



# Curriculum Vitae

## Andrea Elizabeth VILLARINO RUFENER



Actualizado: 25/04/2017

Publicado: 25/04/2017

**Sistema Nacional de Investigadores**

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas

Categorización actual: Nivel I

Ingreso al SNI: Nivel I (01/03/2009)

## Datos generales

### Información de contacto

E-mail: villarinoa@gmail.com

Teléfono: 098261523

Dirección: 11200

### Institución principal

Sección Bioquímica y Biología Molecular / Facultad de Ciencias - UDeLaR / Universidad de la República / Uruguay

### Dirección institucional

Dirección: Facultad de Ciencias - UDeLaR / Bioquímica y Biología Molecular / 11400 / Montevideo / MONTEVIDEO / Uruguay

Teléfono: (+598) 25252095

E-mail/Web: villarinoa@gmail.com

## Formación

### Formación concluida

#### Formación académica/Titulación

##### Posgrado

1998 - 2002

Doctorado

Dr. Physiologie et Genetique des Microorganismes

Universite de Paris XI (Paris-Sud) , Francia

Título: Etude de la Viabilité Cellulaire chez Escherichia coli

Tutor/es: Patrick Grimont y Odile Bouvet

Obtención del título: 2002

Becario de: Institut Pasteur de Paris , Francia

Palabras clave: marcadores fluorescentes; viabilidad celular; bacterias no cultivables

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Fisiología bacteriana, estudio de bacterias no cultivables

1997 - 1998

Maestría

D.E.A. (Diplôme d'Études Approfondies)

Universite de Paris XI (Paris-Sud) , Francia

Título: Formes viables mais non cultivables de bacteries dans l'eau ». Modélisation du phénomène, aspects physiologiques et moléculaires

Tutor/es: Patrick Grimont

Obtención del título: 1998

Becario de: Institut Pasteur de Paris , Francia

Áreas del conocimiento: Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Fisiología bacteriana, estudio de bacterias no cultivables

##### Grado

1991 - 1997

Grado

Licenciatura en Bioquímica

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

*Título:* Biotecnología enzimática para el tratamiento de desechos de la industria Láctea utilizando beta-galactosidasa inmovilizada

*Tutor/es:* Beatriz Brena

*Obtención del título:* 1997

*Becario de:* Facultad de Química - UDeLaR , Uruguay

*Palabras clave:* inmovilización de enzimas; beta-galactosidasa; estabilización de enzimas

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Estudio de proteínas de interés biotecnológico, inmovilización y estabilización

## Formación complementaria

### Postdoctorado

07 / 2005 - 02 / 2008

Introducción y desarrollo de dos nuevas líneas de investigación en el laboratorio: sobre la búsqueda de sustrato de las fosfatasa en tirosina de *M. tuberculosis* y sobre la inmovilización de la proteasa TEV

Universidad Federal de Santa Catarina , Brasil

*Becario de:* Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico , Brasil

*Palabras clave:* *Mycobacterium tuberculosis*; fosfatasa

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Búsqueda de sustratos de fosfatasa de *M. tuberculosis*, inmovilización de proteínas

02 / 2002 - 04 / 2005

Estudio bioquímico y estructural de diferentes quinasas y fosfatasa de tipo eucariota presentes en *M. tuberculosis*

Institut Pasteur Paris , Francia

*Becario de:* Institut Pasteur Paris , Francia

*Palabras clave:* *Mycobacterium tuberculosis*; señalización celular; blancos terapéuticos; quinasas y fosfatasa

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Proteómica, búsqueda de blancos terapéuticos contra la tuberculosis

### Cursos corta duración

06 / 2010 - 06 / 2010

Estadística Básica Aplicada al Laboratorio

Skaphia , Uruguay

*Palabras clave:* bioestadística

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Farmacología y Farmacia / Bioestadística

11 / 2007 - 11 / 2007

Workshop de introducao ao Cultivo Celular

Universidad Federal de Santa Catarina , Brasil

*Palabras clave:* cultivo celular

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Biología Celular

1998 - 1998

Formación a la utilización de radioisótopos

Institut Pasteur de Paris , Francia

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Utilización de radioactividad

1998 - 1998

Prevención de Riesgos Químicos, Radioactivos, Biológicos y Riesgos Generales

Institut Pasteur de Paris , Francia

1996 - 1996

Bases Bioquímicas Del Desarrollo Bacteriano

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

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Fisiología Bacteriana

1996 - 1996

Propiedades funcionales de proteínas

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

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Estudios de estabilidad de proteínas

1996 - 1996	Producción y Aplicación de Enzimas Facultad de Ingeniería - UDeLaR, Universidad de la República , Uruguay <i>Areas del conocimiento:</i> Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Estudio de enzimas de interes biotecnologico
1994 - 1994	Utilización de enzimas como catalizadores de procesos industriales Facultad de Química - UDeLaR, Universidad de la República , Uruguay <i>Areas del conocimiento:</i> Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Inmovilizacion y estabilizacion de enzimas de interes biotecnologico

## Otras instancias

1995	Seminarios <i>Nombre del evento:</i> Ciclo de Conferencias VIDA Y COSMOS II <i>Institución organizadora:</i> Facultad de Ciencias , Uruguay
1998	Talleres <i>Nombre del evento:</i> Cell study by fluorescence labelling: diversity, complementary, and particularity of technics <i>Institución organizadora:</i> INSERM , Francia <i>Areas del conocimiento:</i> Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Tecnicas de fluorescencia
2011	Otros <i>Nombre del evento:</i> Pasantía de corta duración (7 días laborables) en la Unidad de Bioquímica Estructural dirigida por el Profesor Pedro Alzari <i>Institución organizadora:</i> Uruguay <i>Palabras clave:</i> tuberculosis <i>Areas del conocimiento:</i> Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / estructura de proteínas
2008	Otros <i>Nombre del evento:</i> Curso con evaluación de Introducción a las Buenas Prácticas de Laboratorio, GLP <i>Institución organizadora:</i> Consultoría Carpiuc , Uruguay <i>Palabras clave:</i> GLP <i>Areas del conocimiento:</i> Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Control de Calidad-Normas GLP
1988	Otros <i>Nombre del evento:</i> Curso de primer año y Seminario 1 Escuela Nacional de Bellas Artes <i>Institución organizadora:</i> Universidad de la Republica , Uruguay

## Construcción institucional

Desde mi cargo docente y de investigación he aportado a la creación de un nuevo grupo de investigación dentro de la Facultad de Ciencias, implicando estudiantes de grado y posgrado, y asegurando su financiación. Participo en la formación de estudiantes de grado (Licenciatura de Bioquímica, Biología y Biología Humana). Trabajo para el Posgrado en Biotecnología, participando en la coordinación, evaluación de proyectos y continuidad del dictado del curso de Gestión de Calidad. Mediante convenios/donaciones con el sector empresarial demostramos que la transferencia de conocimientos y/o productos es posible, habiendo logrado resultados exitosos.

## Idiomas

Español	Entiende (Muy Bien) / Habla (Muy Bien) / Lee (Muy Bien) / Escribe (Muy Bien)
Francés	Entiende (Muy Bien) / Habla (Bien) / Lee (Muy Bien) / Escribe (Bien)
Inglés	Entiende (Bien) / Habla (Bien) / Lee (Muy Bien) / Escribe (Bien)
Italiano	Entiende (Muy Bien) / Habla (Bien) / Lee (Bien) / Escribe (Regular)
Portugués	Entiende (Muy Bien) / Habla (Bien) / Lee (Muy Bien) / Escribe (Bien)

## Áreas de actuación

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / fosfatasa de patógenos intracelulares

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Quinasas  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / viabilidad celular

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmovilización de enzimas  
Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas /  
Detección de proteínas de estirón implicadas en la inmunidad innata

## Actuación Profesional

### Cargos desempeñados actualmente

Desde: 05/2011  
Profesor Adjunto , (Docente Grado 3 Titular, 30 horas semanales / Dedicación total) , Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay

Desde: 01/2009  
Investigador PEDECIBA grado 3. , (30 horas semanales) , Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas , Uruguay

Desde: 06/2016  
Investigador Nivel I , (40 horas semanales) , Agencia Nacional de Investigación e Innovación , Uruguay

Sistema Nacional de Investigadores

### Institut Pasteur de Paris , Francia

#### Vínculos con la institución

04/2003 - 03/2005, *Vínculo:* investigador , (40 horas semanales / Dedicación total)

04/1999 - 04/2002, *Vínculo:* Doctorando, (40 horas semanales / Dedicación total)

04/2002 - 03/2003, *Vínculo:* Posdoctorando, (40 horas semanales / Dedicación total)

09/1997 - 03/1999, *Vínculo:* Magister, (40 horas semanales / Dedicación total)

#### Actividades

04/2002 - 03/2005  
Líneas de Investigación , Institut Pasteur de Paris , Unité de Biochimie Structurale  
Señalización celular en M. tuberculosis mediada por Ser/Thr quinasas y fosfatasa. Análisis Bioquímico y estructural. , Integrante del Equipo

09/1997 - 01/2002  
Líneas de Investigación , Instituto Pasteur de Paris , Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes  
Detección de bacterias no cultivables en agua potable , Integrante del Equipo

10/2003 - 10/2003  
Pasantías , Max-Planck Institut for Infection Biology , Proteómica de M. tuberculosis  
Análisis de la actividad quinasa de PknB mediante ensayos con ATP radioactivo y separación de proteínas por 2D-PAGE e identificación por espectrometría de masa.

01/2000 - 02/2005  
Extensión , Institut Pasteur de Paris  
Participación como Miembro de la Asociación de Estudiantes Sudamericanos del Institut Pasteur.

05/1999 - 05/1999  
Extensión , Institut Pasteur de Paris  
Participación en las Jornadas de Puertas Abiertas del Pasteur de Paris

01/2004 - 01/2005  
Otra actividad técnico-científica relevante , Institut Pasteur de Montevideo , Biochimie Structurale  
Realización de experimentos y organización de la documentación necesaria para la presentación de una solicitud de patente de la cual soy co-autora.

02/2002 - 08/2002  
Otra actividad técnico-científica relevante , Institut Pasteur de Paris , Biochimie Structurale  
Puesta en marcha en el laboratorio del análisis de proteínas de M. tuberculosis por electroforesis bidimensional 2-D PAGE

04/2002 - 03/2005

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Institut Pasteur de Paris , Unité de Biochimie Structurale

Proyecto Europeo X-TB contract QLK2-CT-2001-02018 , Integrante del Equipo

01/2001 - 12/2001

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Institut Pasteur de Paris , Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes

Relation between the beta-galactosidase activity and cellular viability in the determination of fecal coliform contamination , Coordinador o Responsable

04/1999 - 04/2001

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Institut Pasteur de Paris , Unité de Biodiversité des Bactéries Pathogènes Emergentes

Caracterización de la viabilidad bacteriana, aproximación a la noción del estado viable pero no cultivable (Viable But Non Culturable, VBNC) , Integrante del Equipo

**Universidade Federal de Santa Catarina , Universidade Federal de Santa Catarina , Brasil**

## Vínculos con la institución

05/2005 - 02/2008, *Vínculo:* CNPq, nivel PV-IIIE, (40 horas semanales / Dedicación total)

## Actividades

# Sistema Nacional de Investigadores

05/2007 - 02/2008

Líneas de Investigación , Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. , Laboratório de Defesas Celulares, Departamento de Ciências Fisiológicas

Estudio de la regulación redox de las dos únicas fosfatasas en tirosina de *M. tuberculosis*. , Coordinador o Responsable

06/2005 - 02/2008

Líneas de Investigación , UFSC, Brasil , Laboratório de Expressão de Gênica, Departamento de Bioquímica

Inmovilización de la proteasa TEV para uso en la eliminación del tag de proteínas recombinantes. , Coordinador o Responsable

06/2005 - 02/2008

Líneas de Investigación , Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. , Laboratório de Expressão de Gênica, Departamento de Bioquímica

Identificación in vitro de sustratos de las dos únicas fosfatasas en tirosina de *M. tuberculosis* , Coordinador o Responsable

05/2006 - 05/2006

Docencia , Maestría

Dictado de clase teórica sobre señalización celular en células eucariota (Invitada por la Dra. Margherita Anna Barrocco) , Invitado , Biotecnología

08/2005 - 08/2005

Docencia , Maestría

Dictado de clases teórica sobre dominios de interacción proteína-proteína y discusión de artículos relacionados (Invitada por el Prof. Hernán Terenzi) dentro de la disciplina de Biología Molecular y Estructural , Invitado , Biotecnología

07/2005 - 07/2005

# Sistema Nacional de Investigadores

Docencia , Maestría

Dictado de clases teórica sobre fosforilación por Ser/Thr kinasas de *M. tuberculosis* (Invitada por el Prof. Hernán Terenzi) dentro de la disciplina de Bioquímica Estructural , Invitado , Química

06/2005 - 02/2008

Proyectos de Investigación y Desarrollo , UFSC-Brasil y Universidad de la República-Uruguay , Bioquímica.

Obtención de un derivado inmovilizado de la proteasa Tev para la eliminación de colas de histidina de proteínas recombinantes. , Otros/Consultor

06/2005 - 06/2007

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil. , Laboratorio de Expressão de Gênica. Departamento de Bioquímica

“Expressão, purificação e análise estrutural de proteínas de interesse em Saúde e Biotecnologia” , Integrante del Equipo

**Institut Pasteur de Montevideo , Institut Pasteur de Montevideo , Uruguay**

## Vínculos con la institución

02/2008 - 07/2010, *Vínculo:* ASISTENTE ESPECIALIZADO-BIOQUIMICO ANALISTA, (40 horas semanales)

## Actividades

03/2010 - 03/2010

Docencia , Especialización

Control de calidad de proteínas recombinantes , Invitado

12/2008 - 12/2008

Docencia , Especialización

Control de calidad de proteínas recombinantes , Invitado , PEDECIBA

11/2009 - 11/2009

Pasantías , Laboratorio privado-San Pablo Brasil

Conocimiento de citómetros automáticos para la cuantificación de reticulocitos.

04/2008 - 07/2010

Servicio Técnico Especializado , IPMONT , Laboratorio de Control de Biofarmacos

Control de la calidad de biofármacos de muestras de diferentes laboratorios privados del Uruguay.

01/2009 - 12/2009

Extensión , Institut Pasteur de Montevideo , Laboratorio de Control de Biofármacos

Visitas guiadas para estudiantes de secundaria

03/2009 - 04/2009

## Sistema Nacional de Investigadores

Capacitación/Entrenamientos dictados , Institut Pasteur de Montevideo , Laboratorio de Control de Biofármacos

Entrenamiento en el control biológico del factor de crecimiento G-CSF

01/2010 - 07/2010

Otra actividad técnico-científica relevante , Institut Pasteur de Montevideo , Laboratorio de Control de Biofármacos

Optimización del control de heparina.

04/2008 - 07/2010

Otra actividad técnico-científica relevante , Institut Pasteur de Montevideo , Laboratorio de Control de Biofármacos

Puesta en funcionamiento del control biológico de interferon interleuquina y otros biofármacos.

01/2009 - 12/2009

Otra actividad técnico-científica relevante , Institut Pasteur de Montevideo , Laboratorio de Control de Biofármacos

Optimización de la determinación de reticulocitos.

01/2009 - 10/2010

Gestión Académica , Institut Pasteur de Montevideo , Laboratorio de Control de Biofármacos

Representante de los jóvenes técnicos e investigadores en comisión de cantina

01/2009 - 10/2009

Gestión Académica , Institut Pasteur de Montevideo

Representante de los jóvenes técnicos e investigadores en comisión de educación

02/2008 - 07/2010

## Sistema Nacional de Investigadores

Proyectos de Investigación y Desarrollo , IPMONT , Laboratorio de Control de Biofarmacos

Puesta en marcha de diferentes metodologías analíticas para el control biológico y fisicoquímico de diferentes biofármacos , Integrante del Equipo

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

[Vínculos con la institución](#)

06/1993 - 12/1997, *Vínculo:* Ayudante de Bioquímica Grado 1, No docente (40 horas semanales)

### Actividades

01/1997 - 08/1997

Docencia , Grado

Participación en la orientación y guía del trabajo especial de enzimas. , Asistente , Química Farmacéutica

08/1995 - 12/1995

Pasantías , Universidad Autónoma de Madrid-España , Laboratorio de Catálisis Enzimática

Perfeccionamiento en técnicas de Estabilización de enzimas.

