

**CARRERA DEL INVESTIGADOR CIENTÍFICO Y
TECNOLÓGICO**
Informe Científico¹

PERIODO ²: 2011-2012

Legajo N°:

1. DATOS PERSONALES

APELLIDO: NATALUCCI

Legajo: 262109

NOMBRES: Claudia Luisa

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel:

Dirección electrónica (donde desea recibir información): claudia.natalucci@gmail.com

2. TEMA DE INVESTIGACION

“ENZIMAS PROTEOLITICAS DE VEGETALES SUPERIORES, SUS INHIBIDORES Y PRODUCTOS DE REACCIÓN”.

3. DATOS RELATIVOS A INGRESO Y PROMOCIONES EN LA CARRERA

INGRESO: Categoría: ASISTENTE Fecha: 02/1985

ACTUAL: Categoría: INDEPENDIENTE desde fecha: 01/2003

4. INSTITUCION DONDE DESARROLLA LA TAREA

Universidad y/o Centro: Universidad Nacional de La Plata

Facultad: Ciencias Exactas

Departamento: Ciencias Biológicas

Cátedra:

Otros: Laboratorio de Investigación de Proteínas Vegetales (LIProVe)

Dirección: Calle: 47 N°: y 115

Localidad: La Plata CP: 1900 Tel: 423-5333 int. 5

Cargo que ocupa: Directora de Grupo de Investigación

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

Apellido y Nombres:

Dirección Particular: Calle: N°:

Localidad: CP: Tel:

Dirección electrónica:

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.

Durante el presente período he dado continuidad al proyecto de investigación vinculado a la aplicación de endopeptidasas y de sus inhibidores así como de péptidos obtenidos por hidrólisis con dichas proteasas. El mencionado proyecto de investigación tiene como objetivo implementar -con la participación de otros grupos de investigación del país y del exterior- el estudio de las posibles aplicaciones industriales y farmacológicas de las fitoproteasas purificadas en el LIProVe, de sus inhibidores y de los péptidos bioactivos por ellas producidos al actuar sobre proteínas alimentarias, así como de bacteriocinas capaces de contribuir a la sanidad de peces (Tema de la Investigadora Asistente del CONICET Cynthia Sequeiros, de quien soy directora). Los hidrolizados proteicos que pueden obtenerse por hidrólisis enzimática son importante fuente de nitrógeno en pacientes con mala función gastrointestinal dada su alta absorción a dicho nivel en relación a la proteína completa. Por otra parte, estos hidrolizados, dado su contenido en péptidos bioactivos, pueden ser útiles por sus diversos usos terapéuticos: como antioxidantes, antihipertensivos y quelantes de hierro, facilitando su incorporación al organismo. Los avances alcanzados incluyen la obtención de hidrolizados de suero de leche bovina mediante el uso de balanseína, la determinación del grado de hidrólisis a diversos tiempos, el estudio electroforético de los péptidos obtenidos y su fraccionamiento por ultrafiltración, así como el análisis del poder antioxidante de las fracciones obtenidas. En relación con las bacteriocinas, se han obtenido extractivos que han sido eficientes antibacterianos sobre cepas patógenas de peces. A partir de los mismos se ha purificado una nisina, que ha sido clonada y analizada por MALDI MS-MS

Otro aspecto al que me he dedicado fue el incremento de las relaciones con grupos de investigación del exterior, en particular con el Instituto de Biotecnología y Biomedicina (IBB), de la Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra (Barcelona), España, lo que ha permitido la incorporación de nuevas metodologías a los trabajos producidos en mi grupo de investigación algunas de las cuales comenzaron a implementarse en nuestro laboratorio.

Respecto a un convenio realizado con el Centro de Bioplantas, Ciego de Avila, Cuba, se está trabajando en el uso de biorreactores de inmersión temporal para obtener proteasas de origen vegetal. En este sentido se han podido evaluar por electroforesis bidimensional la proteasas de Ananas comosus, Pseudananas macrodentes y Hohenbergia penduliflora. En el caso de las proteasas de ananá se realizó también el análisis de su PMF.

Durante el último año se logró caracterizar la proteasa presente en los frutos de *Phytolacca dioica* ("ombú"). Se trata de una enzima con elevada actividad, interesante por su posible aplicación biotecnológica.

La formación de recursos humanos sigue siendo una actividad fundamental dentro de mis actividades, desde 2010 se ha sumado a quienes dirijo una nueva becaria CICIPBA, actualmente con beca de perfeccionamiento.

