



Curriculum Vitae

Martin ROSSOTTI INDABURO



Actualizado: 29/08/2016

Publicado: 20/07/2017

Sistema Nacional de Investigadores

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas

Categorización actual: Iniciación

Ingreso al SNI: Asociado(01/06/2011)

Datos generales

Información de contacto

E-mail: martinrossotti@gmail.com

Teléfono: 4874334

Dirección: 18 de julio 1431, apartamento 205

Institución principal

Catedra de Inmunología - Instituto de Higiene / Facultad de Química - UDeLaR / Universidad de la República / Uruguay

Dirección institucional

Dirección: Facultad de Química - UDeLaR / Av. Alfredo Navarro 3051, piso 2 / 11600 / Montevideo / Montevideo / Uruguay

Teléfono: (+02) 4874334

E-mail/Web: martinrossotti@yahoo.com

Formación

Formación concluida

Formación académica/Titulación

Posgrado

2011 - 2015

Doctorado

Doctorado en Química

Facultad de Química - UDeLaR, Universidad de la República, Uruguay

Título: Plataforma para acelerar el descubrimiento de nanobodies contra blancos de interés biomédico y sus aplicaciones

Tutor/es: Gualberto Gonzalez-Sapienza

Obtención del título: 2015

Becario de: Facultad de Química - UDeLaR, Uruguay

Palabras clave: nanobodies; Inmunoensayos; receptores celulares

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

2007 - 2010

Maestría

Maestría en Química (UDELAR-PEDECIBA)

Facultad de Química - UDeLaR, Universidad de la República, Uruguay

Título: Polipéptidos específicos para receptores de la respuesta inmune Innata como moduladores de la respuesta inmune contra antígenos recombinantes

Tutor/es: Gualberto Gonzalez-Sapienza

Obtención del título: 2010

Becario de: Agencia Nacional de Investigación e Innovación, Uruguay

Sitio web de la Tesis: www.noexistesitiowebdondepublicarla.com

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Grado

2002 - 2007

Grado

Licenciatura en Bioquímica

Facultad de Ciencias - UDeLaR, Universidad de la República , Uruguay

Título: Construcción de biblioteca de péptidos en fagos filamentosos para la selección de ligandos peptídicos celulares

Tutor/es: Gualberto Gonzalez-Sapienza

Obtención del título: 2007

Palabras clave: Toll like Receptors; Phage display

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunología

Formación complementaria

Cursos corta duración

11 / 2013 - 11 / 2013

First Argentinean Spring Course in Advanced Immunology

Centro de Estudios Avanzados, CONICET, Universidad Nacional de Córdoba , Argentina

Palabras clave: Inmunología

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Ciencias y Servicios de Cuidado de la Salud / Inmunología

09 / 2012 - 10 / 2012

II Curso de Vacinología Reversa: Clonagem, expressao e avaliacao de antígenos

Centro Argentino brasileño de Biotecnología , Brasil

Palabras clave: Biología Molecular

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Biología Molecular

Otras instancias

2015

Congresos

Nombre del evento: ENAQUI4

Institución organizadora: Uruguay

Palabras clave: nanobodies

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

2013

Congresos

Nombre del evento: Reunión Científica Anual de la Sociedad Argentina de Inmunología

Institución organizadora: SAI , Argentina

Palabras clave: Inmunología

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Ciencias y Servicios de Cuidado de la Salud / Inmunología

2010

Congresos

Nombre del evento: SUB 2010

Institución organizadora: Sociedad Uruguaya de Biosciencias , Uruguay

Palabras clave: Herbicidas

2009

Congresos

Nombre del evento: II Latin American Pesticide Residues Workshop, Santa Fe, Argentina

Institución organizadora: Argentina

Palabras clave: pesticidas

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunoensayos

2010

Otros

Nombre del evento: Pasantía de Investigación y entrenamiento

Institución organizadora: Universidad de California - UC Davis - Departamento de Entomología , Estados Unidos

Palabras clave: baculovirus; Biblioteca de Anticuerpos

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunología

2008	<p>Otros</p> <p><i>Nombre del evento:</i> Pasantía de Investigación y entrenamiento</p> <p><i>Institución organizadora:</i> Universidad de California - UC Davis - Departamento de Entomología , Estados Unidos</p> <p><i>Palabras clave:</i> Phage display</p> <p><i>Áreas del conocimiento:</i> Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunología</p>
2007	<p>Otros</p> <p><i>Nombre del evento:</i> Pasantía de Investigación y entrenamiento</p> <p><i>Institución organizadora:</i> Universidad de Córdoba - Argentina , Argentina</p> <p><i>Palabras clave:</i> Dendriticas</p> <p><i>Áreas del conocimiento:</i> Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunología</p>

