

Carrera de Bioquímica
Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS

Práctica de Investigación Bioquímica (optativa)

Código de la Materia: 1346

Carga horaria: 50 horas

Director: Profesor – Investigador: Silvia Susana Antollini

Co-Director: Asistente de TP: Daniel Alejandro Peñalva

Asignatura (s) Obligatoria (s) Aprobada /Cursada(s): Química Biológica I, Química Biológica II, Fisiología Humana aprobadas

Lugar de Trabajo (Laboratorio /Instituto): Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca

Título del Proyecto de Investigación Acreditado: Factores extrínsecos condicionantes de la función del receptor de acetilcolina nicotínico: relevancia fisiológica y patológica. Código Proyecto: PGI 24/B282

Resumen del Proyecto (no mayor de 250 palabras)

Los espermatozoides de especies con importancia agropecuaria, como la ovina y la bovina, son altamente sensibles a las bajas temperaturas. Al ser expuestos a ellas, sufren una importante disminución de su potencial fertilizante en la inseminación, con las consecuentes pérdidas económicas. El interés de este proyecto se centra particularmente en la refrigeración, ya que el enfriamiento del semen a 4°C es usado en la práctica de la inseminación a campo para conservar las muestras de semen por períodos de hasta 72 horas. En este proyecto investigaremos el vínculo entre los efectos negativos del enfriamiento y los lípidos que constituyen las membranas de estas gametas.

En toros y carneros, la esfingomielina (SM) que compone la membrana espermática, posee inusuales ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) de muy larga cadena (VLCPUFA), esto es, entre 28 y 34 carbonos, con 4, 5 y 6 dobles ligaduras. Estas especies moleculares de SM se encuentran en una matriz de lípidos muy ricos en PUFA, entre ellos distintas subclases de glicerofosfolípidos de colina (GPC) con el ácido docosahexaenoico (22:6n-3) como ácido graso mayoritario. Nuestro objetivo es determinar qué propiedades biofísicas confieren estos lípidos a las membranas espermáticas en las que se encuentran y cómo estas se modifican durante el enfriamiento. Para tal fin, emplearemos sistemas modelo de membrana conteniendo los lípidos en estudio. El presente proyecto aborda un problema biotecnológico desde la perspectiva de la Biofísica, convencidos de que, para hallar soluciones potencialmente transferibles a problemas del sector productivo, este tipo de desafíos debe ser abordado en forma interdisciplinaria.

Plan de trabajo (resumido)

El **objetivo general** de este proyecto es contribuir al conocimiento de los eventos que ocurren en la membrana de los espermatozoides de mamíferos de interés agroalimentario (ovinos, bovinos) a consecuencia del enfriamiento desde 37 °C a 4°C. Las gametas de estas especies, son extremadamente sensibles a las bajas temperaturas, sufriendo disminución de su calidad y de su potencial fertilizante en la inseminación. A pesar de ello, el enfriamiento del semen a 4 °C continúa siendo muy usado en la práctica de la inseminación a campo para conservar las muestras de semen por periodos de hasta 72 horas. Hasta el momento no se han investigado los efectos del enfriamiento en sí, de la conservación en frío, sobre los cambios biofísicos que sufren las moléculas lipídicas que componen naturalmente las membranas espermáticas de bovinos y ovinos. El objetivo general de este proyecto es contribuir a conocer dichos cambios para eventualmente encontrar formas de prevenirlos.

Objetivos específicos

Objetivo específico n° 1: Aislamiento y purificación de las esfingomielinas con VLCPUFA y subclases de GPC a partir de sus fuentes naturales.

Este objetivo procura disponer de los lípidos a estudiar (clases, subclases y especies moleculares) en cantidad suficiente y grado de pureza aceptable para los estudios que se proponen a lo largo del proyecto. Aplicaremos para ello técnicas analíticas y preparativas que tomarán como base la experiencia previamente adquirida en la purificación de moléculas lipídicas a partir de espermatozoides de rata.

Objetivo específico n° 2: Caracterización de la estructura y estados de fase inducidos por cambios de la temperatura en sistemas puros de bicapa y monocapa formados a partir de lípidos espermáticos.

Una vez aislados, identificados y cuantificados los lípidos de interés, formaremos con ellos sistemas modelo de membrana, como son las vesículas unilamelares pequeñas (SUVs), grandes (LUVs), gigantes (GUVs) y emplearemos las estrategias metodológicas apropiadas en cada caso para obtener información sobre su comportamiento biofísico a distintas temperaturas.

Objetivo específico n° 3: Capacidad de las SM con VLCPUFA de formar dominios ordenados con el colesterol en función de la temperatura.

Las especies moleculares de SM “canónicas” se caracterizan por su alta “afinidad” por el colesterol, por lo que a temperatura fisiológica tienden a formar dominios ordenados en las membranas, segregándose lateralmente de los dominios con glicerofosfolípidos insaturados. En este punto nos proponemos evaluar si las SM con VLCPUFA a temperatura fisiológica comparten dicha propiedad y si ésta se ve modificada al enfriar por debajo de las temperaturas de transición de estas SM.

Objetivo específico n° 4: Cambios en la permeabilidad de las membranas en función de la temperatura.

El aumento de la permeabilidad es otro de los eventos deletéreos que sufren la membrana espermática cuando es expuesta a temperaturas subfisiológicas. Este objetivo pretende determinar si los cambios en la organización de los lípidos en estudio que ocurren al disminuir la temperatura generan defectos en el empaquetamiento en la membrana que contribuyan a la alteración de su permeabilidad.

Descripción de las Actividades a realizar:

- ✓ Aislar los distintos lípidos que componen la membrana espermática de espermatozoides ovinos y bovinos empleando una combinación de técnicas cromatográficas (TLC, HPLC, etc).
- ✓ Formar membranas modelo de distinta complejidad con los lípidos naturales aislados.
- ✓ Estudiar mediante estrategias experimentales de espectroscopia y microscopia de fluorescencia las propiedades biofísicas que estos lípidos le confieren a la membrana y cómo estas varían en función del enfriamiento.

Este presente plan de trabajo propone a los estudiantes avanzados tener una primera aproximación en actividades científicas, comenzar a formarse en técnicas específicas para el estudio de la bioquímica y biofísica de lípidos, así como también, estimular el desarrollo del pensamiento crítico con el oportuno acompañamiento de los docentes investigadores.

Cuatrimestre: Primero

Cupo de alumnos: 1

Carga horaria semanal: 1 día por semana (a arreglar con el alumno)

Modalidad de Evaluación:

- Entrega de un informe con formato de trabajo científico
- Exposición Oral: Se realizará en presencia de todos los alumnos de la materia y los profesores respectivos y al menos un integrante de la CCB (hasta 15 minutos)

