

CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y TECNOLÓGICO Informe Científico¹

PERIODO ²: 2011

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: Maté

NOMBRES: Sabina María

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: City Bell, La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información): smate@med.unlp.edu.ar

2. TEMA DE INVESTIGACION

Participación de microdominios de membrana en el mecanismo de acción de la toxina HlyA.
Validación de métodos para trabajar con membrane rafts.

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: Asistente Fecha: 1-09-2009

ACTUAL: Categoría: Asistente desde fecha:

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: Instituto de Investigaciones Bioquímicas de La Plata (INIBIOLP).

Facultad: Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata (UNLP).

Departamento:

Cátedra: Bioquímica y Biología Molecular.

Otros:

Dirección: Calle: 60 y 120 N°: s/n

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 0221-4824894

Cargo que ocupa: Jefe de Trabajos Prácticos, dedicación Ex.

5. DIRECTOR DE TRABAJOS. (En el caso que corresponda)

Apellido y Nombres: Bakás, Laura.

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica: lbakas@biol.unlp.edu.ar

¹ Art. 11; Inc. "e" ; Ley 9688 (Carrera del Investigador Científico y Tecnológico).

² El informe deberá referenciar a años calendarios completos. Ej.: en el año 2008 deberá informar sobre la actividad del período 1°-01-2006 al 31-12-2007, para las presentaciones bianuales.

.....
Firma del Director (si corresponde)

.....
Firma del Investigador

6. EXPOSICION SINTETICA DE LA LABOR DESARROLLADA EN EL PERIODO.

Debe exponerse, en no más de una página, la orientación impuesta a los trabajos, técnicas y métodos empleados, principales resultados obtenidos y dificultades encontradas en el plano científico y material. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.

Desde mi inserción en el grupo de trabajo dirigido por la Dra. Bakas he colaborado en la obtención de resultados correspondientes al mecanismo de acción de la toxina alpha-hemolisina (HlyA), proteína secretada por ciertas cepas patógenas de Escherichia coli. Resultado de ese proyecto se ha publicado, en el período que me toca informar en esta oportunidad, un Trabajo y un Capítulo de Libro.

Además, en este período se han realizado estudios para completar los resultados relativos a la influencia de la composición (lipídica y proteica) de la membrana de los eritrocitos sobre las propiedades cinéticas de la interacción toxina-eritrocito. Respecto de la composición lipídica, se determinaron por espectrometría de masas las composiciones de los fantasmas de los eritrocitos de caballo, carnero y conejo. Se determinaron las clases lipídicas mayoritarias así como la composición de las especies moleculares de cada uno de los fosfolípidos de dichas membranas. Por otro lado, se realizaron experimentos con el objetivo de determinar la presencia o ausencia de una glicoproteína de membrana, glicoforina, que ha sido postulada como receptor de la toxina HlyA. Se procedió a la purificación de glicoproteínas totales de membranas de eritrocitos de diferentes especies animales y, posteriormente, las mismas se separaron en geles de poliacrilamida. Las distintas bandas se enviaron al servicio de espectrometría de masas del CEQUIBIEM (Centro de Estudios Químicos y Biológicos por espectrometría MALDI-TOF, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, UBA). A pesar del tiempo, dinero y esfuerzos dedicados no hemos logrado obtener ningún resultado definitivo correspondiente a la presencia-ausencia de glicoforina en los eritrocitos de las especies estudiadas.

Por otro lado, hemos realizado experimentos en colaboración con el laboratorio del Dr. Felix Goñi (Unidad de Biofísica-Centro Mixto CSIC-UPV/EHU), en la Universidad del País Vasco y con el Dr. Claude Wolf (Groupe de spectrométrie de masse-APLIPID, UMPC Faculté de Médecine Pierre et Marie Curie) de Paris, France. Se estudió, específicamente, la importancia de la estructura de la esfingomielina (SM) en las interacciones con el colesterol (CHO). Se realizaron experimentos de extracción de colesterol con ciclodextrinas en fantasmas de eritrocitos de carnero. Se midieron la extracción selectiva de colesterol así como también los cambios en las propiedades biofísicas de la membrana de los eritrocitos como consecuencia de dicha extracción (por microscopía de dos fotones). Se realizaron también experimentos en mezclas de lípidos sintéticos que simulan la composición de eritrocitos de carnero (mezclas de 16:0 SM, 24:1SM, puras o con CHO), para estudiar la solubilidad de las diferentes mezclas en presencia del detergente TX-100 y la coexistencia de dominios (por microscopía de fuerza atómica y microscopía confocal). Con parte de los resultados obtenidos hemos redactado un trabajo que será enviado a la brevedad para su publicación (Importance of the Sphingomyelin structure in its interaction with Cholesterol. Sabina Maté, Jon Busto, Jesús Sot, Vanesa Herlax, Claude Wolf, Félix Goñi and Laura Bakás).