Construcción institucional

Idiomas

Español
 Entiende (Muy Bien) / Habla (Muy Bien) / Lee (Muy Bien) / Escribe (Muy Bien)

Inglés
 Entiende (Muy Bien) / Habla (Bien) / Lee (Muy Bien) / Escribe (Bien)

Sistema Nacional de Investigadores

Áreas de actuación

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmunología

Actuación Profesional

Cargos desempeñados actualmente

Desde: 06/2007
 Ayudante de la Cátedra de Inmunología , (No docente 40 horas semanales / Dedicación total) , Facultad de Química - UDeLaR , Uruguay

Universidad de la República , Facultad de Química - UDeLaR , Uruguay

Vínculos con la institución

06/2007 - Actual, *Vínculo:* Ayudante de la Cátedra de Inmunología, No docente (40 horas semanales / Dedicación total)

Actividades

12/2007 - 12/2012

Líneas de Investigación , Facultad de Química , Cátedra de Inmunología - Instituto de Higiene
 Agonistas peptídicos de receptores celulares como inmunoestimuladores específicos para el desarrollo de vacunas , Integrante del Equipo

03/2012 - 04/2012

Docencia , Grado
 Inmunología II , Asistente , Ayudantía de investigación

12/2013 - 12/2013

Docencia , Especialización
 PROTEOMAS DE PARASITOS. FUNDAMENTOS Y APLICACIONES. , Invitado , PEDECIBA -Posgrado Química y Biología

12/2013 - 12/2013

Docencia , Doctorado
 Anticuerpos terapéuticos y otras estrategias de inmunoterapia , Asistente , cursos de posgrado

04/2008 - 07/2008

Pasantías , Departamento de Entomología - Universidad de Davis - California - USA

Expresión de Proteínas utilizando Baculovirus

12/2007 - 12/2007

Pasantías , Universidad Nacional de Córdoba - Republica Argentina , IBICI (UNC – CONICET), Facultad de Ciencias Químicas

Producción y diferenciación de Células Dendríticas

03/2014 - Actual

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Química , Cátedra de Inmunología - Instituto de Higiene

Desarrollo de un Sistema de biotinylación in vivo para el screening y caracterización en gran escala de anticuerpos de monodominio específicos para receptores de células dendríticas , Coordinador o Responsable

07/2007 - Actual

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Cátedra de Inmunología

Agonistas peptídicos de receptores toll como inmunoestimuladores específicos para el desarrollo de vacunas , Integrante del Equipo

Lineas de investigación

Título: Agonistas peptídicos de receptores celulares como inmunoestimuladores específicos para el desarrollo de vacunas

Tipo de participación: Integrante del Equipo

Objetivo: Proyecto de Doctorado

Equipos: Gualberto Gonzalez-Sapienza(Integrante)

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunología

Proyectos

2007 - Actual

Título: Agonistas peptídicos de receptores toll como inmunoestimuladores específicos para el desarrollo de vacunas, *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* El proyecto en desarrollo está siendo desarrollado en el marco de Doctorado. A pesar de que el mismo finaliza en febrero de 2009, el mismo se pretende continuar para seguir explorando los resultados obtenidos hasta el momento

Tipo: Desarrollo

Alumnos: 1(Doctorado)

Equipo: Gualberto Gonzalez-Sapienza(Responsable)