Todas las actividades de investigación realizadas tienen aplicación tanto en biotecnología alimentaria como industrial y pueden ser transferidas al medio productivo de nuestra Provincia.

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.- Torres, M.J., Trejo, S.A., Obregon, W.D., Aviles, F.X., López, L.M.I., Natalucci, C.L. "Characterization of the proteolytic system present in *Vasconcellea quercifolia* latex" (2012) *Planta* 236: 1471-1484. DOI. 10.1007/s00425-012-1701-3I. ISSN: 0032-0935 (print version), ISSN: 1432-2048 (electronic version).

ABSTRACT: *Vasconcellea quercifolia* (Caricaceae) latex contains several cysteine endopeptidases with high proteolytic activity. Cysteine endopeptidases are the main active compounds used by the plant as a defense mechanism. A proteolytic preparation from *V. quercifolia* ("oak leaved papaya") latex was purified by cation exchange chromatography. From SDS-PAGE and blotting of the selected fractions, the N-terminal amino acid sequences of polypeptides were determined by Edman's degradation. The analysis by peptide mass fingerprinting (PMF) of the enzymes allowed their characterization and confirmed the presence of seven different cysteine proteinases in the latex of *V. quercifolia*. Moreover, the comparison between the tryptic maps with those deposited in databases using the MASCOT tool showed that none of the isolated proteases matched with another plant protease. Notably, a propeptidase was detected in the plant latex, which is being the first report in this sense. Furthermore, the cDNA of one of the cysteine proteases that is expressed in the latex of *V. quercifolia* was cloned and sequenced. The consensus sequence was aligned using the ClustalX web server, which allowed detecting a high degree of identity with cysteine proteases of the Caricaceae family and establishing the evolutionary relationship between them. We also observed a high conservation degree for those amino acid residues which are essential for the catalytic activity and tridimensional structure of the plant proteases belonging to the subfamily C1A. The PMF analysis strongly suggests that the sequence obtained corresponds to the VQ-III peptidase

COMENTARIOS: Este trabajo ha sido publicado en *Planta*, un Journal que se encuentra en el TERCIO SUPERIOR de la Especialidad, con muy buen índice de impacto (3,098). La importancia del mismo radica en que se han incluido nuevas de herramientas de PROTEOMICA y de BIOINFORMATICA, lo que nos ha permitido conocer detalles de las 7 peptidasas aisladas en nuestro Laboratorio a partir de la compleja muestra del látex de esta especie. Se ha podido además detectar por primera vez la presencia de una proenzima en látex y además se obtuvo el cDNA de una de las peptidasas, la que fue clonada y secuenciada y de la que se obtuvo su modelo tridimensional así como su árbol filogenético, lo que permitió establecer

las relaciones evolutivas entre esta cisteinopeptidasa y el resto de las proteasas de la familia Caricaceae conocidas a la fecha. Estos resultados forman parte de la tesis doctoral de la Dra. M.J. Torres, a quien he dirigido como becaria del CONICET y actualmente como becaria Posdoctoral. Por ello, mi participación incluye todas las etapas del trabajo, iniciándose en la planificación del mismo, el seguimiento de su ejecución, la coordinación con los Dres. Avilés y Trejo, del IBB de Barcelona, España de las tareas que la becaria realizó mediante una pasantía en dicho Instituto realizada gracias a un Proyecto CYTED coordinado por nuestro laboratorio. El análisis de los resultados se realizó junto a la Dra. López y la organización del manuscrito así como su redacción y revisión incluyó a los Dres. Torres y Trejo.

2.-Brutti, C., Pardo, M.F., N.O. Caffini and C.L. Natalucci (2012) "Onopordum acanthium L. (Asteraceae) flowers as coagulating agent for cheesemaking", *LWT - Food Science and Technology* 45: 172-179. (ISSN: 0023-6438). DOI 10.1016/j.lwt.2011.09.001

ABSTRACT: By trituration in liquid nitrogen, homogenization in 0.1 mol/L citric acid sodium citrate buffer (pH 3.0) containing 1.0 mmol/L EDTA, and centrifugation (10000 g) of fresh *Onopordum acanthium* L. (Asteraceae) flowers, a proteolytic preparation ("onopordosin") was obtained (pI 4.4), which showed proteolytic and clotting activity (0.546 ± 0.004 Rennet Units/g flowers and 0.090 ± 0.003 Endopeptidase Units/g flowers, respectively) at acid pH values, conditions that favor its use in cheese manufacturing. Hydrolytic behavior (SDS-Tricine PAGE) of onopordosin was compared with that of chymosin in bovine milk clotting assays. Onopordosin was used as vegetal coagulant with pasteurized bovine milk to manufacture a semi-hard type cheese which was analyzed by sensory panelists at the Experimental Superior Institute of Food Technology in Argentina, who evaluated different parameters and concluded that the quality of the cheese made with onopordosin was similar to that of commercial cheeses.

