



IV REUNIÓN CONJUNTA DE SOCIEDADES DE BIOLOGÍA DE LA REPÚBLICA ARGENTINA

*“Nuevas Evidencias y Cambios de Paradigmas
en Ciencias Biológicas”*

9, 10, 11, 14 y 15 septiembre 2020

XXXVIII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE
CUYO

XXIII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE
CÓRDOBA

XXXVII REUNIÓN ANUAL DE LA ASOCIACIÓN DE BIOLOGÍA DE
TUCUMÁN

Con la participación de

SOCIEDAD ARGENTINA DE BIOLOGÍA
SOCIEDAD DE BIOLOGÍA DE ROSARIO
SOCIEDAD CHILENA DE REPRODUCCIÓN Y DESARROLLO

lisado del co-cultivo (G₂). La extracción de ARN se realizó con Trizol (Sigma-Aldrich) siguiendo las especificaciones del fabricante. El ADN genómico fue removido usando ADNasa I. El ADNc se obtuvo mediante retrotranscripción utilizando el Kit High-Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems). La qPCR se llevó a cabo utilizando el kit qPCR 2X SuperMix iTaq Universal SRYB Green (Biorad) empleando el Termociclador Stratagene MX3000 Pro (Applied Biosystem). El valor C_T se usó para determinar la R de los genes *lmb* y *fbp*, aplicando el método delta-delta. Se empleó la prueba T-Student para determinar diferencias estadísticas; valores de $P < 0,05$ fueron considerados significativos. Como resultado observamos que la cepa RC19 fue capaz de adherirse y/o internalizar a las células epiteliales MAC-T, exhibiendo la mayor capacidad de adherencia luego de 2 y 3 h de co-cultivo. La expresión de los genes *lmb* y *fbp* asociados con adherencia y/o internalización se incrementó en bacterias luego de la primera hora de co-cultivo con las células MAC-T, aunque no de manera significativa. En bacterias con mayor tiempo de contacto con las células (2 h), los niveles de expresión de los genes fueron significativamente mayores con respecto al grupo control. Luego de 3 h de incubación, los valores de R fueron similares a los obtenidos previamente. En conclusión, cada gen evidenció un perfil de expresión de acuerdo a la condición y tiempo de co-cultivo de la cepa RC19 con la línea celular MAC-T. Estos resultados reportan por primera vez la expresión de los genes *lmb* y *fbp* en la cepa *S. uberis* RC19, aislada de mastitis subclínica bovina de un rodeo de la cuenca lechera central de Argentina, durante el co-cultivo con la línea celular MAC-T a diferentes tiempos.

BM26- CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y ULTRAESTRUCTURAL DE HEMOCITOS DE NINFAS DEL QUINTO ESTADIO DEL INSECTO HEMATÓFAGO *Dipetalogaster maxima* (HEMIPTERA: REDUVIDAE)

Moyetta NR^{1,2}, Fruttero LL^{1,2}, Ramos FO^{1,2}, Leyria J³, Canavoso LE^{1,2}

¹Departamento de Bioquímica Clínica, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

²Centro de Investigaciones en Bioquímica Clínica e Inmunología (CIBICI), Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET), Córdoba, Argentina. ³Department of Biology, University of Toronto Mississauga, Mississauga, ON, Canada. E-mail: nmoyetta@fcq.unc.edu.ar

Los hemocitos son células presentes en la hemolinfa de los insectos y otros invertebrados. Estas células hemolinfáticas participan en diferentes procesos fisiológicos incluyendo la coagulación, la inmunidad, así como en la síntesis y transporte de nutrientes y hormonas. La clasificación actual de los hemocitos está basada principalmente en características morfológicas y es un tópico controversial, particularmente en los triatomíneos, insectos vectores de la enfermedad de Chagas (Hemiptera: Reduviidae). Diferentes autores han obtenido resultados en contraposición, en parte por la utilización de diferentes abordajes experimentales y, por lo tanto, no comparables. En este trabajo, hemos empleado técnicas histológicas y de biología celular para caracterizar los hemocitos de ninfas del quinto estadio del triatomino *Dipetalogaster maxima*. Adicionalmente, se llevó a cabo por primera vez en esta especie un estudio ultraestructural de los hemocitos mediante microscopía electrónica de transmisión. Utilizando preparaciones en fresco y microscopía de contraste de fases, la metodología de mayor consenso en la literatura, fueron identificadas seis poblaciones de hemocitos: plasmacitos, granulocitos, prohemocitos, oenocitos, adipocitos y células gigantes, siendo las dos primeras las más abundantes. Estas poblaciones celulares también fueron caracterizadas mediante inmunofluorescencia utilizando un anticuerpo anti-tubulina y por microscopía electrónica de transmisión. Todas las poblaciones celulares presentaron una gran variabilidad morfológica y de tamaño, lo que explica en parte la escasa coincidencia entre los resultados reportados por diversos autores. Este trabajo aporta información novedosa sobre un aspecto complejo de la fisiología y biología celular de los triatomíneos y establece las bases para estudios futuros dirigidos a dilucidar el rol específico de las diferentes poblaciones de hemocitos en los mecanismos de defensa de los insectos.

