera profesional como sería la realización de un doctorado. En segundo lugar, estableciendo y fortaleciendo lazos de colaboración entre dos laboratorios de la red LifeHUB.CSIC que podrán gracias a ello beneficiarse de la transferencia de conocimiento entre ambos grupos, permitiendo el desarrollo de preguntas y proyectos científicos novedosos.

Finalmente, gracias a las redes de colaboración y de difusión de cada uno de los dos laboratorios, contribuirá a aumentar la visibilidad nacional e internacional de la investigación del CSIC en este campo, facilitando la diseminación de conocimientos en la sociedad. En particular, se prevé que se presenten los resultados del proyecto, para dar una mayor visibilidad, en el meeting de *EVO DEVO* (Helsinki, 2024) y en el meeting de *Diversity and Evolution in Cell Biology* (Barcelona, 2024).

Referencias

1. Scherthan, H., A bouquet makes ends meet. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2001. 2(8): p. 621-7.
2. Zickler, D. and N. Kleckner, Meiosis: Dances Between Homologs. *Annu Rev Genet*, 2023.
3. da Cruz, I., C. Brochier-Armanet, and R. Benavente, The TERB1-TERB2-MAJIN complex of mouse meiotic telomeres dates back to the common ancestor of metazoans. *BMC Evol Biol*, 2020. 20(1): p. 55.
4. Fennell, A., et al., Telomeres and centromeres have interchangeable roles in promoting meiotic spindle formation. *Journal of Cell Biology*, 2015. 208(4): p. 415-428.
5. Gonzalez, C., G. Tavasani, and C. Mollinari, Centrosomes and microtubule organisation during *Drosophila* development. *Journal of Cell Science*, 1998. 111(18): p. 2697-2706.

3. LISTADO DE GRUPOS DE PARTICIPANTES

- Alfonso Fernández Álvarez (IP tutor, Científico titular desde diciembre del año 2021) Grupo de Biología Cuantitativa de la Dinámica de Cromosomas Instituto de Biología Funcional y Genómica (CSIC/USAL) Calle Zacarías González,2 37007 Salamanca. Email: alfonso.fernandez.alvarez@csic.es

- Ignacio Maeso (IP, Profesor Agregat), Departament de Genètica, Microrbiologia i Estadística Institut de Recerca de la Biodiversitat (IRBio) Avenida Diagonal, 643 08028 Barcelona Email: imaeso@ub.edu Website: <https://nachomaesolab.wixsite.com/maesolab>



JAElntrolCU-2024-LifeHub-02

ANÁLISIS GENÓMICO DE ESPONJAS MARINAS PARA DETECTAR NUEVOS PÉPTIDOS BACTERICIDAS Y COMBATIR LA RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS

Investigadora responsable: **Dra Ana Riesgo Gil**, anariesgogil@mncn.csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Museo Nacional de Ciencias Naturales, MNCN (CSIC), Madrid**

PLAN DE FORMACIÓN

La persona becada adquirirá una sólida formación en bioinformática, filogenia, análisis de datos transcriptómicos, genómica comparada, evolución de proteínas, caracterización estructural de proteínas, sistemática animal, determinación estructural mediante cristalografía de rayos X.

Los resultados generados servirán como material para que la persona becada elabore su Trabajo de Fin de Máster.

1. TAREAS A REALIZAR

- Elaboración de una base de datos completa con transcriptomas y genomas disponibles en el laboratorio de la Dra. Ana Riesgo y otros disponibles en repositorios públicos (SRA, Compagen, etc), para el filo animal de los poríferos (270). Supervisión Dra. Ana Riesgo.
- Ensamblado y estandarización de los transcriptomas que no estén previamente ensamblados (sin ensamblar sólo un 5% de los mencionados) de referencia con Trinity (Grabherr et al. 2011), ordenación por clases/órdenes/familias de manera sistemática para analizarlos en un contexto evolutivo. Supervisión Dra. Ana Riesgo.
- Búsquedas de genes relacionados con la defensa frente a patógenos bacterianos en bases de datos disponibles: Brevemente, se construirán perfiles HMMER (Zhang and Wood 2003) con secuencias conocidas de “bactericidal permeability-increasing proteins”, “lymphotoxins”, “DMBT1”, “N-acetyl-alpha glucosaminidase”, entre otros, para realizar búsquedas de secuencias en los transcriptomas y genomas disponibles. Además, se complementarán con BLAST (Altschul et al. 1997) locales utilizando baterías de estas proteínas en diferentes organismos con umbral alto para detectar similitud. Esto permite evaluar el número de secuencias similares a estas proteínas en cada especie. Supervisión Dra. Ana Riesgo.

- Evaluación de homología en las secuencias de proteínas bactericidas mediante alineamientos con MAFFT (Kato et al. 2013) y construcción de filogenias con iQTREE (Nguyen et al. 2015). Supervisión Dres. Ana Riesgo.
- Mapeado de tipos de proteínas bactericidas en el marco filogenético disponible (e.g., Plese et al. 2019) para conocer la evolución de estas familias proteicas en las esponjas. Supervisión Dra. Ana Riesgo.
- Caracterización estructural de proteínas bactericidas utilizando software predictivo (AlphaFold2) y pipelines bioinformáticos. Supervisión Dr. Juan Hermoso.
- Producción, purificación y cristalización de las proteínas candidatas más interesantes para un análisis de su estructura en profundidad. Supervisión Dr. Juan Hermoso.
- Determinación de la estructura tridimensional de las proteínas diana, análisis estructural y extracción de conclusiones evolutivas. Supervisión Dr. Juan Hermoso.
- Escritura de la memoria del Trabajo Fin de Máster. Trabajo supervisado por los dos investigadores.

2. RELEVANCIA DENTRO DE LA TEMÁTICA

Nuestro proyecto tiene como objetivo incorporar la identificación guiada por el genoma de péptidos bactericidas de esponjas. El objetivo principal es la identificación de mecanismos moleculares completamente nuevos de reconocimiento y eliminación bacteriana que podrían incorporarse en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos.

El desafío de la resistencia a los antimicrobianos.

La capacidad de suprimir la infección bacteriana es un componente esencial de la medicina moderna. Los antimicrobianos se encuentran entre los fármacos de mayor éxito desarrollados a lo largo de la historia. El uso generalizado de estos fármacos ha modificado drásticamente la medicina permitiendo el desarrollo de nuevas prácticas médicas. Sin embargo, el uso extensivo de antimicrobianos ha provocado la aparición y propagación de resistencia a los antimicrobianos (RAM o AMR en inglés) entre los patógenos. Este podría ser uno de los mayores problemas de salud del mundo, poniendo en peligro el tratamiento de infecciones en todo el mundo. Se han informado niveles alarmantes de resistencia a los medicamentos en todo el mundo, con el resultado de que las enfermedades infecciosas comunes se están volviendo intratables. La pared celular bacteriana es una macromolécula gigantesca esencial que define la forma de la bacteria y le permite resistir la lisis como resultado de su alta presión osmótica intracelular. El componente principal de la pared celular es el peptidoglicano (PG), que



consiste en polímeros lineales repetidos de N-acetilglucosamina (NAG) y ácido N-acetilmurámico (NAM) unidos entre sí mediante cadenas cortas de oligopéptidos. Debido a que la pared celular es estructuralmente específica de las bacterias, los pasos involucrados en la regulación de la biosíntesis de la pared celular son el objetivo de numerosos antibióticos, incluidos los β -lactámicos que representan >50% del arsenal de antibióticos contemporáneo disponible.

Las esponjas presentan un sistema inmunológico único después de millones de años de competencia/coevolución con las bacterias.