7. TRABAJOS DE INVESTIGACION REALIZADOS O PUBLICADOS EN ESTE PERIODO.

7.1 PUBLICACIONES. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellas publicaciones en las que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Toda publicación donde no figure dicha mención no debe ser adjuntada porque no será tomada en consideración. A cada publicación, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden que figuran en ella, lugar donde fue publicada, volumen, página y año. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparece en la publicación. La copia en papel de cada publicación se presentará por separado. Para cada publicación, el investigador deberá, además, aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del trabajo y, para aquellas en las que considere que ha hecho una contribución de importancia, deberá escribir una breve justificación.*

1- "Eriptosis, la muerte suicida de eritrocitos: mecanismo y enfermedades asociadas". Vanesa Herlax, Romina Vazquez, Sabina Maté y Laura Bakás. Acta Bioquím Clín Latinoam 2011; 45 (2): 287-296.

Abstract. Simple spirits consider mammalian erythrocytes as membrane-surrounded hemoglobin-containing vesicles floating in circulation. Indeed, they lack organelles including nuclei and mitochondria and, in a sense, they cannot be considered as true cells. Nonetheless, erythrocytes have been intriguing researchers interested in apoptosis. E Daugas, C Candé and G Kroemer. Editorial Erythrocytes: Death of a mummy. Cell Death and Differentiation (2001) 8, 1131 ± 1133

Similar a la apoptosis de células nucleadas, la muerte suicida de eritrocitos o eriptosis está caracterizada por disminución del volumen celular, vesiculación de la membrana y translocación de fosfolípidos de la membrana plasmática con exposición de fosfatidilserina en la superficie celular.

Una amplia variedad de drogas, contaminantes ambientales, sustancias endógenas, condiciones clínicas y enfermedades disparan el proceso de eriptosis. Entre los ejemplos presentados podemos enumerar cationes como (Hg⁺², Cd⁺² etc), sepsis, síndrome urémico hemolítico, enfermedad de Wilson y depleción de fosfato entre otras.

Este proceso es estimulado por la activación de canales iónicos y la formación de ceramida desencadenando la activación de una compleja red de señalización.

Los desencadenantes del proceso de eriptosis, así como las moléculas involucradas en la señalización del mismo, estarían también involucradas en la regulación de la apoptosis, por lo que en ambos casos, los mecanismos involucrados serían similares.

Es por eso que los resultados obtenidos del análisis del proceso de eriptosis podrían ser potencialmente tomados como modelo en el estudio de la patogénesis de la muerte suicida de células nucleadas.

Participación personal: participación en la redacción del trabajo y discusión de los resultados.

2- Capítulo de libro: "E.coli Alpha Hemolysin and properties". Laura Bakás, Sabina Maté, Romina Vazquez and Vanesa Herlax, en Biochemistry, Book I, Ed. Prof. Deniz Ekinci, Croacia. ISBN 978-953-51-0076-8, (2012) 107:140.

Abstract: capítulo del libro Biochemistry, sin Abstract.

Participación personal: diseño y desarrollo de los experimentos concernientes a la participación de microdominios de membrana en el mecanismo de acción de la

toxina Alpha-hemolisina, participación en la redacción del trabajo y discusión de los resultados.