05/1995 - 08/1995

Pasantías , Facultad de Ciencias de Uruguay , Oceanografía

Introducción a Técnicas de espectrofotometría para la detección de diferentes especies nitrogenadas.

01/1996 - 09/1997

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Química, Universidad de la República. , Cátedra de Bioquímica.

Inmovilización de beta-galactosidasa , Coordinador o Responsable

01/1993 - 09/1997

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Química, Universidad de la República. , Cátedra de Bioquímica.

Inmovilización-estabilización de beta-galactosidasa para uso tecnológico. , Integrante del Equipo

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

### **Vínculos con la institución**

10/2009 - 07/2010, *Vínculo:* Profesor Adjunto , Docente Grado 3 Titular, (10 horas semanales)

07/2010 - 05/2011, *Vínculo:* Profesor Adjunto , Docente Grado 3 Titular, (30 horas semanales)

*05/2011 - Actual, Vínculo: [Profesor Adjunto](#) , [Docente Grado 3 Titular](#), (30 horas semanales / Dedicación total)*

### **Actividades**

## **Sistema Nacional de Investigadores**

09/2013 - Actual

Líneas de Investigación , Facultad de Ciencias- Universidad de la República , Sección Bioquímica y Laboratorio de Inmunología

Optimización de métodos de detección de actividad enzimática de interés biotecnológico: marcadores de la inmunidad innata en esturión , Coordinador o Responsable

10/2011 - Actual

Líneas de Investigación , Facultad de Ciencias- Universidad de la República , Sección Bioquímica y Biología Molecular

Búsqueda de Inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis , Coordinador o Responsable

07/2010 - Actual

Líneas de Investigación , Facultad de Ciencias , Sección Bioquímica y Biología Celular

Estudio de fosfatasas de tirosina de diferentes patógenos intracelulares. , Coordinador o Responsable

04/2014 - Actual

Docencia , Grado

Introducción a la Biología, dictado de una clase de estructura de macromoléculas biológicas , Invitado , Licenciatura en Ciencias Biológicas

03/2011 - Actual

Docencia , Grado

Dictado de clases del módulo I y II del curso de Bioquímica , Responsable , Licenciatura en Bioquímica

03/2011 - Actual

Docencia , Grado

Dictado de clases en el práctico del curso de Bioquímica. Hasta 2014 coordinador del práctico. , Responsable , Licenciatura en Bioquímica

03/2011 - Actual

Docencia , Grado

Propuesta y Corrección de exámenes y parciales , Responsable , Licenciatura en Bioquímica

01/2010 - 12/2010

Docencia , Grado

Dictado de los teóricos del módulo de Estructura de la asignatura de BIOQUIMICA para Biología y Bioquímica. , Responsable , Licenciatura en Bioquímica

01/2010 - 12/2010

Docencia , Grado

Docente de uno de los talleres de la asignatura de Bioquímica, Módulo Estructura. , Responsable , Licenciatura en Bioquímica

01/2010 - 12/2010

Docencia , Grado

Propuesta y corrección de preguntas de examen y parciales de Bioquímica. , Responsable , Licenciatura en Bioquímica

12/2015 - 12/2015

Docencia , Especialización

HERRAMIENTAS BIOINFORMATICAS PARA EL ESTUDIO DE PROTEINAS: VISUALIZAR, COMPRENDER Y PREDECIR. , Organizador/Coordinador , Maestría en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)

08/2015 - 08/2015

Docencia , Especialización

Curso de producción de proteínas recombinantes. Teórico y taller , Invitado , Posgrado en Biotecnología (Doctorado)

07/2013 - 08/2013

Docencia , Especialización

Sistema de Expresión para la producción de proteínas: desde el diseño del vector al primer escalado , Invitado

04/2013 - 05/2013

Docencia , Especialización

Modificaciones Postraduccionales de Proteínas: Ampliando el Código Genético , Invitado

11/2012 - 11/2012

Docencia , Especialización

Estructura de proteínas (clase teórica y discusión de artículos relacionados , Invitado , PEDECIBA

05/2011 - 08/2011

Docencia , Especialización

Producción, purificación y caracterización estructural de proteínas: una visión actual (8hs contando hs dictadas, preparación y evaluación) , Invitado , PEDECIBA

02/2010 - 03/2010

Docencia , Especialización

Utilización de tags para la purificación de proteínas recombinantes: porque en algunos casos debemos eliminarlas?. , Invitado , Expresión de proteínas recombinantes-PEDECIBA

02/2010 - 03/2010

Docencia , Especialización

Control de calidad de proteínas recombinantes utilizadas como biofármacos , Invitado , Expresión de proteínas recombinantes-PEDECIBA

03/2009 - 03/2009

Docencia , Especialización

En el mismo coordiné la discusión de un artículo sobre la Regulación redox en tirosin-fosfatasa bacterianas. , Invitado , Programa de postgrado de Facultad de Química

11/2008 - 12/2008

Docencia , Especialización

Expresión de proteínas recombinantes , Invitado , PEDECIBA

11/2008 - 11/2008

Docencia , Especialización

Quinasas/fosfatasa y las bases bioquímicas de la toxicidad de microcistinas , Invitado , Determinación de microcistinas por inmuno ensayos y métodos cromatográficos-PEDECIBA

12/2013 - 12/2013

Docencia , Perfeccionamiento

Curso de Biología Molecular y Genómica Centro Regional de Profesores del Este –Maldonado , Invitado , RELAB para profesores de biología de enseñanza media

11/2013 - 11/2013

Pasantías , IBR , Laboratorio de Fisiología y Genética de Actinomicetes

Dictado de seminario y reunión de intercambio de ideas con investigadores y estudiantes

07/2015 - 07/2015

Extensión , BRITISH SCHOOLS

WORKVIEWS EN THE BRITISH SCHOOLS

07/2013 - 07/2013

Extensión , Facultad de Ciencias , Sección Bioquímica y Biología Molecular

Stand interactivo y generación de material didáctico para la Feria de Ciencias Latitud Ciencias 2013: el ADN en la cocina, realizada en la IMM



03/2013 - Actual

Gestión Académica , Facultad de Ciencias , ADUR

Miembro de la comisión de becas de ADUR

03/2013 - Actual

Gestión Académica , UDELAR

Miembro de la comisión GAIE-Proyectos de iniciativa estudiantil PAIE-CSIC

10/2010 - Actual

Gestión Académica , Facultad de Ciencias de Uruguay , Sección de Bioquímica y Biología Molecular

Delegado docente en comisión de Posgrado en Biotecnología.

09/2010 - 04/2013

Gestión Académica , Facultad de Ciencias de Uruguay , Sección de Bioquímica y Biología Molecular

Delegado docente en comisión de Bioseguridad

03/2011 - 03/2013

Gestión Académica

Miembro de la comisión directiva de la SUB

1/2015 - Actual

## Sistema Nacional de Investigadores

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias , Sección de Bioquímica y Laboratorio de Inmunología

Estudio de las defensas innatas de *Acipenser* spp: nuevas herramientas para monitorear el estado sanitario de peces en establecimientos de piscicultura , Coordinador o Responsable

05/2015 - Actual

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias , Sección Bioquímica y Sección Virología

Estudio bioquímico y funcional del factor de virulencia viral: la fosfatasa en tirosina del virus Orf, agente causal del ectima contagioso en ovinos. , Coordinador o Responsable

12/2014 - Actual

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias- Universidad de la República , Sección Bioquímica y Sección Virología

Estudios de la fosfatasa en tirosina PTP-Orf, factor de virulencia del virus Orf, agente causal del Ectima Contagioso en ovinos. , Coordinador o Responsable

09/2013 - 12/2015

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias IQB y IB , Laboratorio de Inmunología y Sección de Bioquímica y Biología Molecular

Estudio de las defensas innatas de *Acipenser* spp: evaluación de inmunoestimuladores , Coordinador o Responsable

05/2013 - 07/2015

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias-Universidad de la República , Sección Bioquímica y Biología Molecular

Chalconas como potentes inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis*: síntesis, diseño racional y caracterización de nuevos compuestos. , Coordinador o Responsable

11/2013 - 11/2014

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias- Universidad de la República , Sección Bioquímica y Biología Molecular

Hacia una Bioquímica en Línea , Integrante del Equipo

01/2011 - 08/2013

Proyectos de Investigación y Desarrollo , Facultad de Ciencias- Universidad de la República , Sección Bioquímica y Biología Molecular

Identificación de sustratos y mecanismos de regulación de las dos únicas tirosina fosfatasas, PtpA y PtpB de *Mycobacterium tuberculosis*. , Coordinador o Responsable

### **Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas , Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas , Uruguay**

[Vínculos con la institución](#)

01/2009 - Actual, *Vínculo: Investigador PEDECIBA grado 3., (30 horas semanales)*

### **Agencia Nacional de Investigación e Innovación , Agencia Nacional de Investigación e Innovación , Uruguay**

[Vínculos con la institución](#)

02/2011 - 02/2014, *Vínculo: SNI Nivel I, (30 horas semanales / Dedicación total)*

## Lineas de investigación

*Título:* Búsqueda de Inhibidores de las dos únicas fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable

*Objetivo:* El objetivo mayor de esta línea de investigación es identificar nuevos inhibidores de las fosfatasa de los diferentes patógenos intracelulares en estudio, fortaleciendo el vínculo entre idóneos en bioquímica, síntesis orgánica y modelado molecular. Iniciamos con las fosfatasa PtpA y PtpB de M. tuberculosis, consideradas como posibles blancos para el desarrollo de nuevos fármacos. Para estas dos fosfatasa existen evidencias de su rol en la propagación de la infección en modelos animales. En el marco de esta línea una estudiante se graduó (L. Rodríguez) quién se benefició de una beca ANII de iniciación. Esta línea se ha beneficiado de una financiación de la CSIC I+D. Los resultados han sido difundidos en varios congresos uno de ellos recibiendo mención a mejor póster (ENAQUI-2013). Hasta ahora hemos logrado evaluar unas 60 moléculas, logrando obtener 4 moléculas, dos que inhiben específicamente a PtpB, una a PtpA y otra a ambas. Sin embargo, el grado de inhibición de la actividad fosfatasa no ha superado los reportados en la literatura, pero pensamos que las mismas podrán ser utilizadas como base para la síntesis de nuevas series a ser evaluadas. A lo largo de 2016 esperamos enviar el artículo científico con los resultados obtenidos.

*Equipos:* Mariana Margenat(Integrante); Gabriel Sagrera(Integrante); Fernando Herrera(Integrante); Lucia Rodriguez(Integrante); Gustavo Seoane (Integrante); Matías Maidana(Integrante); Florencia Ravel(Integrante)

*Palabras clave:* inhibidores; fosfatasa, tuberculosis; chalconas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Búsqueda de inhibidores de fosfatasa de M. tuberculosis

*Título:* Detección de bacterias no cultivables en agua potable

*Tipo de participación:* Integrante del Equipo

*Equipos:* Patrick Grimont(Integrante); Odile Bouvet(Integrante)

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Detección de bacterias patógenas

*Título:* Estudio de fosfatasa de tirosina de diferentes patógenos intracelulares.

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable

*Objetivo:* Las fosfatasa actúan generalmente sobre numerosos sustratos, regulando la función de diversas vías de señalización intracelular, proporcionando al patógeno un mecanismo versátil para interferir con las vías de señalización celular que se activan en respuesta a la infección. Nuestro grupo se encuentra focalizado en el estudio de las dos fosfatasa de tirosina de M. tuberculosis (PtpA y PtpB) y recientemente en la única del virus Orf (PTP-Orf), representantes de dos sub-familias dentro de las PTPs. El hecho que patógenos intracelulares distantes en la escala evolutiva compartan factores de virulencia, como lo son las fosfatasa de tirosina, despierta interés en estudiar cuáles son sus sustratos y las vías de señalización eucariotas moduladas, determinando cuales son los mecanismos implicados, sus diferencias y similitudes. -La PtpA de Mycobacterium tuberculosis. Mycobacterium tuberculosis, es el agente causal de la tuberculosis, una zoonosis de incidencia mundial que afecta a humanos, bovinos y otras especies. Las dos únicas tirosina fosfatasa de M. tuberculosis, PtpA y PtpB, han sido caracterizadas estructuralmente y son consideradas factores de virulencia y potenciales blancos de nuevos fármacos. Nuestro grupo logró recientemente identificar 4 potenciales sustratos eucariotas de PtpA, todos ellos relacionados a la producción de energía celular. Los resultados obtenidos hasta ahora fueron publicados en una revista de alto impacto en 2015, han sido recientemente citados por el grupo de reconocida trayectoria mundial en esta área y han abierto nuevas hipótesis de trabajo que esperamos explorar. -La Ptp del virus Orf. El virus Orf causa el Ectima Contagioso, una enfermedad proliferativa de la piel y mucosas que afecta principalmente ovinos y caprinos, ocasionalmente al hombre y al igual que la tuberculosis es una zoonosis. Su presencia en el rebaño supone pérdidas económicas importantes, las reinfecciones son frecuentes, lo que lleva a plantear la hipótesis que la expresión de factores de virulencia permiten evadir el sistema inmune, jugando un rol esencial en la interacción del virus con el hospedero. El virus Orf pertenece al género Parapoxvirus (Familia Poxviridae), posee una estructura compleja con un core proteico que lleva el genoma ADN. Es un virus que se caracteriza por tener un ciclo de replicación que ocurre íntegramente en el citosol de la célula que infecta. Dentro de esta familia viral se encuentra también el género Orthopoxvirus, siendo la especie tipo el virus Vaccinia y el virus de la Viruela. La fosfatasa en tirosina del virus Vaccinia y Viruela han sido muy estudiadas y su actividad se ha visto asociada a la evasión de la respuesta inmune. Nuestro grupo ha avanzado en el estudio de la fosfatasa del virus Orf, habiendo logrado producirla como proteína recombinante, caracterizar su actividad fosfatasa y recientemente resolver su estructura cristalográfica; resultados que serán enviados a comienzos de 2016 a JBC. Todos los estudios de la PTP-Orf que estamos abordando son pioneros en el género Parapoxvirus.

*Equipos:* Rosario Duran(Integrante); ANA MARIA FERREIRA(Integrante); Mariana Margenat(Integrante); Mabel Berois(Integrante); Eliana Segovia(Integrante); Dario Porley(Integrante); Danilo Segovia(Integrante); Vivian Irving(Integrante); Ggwenaelle Andre-Leroux(Integrante); Mahendra Mariadasso(Integrante)

*Palabras clave:* fosfatasa; Mycobacterium tuberculosis; virus ORF; señalización celular

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

Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Proteómica, búsqueda de blancos terapéuticos, tuberculosis

*Título:* Estudio de la regulación redox de las dos únicas fosfatasa en tirosina de *M. tuberculosis*.

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable

*Objetivo:* Dicha línea de investigación tiene como objetivo demostrar si existe o no una regulación de la actividad de las dos únicas tirosin fosfatasa de *M. tuberculosis* a través de la oxidación reversible de la cisteína catalítica (Cys responsable del ataque nucleofílico del sustrato). La idea de este proyecto comenzó en Brasil pero dado mi regreso a Uruguay, los los experimentos preliminares fueron realizados en Uruguay, gracias a la colaboración que aún continúa de la Dra. Madia Trujillo, el magíster Martin Hugo del Laboratório de Radicales libres, así como del Dr. Gerardo Ferrer de la Facultad de Ciencias.