Las esponjas son filtradores sésiles que filtran la columna de agua, utilizando bacterias capturadas como fuente de alimento y pueden reducir el contenido de células bacterianas en el agua circundante hasta en tres órdenes de magnitud. Una vez que los microbios son capturados por las células de la esponja, se debe tomar una decisión muy difícil: digerir el microbio o dejar que colonice el tejido de la esponja para convertirse en un simbiote. Las esponjas albergan una variedad densa, diversa y multifuncional de microorganismos simbióticos diferentes de la comunidad dominante en el agua de mar de hasta 60 filos de los tres dominios de la vida; por lo tanto, las esponjas deben poseer un sistema inmunológico finamente afinado para diferenciar entre bacterias “amigas y enemigas”. Este sistema ha evolucionado durante millones de años de competencia y coevolución. El sistema inmunológico innato del huésped incluye un repertorio complejo de receptores inmunológicos, los llamados receptores de reconocimiento de patrones (PRR), que reconocen los patrones moleculares asociados a microbios (MAMP) presentes en procariontes pero ausentes en eucariotes. Los MAMP incluyen componentes de las paredes y membranas celulares bacterianas, los lipopolisacáridos (LPS). Entre los AMP, las proteínas de unión a lipopolisacáridos (LPS) (LBP) y las proteínas bactericidas que aumentan la permeabilidad (BPI) son componentes conservados del sistema inmunológico en los eucariotes y están presentes en las esponjas. Además, otros genes inmunes parecen estar funcionando regulando el microbioma de las esponjas, como la glicoproteína eliminada en tumores cerebrales malignos 1 (DMBT1) que se une a varias bacterias Gram+ y Gram-, incluidas *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella oxytoca*, *S. aureus* y *Streptococcus pneumoniae*, produciendo en muchos casos aglutinación. Además, las esponjas contienen en sus genomas proteínas líticas bacterianas como las N-acetilglucosaminidasas que escinden el enlace glicosídico β -1,4 entre NAG y NAM del peptidoglicano bacteriano.

La era de la secuenciación genómica ha permitido desarrollar una gran cantidad de recursos genómicos de alta calidad donde los cribados producen predicciones efectivas y precisas de la anotación y función del genoma para una gran variedad de organismos. Hemos realizado una exploración preliminar de cuatro de estos genomas de alta calidad que proporcionaron una imagen interesante del repertorio inmunológico de las esponjas en relación con su defensa antibacteriana. Incluimos 2 esponjas con alto contenido de bacterias simbiotes o HMA (*Chondrosia reniformis* y *Petrosia ficiformis*)

y dos esponjas con bajo contenido de estos simbioses o LMA (*Oscarella lobularis* y *Phakellia ventilabrum*), que representaron entre 478 genes anotados con términos GO relacionados con el sistema inmunológico en esponjas HMA y 267 en esponjas LMA. Seleccionamos varias proteínas conocidas con efectos bactericidas y, curiosamente, las esponjas HMA tienen un repertorio bastante divergente de las esponjas LMA, lo que indica una correlación potencial con sus comunidades simbioses y, por lo tanto, una plasticidad notable en sus sistemas de reconocimiento y eliminación de simbioses. Las cuatro clases de proteínas seleccionadas (Linfotoxina alfa (LTA), BPI, DMBT1 y glucosaminidasas) han surgido como objetivos potencialmente relevantes basados en la incorporación/eliminación selectiva de esponjas de diferentes especies bacterianas.

El impacto del trabajo aquí propuesto se da en tres niveles principales con un fuerte componente de investigación fundamental e implicaciones traslacionales: i) la disección molecular de la hidrólisis de PG por esponjas como fuente de nuevas dianas terapéuticas; (ii) desentrañar los procesos desconocidos de desestabilización de la membrana externa mediados por BPI esponjas; y (iii) revelar las bases moleculares de nuevos mecanismos de reconocimiento bacteriano con fuertes implicaciones en la lucha contra la resistencia a los antimicrobianos en algunos nefastos patógenos G(+).

Referencias

- Altschul, S.F., Madden, T.L., Schäffer, A.A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. and Lipman, D.J., 1997. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic acids research*, 25(17), pp.3389-3402.
- Echeverría, M. and Zardoya, R., 2006. Acuaporinas: los canales de agua celulares. *Investigación y Ciencia*, 363, pp.60-7.
- Fernández Llama, P. and Botey, A., 1996. Aquaporinas: canales proteicos de membrana para el agua. *Med Clin Barc*, 106(11).
- Grabherr, M.G., Haas, B.J., Yassour, M., Levin, J.Z., Thompson, D.A., Amit, I., Adiconis, X., Fan, L., Raychowdhury, R., Zeng, Q. and Chen, Z., 2011. Trinity: reconstructing a full-length transcriptome without a genome from RNA-Seq data. *Nature biotechnology*, 29(7), p.644.
- Kato, K. and Standley, D.M., 2013. MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*, 30(4), pp.772-780.
- Laumer, C.E., Fernández, R., Lemer, S., Combosch, D., Kocot, K.M., Riesgo, A., Andrade, S.C., Sterrer, W., Sørensen, M.V. and Giribet, G., 2019. Revisiting metazoan phylogeny with genomic sampling of all phyla. *Proceedings of the royal society B*, 286(1906), p.20190831.
- Nguyen, L.T., Schmidt, H.A., Von Haeseler, A. and Minh, B.Q., 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular biology and evolution*, 32(1), pp.268-274.
- Yang, Z., 2007. PAML 4: phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Molecular biology and evolution*, 24(8), pp.1586-1591.



-Zhang, Z. and Wood, W.I., 2003. A profile hidden Markov model for signal peptides generated by HMMER. *Bioinformatics*, 19(2), pp.307-308.

3. LISTADO DE GRUPOS DE PARTICIPANTES

En el proyecto participan dos grupos de dos centros distintos, uno de ellos liderados por una investigadora joven de reciente incorporación al CSIC:

Dra. Ana Riesgo Gil, Museo Nacional de Ciencias Naturales (MNCN, CSIC), anariesgogil@mncn.csic.es

Dr. Juan Hermoso, Instituto Química-Física Rocasolano (IQFR, CSIC), xjuan@iqfr.csic.es

JAIntroICU-2024-LifeHub-03

VALORIZACIÓN DE RESIDUOS DE PLÁSTICO PET

Investigadora responsable: **Dra Eva García Ruiz**, eva.garcia.ruiz@csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, ICP (CSIC), Madrid**

PLAN DE FORMACIÓN

Los plásticos son probablemente uno de los materiales más resistentes a la degradación creados por el hombre, cuya acumulación en el medio ambiente supone una amenaza para la ecología global. La biotransformación de los desechos de plástico en productos con valor añadido se propone como una solución prometedora que además promueve la economía circular. Sin embargo, estamos bastante lejos de tener sistemas biológicos con la capacidad de trabajar directamente en desechos plásticos para la producción directa de productos de alto valor, algo que constituirá un gran avance en la sociedad.

Objetivo: En este plan de formación se propone como objetivo general que el alumno adquiera los conocimientos necesarios para la modificación de enzimas y microorganismos para la valorización de plástico PET y su caracterización mediante técnicas de cromatografía y microscopía.

1. TAREAS A REALIZAR

La persona becada se integrará en el grupo de Eva García Ruiz en el Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC y colaborará también con los grupos del Prof. Francisco Plou y de la Prof. Marisela Vélez también del Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC.



Las principales tareas que realizará la persona becada son las siguientes:

- Búsqueda bibliográfica y familiarización con el tema de trabajo. - Uso de bases de datos de genes y genomas, de proteínas, de bibliografía,...
- Formulación y preparación de medios de cultivo sintéticos y soluciones de trabajo.
- Desarrollar protocolos básicos de biología molecular, ingeniería de enzimas e ingeniería metabólica.
- Transformación en levaduras y bacterias.
- Modificación de enzimas y rutas metabólicas involucradas en la valorización de plástico PET. - Diseño y preparación de reacciones para la valoración de la actividad de las enzimáticas y rutas metabólicas modificadas.
- Preparación de muestras y análisis por técnicas cromatográficas de los productos generados en las reacciones anteriores, en colaboración con el grupo del Prof. Francisco Plou.
- Preparación de muestras y análisis por microscopía de la modificación de superficies de plástico PET debido a su tratamiento con enzimas y/o microorganismos, en colaboración con el grupo de la Prof. Marisela Vélez.
- Adquisición, análisis y discusión de datos y resultados.
- Participación en los seminarios y reuniones de trabajo con los miembros de los grupos de investigación. - Preparación de un seminario exponiendo los resultados del trabajo en las reuniones de la Red LifeHUB.CSIC.

2. RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LA TEMÁTICA “ORIGIN (CO)EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE” Y SU CARÁCTER COLABORATIVO

El plan de formación propuesto se enmarca dentro de la temática “Origin, (Co)evolution, Diversity and Synthesis of Life” de LifeHUB.CSIC en el apartado “Synthesis of Life”. El diseño y síntesis de sistemas biológicos o bioinspirados que exhiben funciones de interés, ya sean existentes o incluso inexistentes en la naturaleza, ha experimentado un notable avance en las últimas décadas. Los avances más significativos en este campo provienen de enfoques Top-down, donde células preexistentes se han modificado mediante herramientas de biología sintética que posibilitan el diseño de circuitos genéticos, rutas metabólicas sintéticas y enzimas modificadas, entre otras. Esto permite la reprogramación de organismos en beneficio de la sociedad, ofreciendo la posibilidad de abordar problemáticas actuales y contribuir a la resolución de retos cruciales, como la gestión de los residuos plásticos.



En este programa formativo, se pretende alterar enzimas y rutas metabólicas de organismos existentes como *Saccharomyces cerevisiae* y *Escherichia coli*, con el propósito de crear biosistemas con la capacidad de despolimerizar residuos de plástico PET y transformarlos nuevamente en productos integrables en la cadena de valor. Aquí, la síntesis de sistemas biológicos busca abordar directamente el problema medioambiental creado por los residuos plásticos.

Durante la ejecución de este plan de formación, se diseñarán y crearán biosistemas con capacidades mejoradas o novedosas, como la despolimerización de PET y la conversión de productos de degradación en compuestos o materiales innovadores. Para analizar y caracterizar estas nuevas capacidades, resulta imprescindible contar con las herramientas adecuadas para la evaluación de los productos generados. En este sentido, se emplearán diversas técnicas en un enfoque altamente interdisciplinario. Por un lado, técnicas cromatográficas que nos permitirán la detección y caracterización de productos tanto de despolimerización como de síntesis. La amplia experiencia del Prof. Francisco Plou en caracterización cromatográfica resultará fundamental. Por otro lado, se recurrirá a la microscopía de fuerza atómica para analizar y caracterizar la superficie de láminas de plástico PET tratadas con los biosistemas generados. Aquí la colaboración de la Prof. Marisela Vélez, con su extensa experiencia en obtención de imágenes y análisis por AFM, será esencial en esta fase del proyecto.

Las sinergias entre los tres grupos colaboradores, todos integrantes de LifeHUB.CSIC, reúnen tanto los materiales y herramientas, como los conocimientos y experiencia necesarios para garantizar la viabilidad y éxito de la propuesta.

Los resultados de esta colaboración interdisciplinar servirán para sentar las bases para un proyecto futuro de mayores dimensiones, con gran matiz aplicado.

3. LISTADO DE GRUPOS DE PARTICIPANTES

En este proyecto participarán tres investigadores/as con conocimientos en diferentes áreas científicas aportando una gran interdisciplinaridad al proyecto:

IP1: Eva García Ruiz, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, eva.garcia.ruiz@csic.es

IP2: Francisco Plou Gasca, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, fplou@icp.csic.es

IP3: Marisela Vélez, Instituto de Catálisis y Petroleoquímica, mvelez@csic.es



JAElntrolCU-2024-LifeHub-04

GREMIOS DE FOTOSIMBIOTES MICROBIANOS COMO FUENTE DE RESILIENCIA AL BLEACHING EN CORAL

Investigador responsable: **Dr Javier del Campo García-Ramos**, idelcampo@ibe.upf-csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Instituto de Biología Evolutiva, IBE (CSIC-UPF), Barcelona**

PLAN DE FORMACIÓN

La persona becada adquirirá una sólida formación en bioinformática, compilando una base de datos de barcodes de fotosimbiontes de corales (zooxantelas / Symbiodiniaceae) a partir de estudios ya publicados y depositados en SRA de NCBI. El procesado inicial de los barcodes se llevará a cabo en R utilizando principalmente los paquetes DADA2 y phyloseq. Para ensamblar y lidiar con estas bases de datos la persona becada aprenderá a programar en Python, Shell, API requests y JASON. Posteriormente a la compilación, la red de interacciones entre microorganismos y especies de coral será analizada mediante teoría de grafos, hipergrafos y métodos de sistemas complejos. Más allá de la formación a nivel computacional la persona candidata se formará en los diversos aspectos biológicos de la relación mutualista entre los corales y sus fotosimbiontes, a nivel fisiológico, ecológico y evolutivo. Los resultados generados servirán como proyecto de Fin de Máster.

1. TAREAS A REALIZAR

1. Obtención masiva y automatizada de datos de barcoding (gen ITS) de zooxantelas de corales. Trabajo supervisado por el Dr. Javier del Campo.
2. Construcción de una base de datos informada taxonómicamente de barcodes de zooxantelas. Trabajo supervisado por el Dr. Javier del Campo.
3. Generación de una tabla de OTUs y de un archivo de metainformación asociado a partir de los datos obtenidos para construir la base de datos generada en el tercer punto. Trabajo supervisado por el Dr. Javier del Campo.
4. Diseño de modelos nulos explicativos de patrones estructurales de la red de interacción. Trabajo supervisado por el Dr. Sergi Valverde.
5. Análisis de la red bipartita microorganismo-coral mediante modelos evolutivos de gremios. Trabajo supervisado por el Dr. Salva Duran-Nebreda.
6. Análisis del hipergrafo de coexistencia entre múltiples especies de microorganismos simbiotes del coral. Trabajo supervisado por el Dr. Salva Duran-Nebreda.



7. Interpretación de los resultados de las tareas 2, 3 y 4 en clave a patrones de enfermedad, bleaching y biodiversidad. Trabajo supervisado por el Dr. Javier del Campo.

8. Escritura de la memoria del Trabajo Fin de Máster. Trabajo supervisado por todos los colaboradores.

2. LA RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LA TEMÁTICA “ORIGIN, (CO)EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE” Y SU CARÁCTER COLABORATIVO

Este proyecto lidiará con aspectos fundamentales sobre organismos simbiotes: su estructura, co-evolución y propiedades ecológicas. LifeHUB atiende a la necesidad de promover una visión holística dentro del grupo de trabajo del CSIC de procesos evolutivos, orígenes de la vida y orígenes de las especies. En este sentido, las simbiosis es un ejemplo de excepcional interés, dado que representa una transición evolutiva ‘congelada’ (siguiendo la nomenclatura propuesta por Száthmáry y Maynard-Smith). Huésped y simbiote dependen el uno del otro (es decir que su fitness depende de las interacciones que sean capaces de formar), pero aún no pueden considerarse un organismo discreto (debido a que uno o ambos pueden vivir por separado, o porque no existe un proceso de herencia conjunta). Caracterizar de forma exhaustiva patrones de interacción entre huéspedes y simbiotes nos permite elucidar reglas generales de evolución de nuevas especies por composición.

Además del interés en términos de ciencia básica que se intenta abordar, este proyecto tiene una componente aplicada crucial: el sistema de estudio (especies de coral con sus respectivos simbiotes en diversos arrecifes distribuidos por todo el mundo) se encuentra bajo estrés sistémico debido al cambio climático. La acidificación de los océanos y, sobre todo, cambios súbitos de la temperatura del agua más allá de las tolerancias bióticas de los simbiotes, causan la muerte masiva de dichos organismos (el fenómeno conocido como “bleaching”). Cuando los fotosimbiotes (zooxantelas) del coral abandonan a su huésped debido a la alta temperatura el coral entra en un proceso de disbiosis al perder su principal fuente de nutrientes, los fotosintatos producidos por las simbiotes. Si la situación no se revierte, es decir que las temperaturas no vuelvan a su estado natural y permitan el retorno de los simbiotes el coral morirá. Colonias enteras desaparecen de esta manera, y paulatinamente están conduciendo a la desaparición de arrecifes enteros. Una comprensión más profunda del sistema nos permitiría colaborar con los agentes implicados en la protección y restauración de estos ecosistemas y así poder paliar tanto la catástrofe ecológica que esto implica (las arrecifes de coral son puntos calientes de biodiversidad, cobijando una gran variedad de especies marinas) como la económica (los arrecifes de coral proporcionan diversos servicios ecosistémicos, des de turismo, hasta pesquerías o protección de la línea costa delante de tormentas o subidas del nivel del mar).