COMENTARIOS: Se trata de la primera parte de la tesis doctoral de la Ing. Agr. Cristina Brutti, de la cual soy Directora. El trabajo fue publicado en *LWT - Food Science and Technology*, un Journal que posee un buen índice de impacto (2.292). Se presenta una nueva proteasa vegetal de tipo Aspártico, cuya importancia radica en que son adecuados coagulantes de leche y permiten obtener quesos con sabores diferenciales y mayor valor agregado. Estas proteasas se han caracterizado parcialmente y con el producto obtenido se han elaborado dos quesos semiduros en una pequeña planta industrial. Uno de los quesos ha sido evaluado por un panel de evaluación sensorial del Instituto Superior Experimental de Tecnología Alimentaria (ISETA), gracias a la colaboración del Dr. Guillermo Hugh investigador de dicho Instituto, con resultados satisfactorios. Destaco este trabajo por la posibilidad de la Transferencia de los resultados a PYMES de nuestra Provincia.

3.- Perini, M., I. Sin, G. Covaleta, S. Trejo, C.L. Natalucci y L.M.I. López (2011) "Aislamiento y caracterización de nuevos inhibidores de tripsina a partir de semillas de *Gleditsia triacanthos* L. (Leguminosae) y de *Acer negundo* L. (Aceraceae)". Memorias del VIII Congreso Internacional de Biotecnología Vegetal (BioVeg 2011). Versión digital. ISBN: 978-959-16-1286-1

RESUMEN: "Una regulación precisa de la actividad proteolítica tanto espacial como temporal es esencial para la fisiología humana, razón por la cual muchas proteasas se han convertido en importantes dianas biomédicas. Los inhibidores de proteasas (IPs) de plantas son estructuras peptídicas pequeñas, que generalmente se encuentran en alta concentración en tejidos de almacenamiento. Se han descrito

IPs de plantas que actúan frente a proteasas de los principales grupos mecanísticos. Con el fin de aislar nuevos inhibidores peptídicos de tripsina a partir de fuentes vegetales, se recolectaron semillas pertenecientes a diversas especies: *Magnolia grandiflora*, *Feijoa sellowiana*, *Ligustrum lucidum*, *Gleditsia triacanthos*, *Jacaranda mimosifolia*, *Phytolacca dioica*, *Senna spectabilis*, *Vigna caracalla*, *Melia azedarach* y *Acer negundo*. Los extractos crudos fueron obtenidos por trituración de las semillas en un medio buffer (20 g/100 ml) de Tris-HCl 0,1 M, pH 7,2, conteniendo NaCl 0,5 M y ácido ascórbico como antioxidante. Posteriormente, se emplearon microcolumnas de tripsina-agarosa para purificar por cromatografía de afinidad los extractos vegetales y ensayar en los eluatos la presencia de actividad inhibitoria. Este método permitió de manera rápida y eficiente la detección y purificación parcial de nuevos inhibidores de tripsina. La determinación de actividad inhibitoria de tripsina fue llevada a cabo empleando el sustrato cromogénico BAPNA (Benzoil L-arginina 4-nitroanilida). Los resultados obtenidos revelaron la presencia de una fuerte actividad inhibitoria en los extractos obtenidos a partir de semillas de *G. triacanthos* (Leguminosae) y de *A. negundo* (Aceraceae). Las muestras correspondientes a dichos extractivos fueron purificadas por cromatografía de afinidad, caracterizadas electroforéticamente y sometidas a un segundo paso de purificación por cromatografía en fase reversa (RP-HPLC, C4). En el caso del extracto proveniente de *G. triacanthos* se detectaron dos fracciones principales con actividad inhibitoria de tripsina que fueron analizadas por MALDI-TOF MS, una de ellas resultó estar constituida por varias formas moleculares de pesos muy cercanos (péptidos de entre 6540- 7710 Da) que podrían corresponderse con inhibidores del tipo Bowman-Birk, en tanto que la otra fracción mostró 3 isoformas (18943, 19029 y 19254 Da) cuyas masas sugieren que sería un inhibidor del tipo Kunitz. El análisis de los eluatos obtenidos por RP-HPLC de la muestra de *A. negundo* reveló la presencia de 4 fracciones con actividad inhibitoria y una de ellas (11293 Da) resultó ser homegénea al análisis por MALDI-TOF MS, cabe destacar que hasta el momento no se habían reportado inhibidores de proteasas aislados a partir de la familia Aceraceae. Finalmente se determinaron las huellas peptídicas (Peptide Mass Fingerprinting, PMF) de los inhibidores. Los resultados de los espectros de masas obtenidos producto de la digestión trípica se analizaron con MASCOT y no fueron identificados con ninguno de los inhibidores actualmente depositados en las bases de datos confirmando el hallazgo de nuevos inhibidores peptídicos de tripsina."