*Equipos:* ALCIR DAFRE(Integrante); MADIA TRUJILLO(Integrante); ANDREA VILLARINO(Integrante); Gerardo Ferrer(Integrante); Martin Hugo(Integrante)

*Palabras clave:* fosfatasa en fosfotirosina; oxido reducción

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / BIOQUIMICA DE PROTEINAS/REGULACION ENZIMATICA

*Título:* Identificación in vitro de sustratos de las dos únicas fosfatasa en tirosina de *M. tuberculosis*

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable

*Objetivo:* Finalizado el post-doctorado y con la intención de acercarme a la región, regresé a Sudamérica como investigador visitante del CNPq del Departamento de Bioquímica y Departamento de Fisiología de la Universidad Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brasil (2005-2008). Durante dicho período mi objetivo fué introducir y desarrollar dos nuevas líneas de investigación, estableciendo colaboraciones con Uruguay y participando en la formación de recursos humanos. Una de las líneas de investigación implicó iniciar la búsqueda de sustratos de la fosfatasa de *M. tuberculosis*. Mi participación como responsable culminó en la defensa de la tesis de maestría de la estudiante de la cual fui tutora en la UFSC-Brasil. Hoy el proyecto continúa en Uruguay.

*Equipos:* MARCELA PURIFICAÇÃO(Integrante); Hernán Terenzi(Integrante); Ana María Ferreira(Integrante)

*Palabras clave:* Mycobacterium tuberculosis; señalización celular; quinasas; fosfatasa

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / BIOQUIMICA DE PROTEINAS/BUSQUEDA DE CIBLES TERAPEUTICOS

*Título:* Inmovilización de la proteasa TEV para uso en la eliminación del tag de proteínas recombinantes.

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable

*Objetivo:* Finalizado el post-doctorado y con la intención de acercarme a la región, regresé a Sudamérica como investigador visitante del CNPq. Durante dicho período mi objetivo fué introducir y desarrollar dos nuevas líneas de investigación, estableciendo colaboraciones con Uruguay y participando en la formación de recursos humanos. Una de las líneas de investigación fue la inmovilización de la proteasa TEV ha ser utilizada en la eliminación de la cola de histidina ("tag") de proteínas recombinantes de *T. cruzi* y *M. tuberculosis*. Mi participación como responsable culminó en la defensa de la tesis de maestría de la estudiante de la cual fui tutora en la UFSC-Brasil. Hoy el proyecto continúa en Uruguay en la Facultad de Química (Dra, Irazoqui como responsable) y mi rol es de asesora.

*Equipos:* Cecilia Giacomini(Integrante); Gabriela Irazoqui(Integrante); Hernán Terenzi(Integrante); ANA PUHL(Integrante)

*Palabras clave:* Inmovilización de proteínas; proteínas recombinantes; bioreactores

*Areas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Otras Ingenierías y Tecnologías / Otras Ingenierías y Tecnologías / QUIMICA DE PROTEINAS/INMOVILIZACION

*Título:* Optimización de métodos de detección de actividad enzimática de interés biotecnológico: marcadores de la inmunidad innata en esturión

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable

*Objetivo:* En esta línea intento volcar la experiencia que adquirí en la puesta en funcionamiento del laboratorio de Control de Biofármacos del Instituto Pasteur de Montevideo (bajo la dirección de QF Alejandro Ricciardi). La misma se basa en la puesta punto de diferentes ensayos bioquímicos y biológicos necesarios para la vigilancia de la salud animal, poniendo en práctica métodos que cumplan las normas de calidad de trabajo en el laboratorio, lo que facilita la transferencia de la investigación académica a al ámbito empresarial. Buscamos optimizar ensayos en placa de 96 pocillos, que permitan el análisis de un gran número de muestras. En 2013 junto a la Dra. Ana María Ferreira del Laboratorio de Inmunología del Instituto de Higiene, iniciamos la optimización del método de detección de actividad de la lisozima para ser aplicado en muestras de suero de esturión. La actividad de la lisozima es una de las varias actividades indicadoras de la respuesta inmune innata. La evaluación de esta actividad junto a la detección de otros componentes de la inmunidad innata (como la actividad de la vía alternativa del complemento, la actividad ceruloplasmina) han sido adaptados con éxito para su análisis en muestras de suero de esturión. Estas herramientas nos han permitido caracterizar la respuesta innata de los esturiones criados en Uruguay, confirmando ciertos factores de estrés, que han contribuido a la toma de decisiones de la empresa en lo que respecta al uso de suplementos alimenticios. Por otro lado nos han permitido profundizar en la inmunidad innata de estos peces, contribución que esperamos plasmar en un artículo científico en 2016 en una revista internacional de inmunidad de peces. Esta línea se ha beneficiado de un apoyo financiero obtenido gracias a un convenio y donación establecido con dos empresas nacionales (Biotech y Esturiones del Río Negro) y actualmente cuenta con la financiación de la ANII (Fondo Sectorial de Pesca).

*Equipos:* Ana María Ferreira (Integrante); Mauricio Castellano(Integrante); Valeria Silva(Integrante)

*Palabras clave:* esturión; inmunidad innata; lisozima; métodos rápidos

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

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Detección de proteínas de esturión implicadas en la inmunidad innata

*Título:* Señalización celular en M. tuberculosis mediada por Ser/Thr quinasas y fosfatasa. Análisis Bioquímico y estructural.

*Tipo de participación:* Integrante del Equipo

*Objetivo:* Una vez finalizado mi doctorado, tuve la inquietud de estudiar mecanismos fisiológicos bacterianos desde un aspecto más bioquímico, fue así que realicé tres años de post-doctorado en la "Unité de Biochimie Structurale" del Institut Pasteur-Paris, participando en el estudio bioquímico y estructural de diferentes quinasas y fosfatasa de tipo eucariota presentes en M. tuberculosis. El objetivo fue caracterizarlas bioquímicamente y estructuralmente tratando de identificar las características propias de cada una de éstas proteínas así como sus sustratos y mecanismos de actividad. Los resultados obtenidos estimularon la presentación de una patente (ver producción técnica) y la publicación de varios artículos científicos, entre otros una revisión. Trabajo dirigido por el Prof. Pedro Alzari. Las técnicas desarrolladas en dicho laboratorio fueron: clonado, obtención de mutantes, expresión y purificación de proteínas recombinantes mutadas y no mutadas (PknB, PstP, GarA), ensayos de cristalización de PstP, optimización de ensayos enzimáticos de quinasas y fosfatasa utilizando sustratos marcados radiactivamente; ultracentrifugación analítica y Biacore para análisis de complejos proteicos de enzima/sustrato, detección de sustratos de quinasas gracias a un marcado radioactivo y separación por electroforesis en dos dimensiones (2D-PAGE) y posterior identificación por espectrofotometría de masa. Los trabajos se beneficiaron de una estrecha colaboración con la Unidad de Genetique Moleculaire Bacterienne, de IP-Paris dirigida en ese momento por ST Cole (grupo que publicó el genoma de M. tuberculosis y M. leprae) y también de una colaboración con C. Cervenasky y Rosario Durán, ahora responsables de la UByPA del IPMon.

*Equipos:* Rosario Duran(Integrante); Annemarie Wehenkel(Integrante); Pablo Fernandez(Integrante); Pedro Alzari(Integrante); Brigitte Boitel(Integrante); Carlos Cervenasky(Integrante)

*Palabras clave:* Mycobacterium tuberculosis; señalización celular; quinasas y fosfatasa

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Proteómica, búsqueda de blancos terapéuticos, tuberculosis

## Proyectos

2015 - Actual

*Título:* Estudio bioquímico y funcional del factor de virulencia viral: la fosfatasa en tirosina del virus Orf, agente causal del ectima contagioso en ovinos., *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* Existen numerosas evidencias que demuestran que las fosfatasa de diversos patógenos intracelulares como los virus pueden actuar como factores de virulencia defosforilando residuos de proteínas de las células infectadas. En células eucariotas la fosforilación/defosforilación juega un rol crucial en la regulación del ciclo celular y en la modulación de la respuesta inmune frente a diferentes patógenos, por lo cual es extremadamente importante dilucidar cuáles son las vías de señalización que estos patógenos interfieren durante la infección. Nuestro interés está focalizado en la fosfatasa en tirosina del virus Orf (PTP-Orf) perteneciente al género Parapoxvirus (Familia Poxviridae). Este virus es el responsable del Ectima Contagioso, una enfermedad proliferativa de la piel y mucosas de gran importancia económica que afecta principalmente ovinos. Las reinfecciones son frecuentes y plantean la hipótesis de que la expresión de factores de virulencia que permiten evadir el sistema inmune tiene un rol esencial en la interacción del virus con el huésped. En este contexto la PTP-Orf es un buen candidato a estudio para determinar su rol en la interacción con componentes celulares. Además existen estudios estructurales y funcionales para su homóloga, la fosfatasa PTP-VH1 del virus Vaccinia, la cual se ha demostrado es esencial para la replicación del mismo. El objetivo general del presente proyecto es caracterizar el factor de virulencia PTP-Orf a nivel bioquímico y funcional. Para el abordaje de los objetivos obtendremos en forma recombinante la PTP-Orf para su posterior caracterización bioquímica, englobando estudios in vitro de cinética, estructurales y de aislamiento de posibles sustratos fisiológicos. Por otra parte, nos proponemos introducir la actividad fosfatasa del Virus Orf en las células blanco para estudiar su rol a nivel funcional y profundizar en la validación y búsqueda de sus sustratos eucariotas y las vías de señalización que modula. Para ello utilizaremos un sistema de transducción basado en vectores herpéticos de tipo amplición. El hecho de que no existan estudios previos de la PTP-Orf hace que todos los resultados obtenidos en el marco de este proyecto sean novedosos y aporten a comprender mejor la biología de este patógeno viral. Los conocimientos generados podrán ser utilizados en la identificación de moléculas que inhiban su actividad y puedan ser evaluados como potenciales antivirales en estrategias alternativas de control de esta enfermedad.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 1(Pregrado), 2(Maestría/Magister), 1(Doctorado)

*Equipo:* Mabel Berois(Responsable); Natalia Olivero(Integrante); Eliana Segovia(Integrante); Darío Porley(Integrante); Danilo Segovia(Integrante); Vivian Irving(Integrante); Ggwenaelle Andre-Leroux(Integrante)

*Financiadores:* Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Beca

Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

Facultad de Ciencias - UDeLaR / Apoyo financiero

*Palabras clave:* fosfatasa, virus; tirosin fosfatasa; virus ORF

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / caracterización de fosfatasa

2015 - Actual

*Título:* Estudio de las defensas innatas de Acipenser spp: nuevas herramientas para monitorear el estado sanitario de peces en establecimientos de piscicultura, *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* Este proyecto busca innovar a través del desarrollo de herramientas sensibles para el monitoreo del estado sanitario de los peces en establecimientos de piscicultura. Actualmente no existen en Uruguay instituciones públicas o privadas que ofrezcan métodos para evaluar alteraciones en la inmunidad de los peces. Esta es una carencia importante pues el diagnóstico temprano, tanto de inmunodeficiencias como de estados inflamatorios agudos, es fundamental para intervenir en el cultivo aplicando medidas que prevengan y/o controlen la aparición y propagación de infecciones. Estos métodos posibilitan también el estudio de factores de estrés ambiental, el potencial de complementos nutricionales que apunten a disminuir la dependencia y uso de antimicrobianos. Para abordar esta problemática utilizaremos como modelo una de las especies de mayor importancia para el sector acuícola en Uruguay: el Acipenser spp (esturión). Se trata de un pez de

gran valor comercial por la excelente calidad de su carne y porque sus huevas no fertilizadas o caviar constituyen un manjar culinario. La calidad de nuestro caviar nos está posicionando como uno de los países líderes a nivel mundial, abriendo oportunidades de desarrollo en este sector exportador no-tradicional. El control del estado sanitario de los esturiones resulta imprescindible para el crecimiento sostenido de la producción de caviar dado que durante las estaciones cálidas del año es frecuente la aparición de infecciones en las granjas. A diferencia de otras especies, el esturión es un pez pobremente estudiado a nivel de la respuesta inmune innata, barrera de defensa esencial en los peces para mantener la homeostasis e integridad de sus tejidos. Esta propuesta innovará generando conocimientos novedosos sobre marcadores moleculares útiles para monitorear el desarrollo de inflamación aguda en esturión y permitiendo la obtención de anticuerpos específicos contra estos marcadores para montar inmunoensayos y establecer los niveles normales e inflamatorios de dichos marcadores en suero. Desde Dic 2014 cuenta con financiación FPA(2013) por 18 meses. Me desempeño como co-responsable del proyecto junto a Ana Ferreira (Inmunología, Instituto de Higiene-Facultad de Ciencias).

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 1(Pregrado), 1(Especialización),

*Equipo:* Ana María Ferreira (Responsable); Mauricio Castellano(Integrante); Valeria Silva(Integrante)

*Financiadores:* Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Apoyo financiero

*Palabras clave:* piscicultura; esturiones; inmunidad innata

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Otros Tópicos Biológicos / actividades de proteínas asociadas a la inmunidad innata

2014 - Actual

*Título:* Estudios de la fosfatasa en tirosina PTP-Orf, factor de virulencia del virus Orf, agente causal del Ectima Contagioso en ovinos.,

*Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* Objetivo General Caracterizar el factor de virulencia PTP-Orf a nivel estructural y funcional. Objetivos específicos -Optimizar la producción en forma recombinante de la fosfatasa del virus Orf para su posterior caracterización bioquímica y cristalización que nos lleve a resolver su estructura tridimensional. El desarrollo de este punto implicará el uso de diferentes estrategias de expresión en Escherichia coli, técnicas de cromatografía, ensayos de cinética enzimática y de cristalización de proteínas salvajes y mutantes puntuales, así como del análisis de la difracción de RX. -Analizar la evolución filogénica de la PTP in silico: grado de conservación del gene ptp-Orf en comparación a sus homólogos presentes en otros patógenos intracelulares. Análisis de la conservación del dominio N-terminal de dimerización y los dominios que definen a las PTPs. Se caracterizará la estructura tridimensional de la PTP-Orf salvaje y mutantes obtenidas y se buscarán in silico inhibidores potenciales. - Introducir en un vector viral el gen de la fosfatasa del virus Orf con la finalidad de identificar y estudiar en un modelo celular eucariota los sustratos y las vías de señalización que dicha fosfatasa modularía. La metodología que se utilizará para este punto implica la construcción de un sistema de transducción basado en el virus del Herpes simple tipo 1 (vector tipo Amplicon). Dicho modelo será utilizado no sólo para evaluar el efecto funcional de la actividad PTP-Orf en las células eucariotas sino también como estrategia para identificar posibles sustratos.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 1(Pregrado), 2(Maestría/Magister), 1(Doctorado)

*Equipo:* Mabel Berois(Integrante); Natalia Olivero(Integrante); Eliana Segovia(Integrante); Darío Porley(Integrante); Danilo Segovia(Integrante); Vivian Irving(Integrante); Gwénaëlle ANDRÉ-LEROUX(Responsable); Mahendra MARIADASSOU(Integrante)

*Financiadores:* Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche / Apoyo financiero

*Palabras clave:* fosfatasas; virus ORF

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / proteínas, análisis estructural, filogenia

1996 - 1997

*Título:* Inmovilización de beta-galactosidasa, *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* Proyecto de biotecnología enzimática para el tratamiento de desechos de la industria láctea, utilizando beta-galactosidasa inmovilizada.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:* 1(Pregrado), 2(Doctorado)

*Equipo:* Francisco Batista-Viera(Integrante); Beatriz Brena(Integrante); ANDREA VILLARINO(Responsable)

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

*Palabras clave:* Inmovilización de proteínas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Inmovilización y estabilización de enzimas

1993 - 1997

*Título:* Inmovilización-estabilización de beta-galactosidasa para uso tecnológico., *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* Aproximación a diversas técnicas utilizadas en inmovilización (covalente y no covalente) y estabilización de enzimas monoméricas y multiméricas (inmovilización, entrecruzamiento con reactivos bi-funcionales, incubación con solventes orgánicos), inmovilización de proteínas en soportes orgánicos e inorgánicos.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:* 1(Pregrado), 2(Doctorado)