No todos los corales sufren de igual manera los efectos del cambio climático ni tampoco todos son capaces de recuperarse igual de rápido. En otros sistemas mutualistas se ha demostrado que la estructura de interacciones entre especies puede alterar las propiedades dinámicas y de resiliencia del sistema ante perturbaciones externas. En particular, la estructura modular o gremios microbianos puede limitar la propagación de perturbaciones a escala de ecosistema, conteniendo el impacto en un número más limitado de especies. Además, los patrones de interacción y coexistencia de especies simbiotes también determinan la capacidad de recuperación a un estado sano (con la composición original) o que preserve la máxima biodiversidad. Sin embargo, todavía desconocemos como de importantes son estos mecanismos para la simbiosis del coral, o si nos ayudaran a preservar arrecifes en peligro de desaparecer a medida que el cambio climático se vuelva más severo en las próximas décadas. En términos de la ecología bajo estrés climático, el estudio propuesto aquí nos ayudara a entender qué tipo de intervenciones son factibles en el contexto de organismos simbiotes además de mecanismos generales de ensamblaje de especies simbiotes marinas.

Finalmente, este proyecto contribuirá a establecer nuevas colaboraciones interdisciplinarias entre distintos grupos de investigación tanto dentro de CSIC, fortaleciendo un clúster de innovación que integre distintas áreas del conocimiento, promoviendo el papel del CSIC como pieza clave en la comprensión y preservación del medio ambiente.

3. LISTADO DE LOS GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

En el proyecto participarán varios investigadores jóvenes excelentes con conocimiento en diferentes áreas científicas, que aportarán una perspectiva innovadora al proyecto:

- ❖ Sergi Valverde (investigador principal). Programa de Biodiversidad, Instituto de Biología Evolutiva (CSIC-UPF). Email: s.valverde@csic.es
- ❖ Javier del Campo (investigador principal) Programa de Biodiversidad, Instituto de Biología Evolutiva (CSIC-UPF). Email: jdelcampo@ibe.upf-csic.es
- ❖ Salva Duran-Nebreda (investigador postdoctoral Beatriu de Pinós en el laboratorio del Dr. Valverde) con formación en biología sintética, estudio de las grandes transiciones evolutivas y análisis y modelización de redes complejas e hipergrafos. Email: salva.duran@ibe.upf-csic.es



JAEIntroICU-2024-LifeHub-05

ESTUDIOS DINÁMICOS DE LOS MECANISMOS DE REACCIÓN DE LAS PROTEÍNAS FFTR Y IMPDH POR CRISTALOGRAFÍA SERIADA DE RAYOS X DE RESOLUCIÓN TEMPORAL

Investigador responsable: **Dr José Manuel Martín García**, jmmartin@iqfr.csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Instituto de Química Física Blas Cabrera, IQF (CSIC), Madrid**

PLAN DE FORMACIÓN

Los láseres de electrones libres de rayos X (XFELs), son aceleradores lineales que generan pulsos de rayos X ultracortos y con una brillantez del orden de un billón veces más intensa que la producida en sincrotrones convencionales. La aparición de los XFEL ha permitido el surgimiento de un apasionante avance científico-técnico: la cristalografía en serie de femtosegundo de resolución temporal (TR-SX). Esta técnica permite hacer estudios de dinámica estructural de macromoléculas en condiciones "nativas" a temperatura ambiente, a partir de nano- o microcristales. Una de las grandes ventajas de esta técnica es el uso de cristales muy pequeños que permiten una difusión rápida y uniforme de ligandos (o luz), lo que nos permite estudiar mecanismos de reacción enzimáticos dentro de los microcristales en "tiempo real". El proyecto de investigación a desarrollar por la estudiante se centra en el estudio de los mecanismos de reacción de la Ferredoxina tiorredoxina reductasa dependiente de flavina (FFTR) y la Inosina-5'-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) mediante el uso de la cristalografía de rayos X de resolución temporal. **1) FFTR:** Uno de los mecanismos de regulación metabólica y equilibrio de oxidación/reducción que existe en las células está relacionado con la modificación química reversible de grupos tioles en proteínas, y en otras moléculas pequeñas. Las tiorredoxinas reductasas (TRs) dependientes de flavina son las más comunes en todos los organismos y catalizan la reducción de la proteína tiorredoxina en una reacción normalmente dependiente de NADPH. La proteína tiorredoxina, a su vez, reduce proteínas seleccionadas mediante intercambios reversibles de tipo disulfuro/ditiol (S-S/SH), regulando así el metabolismo celular. El grupo de la Dra. Mónica Balsera (IRNASA-CSIC) ha identificado una nueva clase de TRs de flavina conocidas como TRs dependientes de flavina ligadas a ferredoxina (FFTRs). Estudios estructurales han permitido proponer un modelo del ciclo catalítico de las FFTR en el que 1) se ha capturado una conformación específica de FFTR, en la que el anillo de isoaloxazina del FAD se apila contra un residuo aromático conservado, y 2) los centros redox-activos están situados a más de 30 Å de distancia, desviándose significativamente de la proximidad anticipada requerida para una transferencia eficiente de electrones. Estas dos observaciones subrayan la necesidad de análisis estructurales adicionales para dilucidar la dinámica conformacional durante el ciclo catalítico y proporcionar una descripción a nivel molecular de la transferencia de equivalentes reductores. Una vía de



exploración consiste en investigar los efectos de la fotorreducción de la fracción flavínica por la técnica TR-SX para comprender mejor los primeros pasos de la respuesta de la proteína a la reducción de la flavina. Además, comprender cómo se propagan estos cambios conformacionales a lo largo de la espina dorsal de la proteína es crucial para comprender los mecanismos de transferencia de electrones. **2) IMPDH:** La IMPDH desempeña un papel fundamental en el metabolismo de los nucleótidos de purina. Los nucleótidos de purina, como el ATP y el GTP, son esenciales para diversas funciones celulares, como la transferencia de energía, la señalización y las reacciones enzimáticas. La IMPDH convierte el IMP en XMP mientras reduce el cofactor NAD⁺. Los fármacos utilizados en el ámbito clínico, como el micofenolato mofetilo, la mizoribina y la ribavirina, actúan sobre la IMPDH debido a su importancia en el metabolismo de los nucleótidos, lo que los convierte en valiosos agentes inmunosupresores y antivirales. Para comprender el mecanismo catalítico de IMPDH, pretendemos caracterizar los intermediarios catalíticos utilizando cristalografía de rayos X de resolución temporal. Además, este estudio proporcionará información valiosa sobre la diversidad y la evolución de la familia de proteínas IMPDH, sentando las bases para el diseño de nuevos enfoques terapéuticos en el futuro.

1. TAREAS A REALIZAR

Las proteínas FFTR y IMPDH serán proporcionadas por los laboratorios de los investigadores Mónica Balsera (IRNASA-CSIC) y Rubén Martínez Buey (USAL). El/la estudiante interesado en este proyecto tendrá una oportunidad única de iniciarse en el mundo de la emergente técnica TR-SX, adquiriendo experiencia práctica en el crecimiento y caracterización de nano-cristales mediante técnicas desarrolladas en el grupo del investigador responsable, así como tener la posibilidad de iniciarse y adquirir nociones básicas en la recogida y procesamiento de datos de difracción de rayos X en la instalación XFEL de Hamburgo (Alemania) y los sincrotrones ALBA (Barcelona) y ESRF (Francia).

2. RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LA TEMÁTICA "ORIGIN, (CO)EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE" Y SU CARÁCTER COLABORATIVO

El proyecto presentado en esta propuesta se ajusta al segundo reto "Bases estructurales de la vida y evolución de la complejidad macromolecular" del segundo libro blanco del CSIC "Orígenes, (Co)Evolución, Diversidad y Síntesis de la Vida". La vida a nivel molecular es fundamentalmente dinámica. Las proteínas, los caballos de batalla moleculares de las células, no son entidades estáticas, sino que fluctúan entre estados conformacionales alternativos definidos por un complejo paisaje energético para cumplir sus funciones biológicas. Comprender cómo estos componentes se unen y cambian es también un aspecto fundamental de los estudios evolutivos modernos.



