Carrera de Bioquímica Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia-UNS
Práctica de Investigación Bioquímica (optativa)
Código de la Materia: Carga horaria: 50 horas
Director: Profesor –Investigador : MELINA VALERIA MATEOS Asistente de TP/Ayudante de docencia: VICENTE BERMÚDEZ (co-director) Contacto: mvmateos@criba.edu.ar melinavaleriamateos@gmail.com
Asignatura (s) Obligatoria (s) Aprobada /Cursada(s): Plan 2008: Bioanalítica II (aprobada), Química Biológica I (aprobada), Química Biológica II, Genética y Fisiología Humana (cursadas) Plan 2025: Bioanalítica (aprobada), Bioquímica I (aprobada), Bioquímica II, Genética Molecular Básica y Aplicada y Fisiología (cursadas)
Lugar de Trabajo (Laboratorio /Instituto) Laboratorio de Lípidos y Transducción de Señales- Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB)
Título del Proyecto de Investigación Acreditado: Modulación de lípidos bioactivos en procesos inflamatorios de la retina Código Proyecto: PGI 24/B308
Resumen del Proyecto (no mayor de 250 palabras) En la fisiopatología de diversas enfermedades degenerativas de la retina, como la uveítis, la retinopatía diabética y la degeneración macular asociada a la edad, se ha demostrado el rol central que tiene el proceso inflamatorio. El epitelio pigmentario de la retina (RPE), ubicado entre la retina neural y la coroides, juega roles críticos para el correcto funcionamiento de la retina. En nuestro laboratorio hemos aportado evidencias acerca de la participación de las isoformas clásicas de la fosfolipasa D (PLD1 y PLD2) en la respuesta inflamatoria y en el proceso autofágico de las células del RPE expuestas al lipopolisacárido (LPS). Asimismo, recientemente confirmamos la participación de la vía PLD también en la respuesta inflamatoria del RPE que se genera en condiciones de niveles elevados de glucosa (HG). Nuestra hipótesis de trabajo es que la disponibilidad de lípidos bioactivos como el ácido fosfatídico (PA) y el diacilglicerol (DAG), regulada por la actividad de las fosfolipasas D (PLD) y de las DAG quinasas (DAGK), es un elemento relevante en la regulación de la respuesta a estímulos inflamatorios, tanto del RPE como de otras células de la retina. Los objetivos del presente proyecto son: i) continuar con el estudio del rol de la vía PLD en la funcionalidad de las células del RPE expuestas a distintos modelos de inflamación e injuria celular, ii) abordar por primera vez el rol de las DAGK en la respuesta inflamatoria del RPE, iii) caracterizar el efecto que tiene la injuria inflamatoria (generada por LPS y por HG) en las células fotorreceptoras (PR).
Plan de trabajo (resumido) El objetivo del presente plan de trabajo es: *abordar por primera vez el rol de las DAGK en la respuesta inflamatoria del RPE. <ul style="list-style-type: none"> • Para desafiar nuestra hipótesis, utilizaremos distintos modelos experimentales <i>in vitro</i> que mimetizan los procesos inflamatorios de la retina. Utilizaremos líneas celulares de RPE (ARPE-19, D407). Los sistemas <i>in vitro</i> nos permitirán establecer los aspectos mecanísticos en los que intervienen los lípidos bioactivos PA y DAG. • Como inductores de inflamación se utilizarán LPS de <i>Klebsiella pneumoniae</i> y altas concentraciones de glucosa (HG). • La viabilidad celular se evaluará por la técnica de reducción del MTT y midiendo la activación de la caspasa-3. La funcionalidad de las células del RPE se evaluará midiendo la capacidad fagocítica y el proceso de autofagia. • Para evaluar la respuesta inflamatoria se medirán los niveles de ARNm de interleuquinas proinflamatorias y de la ciclooxigenasa-2. También se medirán los niveles de especies reactivas de oxígeno y la translocación nuclear del factor NFkB. • El rol de las DAGK se evaluará utilizando inhibidores farmacológicos.

Descripción de las Actividades a realizar:

El alumno adquirirá entrenamiento en la técnica de cultivo celular y en diversas técnicas de Biología Molecular. Se entrenará también al alumno en el uso de bases de datos para la búsqueda de bibliografía, en el proceso de diseño de los experimentos y en el uso de programas específicos para el análisis y la presentación de los resultados obtenidos. Específicamente se realizarán:

- Cultivo de líneas celulares (utilizando campanas de flujo laminar e incubadoras de células).
- Ensayos de viabilidad celular: ensayo de reducción del MTT (utilizando lectores de placa)
- Ensayos de electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) y Western Blot
- Ensayos de Inmunocitoquímica y microscopía de fluorescencia y/o microscopía confocal.
- Ensayos de qPCR.

Cuatrimestre: Primero

Cupo de alumnos: 1

Carga horaria semanal: 6 h (estimativo, a coordinar 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)*