*Equipo:* Francisco Batista-Viera(Responsable); Beatriz Brena(Responsable); ANDREA VILLARINO(Integrante)

*Financiadores:* Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Remuneración

*Palabras clave:* Inmovilización de proteínas; estabilización de enzimas

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Inmovilización y estabilización de enzimas

1999 - 2001

*Título:* Caracterización de la viabilidad bacteriana, aproximación a la noción del estado viable pero no cultivable (Viable But Non Culturable, VBNC), *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* Actividades desarrolladas en el marco del doctorado, investigación que constituyó una nueva línea de investigación del laboratorio. Aproximación a diversas técnicas utilizadas en microbiología y bioquímica, tales como cultivo aerobio y anaerobio de bacterias, detección de diferentes especies bacterianas por hibridación in situ utilizando sondas específicas de ARNr marcadas con fluorocromos, detección por inmunofluorescencia, microscopía de epifluorescencia y citometría de flujo. Análisis de la viabilidad bacteriana utilizando marcadores fluorescentes que detectan actividades metabólicas (actividad esterasa, transporte de electrones, transporte de glucosa), integridad celular (integridad de membrana, presencia de ácidos nucleicos) o elongación celular. Estudio del flujo metabólico a través de la vía de las pentosas y la vía de Embden–Meyerhof, utilizando RMN y <sup>13</sup>C glucosa; transporte de glucosa in vivo utilizando <sup>14</sup>C glucosa; detección de síntesis de proteínas por incorporación de [<sup>35</sup>S] metionina.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 3(Doctorado)

*Equipo:* Patrick Grimont(Integrante); Odeile Bouvet(Responsable)

*Financiadores:* Institución del exterior / Direction des Recherches sur l'environnement de l'Institut Pasteur / Apoyo financiero

*Palabras clave:* contaminación bacteriana; viabilidad celular

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Detección de bacterias patógenas

## Sistema Nacional de Investigadores

2001 - 2001

*Título:* Relation between the beta-galactosidase activity and cellular viability in the determination of fecal coliform contamination, *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* Proyecto que se desarrolló gracias al establecimiento de una colaboración con la Cátedra de Bioquímica de la Facultad de Química de Montevideo-Uruguay y el laboratorio de control de aguas de la IMM, a través de un Proyecto ECOS-Sud, Uruguay-Francia.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 1(Maestría/Magister), 2(Doctorado)

*Equipo:* Odile Bouvet(Responsable); Ana Toribio(Integrante); Beatriz Brena(Responsable)

*Financiadores:* Institución del exterior / Programa ECOS-Sud / Cooperación

*Palabras clave:* detección de contaminación bacteriana en agua

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Detección de contaminación bacteriana

2002 - 2005

*Título:* Proyecto Europeo X-TB contract QLK2-CT-2001-02018, *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* Búsqueda de nuevos blancos terapéuticos contra la tuberculosis. Proyecto financiado por la Comunidad Europea. Implicó la participación de diversos equipos extranjeros de Alemania, Dinamarca, Suecia y Francia. Dicho proyecto me permitió participar en las reuniones de discusión internacionales. Mi participación fue en la línea de investigación sobre el estudio de quinasas y fosfatasa de M.tb., en especial en la búsqueda de sustratos de PknB, su mecanismo de actividad y la caracterización bioquímica de la fosfatasa Pstp.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 1(Maestría/Magister), 4(Doctorado)

*Equipo:* Annemarie Wehenkel(Integrante); Pablo Fernandez(Integrante); Pedro Alzari(Responsable); Brigitte Boitel(Integrante)

*Financiadores:* Institución del exterior / Comunidad Europea / Apoyo financiero

## Sistema Nacional de Investigadores

*Palabras clave:* quinasas y fosfatasa; Mycobacterium tuberculosis

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

2005 - 2007

*Título:* "Expressão, purificação e análise estrutural de proteínas de interesse em Saúde e Biotecnologia", *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* El proyecto científico que inicié y desarrollé en Brasil sobre la búsqueda de los sustratos de las tirosin fosfatasa de M. tuberculosis, permitió, junto a otro proyecto del laboratorio, la obtención de un financiamiento PROSUL, Programa Sul-Americano de Apoio às Atividades de Cooperação em Ciência e Tecnologia, Edital CNPq No. 40/2005, por un período de dos años, 2005-2007. Título del Proyecto: "Expressão, purificação e análise estrutural de proteínas de interesse em Saúde e Biotecnologia". Este proyecto permitió realizar 5 pasantías en diferentes laboratorios de Uruguay.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:* 1(Maestría/Magister),

*Equipo:* MARCELA PURIFICAÇÃO(Integrante); Hernán Terenzi(Responsable); ANDREA VILLARINO(Integrante); Javier Vernal(Integrante)

*Financiadores:* Institución del exterior / CNPq / Apoyo financiero

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

2005 - 2008

*Título:* Obtención de un derivado inmovilizado de la proteasa Tev para la eliminación de colas de histidina de proteínas recombinantes. ,  
*Tipo de participación:* Otros/Consultor, *Descripción:* El proyecto consistió en producir la proteasa-TEV recombinante, sintetizar diferentes matrices para la inmovilización covalente de dicha proteínas y la caracterización de los derivados de proteasa-inmovilizada (estabilidad, actividad, reuso). El biocatalizador obtenido permitió la eliminación del "tag" de histidina de proteínas recombinantes, siendo posible su reutilización en varios ciclos de "clivage", simplificando así los costos del proceso de purificación. Dicho proyecto permitió reanudar mi vínculo con Uruguay, en especial con las químicas y doctoras Gabriela Irazoqui y Cecilia Giacomini de Cátedra de Bioquímica, Montevideo, Uruguay, encargadas de la formación en lo que refiere a la síntesis de las matrices. En el marco de estos proyectos dirigió la tesis de maestría de la estudiante de la Posgraduación en Biotecnología de la UFSC Ana Puhl. Los resultados fueron publicados lo que motivó su continuación buscando mejorar aun mas dicho derivado de enzima-inmovilizada, ahora el proyecto es liderado en Uruguay por la Dra. Gabriela Irazoqui, para el cual fue solicitada financiación a la CSIC A la Comisión Sectorial de Investigación Científica Proyectos de I + D 2008, obtenida recientemente.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 1(Maestría/Magister), 4(Doctorado)

*Equipo:* Cecilia Giacomini(Integrante); Gabriela Irazoqui(Responsable); Hernán Terenzi(Integrante); Ana María Phul(Integrante)

*Financiadores:* Sin financiamiento / Otra

*Palabras clave:* inmovilización de proteínas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Inmovilización de proteínas

2008 - 2010

*Título:* Puesta en marcha de diferentes metodologías analíticas para el control biológico y fisicoquímico de diferentes biofármacos, *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* El laboratorio de Control de Biofármacos surge como una necesidad urgente de tener en Uruguay un laboratorio capaz de controlar la calidad de cierto tipo de medicamentos importados por Uruguay, los biofármacos. Dichos biofármacos son en su mayoría proteínas humanas producidas en bacterias o en líneas celulares eucariotas, por lo cual debemos asegurarnos la calidad de los mismos, evaluando entre otras cosas la pureza de los mismos, es decir la ausencia de elementos de factores de riesgo para la salud humana. El objetivo es determinar también si cada biofármaco estudiado presenta la actividad biológica reportada por el fabricante, para lo cual son utilizadas metodologías analíticas que permitan determinar la actividad biológica de cada uno de ellos, utilizando cultivos celulares y/o animales de experimentación como ratones. Los biofármacos que hemos analizado son interferón alfa y beta, el factor de crecimiento G-CSF y GM-CSF, IL-2, eritropoyetina (EPO), heparina, albúmina y ciertas inmunoglobulinas. Logramos que el laboratorio cumpla con las normas GLP (buenas prácticas de laboratorio), luego de haber recibido la formación adecuada. El LCB es hoy el primer laboratorio en Uruguay que brinda este tipo de servicio a la comunidad (MSP) así como a laboratorios privados. En 2009 fue reconocido por el MSP como laboratorio de referencia en éste tipo de control de medicamentos. Además del trabajo descrito he participado en la formación de recursos humanos y transferencia de conocimientos a la industria privada, como en la elaboración de proyectos de desarrollo (IPMon-Celcius), si bien éste último obtuvo financiamiento, debido a mi renuncia al laboratorio no participé en su ejecución.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:* 1(Pregrado),

*Equipo:* Alejandro Ricciardi(Responsable)

*Financiadores:* Otra institución nacional / Institut Pasteur de Montevideo / Apoyo financiero

*Palabras clave:* biofármacos; control de calidad de biofármacos

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Químicas / Química Analítica / Control de calidad de biofarmacos

2011 - 2013

*Título:* Identificación de sustratos y mecanismos de regulación de las dos únicas tirosina fosfatasa, PtpA y PtpB de Mycobacterium tuberculosis., *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* -Objetivo General Avanzar en el conocimiento de vías de señalización dirigidas por las dos únicas tirosinas fosfatasas de Mycobacterium tuberculosis, PtpA y PtpB. -Objetivos específicos - Identificar los sustratos de PtpA y PtpB aislados mediante una nueva metodología que combina la utilización del BIAcore y mutantes puntuales de las fosfatasas. -Caracterizar in vitro la interacción enzima-sustrato utilizando PtpA y PtpB y sustratos puros. - Demostrar si existe o no una regulación de la actividad PtpA y PtpB a través de la oxidación reversible de la cisteína catalítica. Principales contribuciones obtenidas como consecuencia del desarrollo del Proyecto. • Avanzamos en el conocimiento de los sustratos de PtpA y la vías de señalización eucariotas que parecen ser el blanco de esta fosfatasa bacteriana. • Logramos realizar actividades en el marco del proyecto que aseguraron la obtención de datos preliminares que servirán de base para la obtención de una nueva fuente de financiamiento que asegurará la continuidad de la temática. • Formamos recursos humanos que continúan estudios de posgrado en Uruguay y el extranjero (dos tesis de grado, una de doctorado cuya defensa es en Marzo 2016). • Participamos en dos cursos de posgrado (Modificaciones pos-traduccionales y Producción de Proteínas Recombinantes) donde hemos presentado y aplicado metodologías desarrolladas en el proyecto. • Fortalecimos las redes de colaboración nacional e internacional estableciendo un grupo multidisciplinario en el estudio de quinasas y fosfatasas de patógenos humanos. • Difundimos los resultados en varios congresos y en una publicación científica de alto impacto internacional.

*Tipo:* Investigación

*Alumnos:* 2(Pregrado), 1(Doctorado)

*Equipo:* Rosario Duran(Integrante); MADIA TRUJILLO(Integrante); Gerardo Ferrer(Integrante); Mariana Margenat(Integrante); Annemarie Labandera(Integrante); Ana Maria(Integrante); Lucia Rodriguez(Integrante)

*Financiadores:* Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Apoyo financiero

Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas / Apoyo financiero

Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Beca

*Palabras clave:* fosfatasas en tirosina; tuberculosis

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Búsqueda de sustratos y vías de señalización

2013 - 2014

*Título:* Hacia una Bioquímica en Línea, *Tipo de participación:* Integrante del Equipo, *Descripción:* Responsable Adriana Esteves. El mismo implica la puesta en marcha de videos que ayuden al Iiso estudiantes en el aprendizaje de la Bioquímica. Participan Ariana Esteves, Susana castro, Cora Chalar, Andrea Villarino, Claudio Martinez, Mario Senorale.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:*

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

2013 - 2015

*Título:* Chalconas como potentes inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis: síntesis, diseño racional y caracterización de nuevos compuestos., *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* A lo largo del proyecto sintetizamos cuarenta chalconas, algunas de ellas no reportadas aún y evaluamos sesenta en su poder inhibitorio de la actividad fosfatasa de PtpB y PtpA de M. tuberculosis. Las fosfatasas fueron producidas como proteínas recombinantes y el ensayo de actividad optimizado para la evaluación los compuestos. De la evaluación de las sesenta moléculas detectamos dos que inhiben exclusivamente a PtpB, una que inhibe a PtpA y una capaz de inhibir a ambas. El poder de inhibitorio de estas moléculas es aún leve si se compara con los mejores inhibidores reportados. El ensayo de actividad incluye un control negativo y positivo de inhibición que funcionaron correctamente. Sintetizamos también una chalcona reportada como inhibidor de PtpB y otra reportada como inhibidor de PtpA. En la evaluación de los mismos observamos que el inhibidor reportado de PtpB inhibe unas tres veces menos que lo reportado y el de PtpA no inhibe. La información in silico obtenida del acoplamiento molecular fosfatasa-chalcona la utilizamos para definir el lugar más favorable de un sustituyente a ser agregado en el proceso de síntesis orgánica, para analizar las energías de interacción y detalles moleculares y para definir mejoras en la chalconas. En el proyecto logramos realmente la interacción de las tres disciplinas implicadas con éxito y esperamos continuar en el futuro, evaluando moléculas de otra naturaleza o compuesto híbridos aprovechando también que disponemos no sólo de ensayo de actividad fosfatasa optimizado sino también de fosfatasas de otros patógenos intracelulares. Los resultados han sido difundidos en congresos científicos y esperamos enviarlos a publicar en 2016.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:* 2(Pregrado), 1(Doctorado)

*Equipo:* Andrea(Responsable); Gustavo(Integrante); Mariana(Integrante); Fernando Herrera(Integrante); Daniel Rodrigues(Integrante); Lucia Rodriguez(Integrante); Gabriel Sagrera(Integrante); Matías Maidana(Integrante); Florencia Ravel(Integrante)

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

*Palabras clave:* inhibidores; chalconas; fosfatasas; tuberculosis

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Farmacología y Farmacia / Drogas contra la tuberculosis

2013 - 2015

*Título:* Estudio de las defensas innatas de Acipenser spp: evaluación de inmunoestimuladores, *Tipo de participación:* Coordinador o Responsable, *Descripción:* El objeto del presente convenio aplica al establecimiento de una relación cuyo objetivo es la optimización de diferentes estrategias experimentales que permitan evaluar rápidamente la inmunidad innata de los esturiones. Así mismo se pretende evaluar el efecto de diferentes inmunoestimuladores, comercializados por Biotech, sobre la inmunidad innata de dichos peces. Las profesoras Adjuntas Ana Ferreira y Andrea Villarino, se desempeñaran como responsable y co-responsable, respectivamente.