COMENTARIOS: Los resultados presentados en este trabajo corresponden a las actividades como Becarios de Entrenamiento de CIC de los Licenciados en Biotecnología Mauro Perini (del que he sido Directora) e Ignacio Sin (Dirigido por la Dra. López). Inicia una nueva línea de investigación en el LIProVe sobre la búsqueda de nuevos inhibidores de enzimas proteolíticas, de gran importancia por su utilidad en Farmacología y forma parte de las actividades planificadas en el Proyecto correspondiente a la Red Cytel 210rt 0398, coordinada por nuestro Laboratorio. Junto a la Dra. López he planificado las tareas de los becarios, analizado los resultados y preparado el trabajo en su versión final.

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, deberá 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.-Cynthia Sequeiros, María J. Torres, Marina L. Nievas, Néstor O. Caffini, Claudia L. Natalucci, Sebastián A. Trejo, and Laura M.I. López. "Characterization of the proteolytic system of *Philibertia gilliesii* latex and its application for hydrolizing fish proteins from stickwater." A ser enviado a LWT.

RESUMEN:

A proteolytic preparation (philibertain g) was obtained from latex of *Philibertia gilliesii* fruits, considering its possible use in industrial processes. Philibertain g contained 1.22 mg/mL protein and its specific (caseinolytic) activity was 6.99 Ucas/mg protein, exhibited higher preference towards glutamine and alanine derivatives of N- α -carbobenzoxy-aa-p-nitrophenyl esters, reached 80% of its maximum caseinolytic activity between pH 7-10 and retained 80% of the original activity after two hours of incubation between 25 °C and 45 °C, but is fully inactivated after 5 min at 75 °C, an advantageous behavior for its use in industrial processes. Philibertain g retains 60% of the initial activity even at 1 mol/L NaCl, a valuable feature for its use on marine raw material. Chemicals used in industry was also assessed: while detergents drastically reduced philibertain g activity, the effect of EDTA, NaCl and CaCl₂ are almost innocuous, and urea notably increases enzyme activity. The degree of hydrolysis of fish proteins contained in stickwater from fish meal factories was about 37% compared to that of alcalase. Molecular exclusion chromatography was performed at a constant ionic strength (0.3 mol/L NaCl), which allowed the purification of a new protease, named philibertain g II (pI 9.4, molecular mass 23,977 Da, N-terminus LPESVDWREKGVVFPXRNQ).

2.- Anabela Prospitti, Lorena N. Cancelarich, Jonatan Perrando, Néstor O. Caffini, Marcelo F. Pardo, and Claudia L. Natalucci. Balansain R as Hydrolytic Agent for the Production of Antioxidant Peptides from Bovine Whey. A ser enviada a LWT.

RESUMEN: Balansain R, a partially purified extract from ripe fruits of *Bromelia balansae* Mez containing cysteine peptidases, was used for the hydrolysis of commercial bovine whey proteins (WPC 80) and their peptide patterns were reported. Caseinolytic activity of balansain R at 40 °C and pH 8.5 was 4.0 Ucas/mL. Hydrolysis of whey proteins was performed by the pH-stat method (40 °C, pH 8.5, 10 mmol/L Cys). Characteristic proteolytic patterns (SDS-Tricine-PAGE gels) were obtained for the main whey components. The rate of degradation for β -lactoglobulin and α -lactalbumin were 80% and 15% after 120 min, respectively. New peptides appeared in all hydrolysates within the range of 5-15 kDa. Whey hydrolysates exhibited higher antioxidant activities than WPC 80. The hydrolysate obtained with 10% balansain R after 120 min of reaction showed the highest DPPH radical scavenging activity (about 88% of residual concentration of DPPH free radicals) as well as higher chelating ability and reducing power, mainly due to peptides of 5-10 kDa.