Financiadores: Otra institución nacional / Apoyo financiero

Palabras clave: TLR

2014 - Actual

Título: Desarrollo de un Sistema de biotinylación in vivo para el screening y caracterización en gran escala de anticuerpos de monodominio específicos para receptores de células dendríticas, *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* Además de los anticuerpos convencionales, los camélidos también generan una familia de anticuerpos muy particular, denominada anticuerpos de cadena pesada, que carecen de cadena liviana. La ausencia de esta cadena no imposibilita que sean capaces de reconocer los antígenos para los cuales son específicos con alta afinidad, sino que se adaptaron evolutivamente para lograrlo y además eso le confiere nuevas propiedades fisicoquímicas, como mayor solubilidad cuando se los expresa en sistemas procariotas y alta estabilidad a condiciones extremas de pH y/o temperatura. Dada la simplicidad en el mecanismo de reconocimiento de antígenos el dominio variable de estos anticuerpos puede ser manipulado mediante biología molecular para generar "Nanobodies o VHHs", proteínas que representan el menor fragmento funcional de los anticuerpos. Su pequeño tamaño, estabilidad, solubilidad y altos rendimientos de expresión en sistemas procariotas los hace muy atractivos para la preparación de antígenos quiméricos inmunomoduladores. En ese caso el antígeno de interés es fusionado a un VHH específico para un receptor particular de células dendríticas (DCs), confiriéndole propiedades (1) endocíticas, induciendo la endocitosis mediada por receptor (targeting de antígenos) o, (2) inmunoestimuladoras, en el caso de interactuar con receptores de reconocimiento de patrones (PRR). En cualquiera de las dos situaciones se lograría potenciar la respuesta inmune para el antígeno al cual se encuentra fusionado el nanobody, el cual, de forma intrínseca no tiene dichas propiedades. Para proceder con la selección de esta clase de anticuerpos construimos una biblioteca de Nanobodies expresados sobre la superficie del fago M13, generada a partir de la inmunización de llamas con DCs murinas. La biblioteca, de un tamaño de 109 transformantes, fue sometida a un proceso de selección utilizando DC murinas enteras y el éxito de la selección fue evaluado mediante citometría de flujo utilizando los anticuerpos expresados en las partículas virales. Mediante esta metodología hemos seleccionado varios anticuerpos que interactúan con las DCs pero pretendemos desarrollar una estrategia general de selección y caracterización de antígenos "en masa" aprovechando las ventajas de la interacción biotina/streptavidina y la amplia disponibilidad de reactivos para este sistema. En base a estos antecedentes proponemos generar las herramientas y condiciones para expresar los Nanobodies biotinylados in vivo dentro de la bacteria de forma dirigida, algo que no es posible si se pretende hacerlo de forma artificial con el reactivo NHS-biotina que biotinyla en todas las lisinas de la secuencia proteica, interfiriendo muchas veces en la interacción antígeno anticuerpo. El desarrollo de un sistema de biotinylación in vivo va a permitir obtener un método muy versátil, rápido y genérico de selección y caracterización de anticuerpos que, a partir de un pequeño cultivo bacteriano, va a permitir la identificación de los VHHs mediante citometría de flujo y la caracterización del antígeno para el cual es específico

mediante ensayos de inmunoprecipitación con resina de estreptavidina conjugada a sefarosa y análisis de espectrometría de masa.

Tipo: Investigación

Alumnos:

Equipo: Gualberto Gonzalez-Sapienza(Integrante); MArtin Rossotti(Responsable)

Financiadores: Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero
Facultad de Química - UDeLaR / Apoyo financiero

Palabras clave: Biotinilacion in vivo

Areas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Biotinilacion in vivo Nanobodies

Producción científica/tecnológica

Las contribuciones de mi investigación hasta el Doctorado se dividen en seis categorías: 1) Desarrollo de inmunoensayos para pequeñas moléculas. 2) Desarrollo e implementación de una plataforma de producción de anticuerpos monoclonales recombinantes (nanobodies) a partir de la inmunización de llamas. 3) Sistema de biotinilación in vivo sitio específica en E.coli de nanobodies. 4) Desarrollo de una plataforma para la selección de nanobodies contra receptores celulares. 5) Generación de una estrategia innovadora para la adición de funciones efectoras in vivo a nanobodies neutralizantes contra la toxina tetánica. 6) Desarrollo de plataforma para la generación de inmunoensayos sándwiches basados en el uso de nanobodies contra antígenos de interés biomédico. El principal logro en 1) ha sido el desarrollo de ensayos no-competitivos para pesticidas utilizando bibliotecas de péptidos en fagos filamentosos, montando un ensayo en ELISA y en Inmunotubos para la detección y cuantificación de Clomazone en cultivos de arroz. Otra innovación en mi trayectoria de investigación hasta ahora ha sido el desarrollo de la plataforma local para la generación de anticuerpos monoclonales de cadena pesada, denominados nanobodies por su pequeño tamaño (15 kDa), los cuales tienen muchas ventajas biotecnológicas frente a los mAb convencionales. Hemos demostrado que, a partir de la inmunización de llamas con una mezcla compleja de antígenos (más de 7 proteínas), es posible conseguir nanobodies monoclonales para cada una de ellas. Optimizamos el sistema a través de la construcción de vectores que permiten la expresión de los monoclonales en E.coli con rendimientos de más de 20 mg/L. Así logramos una estrategia general y un sistema de producción simple, rápida y muy económica como alternativa a la tecnología de hibridomas, la cual fue exitosamente adaptada para la selección de anticuerpos contra receptores celulares (Rossotti et al., 2015, BBA) los cuales son principales blancos terapéuticos. En 5) conferimos funciones efectoras biológicas a anticuerpos monodominio que intrínsecamente carecen de ellas y los hacen inútiles para su uso in vivo (Rossotti et al., 2015, mAb). Esta estrategia tiene un alto potencial como alternativa para el uso de nanobodies en terapia. Otro de los caminos que abrió mi tesis fue la generación de una plataforma para el fácil montaje y búsqueda de nanobodies con capacidad de formar pares contra antígenos de interés biomédico. Con este sistema hemos montado ELISA sándwiches para la cuantificación de un marcador de inflamación humana (epoxi-hidrolasa humana) ensayo que hasta la fecha es el más sensible, en el orden de pg/mL (Rossotti et al., 2015, Anal. Chem.). Este principio fue aplicado para el desarrollo de ensayo de alta sensibilidad para la detección de hemoglobina humana en materia fecal y beta lactoglobulina bovina en leche materna humana (manuscritos en preparación). Con mi trabajo de doctorado se lograron abrir nuevas líneas de investigación en la Cátedra de Inmunología, que hoy la usan personas tanto dentro como fuera del laboratorio, y actualmente se está expandiendo gracias al éxito que hemos logrado en la selección de anticuerpos contra un panel muy amplio de proteínas.