*Tipo:* Desarrollo

*Alumnos:* 1(Maestría/Magister), 1(Especialización),

*Equipo:* Ana María Ferreira (Responsable); Mauricio Castellano(Integrante); Valeria Silva(Integrante)

*Financiadores:* Biotech Uruguay S.R.L / Apoyo financiero

Esturiones del Río Negro / Apoyo financiero

*Palabras clave:* inmunidad innata; complemento; lisozima; macrófagos

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular

## Producción científica/tecnológica

De 2008-2010, ocupé un cargo técnico en el IPMon que me permitió retornar a Uruguay y participar activamente en la creación del primer Laboratorio de Control de Biofármacos de nuestro país, bajo la dirección del QF A. Ricciardi. Si bien en este período no pude avanzar en las líneas de investigación iniciadas en Brasil, puse en funcionamiento diferentes protocolos bioquímicos y biológicos para el análisis de biofármacos, fundamentales para el inicio de las actividades de este laboratorio, único en Uruguay. A fines de 2010 logré insertarme en la Universidad inicialmente sólo con 10hs, luego en 2011 logré la consolidación de mi cargo, el reclutamiento de estudiantes y la obtención de financiación lo que me permitió comenzar con el desarrollo de las líneas de



investigación de las cuales hoy soy responsable. Hemos logrado avanzar en la búsqueda de sustratos eucariotas de la fosfatasa de tirosina PtpA, un importante factor de virulencia de *M. tuberculosis*. Publicamos en 2015 cuatro candidatos no reportados antes en la literatura, todos ellos implicados en la producción de energía. Tres de ellos son proteínas mitocondriales sintetizadas en el citosol, lo que hace al resultado extremadamente importante, ya que si bien en células y organismos infectados se han observado alteraciones en la función y proteómica mitocondrial, no existían aún publicaciones que sugirieran cuales son los efectores bacterianos responsables de dichos cambios. Por otro lado hemos determinado las constantes de reacción de las fosfatasas PtpA y PtpB de *M. tuberculosis*, con diferentes agentes oxidantes. Los valores obtenidos sugieren que éstas fosfatasas son difícilmente blancos del peroxinitrito y del peróxido de hidrógeno, sugiriendo que sea poco probable la existencia de una regulación por oxidación reversible, contrario a las generalizaciones que se encuentran en la literatura. En lo que respecta a la fosfatasa del virus Orf, los resultados obtenidos son muy importantes ya que constituirá la primera estructura de una fosfatasa del género Parapoxvirus y una de las primeras de fosfatasas virales. Por otro lado la detección de una triple especificidad de sustrato en esta fosfatasa viral, no reportada aún en sus homólogos virales, amplía el espectro de las vías eucariotas que pueden estar siendo moduladas. Por otro lado el conocimiento generado en lo que respecta a la evaluación de estado sanitario de los esturiones está siendo utilizado con éxito por las empresas involucradas y está generando un conjunto de resultados que publicaremos en breve y contribuirán al avance en esta área poco desarrollada sobre la inmunidad innata del esturión. Fuera de Uruguay el mayor logro fué la identificación de GarA como sustrato de la quinasa PknB, esencial para la vida de *M. tuberculosis*. El trabajo contribuyó al esclarecimiento del mecanismo molecular de éste tipo de quinasa bacterianas. Los resultados fueron publicados en 5 revistas de alto impacto. GarA, ha demostrado ser tan efectivo como sustrato que hoy en día ha remplazado el uso de sustratos comerciales en el mapeo de potenciales inhibidores contra este tipo de quinasa. Los resultados obtenidos motivaron la presentación de una patente (WO 2005007880).

## Producción bibliográfica

### Artículos publicados

#### Arbitrados

Completo

M. MARGENAT; AM LABANDERA; GIL M; F CARRIÓN; PURIFICAÇÃO M; G RAZZERA; MM PORTELA; OBAL G; TEREZI H; PRITSCH O; DURAN R; A.M. FERREIRA ; A VILLARINO

New potential eukaryotic substrates of the mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hints of a bacterial modulation of macrophage bioenergetics state.. *Nature Scientific Reports*, v.: 5 8819, p.: 1 - 11, 2015

*Palabras clave:* fosfatasas; *Mycobacterium tuberculosis*; sustratos eucariotas de fosfatasas bacterianas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / búsqueda de nuevos sustratos de fosfatasas

*Medio de divulgación:* Internet ; *Lugar de publicación:* UK ; *ISSN:* 20452322 ; *DOI:* 10.1038/srep08819

#### [pubmed](#)

El nombre de la revista es *Scientific Reports* (los editores es el grupo de *Nature*), pero en el sitio de la ANII figura como *Nature Scientific Reports*. En este paper soy corresponding author. The bacterial protein tyrosine phosphatase PtpA is a key virulence factor released by *Mycobacterium tuberculosis* in the cytosol of infected macrophages. So far only two unrelated macrophage components (VPS33B, GSK3a) have been identified as PtpA substrates. As tyrosine phosphatases are capable of using multiple substrates, we developed an improved methodology to pull down novel PtpA substrates from an enriched P-Y macrophage extract using the mutant PtpA D126A. This methodology reduced non-specific protein interactions allowing the identification of four novel putative PtpA substrates by MALDI-TOF-MS and nano LC-MS: three mitochondrial proteins - the trifunctional enzyme (TFP), the ATP synthase, and the sulfide quinone oxidoreductase - and the cytosolic 6-phosphofructokinase. All these proteins play a relevant role in cell energy metabolism. Using surface plasmon resonance, PtpA was found to bind immunopurified human TFP through its catalytic site since TFP-PtpA association was inhibited by a specific phosphatase inhibitor. Moreover, PtpA wt was capable of dephosphorylating immunopurified human TFP in vitro supporting that TFP may be a bona fide PtpA substrate. Overall, these results suggest a novel scenario where PtpA-mediated dephosphorylation may affect pathways involved in cell energy metabolism, particularly the beta oxidation of fatty acids through modulation of TFP activity and/or cell distribution.



Completo

MASCARELLO A.; CHIARADIA, L. D. ; VERNAL J; A VILLARINO; GUIDO RV; PENZZOLO P; POINER V; WONG D; NUNES, R. J. ; YUNES R.A.; ANDRICOPULO AD; AV-GAY Y; TERENZI H

Inhibition of Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatase PtpA by synthetic chalcones: kinetics, molecular modeling, toxicity and effect on growth. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, v.: 18 11, p.: 3783 - 3789, 2010

*Palabras clave:* chalconas; tuberculosis; fosfatasa

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Búsqueda de drogas

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 09680896

Artículo seleccionado para comimir en el Prêmio Péter Muranyi 2011 (Brasil), resolución 02/2011. Tuberculosis (TB) is a major cause of morbidity and mortality throughout the world, and it is estimated that one-third of the world's population is infected with Mycobacterium tuberculosis. Among a series of tested compounds, we have recently identified five synthetic chalcones which inhibit the activity of M. tuberculosis protein tyrosine phosphatase A (PtpA), an enzyme associated with M. tuberculosis infectivity. Kinetic studies demonstrated that these compounds are reversible competitive inhibitors. In this work we also carried out the analysis of the molecular recognition of these inhibitors on their macromolecular target, PtpA, through molecular modeling. We observed that the predominant determinants responsible for the inhibitory activity of the chalcones are the positions of the two methoxyl groups at the A-ring, that establish hydrogen bonds with the amino acid residues Arg17, His49, and Thr12 in the active site of PtpA, and the substitution of the phenyl ring for a 2-naphthyl group as B-ring, that undergoes  $\pi$  stacking hydrophobic interaction with the Trp48 residue from PtpA. Interestingly, reduction of mycobacterial survival in human macrophages upon inhibitor treatment suggests their potential use as novel therapeutics. The biological activity, synthetic versatility, and low cost are clear advantages of this new class of potential tuberculostatic agents.



SCOPUS Sistema Nacional de Investigadores

Completo

ENGLAND P; WEHENKEL, A.; MARTINS S; HOOS S; ANDRE-LEROUX G; A VILLARINO; ALZARI, P.M.

The FHA-containing protein GarA acts as a phosphorylation-dependent molecular switch in mycobacterial signaling.. *Febs Letters*, v.: 2583, p.: 301 - 307, 2009

*Palabras clave:* Mycobacterium tuberculosis; Fork-head associated (FHA) domains ; Ser/Thr protein kinases

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular en bacterias

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 00145793

Fork-head associated (FHA) domains are widely found in bacteria, but their cellular functions remain unclear. Here, we focus on Mycobacterium tuberculosis GarA, an FHA-containing protein conserved in actinomycetes that is phosphorylated by different Ser/Thr protein kinases. Using various physicochemical approaches, we show that phosphorylation significantly stabilizes GarA, and that its FHA domain interacts strongly with the phosphorylated N-terminal extension. Altogether, our results indicate that phosphorylation triggers an intra-molecular protein closure, blocking the phosphothreonine-binding site and switching off the regulatory properties of GarA. The model can explain the reported functions of this mycobacterial protein as regulator of glycogen degradation and glutamate metabolism.



SCOPUS

Completo

PUHL A; GIACOMINI C; IRAZOQUI G; BATISTA-VIERA, F ; A VILLARINO; TERENZI H

Covalent immobilization of tobacco-etch-virus NIa protease: a useful tool for cleavage of the histidine tag of recombinant proteins.. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, v.: 53 53, p.: 165 - 174, 2009

*Palabras clave:* inmovilización de proteínas; TEV-proteasa; proteínas recombinantes; etiquetas de afinidad

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

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 08854513

Introduje esta línea de investigación y dirigí el trabajo y escritura, siendo la 'corresponding author' de dicho artículo. Abstract Addition of tags (as His-tags) is extremely helpful for the affinity-purification of recombinant proteins. In several cases these tags must be removed before performing functional and structural studies. The enzyme most frequently used to cleave tags of recombinant proteins is the Tobacco Etch Virus NIa protease (TEV-protease). The continuous production of this enzyme in soluble form is a quite expensive process and not easily accessible to many laboratories. Thus, an interesting alternative is the use of TEV-protease in an immobilized form, which may be reutilized several times. The main objective of the present study was to obtain a TEV-protease in an immobilized form, by covalent immobilization onto solid supports through selective use of different amino acid residues, lysine or cysteine. High protein immobilization yields (75-97%) were obtained with both strategies. The TEV-protease immobilized through its exposed cysteine thiol groups maintained its ability in cleaving a 20kDa substrate. While the activity of the immobilized TEV-protease maintained only 30% of the activity of the enzyme in soluble form, its stability at 4°C was improved three times. Moreover, this enzyme could be reutilized in at least five cycles of cleavage without loss of performance. The present results indicate that the use of a TEV-protease in an immobilized form is a potentially useful tool for the cleavage of His-tags of recombinant proteins, and may represent an advantage to reduce the cost of the total process of cleavage.



SCOPUS

Completo

C G CANGAHUALA-INOCENTE; A VILLARINO; D SEIXAS; DUMAS-GAUDOT E; TEREZI H; P M GUERRA

Differential proteomic analysis of developmental stages of *Acca sellowiana* somatic embryos. . *Acta Physiologiae Plantarum*, v.: 31 3, p.: 501 - 514, 2009

*Palabras clave:* 2-DE/MALDI-TOF/MS

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

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 01375881

**Abstract** Feijoa (*Acca sellowiana*, Myrtaceae), a native fruit species from southern Brazil and northern Uruguay, is considered to constitute a reference system for somatic embryogenesis in woody dicots. This in vitro regenerative pathway is an efficient micropropagation method, and a suitable model system for studies in plant developmental physiology. This study attempts to detect and identify proteins that are expressed during the different developmental stages of somatic embryos of *A. sellowiana*. Using high resolution two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2-DE), a high degree of similarity between protein profiles of the assayed somatic embryos was observed. Of the 74 different protein spots extracted for analysis, 60 were identified by means of 2-DE/MALDI-TOF/MS. Twelve proteins were expressed in all the assayed stages. Ten proteins were expressed in the initial stages and 22 proteins were expressed in the mature developmental stages of somatic embryos. Only one protein was expressed exclusively in the torpedo stage, whereas four were expressed in the pre-cotyledonary, and none in the cotyledonary stage. The proteins identified were involved in the synthesis of phenylalanine ammonia-lyase, a conspicuous polyphenol present in the induction of feijoa embryogenic cultures. The presence of essential proteins of nitrogen metabolism, such as the cytosolic glutamine synthetase protein, was also observed. The physiological implications of these findings are discussed.



SCOPUS

Sistema Nacional de Investigadores

Completo

CHIARADIA, L. D. ; MASCARELLO, A. ; PURIFICACAO, M. ; CORDEIRO, M. N. S.; ZENTENO, M. E.; A VILLARINO; NUNES, R. J. ; YUNES R.A.; TEREZI, H.

Synthetic chalcones as efficient inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase PtpA. . *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.: 23 18, p.: 6227 - 6230, 2008

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

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 0960894X



SCOPUS

Completo

WEHENKEL, A.; BELLINZONI M; SCHAEFFER F; A VILLARINO; ALZARI, P.M.

Structural and binding studies of the three-metal center in two mycobacterial PPM Ser/Thr protein phosphatases. . *Journal of Molecular Biology*, v.: 374, p.: 890 - 898, 2007

*Palabras clave:* Ser/Thr phosphatases

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Enfermedades Infecciosas / BIOQUIMICA DE PROTEINAS

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 00222836 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

Phospho-Ser/Thr protein phosphatases (PPs) are dinuclear metalloenzymes classed into two large families, PPP and PPM, on the basis of sequence similarity and metal ion dependence. The archetype of the PPM family is the  $\alpha$  isoform of human PP2C (PP2C $\alpha$ ), which folds into an  $\alpha/\alpha$  domain similar to those of PPP enzymes. The recent structural studies of three bacterial PPM phosphatases, *Mycobacterium tuberculosis* MtPstP, *Mycobacterium smegmatis* MspP, and *Streptococcus agalactiae* STP, confirmed the conservation of the overall fold and dinuclear metal center in the family, but surprisingly revealed the presence of a third conserved metal-binding site in the active site. To gain insight into the roles of the three-metal center in bacterial enzymes, we report structural and metal-binding studies of MtPstP and MspP. The structure of MtPstP in a new trigonal crystal form revealed a fully active enzyme with the canonical dinuclear metal center but without the third metal ion bound to the catalytic site. The absence of metal correlates with a partially unstructured flap segment, indicating that the third manganese ion contributes to reposition the flap, but is dispensable for catalysis. Studies of metal binding to MspP using isothermal titration calorimetry revealed that the three Mn<sup>2+</sup>-binding sites display distinct affinities, with dissociation constants in the nano- and micromolar range for the two catalytic metal ions and a significantly lower affinity for the third metal-binding site. In agreement, the structure of inactive MspP at acidic pH was determined at atomic resolution and shown to lack the third metal ion in the active site. Structural comparisons of all bacterial phosphatases revealed positional variations in the third metal-binding site that are correlated with the presence of bound substrate and the conformation of the flap segment, supporting a role of this metal ion in assisting enzyme-substrate interactions.



SCOPUS

Completo

WEHENKEL, A.; BELLINZONI M; GRANA M; DURAN R; A VILLARINO; FERNANDEZ P; ANDRE-LEROUX G; ENGLAND P; TAKIFF H; CERVENANSKY, C; COLE ST.; ALZARI, P.M.

Mycobacterial Ser/Thr Protein Kinases and Phosphatases: Physiological Roles and Therapeutic Potential. . *Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, v.: 1784, p.: 193 - 202, 2007

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Enfermedades Infecciosas / BIOQUIMICA DE PROTEINAS

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 01674838 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

Reversible protein phosphorylation is a major regulation mechanism of fundamental biological processes, not only in eukaryotes but also in bacteria. A growing body of evidence suggests that Ser/Thr phosphorylation play important roles in the physiology and virulence of *Mycobacterium tuberculosis*, the etiological agent of tuberculosis. This pathogen uses 'eukaryotic-like' Ser/Thr protein kinases and phosphatases not only to regulate many intracellular metabolic processes, but also to interfere with signaling pathways of the infected host cell. Disrupting such processes by means of selective inhibitors may thus provide new pharmaceutical weapons to combat the disease. Here we review the current knowledge on Ser/Thr protein kinases and phosphatases in *M. tuberculosis*, their regulation mechanisms and putative substrates, and we explore their therapeutic potential as possible targets for the development of new anti-mycobacterial compounds.

Completo

A VILLARINO; DURAN R; WEHENKEL, A.; FERNANDEZ P; ENGLAND P; BRODIN P; COLE ST.; ZYMNARNAT, U; JUNGBLUT, PR; CERVENANSKY, C; ALZARI, P.M.

Proteomic identification of *M. tuberculosis* protein kinase substrates: PknB recruits GarA, a FHA domain-containing protein, through activation loop-mediated interactions.. *Journal of Molecular Biology*, v.: 350 5, p.: 953 - 963, 2005

*Palabras clave:* tuberculosis, proteómica, quinasas

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

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 00222836 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

Genes for functional Ser/Thr protein kinases (STPKs) are ubiquitous in prokaryotic genomes, but little is known about their physiological substrates and their actual involvement in bacterial signal transduction pathways. We report here the identification of GarA (Rv1827), a Forkhead-associated (FHA) domain-containing protein, as a putative physiological substrate of PknB, an essential Ser/Thr protein kinase from *Mycobacterium tuberculosis*. Using a global proteomic approach, GarA was found to be the best detectable substrate of the PknB catalytic domain in non-denatured whole-cell protein extracts from *M. tuberculosis* and the saprophyte *Mycobacterium smegmatis*.