7.2 TRABAJOS EN PRENSA Y/O ACEPTADOS PARA SU PUBLICACIÓN. *Debe hacer referencia exclusivamente a aquellos trabajos en los que haya hecho explícita mención de su calidad de Investigador de la CIC (Ver instructivo para la publicación de trabajos, comunicaciones, tesis, etc.). Todo trabajo donde no figure dicha mención no debe ser adjuntado porque no será tomado en consideración. A cada trabajo, asignarle un número e indicar el nombre de los autores en el mismo orden en que figurarán en la publicación y el lugar donde será publicado. A continuación, transcribir el resumen (abstract) tal como aparecerá en la publicación. La versión completa de cada trabajo se presentará en papel, por separado, juntamente con la constancia de aceptación. En cada trabajo, el investigador deberá aclarar el tipo o grado de participación que le cupo en el desarrollo del mismo y, para aquellos en los que considere que ha hecho una contribución de importancia, deber á escribir una breve justificación.*

7.3 TRABAJOS ENVIADOS Y AUN NO ACEPTADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo, indicando el lugar al que han sido enviados. Adjuntar copia de los manuscritos.*

7.4 TRABAJOS TERMINADOS Y AUN NO ENVIADOS PARA SU PUBLICACION. *Incluir un resumen de no más de 200 palabras de cada trabajo.*

1- IMPORTANCE OF THE SPHINGOMYELIN STRUCTURE IN ITS INTERACTION WITH CHO. Sabina Maté (a), Jon Busto (b), Jesús Sot (b), Vanesa Herlax (a), Claude Wolf (c), Félix Goñi (b) and Laura Bakás (a,d)

Abstract.

The driving force for raft formation is phase separation caused by the favored association between CHO and SLs. SMs are characterized by a wide population of molecules that differ in notable ways. Typically, the acyl chains are long (16–24 carbon atoms), mostly saturated and amide-linked to the sphingoid base. Although the mixed population of different acyl chains seems to be an inherent feature of SMs, its influence on the membrane physical properties and the possible biological significance are not fully understood.

Here we reported experimental results on both biological and lipid model systems that evidence the importance of the SM structure in the interaction with CHO. We performed experiments of CHO extraction and DRM isolation from sheep erythrocyte membranes, detergent solubilization studies and the characterization at the nanometer scale of model membranes. The experimental determinations at nanometer scale presented in this paper evidenced that the SM-structure is crucial in determining its molecular interactions with CHO and, consequently, in regulating the biophysical properties of membranes. Finally, taking into account all the results below presented, we can conclude that DRMs are not synonyms of membrane rafts.

7.5 COMUNICACIONES. *Incluir únicamente un listado y acompañar copia en papel de cada una. (No consignar los trabajos anotados en los subtítulos anteriores).*

7.6 INFORMES Y MEMORIAS TECNICAS. *Incluir un listado y acompañar copia en papel de cada uno o referencia de la labor y del lugar de consulta cuando corresponda.*

8. TRABAJOS DE DESARROLLO DE TECNOLOGÍAS.

8.1 DESARROLLOS TECNOLÓGICOS. *Describir la naturaleza de la innovación o mejora alcanzada, si se trata de una innovación a nivel regional, nacional o internacional, con qué financiamiento se ha realizado, su utilización potencial o actual por parte de empresas u otras entidades, incidencia en el mercado y niveles de facturación del respectivo producto o servicio y toda otra información conducente a demostrar la relevancia de la tecnología desarrollada.*

8.2 PATENTES O EQUIVALENTES. *Indicar los datos del registro, si han sido vendidos o licenciados los derechos y todo otro dato que permita evaluar su relevancia.*

8.3 PROYECTOS POTENCIALMENTE TRANSFERIBLES, NO CONCLUIDOS Y QUE ESTAN EN DESARROLLO. *Describir objetivos perseguidos, breve reseña de la labor realizada y grado de avance. Detallar instituciones, empresas y/o organismos solicitantes.*

8.4 OTRAS ACTIVIDADES TECNOLÓGICAS CUYOS RESULTADOS NO SEAN PUBLICABLES *(desarrollo de equipamientos, montajes de laboratorios, etc.).*

8.5 Sugiera nombres (e informe las direcciones) de las personas de la actividad privada y/o pública que conocen su trabajo y que pueden opinar sobre la relevancia y el impacto económico y/o social de la/s tecnología/s desarrollada/s.