BM27- RESPUESTA AGUDA vs CRÓNICA DE LA VÍA SREBP-2 EN TESTÍCULO DE CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS

Funes AK¹, Colombo R¹, Avena V^{1,2}, Crescitelli J³, Roldán A³, Boarelli PV², Monclus M^{1,3}, Fornés M¹, Saez Lancellotti E^{1,3}.

¹Laboratorio de Investigaciones Andrológicas de Mendoza (LIAM), IHEM, Universidad Nacional de Cuyo, CONICET.

²Laboratorio de Enfermedades Metabólicas (LEM), Universidad Maza.

³Consejo de Investigaciones de la Universidad del Aconcagua (CIUDA), Universidad del Aconcagua.

E-mail: abikarenina@yahoo.com.ar

Se ha demostrado que la fertilidad masculina depende de la homeostasis del colesterol (col). El col es esencial para la síntesis de la testosterona y la espermatogénesis. Para el correcto funcionamiento de los testículos, el col debe mantenerse en un rango óptimo. Previamente, hemos demostrado que los conejos bajo una dieta alta en grasas (HFD) presentan una baja calidad seminal relacionada con una sobrecarga de colesterol en las células del túbulo seminífero. El objetivo de este trabajo fue estudiar la vía molecular que regula el col intracelular, controlado por las proteínas SREBP (Sterol regulatory element-binding proteins), en testículo de animales bajo HFD. Para investigar esto, utilizamos nuestro modelo, previamente puesto a punto, de conejos neozelandeses hipercolesterolémicos que presentan una baja calidad seminal. La expresión de SREBP-2 se estudió por RT-PCR, western blot e inmunofluorescencia en muestras obtenidas de testículo de animales alimentados con HFD (14% de grasa bovina p/p) por un período menor a 6 meses (HCR ≤ 6M) o mayor a 12 meses (HCR ≥ 12M). Nuestros resultados muestran que el consumo de grasa promovió una disminución significativa en la expresión tanto del ARNm como de la proteína de SREBP-2 en el testículo a los 6 meses (42 % y 48 % respectivamente), pero un aumento significativo a los 12 meses (160 % y 30 % respectivamente). Esto se correlacionó con la acumulación de colesterol testicular, evaluada mediante tinción con Filipina III. Sin embargo, las alteraciones de los lípidos en sangre y los cambios deletéreos seminales fueron evidentes ya a los 6 meses de ingesta de grasa. Además, mediante inmunofluorescencia indirecta, se obtuvo la localización sub-celular de la proteína SREBP-2 en el testículo. En conclusión, la vía que regula los niveles de col en el testículo es sensible a la grasa alimentaria, y se comporta de manera diferente según el período de tiempo que los conejos consumen grasa: se puede observar un efecto protector a corto

plazo, pero se desregula a largo plazo. Esto conduce en última instancia a una situación perjudicial, relacionada con la mala calidad seminal.

BM28- IMPACTO DE LA TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE GENES NUCLEARES EN *Lophophytum mirabile* (BALANOPHORACEAE)

Gatica LM, García LE, Sanchez-Puerta MV
IBAM, Universidad Nacional de Cuyo, CONICET, Facultad de Ciencias Agrarias, Almirante Brown 500, M5528AHB, Chacras de Coria, Argentina.
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Padre Jorge Contreras 1300, Universidad Nacional de Cuyo, M5502JMA, Mendoza, Argentina.
Correo electrónico: leogatica1018@gmail.com

La estrecha conexión entre la planta holoparásita *Lophophytum mirabile* con su hospedador facilita el intercambio de información genética incrementando la frecuencia de transferencia horizontal de genes (THG). El genoma mitocondrial de *Lophophytum* posee el ~70% de genes provenientes de su planta hospedadora (Fabaceae). Dichos genes foráneos son funcionales y codifican proteínas que forman complejos enzimáticos de múltiples subunidades junto con proteínas de origen nuclear. Se postula que los genes nucleares que codifican proteínas involucradas en estos complejos también son foráneos y que haya un impacto significativo de la THG en el núcleo. Análisis filogenéticos bajo Máxima Verosimilitud (con 1000 réplicas de bootstrap) mostraron pocos casos de THG en genes nucleares involucrados en complejos multiproteicos del sistema de fosforilación oxidativa. Esto se podría explicar por la baja divergencia de genes mitocondriales foráneos y nativos que no interferirían con la formación de complejos enzimáticos quiméricos. Por otro lado, árboles filogenéticos de genes que son foráneos en otras plantas parásitas revelaron eventos de transferencia horizontal convergente de 8 genes en *Lophophytum*, *Cuscuta* y *Orobanchaceae*. Algunos de estos genes están asociados a los procesos de inmunidad de la plantas, dando indicios de que las plantas parásitas pueden utilizar estos genes de defensa para aumentar su aptitud al estilo de vida heterotrófico.