Producción bibliográfica

Artículos publicados

Arbitrados

Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; TABARES S; ALFAYA L; LEIZAGOYEN C; MORON G; GONZALEZ-SAPIENZA G

Streamlined method for parallel identification of single domain antibodies to membrane receptors on whole cells. *Biochimica et Biophysica Acta-General Subjects*, v.: 1850 7, p.: 1397 - 1404, 2015

Palabras clave: *nanobody*; *Phage display*

Areas del conocimiento: *Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular*

Medio de divulgación: *Papel* ; ISSN: 03044165 ; DOI: 10.1016/j.bbagen.2015.03.009



SCOPUS



Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; GONZALEZ-TECHERA A.; GUARNASCHELLI J; YIM L; CAMACHO X; FERNÁNDEZ M; CABRAL P; LEIZAGOYEN C; CHABALGOITY JA; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA

Increasing the potency of neutralizing single-domain antibodies by functionalization with a CD11b/CD18 binding domain. *mAbs*, v.: 7 5, p.: 820 - 828, 2015

Palabras clave: *nanobody*; *anticuerpos terapéuticos*

Areas del conocimiento: *Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular*

Medio de divulgación: *Papel* ; ISSN: 19420870 ; DOI: 10.1080/19420862.2015.1068491

SCOPUS



Sistema Nacional de Investigadores

Completo

CUI Y; LI D; MORISSEAU C; YANG J; WAN D; MARTIN A. ROSSOTTI; GEE SJ; GONZALEZ-SAPIENZA G; HAMMOCK BD

Heavy Chain Single Domain Antibodies to Detect Native Human Soluble Epoxide Hydrolase. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2015

Palabras clave: *ELISA sandwich*

Areas del conocimiento: *Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular*

Medio de divulgación: *Papel* ; ISSN: 16182642

Desarrollo de Inmunoensayo para la cuantificación de una enzima humana de relevancia biomédica.



SCOPUS

Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; PIREZ; GONZALEZ-TECHERA A.; CUI Y; BEVER C; KS LEE; MORISSEAU C; LEIZAGOYEN C; GEE S; HAMMOCK BD; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA

A method for sorting and pairwise selection of nanobodies for the development of highly sensitive sandwich immunoassays. *Analytical Chemistry*, v.: 87 23, p.: 11907 - 11914, 2015

Palabras clave: *nanobodies*; *Inmunoensayos*

Areas del conocimiento: *Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular*

Medio de divulgación: *Papel* ; ISSN: 00032700 ; DOI: 10.1021/acs.analchem.5b03561



SCOPUS



Completo

MARIANA CARLOMAGNO; G. LASSABE; MARTIN A. ROSSOTTI; GONZALEZ-TECHERA A.; VANRELL L; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA

Recombinant nanopeptamer anti-immunocomplex assay for the detection of the herbicide clomazone in the runoff of rice fields. *Environmental Science and Technology (E)*, v.: 86 20, p.: 10467 - 10473, 2014

Palabras clave: *Clomazone*; *herbicide*

Areas del conocimiento: *Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular*

Medio de divulgación: *Papel* ; ISSN: 15205851

Completo

G. LASSABE; MARTIN A. ROSSOTTI; GONZALEZ-TECHERA A.; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA

The Shiga-like toxin B subunit of *E. coli* as scaffold for high-avidity display of anti-immunocomplex peptides. *Analytical Chemistry*, v.: 86 11, p.: 5541 - 5546, 2014