9. SERVICIOS TECNOLÓGICOS. *Indicar qué tipo de servicios ha realizado, el grado de complejidad de los mismos, qué porcentaje aproximado de su tiempo le demandan y los montos de facturación.*

10. PUBLICACIONES Y DESARROLLOS EN:

10.1 DOCENCIA

10.2 DIVULGACIÓN

11. DIRECCION DE BECARIOS Y/O INVESTIGADORES. *Indicar nombres de los dirigidos, Instituciones de dependencia, temas de investigación y períodos.*

12. DIRECCION DE TESIS. *Indicar nombres de los dirigidos y temas desarrollados y aclarar si las tesis son de maestría o de doctorado y si están en ejecución o han sido defendidas; en este último caso citar fecha.*

13. PARTICIPACION EN REUNIONES CIENTIFICAS. *Indicar la denominación, lugar y fecha de realización, tipo de participación que le cupo, títulos de los trabajos o comunicaciones presentadas y autores de los mismos.*

- "Effects of alpha hemolysin from E.coli on erythrocytes from different Species". Susana Sanchez, Romina Vazquez, Sabina Maté, Laura Bakás, Enrico Gratton and Vanesa Herlax presentado en 55th Annual Meeting of the Biophysical Society del 5 al 9 de marzo de 2011, Baltimore, EEUU.

- “Evidencias experimentales de que las membranas resistentes a detergentes (DRMs) no son sinónimo de Rafts”. Sabina Mate, Vanesa Herlax, Romina Vazquez, Jon Busto, Jesus Sot, Felix Goñi y Laura Bakas. Poster presentador en la XL Reunión Anual SAB 2011, 5 al 7 de Diciembre de 2011, Buenos Aires, Argentina.

En todos los casos se trata de posters presentados en Jornadas y Congresos Nacionales o Internacionales. En los que soy primer autor concurrí personalmente a la Reunión Científica y presenté el poster. En los casos en los que no soy primer autor, participé de los experimentos y de la discusión de los resultados que se presentan en el poster.

- 14. CURSOS DE PERFECCIONAMIENTO, VIAJES DE ESTUDIO, ETC.** *Señalar características del curso o motivo del viaje, período, instituciones visitadas, etc.*

- 15. SUBSIDIOS RECIBIDOS EN EL PERIODO.** *Indicar institución otorgante, fines de los mismos y montos recibidos.*

1- Proyecto: “Mecanismo de acción de alfa hemolisina de E.coli a concentraciones líticas y sublíticas en eritrocitos”. Institución otorgante: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT). Subsidio PICT-00647. Duración: 2009-2011. Monto total: \$228.208.00. Directora: Laura Bakas. Grupo Responsable: Dras. Vanesa Herlax y Sabina Maté.

2- Proyecto: “Validación de métodos para trabajar con membrane rafts”. Subsidio PICT-Jóvenes Investigadores (2008-2129). Duración: 2009-2010. Monto total: \$40.000. Directora: Sabina Maté.

3- Proyecto: Caracterización biofísica de microdominios de membrana. Aspectos estructurales y funcionales. Institución acreditadora: Secretaría de Ciencia y Técnica de UNLP. Año de inicio – año de finalización: 2010-2011. Monto: \$9000. Director: Dra. Laura Bakás. Integrantes: Dra. Sabina Maté-Dra. Vanesa Herlax- Bioq. Romina Vázquez.

4- Subsidio Institucional para Investigadores de la Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires (CIC). Año 2011. Monto recibido: \$3000.

- 16. OTRAS FUENTES DE FINANCIAMIENTO.** *Describir la naturaleza de los contratos con empresas y/o organismos públicos.*

- 17. DISTINCIONES O PREMIOS OBTENIDOS EN EL PERIODO.**

- 18. ACTUACION EN ORGANISMOS DE PLANEAMIENTO, PROMOCION O EJECUCION CIENTIFICA Y TECNOLÓGICA.** *Indicar las principales gestiones realizadas durante el período y porcentaje aproximado de su tiempo que ha utilizado.*

- 19. TAREAS DOCENTES DESARROLLADAS EN EL PERIODO.** *Indicar el porcentaje aproximado de su tiempo que le han demandado.*

JEFE DE TRABAJOS PRÁCTICOS ORDINARIO con Dedicación Exclusiva a partir del 1/03/11 y en la actualidad. Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias Médicas, UNLP.