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

1. Prospitti A, Bernabei F, Pardo MF, Natalucci CL. "Isolation and partial characterization of a trypsin inhibitor from Styphnolobium japonicum seeds" XLVIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigaciones en Bioquímica y Biología Molecular (SAIB). Mendoza, 29 de octubre al 1 de noviembre de 2012
2. Perini, Mauro A.; Sin, Ignacio N.; Covalada, Giovanni; Trejo, Sebastián A.; Natalucci, Claudia L. y Laura M.I. López. "Aislamiento y caracterización de nuevos inhibidores de tripsina a partir de semillas de Gleditsia triacanthos L.(Leguminosae) y de Acer negundo L. (Aceraceae). 8vo. Congreso de Biotecnología Vegetal (BioVeg). Centro de Bioplasmas, Ciego de Ávila, Cuba, 2 al 6 de mayo de 2011.

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.*

A. INVESTIGADORES

Dra. Cynthia Sequeiros

Investigador Asistente CONICET. Ingreso 2009. Tema: "Purificación y caracterización de nuevas bacteriocinas producidas por bacterias del ácido láctico provenientes de ambientes acuáticos con propiedades probióticas de relevancia para su uso en acuicultura". Centro Nacional Patagónico (CENPAT-CONICET), Puerto Madryn, Chubut.

Dr. Marcelo F. Pardo.

Docente-Investigador con Dedicación exclusiva, Categoría IV, del Programa de Incentivos de la SPU. Tema: "Obtención de compuestos bioactivos naturales, sintéticos y recombinantes mediante el uso de hidrolasas de plantas autóctonas. Evaluación de las propiedades biológicas". Desde abril de 2011.

B. BECARIOS DE POSGRADO

Bioqca. Anabela Prospitti

Beca de Estudio de la CICPBA. Tema: "Fitoproteasas e inhibidores de proteasas (IPs). Aislamiento y caracterización bioquímica y estructural". Inicio de actividades: abril de 2011.

Dra. María José Torres

Beca Postdoctoral del CONICET. Hasta abril de 2012. Tema: "Clonado y expresión de endopeptidasas de *vasconcellea quercifolia* (Caricaceae) y sus potenciales aplicaciones farmacológicas".

C. BECARIOS DE ENTRENAMIENTO

Lic. En Biotecnología y Biología Molecular Mauro Perini. Beca Entrenamiento CICPBA. Tema: "Búsqueda de inhibidores de proteasas de origen vegetal para su posterior utilización en el control de plagas por obtención de plantas transgénicas". Hasta Septiembre 2011.

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.*

DIRECCIÓN DE TESIS DOCTORALES EN EJECUCIÓN

Bioqca. Anabela Prospitti. Tesis para optar al Doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. Tema: "Fitoproteasas e inhibidores de proteasas (IPs). Aislamiento y caracterización bioquímica y estructural".

Lic. María Inés Martin

Tesis para optar al Doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. Tema: "Expresión de endopeptidasas y de sus inhibidores peptídicos en cultivos vegetales in vitro". Inscripción: 2005. Codirector Ing. Agr. Luis Mroginski. En etapa de redacción.

ASESORA ACADÉMICA DE TESIS DOCTORALES EN EJECUCIÓN

Ing. Agr. Marcos Ezequiel Yannicari

Tesis para optar al Doctorado de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. Tema: "Estudio fisiológico y genético de la resistencia a glifosato de *Lolium perenne*". Directora: Prof. Dra. Ana María Castro. Codirector Prof. Ing. Agr. Daniel O. Giménez. Lugar de Realización: Instituto de Fisiología Vegetal -INFIVE- (CONICET-UNLP) y en el LIProVe del Departamento de Cs. Biológicas de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP). Fecha de inicio: 2010.

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.*

Presentadas en ítem 7.5 (posters)

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.*

SUBSIDIOS INDIVIDUALES

- "Enzimas Proteolíticas de Vegetales Superiores, sus Inhibidores y Posibles Aplicaciones". CICIPBA, subsidio para investigadores. Resolución de 2011. Monto: \$ 5200.-
- Proyecto: "Enzimas Proteolíticas de Vegetales Superiores, sus Inhibidores y Posibles Aplicaciones.". CICIPBA, subsidio para investigadores. Resolución N° 1535/10 por un monto de \$ 5.100.-

SUBSIDIO PARA PROYECTOS EN LOS CUALES TENGO RESPONSABILIDADES DIRECTIVAS

- Proyecto: "Biomoléculas Moduladoras de la Actividad Proteolítica con Potencial Aplicación en el Desarrollo de Nuevos Fármacos". Codirectora de Proyecto. Proyecto X-523, acreditado por la Universidad Nacional de La Plata en el marco del Programa de Incentivos. Directora Dra. Laura María Isabel López. Años 2009-2012. Importe año 2011: \$ 5300.-, año 2012: \$ 5.525.-.