Palabras clave: *Clomazone*

Areas del conocimiento: *Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular*

Medio de divulgación: *Papel* ; ISSN: 00032700 ; DOI: 24797274

Completo

TABARES-DA ROSA S; MARTIN A. ROSSOTTI; LEIZAGOYEN C; CARRIÓN F; PRITSCH O; AHN KC; JEROLD A. LAST; BRUCE D HAMMOCK; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA
Competitive Selection from Single Domain Antibody Libraries Allows Isolation of High-Affinity Antihapten Antibodies That Are Not Favored in the Llama Immune Response.. Analytical Chemistry, 2011

Palabras clave: Single Domain Antibody

Areas del conocimiento: Ciencias Agrícolas / Biotecnología Agropecuaria / Biotecnología Agrícola y Biotecnología Alimentaria / Inmunoensayos para la detección de haptenos

Medio de divulgación: Papel ; ISSN: 00032700 ; DOI: 10.1021/ac201824z

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac201824z>

Completo

HEE JOO KIM; MARTIN A. ROSSOTTI; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA; AHN KC; GEE S; MUSKER R; BRUCE D HAMMOCK
Development of a noncompetitive phage anti-immunocomplex assay for brominated diphenyl ether 47.. Analytical Biochemistry, v.: 401 1, p.: 38 - 46, 2010

Palabras clave: Immunoassay

Areas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Medio de divulgación: Papel ; ISSN: 00032697

<http://www.sciencedirect.com/>

Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; MARIANA CARLOMAGNO; GONZALEZ-TECHERA A.; BRUCE D HAMMOCK; LAST J; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA
Phage Anti-Immunocomplex Assay for Clomazone: Two-Site Recognition Increasing Assay Specificity and Facilitating Adaptation into an On-Site Format. Analytical Chemistry, 2010

Palabras clave: Clomazone

Areas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Medio de divulgación: Papel ; ISSN: 00032700 ; DOI: 10.1021/ac101476f

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac101476f>

Completo

FERRAZ N; CARNEVIA D; GONZALO N; MARTIN A. ROSSOTTI; MIGUEZ MN; JEROLD A. LAST; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA
Specific immunoassays for endocrine disruptor monitoring using recombinant antigens cloned by degenerated primer PCR. Analytical and Bioanalytical Chemistry, v.: 389 7, p.: 2195 - 2202, 2007

Palabras clave: Endocrine disruptors

Areas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Disruptores Endocrinos

Medio de divulgación: Papel ; ISSN: 16182642

<http://www.springerlink.com/content/473m04htk0647464/>

Artículos aceptados

Trabajos en eventos

Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; GONZALEZ-TECHERA A.; GUARNASCHELLI J; CAMACHO X; YIM L; FERNÁNDEZ M; CABRAL P; LEIZAGOYEN C; CHABALGOITY JA; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA

La eficacia de los nanobodies neutralizantes puede aumentarse generando anticuerpos biespecíficos , 2015

Evento: Nacional , ENAQUI 4 , Montevideo , 2015

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Medio de divulgación: Otros;

Los nanobodies, derivados del dominio variable de los anticuerpos de cadena pesada de camélidos, por su pequeño tamaño (~15 kDa) tienen un gran potencial para la rápida neutralización de toxinas o drogas en casos de emergencia, pero son rápidamente eliminados por vía renal perdiendo efectividad. En este trabajo se desarrolló una estrategia innovadora para mejorar la capacidad de neutralización de los nanobodies. La misma consiste en generar anticuerpos biespecíficos, en los cuales se combina un nanobody neutralizante con otro que reconoce un receptor celular que impide su eliminación renal. A tales efectos se desarrolló la metodología para producir en forma eficiente nanobodies bi-específicos, y utilizando como modelo la toxina tetánica (TT) y el receptor CR3 del complemento (CD11b/CD18), se seleccionaron nanobodies para cada uno de los antígenos mencionados [1,2] y se estudió el efecto protector de estas quimeras bifuncionales anti-TT/antiCD11b en un modelo murino de muerte por Tóxicos. Respecto al nanobody neutralizante monomérico, la combinación de ambas especificidades produjo una significativa mejora en su poder neutralizante, observándose diferencias de acuerdo al nanobody anti-CD11b utilizado en la formulación de la quimera. Una de estas combinaciones, dio lugar a un nanobody biespecífico capaz de asegurar en un 100% la sobrevivencia de ratones expuestos a una concentración de toxina igual a cinco veces superior a la dosis letal 50 (DL50). Dado que CR3 está presente en distintas células fagocíticas, el efecto protector estaría asociado a una eficiente captación de la toxina por estas células y al aumento de la permanencia del anticuerpo en circulación.