Las tareas inherentes al Cargo docente que desempeño en la Catedra de Bioquímica y Biología Molecular de la Fac. de Cs. Médicas de la UNLP insumen un 20 % de mi tiempo de trabajo.

20. OTROS ELEMENTOS DE JUICIO NO CONTEMPLADOS EN LOS TITULOS ANTERIORES. *Bajo este punto se indicará todo lo que se considere de interés para la evaluación de la tarea cumplida en el período.*

21. TITULO Y PLAN DE TRABAJO A REALIZAR EN EL PROXIMO PERIODO. *Desarrollar en no más de 3 páginas. Si corresponde, explicita la importancia de sus trabajos con relación a los intereses de la Provincia.*

PROYECTO 1: Estudio de la interacción-inserción (efecto) de la toxina alpha-hemolisina de E. coli en bicapas soportadas sobre mica (SLBs).

En nuestro país la bacteria *Escherichia coli* causa del 75% al 90% de los episodios de infecciones urinarias, prevaleciendo en la infección urinaria neonatal, pediátrica, en la cistitis no complicada o recurrente de la mujer fértil, así como en la pielonefritis (1). Existe un grupo de cepas de E.coli denominadas cepas patogénicas extraintestinales (ExPEC), estos patógenos son comensales normales del intestino, pero una vez que salen del mismo producen una serie de patologías como infección urinaria, meningitis y septicemia. A estas cepas se las denomina cepas uropatogénicas de E. coli (UPEC). La habilidad de las mismas para invadir y colonizar otros tejidos está determinado por un conjunto de factores, donde se incluyen: factores de adherencia, toxinas, sistemas de adquisición de hierro (sideróforos) y antígenos capsulares (2). Dentro de las toxinas que estas cepas secretan se encuentra alfa hemolisina (HlyA) y el factor citotóxico necrotizante 1 (CNF-1). Ambas han demostrado alta correlación con septicemia y daño renal (3).

HlyA presenta un amplio espectro de células blanco, como fibroblastos, células endoteliales, granulocitos, monocitos y macrófagos de diferentes especies. En cuanto a la interacción con las células, se proponen al menos dos fases en la citotoxicidad de HlyA: una fase de adsorción pasiva a la superficie de la célula y luego una fase de inserción a la membrana. Por estudios con liposomas se determinó que la fase de adsorción es reversible, está gobernada por fuerzas electrostáticas y no necesariamente conduce a la lisis celular (4). Por otro lado, la inserción es un proceso irreversible promovido por membranas que presentan coexistencia de fases gel-líquido cristalina. (5). En el modelo de unión a membranas de HlyA propuesto por Welch (6), la porción N-terminal compuesta por aminoácidos cargados positivamente parecerían ser los iniciadores de la unión. Luego la contribución hidrofóbica de las alpha-hélices anfipáticas y los ácidos grasos serían necesarios para insertar la toxina en la membrana de la célula blanco.

En cuanto al tipo de lesión que HlyA crea en la membrana del eritrocito a concentraciones líticas existe gran controversia en la literatura. La hipótesis original fue que la toxina forma poros transmembrana constituyendo un canal acuoso, similar a lo encontrado para otras toxinas hemolíticas (7). Los mecanismos alternativos propuestos se basan en una acción tipo detergente (8) o una interacción desestabilizante sobre la monocapa externa, comportándose la toxina como una proteína integral no transmembrana (9). Experimentos de protección osmótica de eritrocitos empleando compuestos de diferente peso molecular están a favor de la formación de un poro cuyo tamaño depende del tiempo y de la cantidad de toxina aplicada (10). Resultados recientes de nuestro laboratorio demuestran que los membrane rafts estarían involucrados en el mecanismo de acción de la toxina proteica HlyA (11). En dicho trabajo se demostró que microdominios de membranas de eritrocitos, enriquecidos en SM y CHO, actúan como

plataformas de concentración donde se produce la oligomerización de la toxina para la formación del poro lítico.

