

Carrera de Bioquímica Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS
Práctica de Investigación Bioquímica (optativa)
Código de la materia: 1346 Carga horaria: 50 horas
Profesor: María Ines Prat (coordinador de área) Asistente de docencia: Victoria Belen Ayala Peña
Asignatura Obligatoria Cursada: Virología Clínica (1453)
Lugar de Trabajo: Laboratorio de Virología-Dpto BByF-UNS
Título del Proyecto de Investigación acreditado: Rol de los fucoidanos en enfermedades neurodegenerativas asociadas a la infección por virus HSV-1 como el Alzheimer y la Degeneración de la Mácula Relacionada a la Edad. Modificación ME-2022-68714156-APN-DSPI#ANPIDTYI Código Proyecto: PICT 2019—02990. Director: Dra. V.B. Ayala Peña
Resumen del Proyecto El Alzheimer (AD), es una enfermedad neurodegenerativa multifactorial, en la cual se produce una eventual y progresiva pérdida de la capacidad cognitiva, para la cual actualmente no se conoce cura o tratamiento efectivo. Se caracteriza por estados de inflamación crónica y la acumulación de placas amiloides y ovillos neurofibrilares en el cerebro, cada uno compuesto por el péptido β amiloide ($A\beta$). Aunque no es el único agente causal, el virus Herpes simplex tipo I (HSV-1), ha sido establecido como el patógeno más claramente asociado con el desarrollo de AD. Se ha propuesto que la exposición crónica o persistente (con sus posibles reactivaciones) al HSV-1, sería factor de riesgo tanto para la AD como para la degeneración de la mácula relacionada a la edad. Por otro lado, los fucoidanos son polisacáridos sulfatados presentes en la pared de las algas pardas. En el mar argentino estas algas, de crecimiento prolifero y abundante, constituyen un recurso natural poco explotado. En relación al conocimiento de los fucoidanos presentes en las algas de nuestro litoral, es sabido que aquellos extraídos de <i>Undaria pinnatifida</i> , además de poseer actividad antitumoral y antioxidante, han demostrado ser agentes antivirales selectivos contra el HSV-1 sin embargo el rol antiviral de estos fucoidanos frente a coronavirus es poco conocido. La combinación de estos polisacáridos con otros compuestos bioactivos puede resultar en una sinergia en términos de sus posibles aplicaciones en el área de salud. Por ej., Hao y col. consignan que la combinación de fucoidanos con otros biopolímeros como alginatos y quitosano como materiales de partida para la fabricación de parches para curación de heridas, confiere propiedades mejoradas a éstos en términos de actividad antibacteriana, homeostática y antiinflamatoria, sin embargo la acción antiviral resultante de esta combinación aún no ha sido reportada.
Plan de trabajo (resumido) Dentro de los objetivos específicos de este proyecto, para la propuesta del alumno ofrecemos: A) Estudiar en células de neuroblastoma y epiteliales infectadas con virus HSV-1 o coronavirus bovino si el tratamiento con los fucoidanos puede: <ul style="list-style-type: none"> • Modular la producción de citoquinas, • Modular el grado de apoptosis y supervivencia celular. • Regular la activación de la vía NFκB • Modular el nivel de producción de $A\beta$. B) Evaluar si los fucoidanos puros o vehiculizados en quitosano poseen acción antioxidante. Este plan permitirá iniciar a los estudiantes de la carrera de Bioquímica interesados en la investigación científica, a través de la participación en el desarrollo de las tareas propuestas junto a nuestro grupo de trabajo. Los estudiantes adquirirán nuevos conocimientos, y alcanzarán conocimientos para la búsqueda de información científica actualizada y fundada. Comprenderán la lógica que hila el desarrollo del conocimiento científico para responder una hipótesis, el diseño experimental que conlleva su demostración y el análisis crítico de los resultados. Su aplicación lo posibilitaría a continuar desarrollándose en la investigación a través de la postulación a una beca alumnos avanzados o para graduados.
Descripción de las Actividades a realizar : Estudios propuestos en uno de los objetivos del PICT2019—02990. Para ello, como actividades, el alumnos aprenderá a: -Cultivar células. El alumno aprenderá a cultivar distintos tipos de células, realizar stock celulares en condiciones asépticas, amplificar líneas celulares y determinar las condiciones óptimas para infectar. -Infectar cultivos celulares. Se trabajará con virus HSV-1 cepa Kos o coronavirus Bovino cepa mebus. Se infectarán células de origen neuronal y otras de origen epitelial a distintas moi (multiplicidad de infección). Luego de distintos tiempos de incubación se titulará la progenie viral infectiva obtenida por métodos de plaqueo viral y también por el de punto final. Aprenderá técnicas de biología molecular para cuantificar virus y las diferencias con las metodologías anteriores. El alumno además aprenderá a cuantificar el grado de efecto citopático producto de las infecciones virales. -Determinar el grado de producción de péptido beta amiloide. A los distintos tiempos de incubación, se fijarán las

células, y se recolectarán los sobrenadantes. Se inmunomarcarán los cultivos con anticuerpo anti beta amiloide y luego un secundario anti especie para observar mediante inmunofluorescencia.

- Analizar el grado de activación de la vía NFκB mediante técnicas de WB y citoquímicas
- Analizar la actividad antioxidante mediante el ensayo con DPPH
- Analizar criteriosamente los resultados obtenidos y determinar la significancia estadística.

Cuatrimestre: primero

Cupo de alumnos:1

Carga horaria semanal: 5 hs, a determinar junto al alumno, de acuerdo a la carga horaria de las materias que esté cursando en paralelo.

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)*