Para ello es preciso descifrar la estructura tridimensional y la naturaleza dinámica de todas las macromoléculas que subyacen a los procesos vivos, y cómo se ensamblan y funcionan de forma coordinada, oportuna y precisa. Abordar este reto nos permitirá comprender y tratar enfermedades, aprovechar los procesos biológicos con fines biotecnológicos y diseñar sintéticamente nuevas entidades biológicas.

A pesar de que la cristalografía de rayos X es el principal método para descubrir las estructuras tridimensionales de las bio-macromoléculas, esta técnica se ha considerado tradicionalmente como una técnica estática, con una aplicabilidad limitada al estudio de procesos dinámicos, los cuales dependen, fundamentalmente, de múltiples estados conformacionales y de las transiciones entre ellos. Sin embargo, gracias a la convergencia de varios avances experimentales y técnicos recientes tales como los láseres de electrones libres de rayos X (XFELs), la cristalografía de rayos X está cada vez mejor posicionada para proporcionar información sobre la conexión entre la flexibilidad y la función de las proteínas. Los XFELs se presentaron como un avance científico-técnico revolucionario en 2009. Con esta tecnología extraordinariamente potente se hizo posible un nuevo paradigma en biología estructural. El XFEL ha revolucionado la cristalografía al permitir la obtención de datos de nano y microcristales y la obtención de datos a temperatura ambiente sin limitaciones de daño por radiación. La llegada de los XFEL elimina muchos obstáculos en el camino hacia la cristalografía no criogénica. Una gran ventaja de los XFEL es que permiten acceder a la dimensión temporal. La escala temporal ultrarrápida (femtosegundos) y el brillo extremo de los pulsos XFEL también permiten la recopilación de series de datos relacionadas por retardos temporales, lo que ofrece una visión de fenómenos como la catálisis, el alosterio y la cooperatividad.

En nuestra propuesta de formación perseguiremos un enfoque novedoso para el estudio de reacciones redox y la dinámica conformacional en las proteínas FFTR y IMPDH mediante el uso de nanocristales y seguiremos el progreso con estudios de cristalografía de resolución temporal en XFELs y sincrotrones. Utilizando los últimos avances en biología estructural integrada y resuelta en el tiempo, crearemos una sucesión de instantáneas estructurales a lo largo de los procesos de reacción bajo estudio. La reacción se visualizará en forma de películas moleculares tipo flipbook conectadas mediante simulación molecular, lo que nos permitirá identificar principios generales para comprender el funcionamiento modular de dichas proteínas.

3. GRUPOS DE INVESTIGACIÓN PARTICIPANTES EN LA COLABORACIÓN

Los tres investigadores participantes en esta propuesta pertenecen al grupo de *Bases Estructurales de Vida y Evolución de la Complejidad Macromolecular* de la red de colaboración LifeHub.CSIC. Aunque los investigadores Mónica Balsera y Rubén Martínez Buey hacen uso de la cristalografía de rayos X para llevar a cabo su investigación, el uso



y aplicación de la cristalografía de resolución temporal en modo seriado requiere de una formación y conocimientos muy específicos en todas las etapas del proceso, desde la preparación y caracterización de las muestras cristalinas, así como en la recogida y procesado de los datos. De este modo se hace fundamental la colaboración interdisciplinar de ambos grupos con el grupo del Dr. José Manuel Martín García.

José Manuel Martín García (Investigador responsable), Instituto de Química Física Blas Cabrera (IQF-CSIC). El grupo de investigación del Dr. Martín García utiliza la novedosa tecnología de la cristalografía en serie con resolución temporal en láseres de electrones libres de rayos X (XFELs) y sincrotrones para investigar la estructura, dinámica y cinética de proteínas a partir de nanocristales en condiciones "nativas" y "en tiempo real". El grupo del Dr. Martín García es único en el sentido de que es el único grupo en España que lleva a cabo experimentos de este tipo en el campo de la biología estructural. Tomamos instantáneas de los movimientos de las proteínas para determinar las estructuras de rayos X de alta resolución de los intermediarios de reacción implicados en la resistencia a los antibióticos y los mecanismos redox, entre otros, con el objetivo de hacer "películas moleculares" que, en combinación con otras técnicas biofísicas y herramientas computacionales, nos permitan avanzar en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos y tratamientos de menor coste. Además, nuestro grupo está desarrollando métodos novedosos de suministro de muestras para reducir su consumo en experimentos de cristalografía en serie.

Mónica Balsera, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Salamanca (IRNASA-CSIC). El interés científico de la Dra. Mónica Balsera se centra en la comprensión de los mecanismos moleculares implicados en el intercambio de información redox dentro de la célula, con especial interés en la fotosíntesis. La Dra. Balsera trabaja en dos líneas de investigación relacionadas, una centrada en la caracterización de los componentes redox implicados en la señalización retrógrada, y la otra centrada en el estudio de las relaciones estructura-función de las proteínas implicadas en la regulación redox y la adaptación climática durante la fotosíntesis. El grupo de investigación de la Dra. Mónica Balsera ha realizado importantes contribuciones al estudio de las enzimas tiorredoxina reductasa. Durante los últimos años han identificado y descrito nuevas enzimas y mecanismos reguladores que han ampliado la comprensión de estos procesos biológicos críticos. Como pioneros en este campo, el grupo sigue avanzando en el conocimiento de las proteínas reguladoras que responden a los cambios ambientales redox, proporcionando una visión de los complejos mecanismos que subyacen a las respuestas celulares al estrés oxidativo.



Rubén Martínez Buey, Universidad de Salamanca. El Dr. Rubén Martínez Buey pertenece al grupo de Ingeniería Metabólica del Departamento de Microbiología y Genética de la Universidad de Salamanca, el cual está especializado en desentrañar los entresijos moleculares de enzimas y rutas metabólicas con profundas implicaciones para la biotecnología y la biomedicina. La experiencia del Dr. Martínez Buey se centra en la biología estructural, la ingeniería genética y de proteínas, la ingeniería metabólica y la biología sintética para diseñar microorganismos con nuevas funcionalidades y mejorar la producción de productos químicos y farmacéuticos. El trabajo reciente del Dr. Martínez Buey se ha centrado en las enzimas de la biosíntesis de novo de GTP, un precursor directo de vitaminas esenciales como los folatos y la riboflavina, y una importante diana farmacológica.

JAEintrouICU-2024-LifeHub-06

HERRAMIENTAS PARA EL MODELADO MATEMÁTICO DE LA DINÁMICA DE SISTEMAS BIOLÓGICOS: UNA APLICACIÓN EN PLANTAS (*ARABIDOPSIS*)

Investigador responsable: **Dr Julio R. Banga**, j.r.banga@csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Misión Biológica de Galicia, MBG (CSIC), Pontevedra**

PLAN DE FORMACIÓN

1. TAREAS A REALIZAR

Durante las últimas dos décadas, el uso de modelos matemáticos se ha convertido en una práctica común en biología y biomedicina, siendo un elemento central en la biología de sistemas. Los modelos proporcionan una forma rigurosa y compacta de encapsular el conocimiento disponible sobre un sistema o proceso biológico. Además permiten comprender, analizar y predecir de forma sistemática el comportamiento de un sistema complejo en condiciones para las que no se dispone de datos experimentales.