Las mezclas ternarias compuestas por fosfatidilcolinas insaturadas (DOPC, por ejemplo), SM y CHO constituyen un sistema modelo que ha sido ampliamente utilizado para el estudio de las propiedades biofísicas de membranas que presentan coexistencia de fases líquido-líquido. En la mezcla recién mencionada, coexisten las fases Ld (líquido desordenada, formada por DOPC) y Lo (líquido ordenada, constituida por una interacción preferencial entre SM y CHO).

El objetivo de este proyecto es profundizar el conocimiento concerniente al mecanismo de acción de HlyA, en particular, en lo correspondiente a la inserción de la toxina en membranas con diferente composición lipídica. Para ello se realizarán experimentos en sistemas modelo empleando la técnica de monocapas y microscopía de fuerza atómica.

Mediante la técnica de monocapas lipídicas se puede diseccionar el proceso de inserción de la toxina del proceso de lisis, dado que la monocapa no experimenta la reestructuración tridimensional requerida para alterar la barrera de permeabilidad de membrana que tiene lugar durante la lisis. La inserción de la proteína se evaluará a partir de los cambios en la presión lateral de la monocapa como consecuencia de la inserción de la toxina agregada en la subfase acuosa. El Microscopio de fuerza atómica (AFM) es un instrumento mecano-óptico capaz de registrar continuamente la topografía de una muestra; ha sido esencial para la caracterización y visualización de muestras biológicas en condiciones fisiológicas, a dimensiones nanométricas.

Hace un año aproximadamente comenzamos una colaboración con la Dra. María Elena Vela y parte de su equipo de trabajo del INIFTA. En ese marco me he dedicado específicamente a poner a punto las condiciones de preparación de las muestras para realizar mediciones en el AFM. Al presente, hemos puesto a punto la preparación de bicapas soportadas sobre mica (SLBs) preparadas a partir de diferentes mezclas lipídicas y las hemos caracterizado topográficamente. Durante el presente año esperamos poder estudiar la interacción-inserción y el efecto de la toxina HlyA (y diferentes mutantes de dicha toxina, con actividades líticas características) en las diferentes bicapas.

Bibliografía

1. Casellas, J. M. (2008) Anuario Fundación Dr. J.R Villavicencio 16, 150-154
2. Wiles, T. J., Bower, J. M., Redd, M. J., and Mulvey, M. A. (2009) PLoS Pathog 5(12), e1000697
3. Marrs, C. F., Zhang, L., and Foxman, B. (2005) FEMS Microbiol Lett 252, 183-190
4. Ostolaza, H., Bakas, L., and Goñi, F. (1997) J Membr Biol. 158(2), 137-145
5. Bakás, L., Ostolaza, H., Vaz, W. L., and Goñi, F. M. (1996) Biophys J. 71(4), 1869-1876
6. Welch, R. (2001) Current Top Microbiol Immunol 257, 85-111
7. Bhakdi, S., Mackman, N., Nicaud, J. M., and Holland, I. (1986) Infect. Immun. 52, 63-69
8. Ostolaza, H., Bartolome, B., Ortiz de Zarate, I., de la Cruz, F., and Goñi, F. M. (1993) Biochim Biophys Acta 1147(1), 81-88
9. Soloaga, A., Veiga, P., García Segura, L., Ostolaza, H., Bresseur, R., and F, G. (1999) Molecular Microbiology 31, 1013-1024
10. Moayeri, M., and Welch, R. (1994) Infection and immunity 62(10), 4124-4134
11. Herlax, V., Mate, S., Rimoldi, O., and Bakas, L. (2009) J Biol Chem 284(37), 25199-25210

PROYECTO 2: IMPORTANCIA DE LAS ESPECIES MOLECULARES DE ESFINGOMIELINA EN LA INTERACCION SM-CHO- Validación de metodos para trabajar con rafts- Para el siguiente periodo se preveen experimentos para dar por finalizado dicho proyecto.