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.*

1.-EVALUADORA DEL CONICET
Promoción en Carrera del Investigador. 2012.

2.-EVALUADORA DE LA ANPCYT
Proyecto PICT Tipo B. FONCYT, 2011. Tecnología de Alimentos
Proyecto PICT Tipo A. FONCYT, 2011. Tecnología de Alimentos.

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

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.*

EVALUADORA DE TESIS DOCTORALES Y DE GRADO

Jurado Tesis Doctoral. Doctor en Biología Molecular y Biotecnología Marc Laverrière. Tema: "Las metacaspasas de Trypanosoma cruzi, caracterización bioquímica y función en la proliferación celular, la muerte y la diferenciación": Lugar de Realización: Instituto de Investigaciones Tecnológicas, de la Universidad Nacional de San Martín. Director: Dr. Juan José Cazzulo, Co-Directora Dra. Vanina Eder Alvarez. Abril de 2012.

CONFERENCIAS DICTADAS

"Nueva Red CYTED: Proteómica y Quimiogenómica de Inhibidores de Proteasas de Origen Natural con Potencial Terapéutico en Malaria (PROMAL)". En el Curso "Conceptos Básicos y Herramientas de Proteómica Funcional Aplicadas a las Ciencias de la Salud", Dirigido por el Dr. Sebastián Trejo, Servicio de Proteómica de la Universidad Autónoma de Barcelona. Fac. de Cs. Exactas, UNLP, 14, 21 y 28 de marzo de 2012.

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.*

"ENZIMAS PROTEOLITICAS DE VEGETALES SUPERIORES, SUS INHIBIDORES Y PRODUCTOS DE REACCIÓN".

Durante el período 2013-2014 se continuará con la formación de recursos humanos (dirección de tesis y becarios). Los planes de cada una de las líneas que dirijo poseen un aspecto relacionado al conocimiento bioquímico básico de una nueva enzima proteolítica o inhibidor y otro vinculado a la aplicación de las mencionadas enzimas en la hidrólisis parcial de diferentes proteínas de interés para la industria alimentaria o farmacéutica. Estos últimos aspectos pueden ser transferidos al sector productivo.

Los avances que me propongo obtener en las diferentes líneas de trabajo se resumen a continuación.

-
- 21.1. Peptidasas de *Vasconcellea Quercifolia*.
- Redacción de trabajos sobre los resultados obtenidos durante la Beca de Posgrado de la Dra. Ma. José Torres a ser publicados en revistas con referato internacional.
- 21.2. "Purificación y caracterización de las endopeptidasas presentes en frutos de *Pseudananas sagenarius* y de plántulas obtenidas in vitro. Caracterización bioquímica y estructural de las endopeptidasas.
- Expresión de endopeptidasas de cultivos in vitro en medio líquido y en reactores de inmersión temporal de *Pseudananas sagenarius*.
 - Purificación y caracterización de la endopeptidasa minoritaria presente en frutos de *Pseudananas sagenarius*. Caracterización bioquímica de esta endopeptidasa.
 - Redacción y defensa de la Tesis Doctoral de la Lic. Ma. Inés Martín sobre este tema
- 21.3. Péptidos obtenidos por hidrólisis enzimática con potenciales aplicaciones nutricionales y farmacológicas
- Obtención de péptidos por tratamiento de proteínas alimentarias con fitoproteasas estudiadas en el LIProVe.
 - Ensayo de actividades biológicas (antioxidante, antimicrobiana y antihipertensiva) en los hidrolizados proteicos obtenidos.
- 21.4. Inhibidores de proteasas
- Detección de actividad inhibitoria de proteasas de diferentes tipos mecanísticos.
 - Caracterización bioquímica y estructural de los inhibidores obtenidos. Determinación de parámetros cinéticos.
- 21.5. Aislamiento y purificación de las proteasas de frutos de *Phytolacca dioica*.
- Caracterización bioquímica de la endopeptidasa mayoritaria
 - Caracterización funcional de esta endopeptidasa.

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.