Enzymological and binding studies of the recombinant proteins demonstrate that docking interactions between the activation loop of PknB and the C-terminal FHA domain of GarA are required to enable efficient phosphorylation at a single N-terminal threonine residue, Thr22, of the substrate. The predicted amino acid sequence of the garA gene, including both the N-terminal phosphorylation motif and the FHA domain, is strongly conserved in mycobacteria and other related actinomycetes, suggesting a functional role of GarA in putative STPK-mediated signal transduction pathways. The ensuing model of PknB–GarA interactions suggests a substrate recruitment mechanism that might apply to other mycobacterial kinases bearing multiple phosphorylation sites in their activation loops.



Completo

DURAN R; A VILLARINO; WEHENKEL, A.; FERNANDEZ P; BOITEL, B; COLE ST.; ALZARI, P.M.

Conserved autophosphorylation pattern in activation loops and juxtamembrane regions of *Mycobacterium tuberculosis* Ser/Thr protein kinases. . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.: 333, 2005

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

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 0006291X ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

The identification of phosphorylation sites in proteins provides a powerful tool to study signal transduction pathways and to establish interaction networks involving signaling elements. Using different strategies to identify phosphorylated residues, we report here mass spectrometry studies of the entire intracellular regions of four 'receptor-like' protein kinases from *Mycobacterium tuberculosis* (PknB, PknD, PknE, and PknF), each consisting of an N-terminal kinase domain and a juxtamembrane region of varying length (26–100 residues). The enzymes were observed to incorporate different numbers of phosphates, from five in PknB up to 11 in PknD or PknE, and all detected sites were dephosphorylated by the cognate mycobacterial phosphatase PstP. Comparison of the phosphorylation patterns reveals two recurrent clusters of pThr/pSer residues, respectively, in their activation loops and juxtamembrane regions, which have a distinct effect on kinase activity. All studied kinases have at least two conserved phosphorylated residues in their activation loop and mutations of these residues in PknB significantly decreased the kinase activity, whereas deletion of the entire juxtamembrane regions in PknB and PknF had little effect on their activities. These results reinforce the hypothesis that mycobacterial kinase regulation includes a conserved activation loop mechanism, and suggest that phosphorylation sites in the juxtamembrane region might be involved in putative kinase-mediated signaling cascades.



Completo

MATEO, C; ABIAN O; BERNEDO M; CUENCA E; FUENTES M; FERNANDEZ-LORENTE G ; PALOMO J.M.; GRAZU V.; PESSELA B.B.C.; GIACOMINI C; IRAZOQUI G; A VILLARINO; OVSEJEVI K; BATISTA-VIERA F; FERNANDEZ-LAFUENTE R.; GUISÁN J.M  
Some special features of glyoxyl supports to immobilize proteins. *Enzyme and Microbial Technology*, v.: 37, p.: 456 - 462, 2005

*Areas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Otras Ingenierías y Tecnologías / Otras Ingenierías y Tecnologías / ENZIMOLOGIA

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 01410229 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos



SCOPUS

Completo

A VILLARINO; RAGER, M. N; GRIMONT, P. A. D.; BOUVET, OMM

Are Uv-Induced Non-Culturable Escherichia Coli K-12 Alive Or Dead ? . *European Journal of Biochemistry*, v.: 12, p.: 2689 - 2695, 2003

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Microbiología

*Medio de divulgación:* Papel ; ISSN: 00142956 ; Idioma/Pais: Español/Uruguay



SCOPUS

Completo

## Sistema Nacional de Investigadores

A VILLARINO; TORIBIO, A.; BRENA B; GRIMONT, P. A. D.; BOUVET, OMM

On the relationship between the physiological state of bacteria and rapid enzymatic assays of fecal coliforms in the environment. . *Biotechnology Letters*, v.: 16, p.: 1329 - 1334, 2003

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Biotecnología relacionada con la Salud / Microbiología

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 01415492 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

Culturable cells and non-culturable cells of fecal coliforms, obtained by irradiation at 312 nm were submitted to the combined stress conditions of salinity and starvation. After 14 days, -galactosidase activity of UV-irradiated cells was at least twice the value of non-irradiated cells. UV-irradiated cells thus contribute more than non-irradiated cells to the enzyme assay after incubation in saline water. This finding is essential for the interpretation of quantitative investigations into the environment using enzymatic methods.



SCOPUS

Completo

IRAZOQUI G; A VILLARINO; BATISTA-VIERA F; BRENA B

Generating favorable nano-environments for thermal and solvent stabilization of immobilized beta-galactosidase.. *Bioengineering and Biotechnology*, v.: 77, p.: 430 - 434, 2002

*Areas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Otras Ingenierías y Tecnologías / Otras Ingenierías y Tecnologías / Inmovilizacion de enzimas

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 00063592 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

Abstract -Galactosidase (*Escherichia coli*) was immobilized through its thiol groups on thiol-sulfinate-agarose gel. After enzyme immobilization, different nano-environments were generated by reacting the excess of gel-bound thiol-sulfinate moieties with 2-mercaptoethanesulfonic acid (S-gel), glutathione (G-gel), cysteamine (C-gel), and mercaptoethanol (M-gel). Concerning thermal stability at 50°C, the G-gel and the M-gel derivatives were the most stable with residual activity values of 67% and 45%, respectively. The stability in several solvent systems was studied: ethyl acetate (1.6% vol/vol), ethylene glycol (50% vol/vol), and 2-propanol (50% vol/vol). In ethyl acetate, both the M-gel and S-gel were highly stabilized; the time required for activity to decay to 80% of the initial activity was increased 29-fold for the M-gel and 20-fold for the S-gel with respect to the soluble enzyme. The G-gel was the least stable of all the derivatives. The different behaviors of the derivatives in thermal and solvent stability studies suggest that each nano-environment contributes differently to the enzyme stability, depending on the denaturing conditions. Therefore, it may be possible to tailor the matrix surface to maximize enzyme stability in particular applications. © 2002 John Wiley & Sons, Inc. *Biotechnol Bioeng* 77: 430-434, 2002; DOI 10.1002/bit.10109



SCOPUS

Completo

A VILLARINO; BOUVET, OMM; REGNAULT B; MARTIN-DELAUTRE S; GRIMONT, P. A. D.

Exploring the frontier between life and death in bacteria: evaluation of different viability markers in live, heat- or UV-killed Escherichia coli K12 cells. *Research in Microbiology*, v.: 151, p.: 755 - 768, 2000

*Palabras clave:* viabilidad celular; vida y muerte en bacterias

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Fisiología bacteriana

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 09232508 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos

A number of methods have been proposed to assess the viability of cells without culture. Each method is based on criteria that reflect different levels of cellular integrity or functionality. As a consequence, the interpretation of viability is often ambiguous. The purposes of this work were to evaluate the capacity of current viability markers to distinguish between live and dead Escherichia coli K-12 cells. Methods that assess 'viability' by the demonstration of metabolic activities (esterase activity, active electron transport chain, transport of glucose), cellular integrity (membrane integrity, presence of nucleic acids) or the building up of cellular material (cell elongation) have been evaluated in live and UV- or heat-killed cells. With live cells, viability markers detected cells in counts similar to the colony count. However, these so-called viability markers could stain dead cells for some time after the lethal treatment. For the UV-killed cells, residual activities were detected even after 48 h of storage at 20 °C. However, for heat-treated cells, these activities disappeared within hours after heat treatment. Only a combination of fluorescence in situ hybridization with rRNA probes and cell elongation in response to nutrients (in the presence of an inhibitor of cell division) had the ability to differentiate live from dead cells. Problems in the definition of a viable but nonculturable state are in part due to the lack of a clear definition of bacterial death. We consider death as an irreversible state where no growth, cell elongation or protein synthesis may occur.



Sistema Nacional de Investigadores

Completo

A VILLARINO; BOUVET, OMM; REGNAULT B; DELAUTRE S; GRIMONT, P. A. D.

Cellular activities in ultra-violet killed Escherichia coli. . *International Journal of Food Microbiology*, v.: 55, p.: 245 - 247, 2000

*Palabras clave:* inactivación de bacterias; marcadores fluorescentes de actividades celulares

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Fisiología bacteriana

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 01681605 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos



SCOPUS

Completo

FERNANDEZ-LAFUENTE R.; RODRIGUEZ V; MATEO C; PENZOL G; HERNANDEZ-JUSTIZ O; IRAZOQUI G; A VILLARINO; OVSEJEVI K; BATISTA-VIERA F; GUIZÁN J.M

Stabilisation of multimeric enzymes via immobilisation and post-immobilisation techniques. *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, v.: 7, p.: 181 - 189, 1998

*Palabras clave:* estabilización de enzimas; inmovilización de proteínas

*Areas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Otras Ingenierías y Tecnologías / Otras Ingenierías y Tecnologías / Biotecnología

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 13811177 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos



SCOPUS

Sistema Nacional de Investigadores

Completo

GIACOMINI C; A VILLARINO; FRANCO-FRAGUAS L; BATISTA-VIERA F

Immobilization of beta-galactosidase from Kluyveromyces lactis on silica and agarose: comparison of different methods. . *Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic*, v.: 4, p.: 313 - 313, 1998

*Palabras clave:* Inmovilización de proteínas

*Areas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Otras Ingenierías y Tecnologías / Otras Ingenierías y Tecnologías / Biotecnología

*Medio de divulgación:* Internet ; ISSN: 13811177 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos



SCOPUS

Completo

IRAZOQUI G; A VILLARINO; BATISTA-VIERA F; BRENA B

Activity and stability of E.coli beta-galactosidase in cosolvent systems. . Biotechnology Letters, v.: 12, p.: 885 - 888, 1998

Áreas del conocimiento: Ingeniería y Tecnología / Biotecnología Industrial / Bioprosesamiento Tecnológico, Biocatálisis, Fermentación / INMOVILIZACION

Medio de divulgación: Internet ; ISSN: 01415492 ; Idioma/Pais: Inglés/Estados Unidos



## Artículos aceptados

## Documentos de Trabajo

Completo

A VILLARINO

Este trabajo engloba parte de los resultados obtenidos en el FCE\_2009\_2631 sobre la reactividad de las fosfatasa de M. tuberculosis cpn diferentes agentes oxidantes y será enviado a Free Radic Biol Med. en breve. Seré la última autora y la corresponding author.

## Trabajos en eventos

Resumen

# Sistema Nacional de Investigadores

V SILVA-ALVAREZ; M CASTELLANO; E FERNÁNDEZ-LÓPEZ; V MAURIS; D CONIJESKI; A VILLARINO; A.M. FERREIRA  
AQUACULTURE OF RUSSIAN STURGEON IN URUGUAY: DECREASE OF THE INNATE DEFENSES IN SUMMER AND ITS ASSOCIATION WITH HIGH TEMPERATURES , 2016

Evento: Internacional , 2nd International Conference of Fish & Shellfish Immunology , Portland-Maine , 2016

Anales/Proceedings: 2nd International Conference of Fish & Shellfish Immunology Arbitrado: SI

Palabras clave: esturión; estrés; lisozima

Medio de divulgación: Internet;

Biotech Uruguay S.R.L / Apoyo financiero; Esturiones del Río Negro / Apoyo financiero; Agencia Nacional de

Investigación e Innovación / Apoyo financiero

Es en el mes de junio, y el trabajo fué seleccionado para se presentado en forma oral. Al congreso iremos Ana María Ferreira y Andrea Villarino

Resumen

A VILLARINO; MARGENAT; IRVING; A.M. FERREIRA; A RAMÓN; F CARRIÓN; D PORLEY

La enzima humana clave en la oxidación de ácidos grasos, la proteína trifuncional TFP (ECHA/ECHB) como blanco de la fosfatasa en tirosina PtpA de Mycobacterium tuberculosis. M , 2016

Evento: Regional , ALAM CAM 2016, SLAM TB , Rosario Argentina , 2016

Anales/Proceedings: <http://alam-cam2016.posterselectronicos.com/> Arbitrado: SI

Medio de divulgación: Internet;

<http://alam-cam2016.posterselectronicos.com/>

Resumen

M. MARGENAT; D SEGOVIA; D PORLEY; V IRVING; A RAMÓN; G ANDRÉ-LEROUX; A.M. FERREIRA; BEROIS M; A VILLARINO

Decoding the signaling pathways modulated by phosphatases of intracellular pathogens , 2015

Evento: Internacional , Europhosphatase 2015: Phosphorylation switches and cellular homeostasis , Turku Finlandia , 2015

Anales/Proceedings: Phosphorylation switches and cellular homeostasis , 107 , 107 Arbitrado: SI

Editorial: Turku

Palabras clave: tyrosine phosphatase

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

Medio de divulgación: Internet;

Financiación/Cooperación: Facultad de Ciencias - UDeLaR / Apoyo financiero

[events.embo.org/15-europhosphatase](http://events.embo.org/15-europhosphatase)

Several evidences show that bacterial and viral PTPs act as virulence factors dephosphorylating eukaryotic proteins critical to cell cycle, altering metabolic and/or inflammatory responses of cells. Our interest is focused on the functional characterization of two PTPs of intracellular pathogens: PtpA of Mycobacterium tuberculosis, and the only PTP of the Orf virus. The Orf virus is responsible for contagious pustular dermatitis disease of sheep, goats and humans. The viral PTP Orf has a 40% sequence homology with the VH1 phosphatase of Vaccinia virus, crucial for the viability and replication of the viral particle, and the blocking of interferon gamma signaling in the host. Our work seeks to characterize the Orf

virus phosphatase to go through elucidate its role during the viral infection. By an *in silico* and experimental approach we demonstrated that the Orf phosphatase is a dimer in solution involving the amino terminal region, and the essentiality of the Cys 112 for the activity. The bacterial PtpA is a key virulence factor released by *Mycobacterium tuberculosis* in the cytosol of infected macrophages. PtpA shows 37% of sequence identity and high structural similarity to its human orthologue HCPTPB. Our group recently identified four novel putative PtpA substrates, all related to energy metabolism: three mitochondrial proteins - the trifunctional enzyme, the ATP synthase, and the sulfide quinone oxidoreductase - and the cytosolic 6-phosphofructokinase. These substrates were isolated by an improved methodology to pull down novel PtpA substrates from an enriched P-Y macrophage extract, using the mutant PtpA D126A. By different approaches we are addressing the validation of these proteins candidates as PtpA substrates. We believe that our work may contribute to understanding which is the role of PTP in pathogen adaptation to host macrophages, and at the same time, it sheds light into novel targets of eukaryotic orthologous phosphatases, as HCPTPB.

#### Resumen

D SEGOVIA; E SEGOVIA; OLIVERO N; G. ANDRE-LEROUX; BEROIS M; A VILLARINO

#### BIOCHEMICAL AND STRUCTURAL CHARACTERIZATION OF THE UNIQUE PHOSPHATASE OF ORF VIRUS , 2015

Evento: Internacional , 23rd Congress of the International Union for Biochemistry and Molecular Biology 44th Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology , Foz de Iguacu , 2015

Anales/Proceedings: 23rd Congress of the International Union for Biochemistry and Molecular Biology 44th Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology Arbitrado: SI

Palabras clave: Orf virus; phosphatase

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

Medio de divulgación: Internet;

Sistema Nacional de Investigadores  
Facultad de Ciencias - UDeLaR / Apoyo financiero; Sociedad Uruguaya de Biociencias / Apoyo financiero

[http://www.sbbq.org.br/iubmb2015/?page\\_id=1309](http://www.sbbq.org.br/iubmb2015/?page_id=1309)

The Orf virus (prototype of the Parapoxvirus genus) is responsible for contagious pustular dermatitis disease of sheep, goats and humans. Orf disease has a relevant significance in the ovine production because of its highly contagious nature and the elevated rate of reinfections. The understanding of viral mechanisms of immune suppression is of great interest for developing new methods to control the disease. In the genome of Orf virus there is an open reading frame coding for a tyrosine phosphatase, with a 40% sequence homology with the VH1 phosphatase of Vaccinia virus. VH1 phosphatase is crucial for the viability and replication of the viral particle, and the blocking of interferon gamma signaling in the host. Our work seeks to characterize the Orf virus phosphatase to go through elucidate its role during the viral infection. The phosphatase was cloned from genomic DNA into the expression vector pET28a. Mutants in the active site (C112S) and in the putative dimerization domain (D20Nt) of the phosphatase were generated by site directed mutagenesis. The recombinant proteins were expressed in *E. Coli* BL21 (DE3) and purified by IMAC and the oligomerization state analyzed by molecular exclusion chromatography. Enzymatic characterization was performed using the artificial substrate pNPP and proteins phosphorylated in Tyr or Thr. A homology molecular model of the protein structure was constructed. By an *in silico* and experimental approach we demonstrated that the Orf phosphatase was a dimer in solution involving the amino terminal region, and the essentiality of the Cys 112 for the activity. Crystallization assays were initiated with the wild type and the activity mutant C112S.