BM29- INTERNALIZACIÓN Y TRÁFICO ENDOCÍTICO DE MIEMBROS DEL COMPLEJO DE ENCEFALITIS EQUINA VENEZOLANA

Ghietto LM¹, Gil PI¹, Olmos Quinteros P¹, Neira M¹, Kunda P¹, Contigiani M¹, Paglini, MG^{1,2}
¹Instituto de Virología "J.M.Vanella". Facultad de Ciencias Médicas. Universidad Nacional de Córdoba. ²Instituto de Investigación Médica Mercedes y Martín Ferreyra – INIMEC-CONICET-UNC. E-mail: lghietto@fcm.unc.edu.ar

Desde fines del Siglo XX, en nuestro país se conoce la circulación de subtipos enzoóticos de complejo de Encefalitis Equina Venezolana (VEE), familia *Togaviridae*, género *Alphavirus*. Si bien, estos virus son de gran importancia médica-veterinaria, poco se conoce hasta el momento sobre los mecanismos de entrada y transporte citoplasmático, es por ello que en este trabajo nos planteamos como objetivo obtener evidencias sobre la participación de la maquinaria endocítica en el proceso de internalización y de liberación del genoma de los virus Pixuna (PIXV) y Río Negro (RNV) dentro del compartimento citoplasmático, mediante la expresión de proteínas dominantes negativas y el uso de agentes lisosomotropos. Para ello, se utilizaron cultivos de células Vero Clon 76 que fueron transfectados con plásmidos para EPS 15 (proteína involucrada en el proceso de endocitosis dependiente de clatrina) en su forma *wild type* (WT) y dominante negativa (DN) e infectadas con PIXV o con RNV a MOI 10. A las 8 horas postinfección (hpi) fueron fijados, procesados para inmunofluorescencia (IFI) y analizados por microscopía. Por otro lado, cultivos de células Vero fueron preincubados durante 30 min con 15 mM de Glucosamina o 25 mM de NH₄Cl a 4°C e infectados con PIXV o RNV con MOI 0,1 y 10. Los sobrenadantes fueron recolectados a las 4, 8 y 24 hpi para su titulación por placas de lisis. Paralelamente, monocapas infectadas con MOI 10 y tratadas con las drogas fueron fijadas a las 8 hpi para determinar la presencia del virus por IFI. Se observó que la sobreexpresión de la forma DN de Eps15 provocó una disminución significativa en el porcentaje de infección en comparación con la forma WT, tanto en los cultivos infectados con PIXV como con RNV. Por otro lado, los cultivos tratados con los diferentes agentes lisosomotropos e infectados con el PIXV o con el RNV mostraron una disminución significativa en los títulos virales extra e intracelulares a las 8 y 24 hpi en comparación con aquellos cultivos que no fueron tratados. Es importante destacar que esta disminución fue más marcada en los cultivos infectados con el RNV. La cuantificación del porcentaje de células infectadas mediante IFI, en todas las condiciones experimentales implementadas, concuerda con los resultados obtenidos por ensayo de placa. Nuestros resultados proporcionan evidencias de la participación de clatrina en el proceso de endocitosis tanto del PIXV como del RNV, junto con la dependencia del pH endosomal, implicado en el desnudamiento del virus. Tomados en conjunto, nuestros resultados sugieren que dos alfavirus, miembros del complejo VEE utilizan la endocitosis mediada por receptores dependiente de clatrina y la vía endosomal para liberar su contenido al citoplasma y continuar con su ciclo replicativo.

BM30- ESTUDIO ESTRUCTURAL DE LA PROTEASA 3CL^{pro} DE COVID-19 REVELA LA FORMACIÓN DE ESTRUCTURA QUINARIA

^{1,2}Gomez Barroso JA, ^{1,2}Carmona Viglianco N y ^{1,2}Aguilar CF.
¹Área de Biología Molecular, Universidad Nacional de San Luis, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia; ²IMIBIO, Universidad Nacional de San Luis, CONICET. E-mail: jarturogomez@gmail.com

Actualmente no hay terapias específicas disponibles para el tratamiento de pacientes con COVID-19 (SARS-CoV-2). Se están implementando estrategias limitadas a terapias preventivas y de apoyo, diseñadas para prevenir mayores complicaciones y daños en órganos afectados. La proteasa similar a la quimotripsina 3CL^{pro} (cisteína proteasa principal M^{pro}) y la proteasa similar a la papaína PL^{pro} son dos proteasas involucradas en el procesamiento de proteínas estructurales o no estructurales para la