Sistema Nacional de Investigadores

Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; MARIANA CARLOMAGNO; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA

INMUNOENSAYO NO COMPETITIVO PARA LA DETECCIÓN DE CLOMAZONE USANDO PEPTIDOS CICLICOS AHISLADOS DE BIBLIOTECAS DE FAGOS , 2010

Evento: Nacional , SUB 2010 , Piriapolis , 2010

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunoensayos

Medio de divulgación: Papel;

Este trabajo fue uno de los 10 Trabajos que recibieron mención por su destacada calidad académica. Resumen: Hasta la fecha existen pocas técnicas para el desarrollo de inmunoensayos no competitivos para la detección de pequeñas moléculas, siendo el más común el uso de anticuerpos anti-inmunocomplejos. Este camino es laborioso, caso específico y depende del manejo de la tecnología de anticuerpos monoclonales para su implementación, además de que con mucha frecuencia exhiben alta reactividad cruzada con el anticuerpo primario sin ligar. Nosotros recientemente hemos desarrollado una nueva tecnología, PHAIA (phage anti-immunocomplex assay), en la cual pequeños péptidos seleccionados a partir de bibliotecas de péptidos pueden ser utilizados como sustitutos de los anticuerpos anti-inmunocomplejo para la inmunodetección no competitiva de pequeñas moléculas [1]. En este trabajo describimos el uso del método PHAIA para la detección de clomazone, un herbicida ampliamente utilizado en la producción arroceras. Para lograr esto, se preparó un anticuerpo monoclonal contra el herbicida (MAb5.6) utilizando el conjugado clomazone-KLH (keyhole limpet hemocyanin) como inmunógeno. El inmunocomplejo MAb5.6-clomazone fue inmovilizado en placas de ELISA y utilizado para la selección de péptidos cíclicos muestreados como elementos de fusión a la proteína de cápside pVIII del fago filamentoso M13, de una biblioteca compuesta de 109 variantes diferentes. Los péptidos seleccionados comparten un motivo consenso CXXAPNXEXC y se unieron específicamente al inmunocomplejo, mostrando nula señal contra el anticuerpo sin ligar. Utilizando los péptidos sobre la superficie del fago desarrollamos un ELISA no competitivo que permitió detectar hasta 1 ng/ml de clomazone. Este valor de sensibilidad fue 20 veces mejor que el logrado utilizando el ensayo competitivo convencional establecido con el mismo anticuerpo MAb5.6. La reactividad cruzada con otros pesticidas, tolerancia a solvente y estabilidad del ensayo también fue evaluada. El PHAIA clomazone fue fácilmente adaptado a un formato en tubos y de dipstick que no requiere ningún instrumento para su medida. Este formato es sumamente sencillo, rápido y sensible, permitiendo mediante simple inspección visual la detección de 1 ng/ml del herbicida, valor que está por debajo del valor de concentración máximo recomendado en aguas superficiales. [1] González-Techera A, Vanrell L, Last JA, Hammock BD, González-Sapienza G. Phage anti-immune complex assay: general strategy for noncompetitive immunodetection of small molecules. Anal Chem, 2007, 79, 7799-7806.

Completo

MARTIN A. ROSSOTTI; GUALBERTO GONZALEZ-SAPIENZA; MARIANA CARLOMAGNO

NONCOMPETITIVE IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF CLOMAZONE USING CYCLIC PEPTIDES ISOLATED FROM PHAGE DISPLAY LIBRARIES , 2009

Evento: Internacional , II Latin American Pesticide Residues Workshop , Santa Fe, Argentina , 2009

Palabras clave: Herbicidas

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Inmunoensayos

Medio de divulgación: Papel;

http://www.laprw2009.unl.edu.ar/documents/abs_web.pdf

Tutorías concluidas

Grado

Tesis/Monografía de grado

Efecto de la compartimentalización en la biotilación de VHHs y generación de VHH biespecíficos , 2015

Tipo de orientación: Cotutor en pie de igualdad

Nombre del orientado: Lucia Alfaya

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Medio de divulgación: Papel, *País/Idioma:* Uruguay/Español

Tesis/Monografía de grado

Desarrollo de un sistema de screening de afinidades relativas de nanobodies (VHHs) por su antígeno , 2014

Tipo de orientación: Cotutor en pie de igualdad

Nombre del orientado: Cecilia Vallejo

Facultad de Química - UDeLaR , Uruguay , Química Farmacéutica

Palabras clave: nanobodies

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Medio de divulgación: Papel, *País/Idioma:* Uruguay/Español

Información adicional: Fui Co-Tutor el Investigador principal fue Andres Gonzalez-Techera.