#### Resumen expandido

M MAIDANA; RODRIGUEZ L; F RAVEL; G. SEOANE ; RODRIGUES D; HERRERA F; A VILLARINO

Chalconas como potentes inhibidores de las dos únicas fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis*: síntesis, diseño racional y caracterización de nuevos compuestos , 2015

Evento: Nacional , ENAQUI 4 , Montevideo , 2015

Anales/Proceedings: CUARTO ENCUESTRO NACIONAL DE QUÍMICA Arbitrado: SI

Palabras clave: fosfatasa; M. tuberculosis; inhibidores

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

Medio de divulgación: Internet;

Financiación/Cooperación: Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

file:///C:/Users/Andrea/Downloads/Libro\_de\_Resumenes\_ENAQUI4%20(1).pdf

*Mycobacterium tuberculosis* escapa a la respuesta inmune del hospedero logrando sobrevivir y multiplicarse y dentro de los macrófagos humanos. Las dos únicas fosfatasa en tirosina de dicha bacteria, PtpA y PtpB, juegan un rol clave en la evasión del sistema inmune del hospedero y persistencia dentro de las células humanas. Ambas son introducidas dentro de las células infectadas, actuando como factores de virulencia, defosforilando o interaccionando con proteínas eucariotas del macrófago, frenando así los procesos de destrucción de la bacteria. Es así que ambas fosfatasa son consideradas blancos atractivos para el diseño de nuevas drogas antituberculosas, habiéndose publicado unos cuarenta artículos científicos reportando moléculas que inhiben su actividad, tres de ellos reportando como inhibidores a moléculas de la familia de las chalconas. En este contexto nuestro grupo sintetizó cuarenta chalconas, algunas de ellas no reportadas aún y evaluamos en un grupo de sesenta el poder inhibitorio de la actividad fosfatasa de PtpB y PtpA de *M. tuberculosis*. Las fosfatasa fueron producidas como proteínas recombinantes y el ensayo de actividad optimizado para la evaluación los compuestos. El mismo incluye un control negativo y positivo de inhibición que funcionaron correctamente. De la evaluación de las sesenta moléculas detectamos dos que inhiben exclusivamente a PtpB (1 y 2), una que inhibe a PtpA (3), y una capaz de inhibir a ambas (4). El poder de inhibitorio de estas moléculas es aún leve si se compara con los mejores inhibidores reportados. La información *in silico* obtenida del acoplamiento molecular fosfatasa-chalcona la utilizamos para definir la posición más favorable para el agregado de nuevos sustituyentes durante el proceso de síntesis orgánica, para analizar las energías de interacción y detalles moleculares, y para definir mejoras



en algunas de las chalconas estudiadas. Como perspectiva pensamos evaluar moléculas de otra naturaleza o compuesto híbridos aprovechando que disponemos no sólo de ensayo de actividad fosfatasa optimizado sino también de fosfatasas de otros patógenos intracelulares.

#### Resumen

M. MARGENAT; GIL M; DURAN R; BEROIS M; A.M. FERREIRA ; A VILLARINO

Nuevos potenciales sustratos eucariotas de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis PtpA: indicios de una modulación bacteriana del estado bionergético del macrófago , 2014

*Evento:* Nacional , Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) , Maldonado , 2014

*Anales/Proceedings:* XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS Arbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas de tirosina; beta oxidación; mitocondria

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

*Medio de divulgación:* Internet;

Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Apoyo financiero; Facultad de Ciencias - UDeLaR / Apoyo

financiero

<http://sub.fcien.edu.uy/>

PtpA es un factor de virulencia de M. tuberculosis importante para la sobrevivencia de la bacteria durante la infección del macrófago. Hemos logrado aislar e identificar varios candidatos a sustratos de PtpA, entre ellos tres proteínas mitocondriales (la ECHA o Trifunctional protein subunit-alpha, la ATPA o ATP synthase subunit-alpha y la SQRD o Sulfolipase); de quinone oxidoreductase) y la K6PP (6-phosphofructokinase), todas ellas relacionadas directamente o indirectamente con la producción de ATP. Curiosamente ha sido reportado recientemente que las tres proteínas mitocondriales mencionadas dejan de ser detectadas en la mitocondria de macrófagos infectados con una cepa virulenta de TB y no en aquellos infectados con una cepa avirulenta. Por lo tanto PtpA podría constituir el factor de virulencia responsable de este efecto. Todos nuestros esfuerzos apuntan a validar estos posibles candidatos como sustratos de PtpA. Hemos comenzado a estudiar la interacción/actividad de PtpA con la TFP, proteína involucrada en la beta-oxidación de los lípidos. En paralelo, buscamos poner a punto un modelo celular eucariota donde se exprese la PtpA de TB para poder estudiar si se alteran las vías metabólicas asociadas a la producción de ATP. Las diferentes herramientas que están siendo abordadas apuntan a demostrar si los candidatos mencionados son sustratos fisiológicos de PtpA, cuál es el efecto de la actividad de PtpA sobre la localización/funcionalidad de los mismos y en especial sobre el metabolismo energético de los macrófagos.

#### Resumen

F RAVEL; M MAIDANA; A VILLARINO; HERRERA F; G. SEOANE ; G. SAGRERA

Síntesis de nuevas chalconas potenciales inhibidoras de la fosfatasa en tirosina PtpB de Mycobacterium tuberculosis. , 2014

*Evento:* Regional , Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) , Piriápolis , 2014

*Anales/Proceedings:* XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS Arbitrado: SI

*Palabras clave:* chalconas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Otros Tópicos Biológicos / síntesis química

*Medio de divulgación:* Internet;

*Financiación/Cooperación:* Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

<http://sub.fcien.edu.uy/events/xv-jornadas-de-la-sub/programa-xv-jornadas-de-la-sub>

Este trabajo es fruto del proyecto CSIC en curso del cual soy responsable junto al Dr. Gabriel Sagrera. PtpB es un factor de virulencia de Mycobacterium tuberculosis, liberado durante la infección dentro de las células que infecta. PtpB, pertenece a la familia de fosfatasas lipídicas atípicas, presentando elementos estructurales adicionales a los observados en las fosfatasas de doble especificidad en células humanas. En humanos no existe homólogo de PtpB por lo cual es considerada como un blanco atractivo para el diseño de nuevos fármacos contra la Tuberculosis. Las chalconas son un tipo de flavonoides que poseen la estructura básica de 1,3-difenil-2-propen-1-ona (PhA-CO-CH=CH-PhB, donde Ph representa grupos fenilo). Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal. Muchas chalconas naturales y sintéticas poseen actividad biológica en animales y el hombre, o son utilizadas en la industria. Recientemente se ha reportado que diversas chalconas poseen actividades como inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis (PtpA y PtpB). En particular, el ácido 4-[3-(2-naftalenil)-3-oxo-1-propen-1-il]-benzoico resultó ser el compuesto más activo de entre un conjunto de 100 chalconas evaluadas contra PtpB. En nuestro estudio sintetizamos una serie de chalconas, para las cuales la posición de los sustituyentes fue evaluada teniendo en cuenta los parámetros del acoplamiento molecular de cada chalcona con los sustituyentes en diferente posición con la fosfatasa en estudio. Las chalconas seleccionadas, poseen grupos no polares en el anillo A (halógenos) y grupos polares en el anillo B (COOH). Las mismas fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (acetofenonas y benzaldehídos) por condensación aldólica, con buenos rendimientos y caracterizados por RMN y MS y su actividad biológica evaluada contra PtpB.

## Resumen

M CASTELLANO; E FERNÁNDEZ LÓPEZ; D CONIJESKI; A VILLARINO; A.M. FERREIRA

Optimización de herramientas para el monitoreo de componentes de la inmunidad innata del esturión (*Acipenser spp.*), 2014

Evento: Internacional, Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB), Piriápolis, 2014

Anales/Proceedings: XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS Arbitrado: SI

Palabras clave: esturiones; inmunidad innata

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

Medio de divulgación: Internet;

Financiación/Cooperación: Biotech Uruguay S.R.L / Apoyo financiero

<http://sub.fcien.edu.uy/events/xv-jornadas-de-la-sub/programa-xv-jornadas-de-la-sub>

Este trabajo resume los resultados obtenidos en el marco del Convenio que desarrollamos entre la Facultad de Ciencias y la empresa Biotech, convenio del cual soy responsable junto a la Dra. Ana Ferreira. Los esturiones (*Orden Acipenseriformes*), peces de gran valor comercial, son criados actualmente en Uruguay en emprendimientos de acuicultura dedicados principalmente a la comercialización de caviar. Si bien estos emprendimientos han sido exitosos, en los meses cálidos del año hay aumento en la mortandad por una combinación de factores medioambientales que posiblemente afectan el sistema inmune innato de los peces. Por tanto, para contribuir a solucionar esta problemática, buscamos desarrollar metodologías que permitan evaluar la inmunidad innata del esturión. Hemos ajustado un ensayo hemolítico para monitorear la actividad funcional de la vía alternativa del complemento (VA) y estamos optimizando un ensayo enzimático para determinar actividad lisozima en suero. Hasta el momento los estudios realizados muestran que los niveles funcionales de la VA en suero tienden a ser menores cuando aumenta la temperatura del ambiente: los esturiones machos de 4 años de edad presentaron niveles de  $151 \pm 52$  UA/ml en octubre vs  $105 \pm 58$  UA/ml en febrero ( $p=0.09$ ,  $t$  test). Además, observamos que las hembras adultas de 9 años de edad presentaron en verano los niveles de actividad más bajos ( $52 \pm 16$  UA/ml). Esta disminución de la VA debilitaría las defensas innatas de los peces, lo cual podría contribuir al aumento en la mortandad registrada durante el verano. Como esta de#64257; ciencia parecería acentuarse en la población de hembras adultas, su impacto sobre la producción del caviar sería considerable. En conjunto, los resultados sugieren que el monitoreo de la actividad de la VA en suero puede ser un parámetro útil para monitorear el estado sanitario del esturión.

## Resumen

V IRVING; B NIEVES; M MAIDANA; A VILLARINO

Clonado de las fosfatasa en tirosina de *Listeria monocytogenes*, 2014

Evento: Nacional, Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB), Piriápolis, 2014

Anales/Proceedings: XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS Arbitrado: SI

Palabras clave: fosfatasa

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

Medio de divulgación: Internet;

Financiación/Cooperación: Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

<http://sub.fcien.edu.uy/events/xv-jornadas-de-la-sub/programa-xv-jornadas-de-la-sub>

Este trabajo que coordiné resume lo realizado por tres estudiantes en el marco de un proyecto PAIE de investigación estudiantil. *Listeria monocytogenes* es una bacteria patógena responsable de la listeriosis. *L. monocytogenes* puede sobrevivir a muchas de las condiciones usadas en la preservación de los alimentos y por lo tanto contaminarlos y convertirse en un riesgo potencial para la salud humana. Es poco frecuente en humanos, pero extremadamente grave en grupos sensibles como niños, ancianos, embarazadas e inmuno-deprimidos, causando una mortalidad de un 70 %. El primer objetivo de este proyecto fue clonar las tres fosfatasa en tirosina de *L. monocytogenes* codi#64257; cada por los genes Imo0938, Imo 1935, Imo 2540 ya que estas fosfatasa se piensan son factores de virulencia importantes en la de#64257; nición de la enfermedad. El segundo objetivo fue optimizar las condiciones de producción de dichas fosfatasa en forma recombinante, expresándolas en *Escherichia coli* para obtenerla en cantidades adecuadas para su posterior puri#64257; cación y caracterización bioquímica. Hasta el momento hemos logrado clonar la fosfatasa codi#64257; cada por el gen Imo0938 utilizando la metodología de "RF-cloning", la cual expresamos en *E. coli* y con#64257; rramos su actividad fosfatasa utilizando un sustrato arti#64257; cial de fosfatasa, el p-nitrofenil fosfato (pNPP). Nos encontramos optimizando su puri#64257; cación, determinando el grado de oligomerización y determinando sus parámetros cinéticos ( $k_m$  y  $V_{max}$ ). Esta información será comparada con la obtenida para sus homólogos presentes en otros patógenos intracelulares, como el virus ORF y *M. tuberculosis*

## Resumen

E SEGOVIA; D PORLEY; OLIVERO N; BEROIS M; A VILLARINO

Estudio de una fosfata en tirosina considerada potencial factor de virulencia del virus Orf , 2014

*Evento:* Nacional , Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) , Piriápolis , 2014

*Anales/Proceedings:* XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS Arbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas

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

*Medio de divulgación:* Internet;

*Financiación/Cooperación:* Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Beca

<http://sub.fcien.edu.uy/events/xv-jornadas-de-la-sub/programa-xv-jornadas-de-la-sub>

Este trabajo se desarrolló en el marco de la beca de iniciación de Eliana Segovia de la cuál fuí orientadora. Existen evidencias que demuestran que las fosfatasas de patógenos intracelulares pueden actuar como factores de virulencia defosforilando residuos celulares y modulando la respuesta inmune. Sin embargo, las moléculas y los mecanismos implicados se conocen de forma incompleta. Nuestro interés está focalizado en la tirosina fosfatasa del virus Orf (PTP-Orf) perteneciente al género Parapoxvirus (Familia Poxviridae). Este virus es responsable del Ectima Contagioso, una enfermedad proliferativa de la piel y mucosas que afecta principalmente ovinos. Las reinfecciones son frecuentes y plantean la hipótesis de que factores de virulencia podrían jugar un rol importante en dicho proceso. En este contexto la PTP-Orf es una buena candidata a estudio existiendo hasta ahora sólo antecedentes para su homóloga VH1 en el Virus Vaccinia. En este trabajo se clonó el gen de la PTP-Orf en un vector de expresión procariota para su producción en *E. coli*. Se purificó la proteína recombinante, la cuál se caracterizó en términos de actividad, parámetros cinéticos, grado de oligomerización y estabilidad frente a temperatura y pH. En este momento estamos realizando ensayos de cristalización y nos planteamos dilucidar los sustratos y vías de señalización que modularía la PTP-Orf. Para ello, estamos buscando introducir la actividad fosfatasa del virus en células blanco (Madin-Darby bovine kidney) mediante la utilización del sistema de transducción basado en vectores herpéticos de tipo amplicón. Hemos iniciado la introducción del gen de la PTP-Orf en el vector HSV-1. Empleando dicho sistema de transducción buscaremos determinar la localización e identidad de los sustratos y posibles vías de señalización moduladas.