En el año 2006, como corolario del Keystone Symposium on lipid rafts and cell function, se consensuó la siguiente definición: “los membrane rafts son dominios de membrana pequeños (10-200 nm), heterogéneos, altamente dinámicos, enriquecidos en colesterol y esfingolípidos, estabilizados por interacciones proteína-proteína y lípido-proteína que intervienen en la compartimentación de determinados procesos celulares” (1). Debido al alto contenido de colesterol en estos dominios de membrana, y al hecho de que altas concentraciones de colesterol originan la formación de las denominadas fases líquido ordenadas (lo) en bicapas lipídicas, se considera que los rafts estarían también en fase lo, las cuales son insolubles frente a ciertos detergentes no iónicos (2). En la actualidad se asume que interacciones preferenciales entre SMs y CHO constituyen la base estructural de los rafts. La SM presente en una membrana celular posee, de manera característica, una gran diversidad estructural. Dicha diversidad estructural se debe, principalmente, a la presencia de ácidos grasos de diferente longitud de cadena y grado de insaturación, unidos por enlace amida a la base esfingoide. A pesar de esto, la influencia de la estructura de la SM en la interacción con el CHO y la posible relación con las propiedades físicas de la membrana es un tema que no ha sido aun completamente estudiado.

Films monomoleculares preparados a partir de membranas naturales enteras o lípidos sintéticos permiten estudiar algunos aspectos de sistemas complejos, como lo es la membrana de una célula intacta. Los sistemas de monocapas, con la complejidad composicional de las membranas naturales enteras, pueden estudiarse bajo condiciones controladas de empaquetamiento, potencial y presión superficial, a fin de caracterizar la topografía de superficie; es importante considerar, sin embargo, que no se puede realizar extrapolaciones directas de los resultados obtenidos en monocapas con el comportamiento de bicapas naturales (3). Contaremos con la colaboración de la Dra. Laura Fanani y el Dr. Bruno Maggio (CIQUIBIC, Fac. Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba) para el diseño de los experimentos y la implementación de técnicas de reconstitución de sistemas biomiméticos de lípidos y proteínas autoorganizados asimétricamente y técnicas para la visualización directa y en tiempo real de dominios laterales y transversales en films monomoleculares y ultradelgados. Planeamos preparar monocapas de mezclas lipídicas ternarias compuestas por DOPC/ 16:0-SM, 24:0-SM o 24:1-SM/CHO para estudiar la influencia de la estructura de la SM sobre la organización molecular lateral, que determina la morfología y la dinámica estructural lateral/transversal de la superficie.

Bibliografía

1. Pike, L. J. (2006) *J Lipid Res.* 47(7), 1597-1598
2. Scheiffele, P., Roth, M. G., and Simons, K. (1997) *EMBO J.* 16(18), 5501-5508.
3. Rosetti, C. M., and Maggio, B. (2007) *Biophys J.* 93, 4254-4267

Por último, durante el presente año se contempla dedicar el tiempo que sea requerido para la publicación del trabajo "Importance of the Sphingomyelin structure in its interaction with Cholesterol". Sabina Maté, Jon Busto, Jesús Sot, Vanesa Herlax, Claude Wolf, Félix Goñi and Laura Bakás).

Condiciones de la presentación:

- A. El Informe Científico deberá presentarse dentro de una carpeta, con la documentación abrochada y en cuyo rótulo figure el Apellido y Nombre del Investigador, la que deberá incluir:
 - a. Una copia en papel A-4 (puntos 1 al 21).

- b. Las copias de publicaciones y toda otra documentación respaldatoria, en otra carpeta o caja, en cuyo rótulo se consignará el apellido y nombres del investigador y la leyenda "Informe Científico Período".
 - c. Informe del Director de tareas (en los casos que corresponda), en sobre cerrado.
- B. Envío por correo electrónico:
- a. Se deberá remitir por correo electrónico a la siguiente dirección: infinvest@cic.gba.gov.ar (puntos 1 al 21), en formato .doc zipeado, configurado para papel A-4 y libre de virus.
 - b. En el mismo correo electrónico referido en el punto a), se deberá incluir como un segundo documento un currículum resumido (no más de dos páginas A4), consignando apellido y nombres, disciplina de investigación, trabajos publicados en el período informado (con las direcciones de Internet de las respectivas revistas) y un resumen del proyecto de investigación en no más de 250 palabras, incluyendo palabras clave.

Nota: El Investigador que desee ser considerado a los fines de una promoción, deberá solicitarlo en el formulario correspondiente, en los períodos que se establezcan en los cronogramas anuales.