Tesis/Monografía de grado

Producción de Dectina-1 recombinante para la detección de β -glucanos , 2009

Nombre del orientado: Sofia Tabares

Facultad de Química - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica y Licenciatura en Biología

Palabras clave: Proteína Recombinantes

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Medio de divulgación: Papel, *País/Idioma:* Uruguay/Español

Otros datos relevantes

Premios y títulos

2010 INMUNOENSAYO NO COMPETITIVO PARA LA DETECCIÓN DE CLOMAZONE USANDO PEPTIDOS CICLICOS AISLADOS DE BIBLIOTECAS DE FAGOS (Nacional) Sociedad Uruguaya de Biociencias

El póster fue seleccionado como 1 de los mejores póster de toda la Sesión.

Presentaciones en eventos

Congreso

An in vivo biotinylation system for high throughput screening of single-domain antibodies to dendritic cells receptors , 2013

Tipo de participación: Poster,

Referencias adicionales: Argentina; *Nombre del evento:* ASCAI; *Nombre de la institución promotora:* Argentinean Spring Course in Advanced Immunology

Palabras clave: in vivo biotinylation; Phage display

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Celulas Dendriticas Nanobodies

In addition to conventional antibodies, camelids and sharks also produce heavy-chain antibodies devoid of light chain. The variable domain of these antibodies (Nanobody) is the smallest antibody fragment that retains the specificity for the cognate antigen. Their small size (15 kDa) and easy expression in bacteria make them highly attractive in cell biology and biotechnology applications. We hereby present a method for high throughput selection of Nanobodies to cell receptors, based on the optimization of their in vivo biotinylation.

Congreso

Functionally different anti-mCD11b Nanobodies selected from lambs immunized with Bone Marrow Dendritic Cells , 2013

Tipo de participación: Poster,

Referencias adicionales: Argentina; *Nombre del evento:* Sociedad Argentina de Inmunología; *Nombre de la institución promotora:* SAI

Palabras clave: nanobodies; Bone marrow Dendritic cells

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Celulas Dendriticas Nanobodies

n addition to conventional antibodies, camelids and sharks also secret heavy-chain antibodies devoid of light chain. The variable domain of these antibodies (Nanobody) is the smallest antibody fragment that retains the specificity for the cognate antigen. Their small size (15 kDa), stability, solubility, and expression yield in bacteria make them highly attractive partners for the preparation of chimeric 'mighty' antigens. In those, the antigen of interest is fused to a Nanobody specific for dendritic cell (DC) receptors, endowing it with targeting (endocytic receptors) or immunostimulatory properties (PRRs) that boost the immune response to the target antigen. We hereby are testing the hypothesis that the variable domain of single chain antibodies could be an advantageous alternative to the use of conventional antibodies for the preparation of chimeric antigens with augmented immunogenicity.

Congreso

Improved Immunoassays for Residue Monitoring , 2010

Tipo de participación: Otros,

Referencias adicionales: Estados Unidos; *Nombre del evento:* The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies;

Palabras clave: Inmunoensayos; anticuerpos monoclonales de llama

Areas del conocimiento: Ciencias Agrícolas / Biotecnología Agropecuaria / Biotecnología Agrícola y Biotecnología Alimentaria / Inmunoensayos para la detección de pesticidas

K-C. Ahn¹; H-J. Kim¹; M.R. McCoy¹; M. Rossotti³; J. Han²; S. Lakshmana²; Z. Majkova, A. Ranganathan., G.G. Gonzalez-Sapienza³; I. M. Kennedy²; S.J. Gee¹; B. D. Hammock¹. ¹Department of Entomology, ²Department of Mechanical & Aerospace Engineering, University of California, Davis, CA; ³Facultad de Química, Instituto de Higiene, Montevideo, Uruguay <http://www.pacificchem.org/>

Congreso

SELECCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES DE DOMINIO UNICO A PARTIR DE BIBLIOTECAS DE INMUNOGLOBULINAS DE CAMELIDOS , 2010

Tipo de participación: Poster,

Referencias adicionales: Uruguay; *Nombre del evento:* SUB; *Nombre de la institución promotora:* Sociedad Uruguaya de Biosciencias