Con este plan pretendemos el aprendizaje por parte de la persona becada de dos competencias clave:

- (i) el uso de metodologías recientes para obtener, analizar y refinar modelos dinámicos de un sistema biológico [1].
- (ii) la aplicación de dichas metodologías a un caso real de interés, la respuesta del crecimiento de plantas del género *Arabidopsis* a condiciones ambientales (luz, temperatura) [2]



Como tareas, consideraremos las siguientes etapas formativas (M* indica mes):

1. Conceptos básicos de modelos dinámicos descritos por ecuaciones diferenciales ordinarias: formulación, simulación y análisis (M1)
2. Estimación de parámetros en modelos dinámicos (M2-3):
 - 2.1. Identificabilidad estructural y práctica
 - 2.2. Estimación robusta: función objetivo y optimización
 - 2.3. Análisis de la estimación y cuantificación de incertidumbre
3. Modelos alternativos y su selección (M3)
4. Aplicación a la respuesta de Arabidopsis a luz y temperatura, empleando datos reales (ver [2]). (M3-5)
5. Análisis de los resultados y generación de posibles nuevas hipótesis (M5)

El/la estudiante JAE, además de familiarizarse con estos conceptos y diversas herramientas software, aprenderá a realizar búsquedas bibliográficas, a presentar resultados en reuniones de grupo y a escribir informes analizando los resultados. Es importante que los candidatos tengan una base previa de modelado matemático y programación (es decir, estudiantes de p.ej. Grados o Máster en Física, Ingeniería, Matemáticas).

[1] Villaverde, A.F., D. Pathirana, F. Frohlich, J. Hasenauer, J. R. Banga (2022) A protocol for dynamic model calibration. *Briefings in Bioinformatics*, 23(1), bbab387.

[2] Nieto, C., Catalán, P., Luengo, L. M., Legris, M., López-Salmerón, V., Davière, J. M., Casal, J.J., Ares, S. & Prat, S. (2022). COP1 dynamics integrate conflicting seasonal light and thermal cues in the control of Arabidopsis elongation. *Science advances*, 8(33), eabp8412.

2. RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LA TEMÁTICA “ORIGIN, (CO)EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE” Y SU CARÁCTER COLABORATIVO

El modelado matemático de sistemas vivos tiene un papel fundamental en los siguientes apartados de esta temática:

C2.4 THE GENESIS OF THE PHENOTYPE

C2.5 EVOLUTIONARY SYSTEM BIOLOGY

3.1 Multiscale theoretical framework.

3.3 Modelling and simulation of biological networks.



C2.7 EVOLUTION OF HEALTH AND DISEASES

Este programa de formación tiene un claro carácter colaborativo y multidisciplinar, implicando a grupos (Villaverde, Banga) que han centrado su investigación reciente en el desarrollo de protocolos y herramientas software de modelado de sistemas biológicos, junto a grupos (Ares, Prat) que tienen amplia experiencia en biología de sistemas y que han desarrollado modelos sofisticados de la respuesta dinámica de *Arabidopsis* a variables ambientales.

Más concretamente, este consorcio tiene un valor añadido especial debido a las sinergias creadas por su carácter complementario, combinando experiencia en aspectos teóricos/numéricos (calibración de modelos mediante optimización global, análisis de identificabilidad, cuantificación de incertidumbre) con otros de tipo práctico/experimental en biología de sistemas (rutas de señalización y desarrollo en plantas).

Por ello consideramos que esta EoI constituye una propuesta de gran calidad para el programa JAE, con un adecuado balance de aspectos teórico/numéricos y experimentales. La persona becada no solo adquirirá un conjunto de conocimientos muy sólidos en modelado matemático de sistemas vivos, sino que además los podrá aplicar al estudio de un sistema de enorme importancia, la influencia del ambiente en el desarrollo de plantas.

En definitiva, el/la estudiante JAE adquirirá un conjunto de competencias clave a través de un conocimiento adquirido en la práctica, mediante su participación activa en todas las fases de una estrategia de biología de sistemas.

3. GRUPOS DE INVESTIGACIÓN PARTICIPANTES EN LA COLABORACIÓN

Cabe destacar que en el proyecto participan 4 grupos distintos, dos de ellos liderados por investigadores jóvenes (Drs. Ares y Villaverde).

Tutor de la JAE: Dr. Julio R. Banga (j.r.banga@csic.es)

Misión Biológica de Galicia (MBG-CSIC), Pontevedra

Web: <https://www.bangalab.org/>

Palabras clave: modelado dinámico de biosistemas y bioprocesos; optimalidad en biología; biología de sistemas y sintética

Participantes:

Dr. Saúl Ares, (saul.ares@csic.es), CNB-CSIC, Madrid

Web: <http://www.cnb.csic.es/index.php/es/component/k2/item/1548-clocks-and-rulers-in-life>

Palabras clave: biología de sistemas; fenómenos espacio-temporales en sistemas vivos;



Dr. Alejandro F. Villaverde, (afvillaverde@uvigo.gal), Universidad de Vigo, Vigo.

Web: <http://afvillaverde.webs.uvigo.gal/>

Palabras clave: teoría de control; identificación y análisis de modelos no lineales; identificabilidad y observabilidad en modelos biológicos

Prof. Salomé Prat, (salome.prat@cragenomica.es), CRAG, Barcelona

Web: <https://www.cragenomica.es/staff/salome-prat>

Palabras clave: desarrollo de plantas, señalización celular, ritmos circadianos, tolerancia al stress

JAEIntrolCU-2024-LifeHub-07

ANALISIS DE COMUNIDADES BIOLÓGICAS EN LAGOS TROPICALES DE ORIGEN VOLCANICO MEDIANTE ADN AMBIENTAL

Investigadora responsable: **Dra Marta Barluenga Badiola,**

marta.barluenga@mncn.csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Museo Nacional de Ciencias Naturales, MNCN (CSIC), Madrid**

PLAN DE FORMACIÓN

El objetivo de este trabajo es entender los patrones evolutivos de peces del grupo de los cíclidos en varios lagos de origen volcánico en Centroamérica. Estos organismos están experimentando procesos de diferenciación y especiación en condiciones de simpatria, confinados en lagos volcánicos de origen reciente. Utilizando herramientas genómicas este proyecto persigue caracterizar el contexto biótico en el que los peces están diversificando. Para ello se analizará el ADN ambiental de varios lagos para describir el ambiente en el que evolucionan las poblaciones de peces en cada uno de ellos, y avanzar en el conocimiento de las interacciones bióticas que se establecen. Este proyecto planea coordinar el trabajo de dos grupos de investigación interesados en procesos evolutivos. Uno de ellos está especializado en el estudio de los mecanismos responsables de la formación de nuevas especies. El segundo grupo está especializado en el estudio de la biodiversidad animal y el monitoreo de poblaciones con aproximaciones genómicas. La combinación de estas disciplinas favorecerá el entendimiento del papel del conjunto de la comunidad biológica en la evolución de las poblaciones en un grupo concreto de organismos; en este caso, de los peces del grupo de los cíclidos.



1. TAREAS A REALIZAR

Se han colectado en el campo en noviembre 2023 muestras de agua de diferentes profundidades de 6 lagos de origen volcánico en Nicaragua. El agua se ha filtrado en el campo y los filtros se han preservado en alcohol.

Tarea 1. Análisis de eDNA de muestras de agua de diferentes profundidades de varios lagos volcánico en Nicaragua. Extracción de ADN de filtros preservados en alcohol. Diseño y selección de cebadores para realizar metabarcoding. Metabarcoding de eDNA y análisis de secuencias. Además, se han tomado muestras de sustrato en los mismos lagos para conocer la fauna bacteriana del sustrato.

Tarea 2. Análisis de eDNA de muestras de sustrato a dos profundidades diferentes. Selección de cebadores bacterianos. Análisis de microbioma del suelo.

Tarea 3. Análisis bioinformático de caracterización de los principales taxones bacterianos del agua y sustrato, y comparación con la información existente sobre los taxones del tracto intestinal de peces.

Tarea 4. Análisis bioinformático de caracterización de trazas de invertebrados y vertebrados acuáticos en muestras de agua.

2. RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN DENTRO DE LA TEMÁTICA “ORIGIN, (CO)EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE”

Con este proyecto pretendemos combinar el estudio de los mecanismos responsables de generar diversidad biológica en estadios tempranos de la diferenciación de las poblaciones, con el análisis de comunidades y las interacciones bióticas. Las muestras están disponibles en el grupo de investigación de Marta Barluenga, y la metodología a aplicar está puesta a punto en el grupo de investigación de Ana Riesgo. Estos dos grupos de investigación representan dos líneas de investigación del CSIC, la línea del Grupo de investigación CSIC Biodiversidad y Biología Evolutiva, y la línea del Grupo de investigación CSIC Patrones y procesos evolutivos en organismos acuáticos.

3. GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

BarluengaLab. Estudio de los mecanismos biológicos que generan biodiversidad con herramientas ecológicas y genómicas. IP. Marta Barluenga Badiola, Museo Nacional de Ciencias Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Grupo de investigación CSIC Patrones y procesos evolutivos en organismos acuáticos. marta.barluenga@mncn.csic.es Miembros del grupo: investigadores postdoctorales, Dr. Seraina Bracamonte; Investigadores predoctorales, Carlos Lozano, Mariana Leal Cardín; estudiantes de máster, Mario Benítez, Pilar González; personal técnico, Ana Laca



RiesgoLab. IP. Ana Riesgo Gil, Museo Nacional de Ciencias Naturales, Departamento de Biodiversidad y Biología Evolutiva. Grupo de investigación CSIC Biodiversidad y Biología Evolutiva. anariesgogil@mncn.csic.es Miembros del grupo: investigadores, Sergio Taboada; investigadores postdoctorales, Dr. Aida Verdés, Dr. Marta Turón, Dr. Andrea Corral, Dr. Irene de Sosa; Investigadores predoctorales, Jose María Lorente, Eleonora Rossi; personal técnico, Ana Laca

JAElntrolCU-2024-LifeHub-08

BUSCANDO HUELLAS ENZIMÁTICAS DE UN METABOLISMO ANCESTRAL

Investigadora responsable: **Dra Marta Ruiz Bermejo**, ruizbm@cab.inta-csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Centro de Astrobiología, CAB (INTA-CSIC), Madrid**

PLAN DE FORMACIÓN

1. TAREAS A REALIZAR

La persona beneficiaria de esta beca realizaría sus actividades de introducción a la investigación en el Laboratorio de Química Prebiótica del CAB, bajo la tutela de la Dra. Ruiz (síntesis y análisis cromatográfico). Los catalizadores de las reacciones enzimáticas serán proporcionados por el Prof. Blasco, quien además colaborará directamente en el análisis cinético y la identificación de proteínas. De esta forma, considerando lo anteriormente comentado, las tareas a realizar por la persona beneficiaria de la beca serían:

- 1) Construcción de rectas de calibrado para la cuantificación de los productos finales de las reacciones (hidantoinas y aminoácidos) mediante GC-MS y de posibles intermedios, como el dihidroorotato.
- 2) Optimización de las condiciones de temperatura y pH de las reacciones de Bucherer-Berks catalizadas enzimáticamente y por extensión estudio de la cinética del proceso.
- 3) Determinación la inducibilidad de los catalizadores utilizando como control células cultivadas sin cianuro.
- 4) Identificación de las proteínas que catalizan estas reacciones. (¿Relacionadas con péptidos ancestrales?)
- 5) Análisis de resultados.
- 6) Búsquedas bibliográficas.



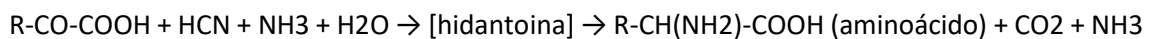
7) Presentación de resultados.

2. RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN (ORIGIN, CO-EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE)

La solicitud de esta Eol surge como necesidad de profundizar en los prometedores resultados obtenidos gracias a la concesión del proyecto de intercambios científicos LifeHUB2_02. En ese caso nos preguntamos: ¿Son las enzimas responsables de la biodegradación de cianuro vestigios de un pasado protobioquímico basado en la química del HCN?

La hipótesis de partida de esta colaboración es que, siendo el cianuro una molécula prebiótica que existe en la biosfera actual, su bioquímica puede ser ancestral y servir como hilo conductor entre la química prebiótica y la bioquímica. Experimentos previos en el grupo del Prof. Blasco han demostrado que *Pseudomonas pseudoalcaligenes* CECT5344, asimila el cianuro convirtiéndolo en los aminoácidos proteínogénicos aspártico y asparagina. Las enzimas que catalizan dicho proceso son termoestables y con un pH óptimo alcalino (el pH óptimo de polimerización/oligomerización del HCN para generar biomoléculas es de 9.2). Entonces, ¿dichas enzimas podrían catalizar la producción de aminoácidos siendo el cianuro su precursor bioquímico?

Para contestar a estas preguntas realizamos varias reacciones de Bucherer-Berks:



utilizando como cetoácidos glioxilato, piruvato, oxalacetato y 2-oxoglutarato y como catalizador un extracto acelular de *P. pseudoalcaligenes* CECT 5344 inducida con cianuro. Como experimentos control se realizaron las mismas reacciones, pero desnaturalizando el catalizador calentándolo durante 5 min a 100 °C. Una vez optimizado el método analítico (identificación unívoca de los analitos de interés, hidantoinas y aminoácidos, frente a patrones auténticos mediante GC-MS), lo que observamos fue: i) En los experimentos a partir de piruvato y 2-oxoglutarato se identificaron las hidantoinas esperables, 5-metil hidantoina y 5-propionil 2 hidantoina, respectivamente; ii) En el caso del ácido oxalacético se identificó 5-metil hidantoina, en vez de 5-acetil hidantoina, probablemente debido a la descarboxilación del oxalacetato a piruvato; iii) No sé observó la formación de hidantoina a partir de ácido glioxílico, como hubiese sido de esperar; iv) Sin embargo, como cabría esperar el área de los picos cromatográficos, para los analitos de interés (hidantoinas), fue mayor en el caso de los experimentos catalizados enzimáticamente que en los experimentos control; v) En ninguno de los experimentos realizados se identificaron amino ácidos, pero si hidatoinas



que son sus precursores inmediatos (la 5-metil hidantoina de la alanina, la 5-propionil hidantoina del ácido aspártico y la 5-acetil hidantoina del ácido glutámico). Por otra parte, hay que señalar que las hidantoinas han sido sugeridas como compuestos claves en la generación abiótica de péptidos.

En base a estos resultados preliminares podríamos decir que es la primera vez que se describe la formación de hidantoinas a partir de cianuro en reacciones catalizadas enzimáticamente, abriendo un campo de investigación completamente inexplorado relacionado directamente con las investigaciones que intentan explicar el origen del metabolismo, el papel que pudo jugar en él la molécula de HCN y la aparición de las enzimas. Así, en este sentido, la persona beneficiaria de una beca JAE-Intro asociada a la EoI que aquí se solicita se introduciría en un área de investigación puntera y altamente interdisciplinar, investigando de manera sistemática reacciones de Bucherer-Berks catalizadas enzimáticamente para tratar de contestar adecuadamente a las preguntas arriba formuladas.

Adicionalmente, indicar que ambos IPs tenemos financiación propia a través de otros proyectos del Plan Estatal de Investigación y que solicitaremos, en todo caso, una ayuda específica para dar continuidad al plan de formación que aquí se presenta a través de la tercera convocatoria de Intercambios Científicos Life-Hub Jump-Start.

3. GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

El plan formativo que se detallará a continuación nace de la necesidad de abarcar de manera interdisciplinar algunos aspectos, aún poco explorados, en las investigaciones sobre el origen de la vida y más concretamente sobre el origen del metabolismo y la aparición de las reacciones catalizadas por enzimas. En este contexto los grupos de investigación implicados en esta EoI son los liderados por el Prof. Rafael Blasco Plá (Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Extremadura), experto en bacterias cianotróficas y la Dra. Marta Ruiz Bermejo (Científico Titular de OPI, Centro de Astrobiología, CSIC-INTA) experta en Química Prebiótica (papel del HCN en los procesos de aumento de complejidad molecular). Ambos grupos de investigación forman parte de la Red LifeHub-CSIC desde el año 2022.



JAEintrouICU-2024-LifeHub-09

VALIDACIÓN EXPERIMENTAL DE FUNCIONES IDENTIFICADAS MEDIANTE NATURAL LANGUAGE PROCESSING MODELS EN EL 'DARK PROTEOME' DE INVERTEBRADOS

Investigadora responsable: **Dra Rosa Fernández García**, rosa.fernandez@ibe.upf-csic.es

Centro en el que se desarrollará el plan de formación: **Instituto de Biología Evolutiva, IBE (CSIC-UPF), Barcelona**

PLAN DE FORMACIÓN

La persona becada adquirirá una sólida formación en bioinformática, análisis de datos transcriptómicos, biología molecular y cultivos celulares.