Palabras clave: vacunas; anticuerpos monoclonales de llama; adyuvantes

Areas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Desarrollo de vacunas

Martin A. Rossotti ¹, Sofía Tabares ¹, Carmen Leizagoyen ² y Gualberto González-Sapienza. SELECCIÓN DE ANTICUERPOS MONOCLONALES DE DOMINIO UNICO A PARTIR DE BIBLIOTECAS DE INMUNOGLOBULINAS DE CAMELIDOS

<http://www.pasteur.edu.uy/sub/>

Congreso

INMUNOENSAYO NO COMPETITIVO PARA LA DETECCION DE CLOMAZONE USANDO PEPTIDOS CICLICOS AISLADOS DE BIBLIOTECAS DE FAGOS , 2010

Tipo de participación: Poster,

Referencias adicionales: Uruguay; *Nombre del evento:* SUB 2010; *Nombre de la institución promotora:* Sociedad Uruguaya de Biosciencias

Palabras clave: Inmunoensayos; pesticidas

Areas del conocimiento: Ciencias Agrícolas / Biotecnología Agropecuaria / Biotecnología Agrícola y Biotecnología Alimentaria / Inmunoensayos para la detección de pesticidas

INMUNOENSAYO NO COMPETITIVO PARA LA DETECCION DE CLOMAZONE USANDO PEPTIDOS CICLICOS AISLADOS DE BIBLIOTECAS DE FAGOS. Martin A. Rossotti, Mariana Carlomagno, Andrés Gonzalez y Gualberto González-Sapienza.

<http://www.pasteur.edu.uy/sub/> Mención como uno de los 10 mejores trabajos de la Sesión 2010.

Congreso

NONCOMPETITIVE IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF CLOMAZONE USING CICLIC PEPTIDES ISOLATED FROM PHAGE DISPLAY LIBRARIES , 2009

Tipo de participación: Poster,

Referencias adicionales: Argentina; *Nombre del evento:* The Latin American Pesticide Residue Workshop (LAPRW); *Nombre de la institución promotora:* manufacturers and suppliers. The National University of Litoral (UNL), the Chemical Engineering Faculty (FIQ) and the Central Laboratory (LC)

Palabras clave: Inmunoensayos; pesticidas

Areas del conocimiento: Ciencias Agrícolas / Biotecnología Agropecuaria / Biotecnología Agrícola y Biotecnología Alimentaria / Inmunoensayos para la detección de pesticidas

<http://www.laprw2009.unl.edu.ar/> NONCOMPETITIVE IMMUNOASSAY FOR THE DETECTION OF CLOMAZONE USING CICLIC PEPTIDES ISOLATED FROM PHAGE DISPLAY LIBRARIES Martin A. Rossotti, Mariana Carlomagno, Cecilia Matho and Gualberto González-Sapienza.

Encuentro

"Polipéptidos específicos para receptores de la respuesta Innata como moduladores de la respuesta adaptativa contra antígenos recombinantes". , 2011

Tipo de participación: Expositor oral,

Referencias adicionales: Uruguay; *Nombre del evento:* Encuentro Nacional de Ciencias Químicas; *Nombre de la institución promotora:* PEDECIBA-Química

Palabras clave: Nanoanticuerpos; células Dendriticas

Areas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Celulas Dendriticas Nanobodies

Encuentro

"Identificación de las condiciones óptimas para el replegamiento de la quimera estreptavidina-péptido". , 2011

Tipo de participación: Poster,

Referencias adicionales: Uruguay; Nombre del evento: Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular Uruguay;

Áreas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Células Dendríticas Nanobodies

"Identificación de las condiciones óptimas para el replegamiento de la quimera estreptavidina-péptido". G. Lassabe, M. Rossotti, G. González-Sapienza. SBBM, Montevideo, Noviembre de 2011.

Indicadores de producción

Producción bibliográfica	13
Artículos publicados en revistas científicas	10
Completo (Arbitrada)	10
Artículos aceptados para publicación en revistas científicas	0
Trabajos en eventos	3
Completo (No Arbitrada)	3
Libros y capítulos de libros publicados	0
Textos en periódicos	0
Documentos de trabajo	0
Producción técnica	0
Productos tecnológicos	0
Procesos o técnicas	0
Trabajos técnicos	0
Otros tipos	0
Evaluaciones	0
Formación de RRHH	3
Tutorías/Orientaciones/Supervisiones concluidas	3
Tesis/Monografía de grado	3
Tutorías/Orientaciones/Supervisiones en marcha	0

Sistema Nacional de Investigadores