Los resultados generados servirán como material para que la persona becada elabore su Trabajo de Fin de Máster.

1. TAREAS A REALIZAR

1. 'Mining' de los resultados de anotación de funciones putativas en el 'dark proteome' del Árbol de la Vida de los animales (trabajo de Martínez-Redondo et al. in prep; ver más abajo). Identificación de genes anotados con GO terms relacionados con funciones de potencial interés en biomedicina y biotecnología, con especial atención a proteínas multifuncionales que puedan ser relevantes para procesos fundamentales como (i) reparación del DNA (eg, DNA ligasas, helicasas, etc) y (ii) enzimas degradadoras de lignina (presentes por ejemplo en moluscos), (iii) potenciales biosensores, y (iv) proteínas relevantes en procesos industriales y dianas terapéuticas.

2. Estudio y modelado de su estructura 3D usando nuevas aproximaciones basadas en IA, en colaboración con el laboratorio de la Dra. Ana Rojas (trabajo coordinado con el/la estudiante JAE Intro asociada a ese proyecto en caso de ser concedido). Identificación de las proteínas más prometedoras para estudios funcionales, con especial énfasis en aquellas que puedan exhibir comportamiento multifuncional por moonlighting o metamorfismo. Selección de candidatos para su determinación estructural o su modelado usando IA generativas en la red de colaboradores de Ana Rojas.

3. Transformación de cultivos de *E. coli* (bacteria, procariota) y *Pichia pastori* (levadura, eucariota) con los genes codificantes de las proteínas identificadas en las diferentes especies, siguiendo protocolos estándar ya establecidos en el laboratorio.

4. Purificación de las proteínas sintetizadas.



5. Análisis in vitro de funcionalidad de reparación de DNA (Comet assay) y de degradación de lignina.

6. Escritura de la memoria del Trabajo Fin de Máster. Trabajo supervisado por varios de los/as colaboradores/as.

2. RELEVANCIA DEL PROGRAMA DE INVESTIGACIÓN (ORIGIN, CO-EVOLUTION, DIVERSITY AND SYNTHESIS OF LIFE).

Iluminar las funciones del proteoma oscuro (o 'dark proteome'), entendido como el conjunto de genes con función putativa desconocida debido a la falta de homología con genes funcionalmente caracterizados, es uno de los retos científicos más importantes en biología. Gracias a los avances recientes en el desarrollo de modelos que no se basan en homología se ha avanzado muchísimo en iluminar estas funciones. Tal es el caso de los modelos basados en el procesamiento natural del lenguaje (Natural Language Processing models, o NLPs). En este contexto, las investigadoras Rosa Fernández (IBE) y Ana Rojas (CABD) empezaron una colaboración que surgió a raíz del apoyo de LifeHUB (primero con una JAE Intro dirigida por Ana Rojas y disfrutada por Nazaret Navarro donde se empezó a explorar estas metodologías en una especie de lombriz de tierra, y luego una beca Jump Start disfrutada por Gemma I. Martínez Redondo donde se sentaron las bases para poder escalar esta metodología a cientos de especies) para desarrollar una pipeline para aplicar estos modelos en organismos no modelo y hacer un 'benchmarking' en animales modelo. Fruto de esta colaboración se están preparando actualmente dos publicaciones científicas, una enfocada en el testeo empírico de estos modelos en cuatro organismos modelo (levadura, ratón, mosca de la fruta y *C. elegans*; Barrios et al. in prep), y otra donde se ha aplicado esta metodología en cerca de 1.000 genomas y transcriptomas de animales de todos los filos (en total 23,5 millones de genes) para iluminar el 'dark proteome' en el Árbol de la Vida 2 animal (Martínez-Redondo et al. in prep). Estos dos manuscritos serán previsiblemente enviados a revisar en Enero de 2024 y creemos firmemente que supondrán un salto cualitativo en el estudio funcional del 'dark proteome'.

Pero queda mucho por hacer. Es por ello que pedimos el apoyo una vez más de LifeHUB CSIC para consolidar esta nueva y prometedora línea conjunta de investigación con la ampliación hacia horizontes estructurales por un lado (JAEIntro con Ana Rojas como tutora principal) y hacia horizontes experimentales por el otro (esta JAEIntro, con Rosa Fernández como tutora principal). Cabe destacar que ambos/as estudiantes JAE estarán cotutelados por ambas investigadoras, y que tal como ha sido en el caso de la investigación previa, los proyectos se realizarán en completa coordinación para aumentar la sinergia entre ambos laboratorios.



El Árbol de la Vida y *Vida Sintética* son dos de las áreas de investigación incorporadas a la temática del libro blanco *Origen, (co)Evolución, Diversidad y Síntesis de la Vida*. Esta propuesta está a caballo de ambas, creando un puente de unión natural que viene dado por la riqueza que supone la interrogación de los genes de función desconocida y potencialmente interesante en animales no modelo. Así pues, esta es una propuesta transversal y unificadora a través de escalas de la biodiversidad y con claras implicaciones en cómo entendemos la evolución de las ramas del Árbol de la Vida.

Desde una perspectiva de conocimiento básico, esta propuesta se centra en una aproximación que nos puede ayudar a identificar genes y proteínas de especial interés aplicado a través de experimentos relativamente sencillos desde un punto de vista científico y que son fácilmente asumibles por un/a estudiante JAE.

Finalmente, este proyecto contribuirá a consolidar nuevas colaboraciones interdisciplinares que se han establecido gracias al apoyo de LifeHUB, y que creemos que puede tener una repercusión importante en entender los genomas a nivel funcional desde una nueva perspectiva muy prometedora.

3. GRUPOS DE INVESTIGACIÓN

En el proyecto participarán varios/as investigadores/as tanto jóvenes como consolidados con conocimiento en diferentes áreas científicas, que aportarán una perspectiva fresca e innovadora al proyecto:

❖ **Gemma Isabel Martínez Redondo** (becaria predoctoral en el laboratorio de la Dra. Fernández) con formación en bioinformática y genómica comparativa. Primera autora de uno de los manuscritos fruto de la colaboración entre Rosa Fernández y Ana Rojas (Martínez-Redondo et al. in prep), y previamente financiada con una ayuda de movilidad de LifeHUB para hacer una estancia de 3 semanas en el laboratorio de Ana Rojas. Email: gemma.martinez@ibe.upf-csic.es

❖ **Francisco Miguel Pérez Canales**. Ingeniero informático especialista en técnicas de Machine Learning e Inteligencia Artificial. Recientemente incorporado al grupo de Ana Rojas para la producción de software y optimización de algoritmos.

❖ **Dra. Rosa Fernández** (investigadora Ramón y Cajal - a espera de firmar la plaza de Científica Titular, incorporada al CSIC el 1 de Enero de 2020). Jefa de Grupo del 'Metazoa Phylogenomics Lab' en el IBE (CSIC-UPF). Experta en filogenética y genómica comparativa en animales no modelo, con énfasis en entender la base genómica de adaptación a ambientes extremos en animales (en concreto la colonización del medio terrestre desde ancestros marinos). Email: rosa.fernandez@ibe.upf-csic.es



❖ **Dra. Ana Rojas** (Investigadora Científica del CSIC). Jefa del grupo de “Computational Biology and Bioinformatics”. Experta en función (multifunción) de proteínas (recién elegida miembro del track COSI de función de ISCB), en evolución de proteínas y familias génicas y en la aplicación de modelos de lenguaje para la anotación funcional. Email: ana.rojas.m@csic.es

Referencias

Barrios I, Cases I, Martínez-Redondo G, Fernández R & Rojas AM, in prep. Decoding proteome functional information using protein language models.

Martínez-Redondo GI, Barrios I, Vázquez-Valls M, Rojas AM & Fernández R, in prep. Illuminating the dark proteome across the Animal Tree of Life.