## Resumen

M MAIDANA; HERRERA F; F RAVEL; G. SEOANE ; G. SAGRERA; A VILLARINO

Hacia una síntesis racional de una chalcona inhibidora de la fosfatasa en tirosina PtpB de *Mycobacterium tuberculosis* . , 2014

*Evento:* Nacional , Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) , Piriápolis , 2014

*Anales/Proceedings:* XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCIENCIAS Arbitrado: SI

*Palabras clave:* chalconas

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

*Financiación/Cooperación:* Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

<http://sub.fcien.edu.uy/events/xv-jornadas-de-la-sub/programa-xv-jornadas-de-la-sub>

Este trabajo es producto de los resultados obtenidos a lo largo del proyecto CSIC I+D en curso, del cuál soy responsable. En este estudio 25 chalconas fueron evaluadas como potenciales inhibidores de PtpB, factor de virulencia de *Mycobacterium tuberculosis*. De este grupo sólo dos chalconas, la 9 (2-hidroxi-4,4'-di-n-butiloxichalcona) y la 22 ((2E,4E)-1-(2-hidroxifenil)-5-fenil-2,4-pentadien-1-ona) presentaron un efecto inhibitorio. El análisis de los acoplamientos moleculares, realizados para entender cómo se posicionan estas chalconas en la estructura de PtpB, nos sugiere que ambas chalconas se encontrarían estabilizadas únicamente por 2 enlaces de hidrógeno y no por 4 o más, como fue descrito para potentes inhibidores de PtpB ya reportados (Isoxazol-salicilato y OMTS: oxalilaminometilfenosulfonamida). Por otro lado se observa que el anillo A de las mismas se ubicaría en el sitio activo, al igual que otros inhibidores competitivos. Un aspecto interesante es que el anillo B de la chalcona 9 se ubicó hacia la hélice alfa 7, que forma parte de un elemento estructural que actúa como puerta ("Lid") del sitio activo y que no se encuentra en las PTPs humanas. Con esta información buscamos mejorar el diseño de nuevas chalconas derivadas de la chalcona 9, a las cuáles le modificaremos el sustituyente del anillo B buscando estabilizarlo aún más hacia la hélice alfa 7 de PtpB. En paralelo realizamos el acoplamiento molecular para ver cómo se posicionarían estas nuevas variantes en la estructura de PtpB y cuál sería la energía de unión. Los resultados muestran que todas siguieron posicionándose de forma similar a la chalcona 9 y presentaron diferentes energías de unión. Una vez sintetizadas se les evaluará su poder inhibitorio frente a PtpB.

Resumen expandido

M. MARGENAT; A. LABANDERA; M M PORTELA; DURAN R; A.M. FERREIRA ; A VILLARINO

New putative eukaryotic substrates of mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hint of a bacterial modulation of macrophage mitochondrial functions , 2013

*Evento:* Internacional , AUTOPHAGY: Molecular Mechanisms in Biology and Diseases , BUENOS AIRES , 2013

*Anales/Proceedings:* AUTOPHAGY: Molecular Mechanisms in Biology and DiseasesArbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas, tuberculosis; tirosin fosfatasas; macrófagos; mitocondria

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / búsqueda de sustratos de fosfatasas

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Otra institución nacional / PEDECIBA / Apoyo financiero

Este congreso se presentó en el póster todos los resultados que serán enviados a publicar antes del fin de 2013. Protein tyrosine phosphatases (PTPs) PtpA and PtpB from *M. tuberculosis* are key virulence factors that play important roles in bacterial survival during macrophage infection. The aim of the present work was the isolation and identification of new eukaryotic PtpA substrates. We used the "Substrate trapping " methodology, which is based on the use of a PTP mutant in which the affinity for the substrate remained similar to that of the wild-type enzyme but in which catalytic activity had been reduced, to such an extent that an enzyme-substrate complex, once formed, would be stable enough to withstand isolation. We perform the following strategy: (i) the characterization, by Surface Plasma Resonance (SPR), of the interaction between a substrate trapping mutant of mycobacterial PtpA and protein extracts of activated and non-activated macrophages; (ii) the scaling up of the process and isolation and identification of putative substrates by mass spectrometry. We isolated and identify by LTQ mass spectrometry a group of proteins among which the majority are mitochondrial proteins related directly or indirectly with the ATP synthesis.

Sistema Nacional de Investigadores

Resumen expandido

RODRIGUEZ L; HERRERA F; G. SEOANE ; G. SAGRERA; A VILLARINO

Evaluación del poder inhibitorio de 25 chalconas sobre la actividad de PtpB de *Mycobacterium tuberculosis* mediante estudios in vitro e in silico , 2013

*Evento:* Nacional , ENAQUI 3.0 , Montevideo , 2013

*Anales/Proceedings:* Arbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas, tuberculosis; chalconas; inhibidores

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

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

El póster presentado recibió un premio a mejor póster de la sección en la cuál fué presentada.

Resumen expandido

RODRIGUEZ L; A VILLARINO; G. SEOANE ; G. SAGRERA

Síntesis de nuevas chalconas potenciales inhibitoras de la enzima PtpB (fosfatasa en tirosina) de *Mycobacterium tuberculosis* , 2013

*Evento:* Internacional , ENAQUI 3.0 , Montevideo , 2013

*Anales/Proceedings:* ENAQUI 3.0Arbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas, tuberculosis; chalconas; inhibidores

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Químicas / Química Orgánica / Síntesis de inhibidores

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR / Apoyo financiero

Sistema Nacional de Investigadores

Resumen

M. MARGENAT; RODRIGUEZ L; M M PORTELA; DURAN R; A.M. FERREIRA; A VILLARINO

New putative eukaryotic substrates of the tyrosine phosphatase PtpA from *M. tuberculosis*. , 2012

*Evento:* Internacional , Tuberculosis 2012 , París , 2012

*Anales/Proceedings:* Tuberculosis 2012Arbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas; M. tuberculosis

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica

*Medio de divulgación:* Papel;

#### Resumen

E SEGOVIA; OLIVERO N; BEROIS M; A VILLARINO

Caracterización bioquímica de la única tirosina fosfatasa del virus Orf , 2012

*Evento:* Nacional , Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) , Maldonado , 2012

*Anales/Proceedings:* XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de BiocienciasArbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasa, virus

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Sin financiamiento / Otra

#### Resumen

M. MARGENAT; A. LABANDERA; M. PORTELA; DURAN R; A.M. FERREIRA ; A VILLARINO

Potenciales sustratos de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis, PtpA. , 2012

*Evento:* Nacional , XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias , Piriápolis , 2012

*Anales/Proceedings:* XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de BiocienciasArbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas, tuberculosis

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Apoyo financiero

#### Resumen

RODRIGUEZ L; SAGRERA G; HERRERA F; G. SEOANE ; A VILLARINO

Estudio de potenciales inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de M.tuberculosis : PtpA y PtpB , 2012

*Evento:* Nacional , XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias , Piriápolis , 2012

*Anales/Proceedings:* XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de BiocienciasArbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas, chalconas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Química orgánica, inhibición enzimática

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Sin financiamiento / Apoyo financiero

#### Resumen

A. LABANDERA; M. MARGENAT; OLIVERO N; A.M. FERREIRA; TRUJILLO M; FERRER G; BEROIS M; A VILLARINO

A global study of the two tyrosine phosphatases from Mycobacterium Tuberculosis , 2011

*Evento:* Internacional , Thiol metabolism and redox regulation of cellular functions , Punta del Este , 2011

*Anales/Proceedings:* Thiol metabolism and redox regulation of cellular functions.Arbitrado: SI

*Palabras clave:* oxidación, fosfatasas, tuberculosis

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Regulación redox de proteínas

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Sin financiamiento / Otra

#### Resumen

GIL M; M. MARGENAT; DURAN R; BATTHYÁNY C; A VILLARINO

Caracterización molecular de la inhibición de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis PtpB por el ácido nitro-oleico , 2011

*Evento:* Nacional , SBBM , Montevideo , 2011

*Anales/Proceedings:* Thiol metabolism and redox regulation of cellular functions.Arbitrado: SI

*Palabras clave:* inhibidores

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Inhibición de quinasas y fosfatasas

*Medio de divulgación:* Papel;

## Resumen

CASTILLA A; REYES AL; A VILLARINO; GIACOMINI C; IRAZOQUI G

Rational Design of an Immobilized Biocatalyst of TEV-Protease , 2011

*Evento:* Internacional , SBBq , FOZ DE IGUAZU-Brasil , 2011

*Anales/Proceedings:* Arbitrado: SI

*Palabras clave:* inmovilización

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Inmovilización de proteínas

*Medio de divulgación:* Papel;

## Resumen

M. MARGENAT; A. LABANDERA; CORBO M; RIVAS C; RODRIGUEZ L; A.M. FERREIRA; A VILLARINO

Búsqueda de sustratos de la dos únicas fosfatasas de proteínas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis, PtpA y PtpB , 2011

*Evento:* Nacional , SBBM , Montevideo , 2011

*Anales/Proceedings:* Arbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas; tuberculosis

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica de proteínas, senalización celular

*Medio de divulgación:* Papel;

Sistema Nacional de Investigadores

## Resumen

A. LABANDERA; M. MARGENAT; RODRIGUEZ L; FERRER G; TRUJILLO M; A VILLARINO

Characterization of tyrosine phosphatase mutants used in substrate-trapping strategy. , 2011

*Evento:* Internacional , Free Radicals VII Meeting of the SFRBM South American Group , San Pablo , 2011

*Anales/Proceedings:* Arbitrado: SI

*Palabras clave:* regulación redox; fosfatasas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica de proteínas, senalización celular

*Medio de divulgación:* Papel;

## Resumen

A VILLARINO

A study of the two unique tyrosine phosphatases from M. tuberculosis , 2011

*Evento:* Internacional , Gordon Research Conferences, Tuberculosis Drug Development , Italia , 2011

*Anales/Proceedings:* Gordon Research Conferences, Tuberculosis Drug DevelopmentArbitrado: SI

*Palabras clave:* fosfatasas, tuberculosis

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Apoyo financiero

## Resumen

M. MARGENAT; A VILLARINO

Identificación de sustratos de las dos únicas fosfatasas en tirosina, PtpA y PtpB de Mycobacterium tuberculosis, consideradas potenciales blancos terapéuticos. , 2011

*Evento:* Nacional , Foro 25 años de PEDECIBA , 2011

*Anales/Proceedings:* Arbitrado: SI

*Palabras clave:* tuberculosis; fosfatasas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / búsqueda de sustratos de fosfatasas

*Medio de divulgación:* Papel;

*Financiación/Cooperación:* Otra institución nacional / PEDECIBA / Apoyo financiero

Sistema Nacional de Investigadores

Resumen

PURIFICAÇÃO M; RAZZERA G; OBAL G; A. M. FERREIRA; DURAN R; LIMA A; TERENCE H; A VILLARINO

Characterization of a potential substrat-trapping mutant of the tyrosine phosphatase PtpA from Mycobacterium tuberculosis , 2009

*Evento:* Nacional , 6 as JORNADAS DE LA SBBM , Montevideo , 2009

*Anales/Proceedings:* 6 as JORNADAS DE LA SBBM Arbitrado: SI

*Palabras clave:* tuberculosis; fosfatasas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Fosfatasas micobacterianas

*Medio de divulgación:* CD-Rom;

Resumen

A VILLARINO; PUHL A; IRAZOQUI G; GIACOMINI C; TERENCE H

Covalent immobilization of the Tobacco etch virus (TEV) protease to be used in the cleavage of the polyhistidine-tag of recombinant proteins from T. cruzi. , 2007

*Evento:* Internacional , XXXVI Reunião Anual da SBBq, Bahia, Brasil , Bahia , 2007

*Anales/Proceedings:* XXXVI Reunião Anual da SBBq Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

## Sistema Nacional de Investigadores

Resumen

A VILLARINO; PURIFICAÇÃO M; A. M. FERREIRA; ODELLA ALR

Finding a substrate of the tyrosine phosphatase PtpA from Mycobacterium tuberculosis using the substrate-trapping method. , 2007

*Evento:* Internacional , XXXVI Reunião Anual da SBBq, Bahia, Brasil , Bahia , 2007

*Anales/Proceedings:* XXXVI Reunião Anual da SBBq Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

DURAN R; A VILLARINO; BELLINZONI M; WEHENKEL, A.; BOITEL B; PRITSCH O; ALZARI, P.M. ; CERVENANSKY, C

Autophosphorylation pattern and substrate recruitment mechanism in S/T protein kinases from M. tuberculosis. , 2007

*Evento:* Internacional , 1st Annual Iberoamerican Proteomic Congress. Universid Austral , Buenos Aires , 2007

*Anales/Proceedings:* 1st Annual Iberoamerican Proteomic Congress. Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

STAMBUK B.J.C.U. ; ZILLI D. M. W.; A VILLARINO; GABILAN NH; TERENCE H; MILETTI LC

Trehalase secretion allows trehalose fermentation by the yeast pathogen Candida glabrata , 2007

*Evento:* Internacional , XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biología Molecular , Bahia , 2007

*Anales/Proceedings:* XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biología Molecular Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Fruto de una colaboracion en la UFSC-Brasil

Resumen

WEHENKEL, A.; BELLINZONI M; A VILLARINO; FERNANDEZ P; SCHAEFFER F; MARTINS S; ENGLAND P; JACKSON M; COLE ST.; ALZARI, P.M.

Structural and Functional Studies of Mycobacterial Ser/Thr Protein Kinases and Phosphatases , 2007

*Evento:* Internacional , XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biología Molecular , Bahia , 2007

*Anales/Proceedings:* XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biología MolecularArbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

BELLINZONI M; WEHENKEL, A.; A VILLARINO; DURAN R; FERNANDEZ P; ENGLAND, P.; JUNGBLUT, P.R; COLE, S.T.; CERVENANSKY, C; ALZARI, P.M.

Ser/Thr phosphorylation in mycobacteria: a genetic and structural approach , 2006

*Evento:* Internacional , Institut Pasteur Joint Youth Meeting on Infectious Diseases and Immunology. Osaka University Ichokaikan , Osaka , 2006

*Anales/Proceedings:* Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

## Sistema Nacional de Investigadores

ENGLAND P; WEHENKEL, A.; HOSS A M; BELLINZONI M; A VILLARINO; ALZARI, P.M.

Physicochemical basis of the regulation of a M.tuberculosis FHA-domain protein by phosphorylation. , 2005

*Evento:* Internacional , 15th International Biophysics Congresss , Montpellier , 2005

*Anales/Proceedings:* 15th International Biophysics CongresssArbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

GRIMONT, P A D; REGNAULT, B; MARTIN-DELAUTRE, S; A VILLARINO; DE ROUBIN MR

Multiple detection and identification of viable bacteria in water , 2000

*Evento:* Internacional , Euroconférences. Eau, microbes et sante, Instituto Pasteur de París , París , 2000

*Anales/Proceedings:* Euroconférences. Eau, microbes et sante , 1 , 14Arbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Contaminacion

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

A VILLARINO; BOUVET, OMM; REGNAULT B; MARTIN-DELAUTRE S; GRIMONT, P. A. D.

Exploring the frontier between life and death in bacteria: evaluation of different viability markers in live, heat- or UV-killed Escherichia coli K-12 cells , 2000

*Evento:* Internacional , Euroconférences. Eau, microbes et sante , 2000

*Anales/Proceedings:* Euroconférences. Eau, microbes et santeArbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Deteccion de bacterias

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

IRAZOQUI G; A VILLARINO; C. GIACOMINI ; BATISTA-VIERA F; BRENA B

Influence of the surface character of the matrix on the performance of immobilised beta-galactosidase , 2000

*Evento:* Internacional , Conference on Protein Stabilisation/Biomolecule Stabilisation , Lisbon , 2000

*Anales/Proceedings:* Conference on Protein Stabilisation/Biomolecule StabilisationArbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmovilizacion y estabilizacion de enzimas

*Medio de divulgación:* Papel;



Completo

GRIMONT, P A D; REGNAULT, B; MARTIN-DELAUTRE, S; A VILLARINO

Bacterial detection by in situ hybridization. , 1999

*Evento:* Internacional , IWSA World Water Congress and exhibition: Advances in Microbiological Monitoring and Rapid detection , Buenos Aires , 1999

*Anales/Proceedings:* IWSA World Water Congress and exhibition: Advances in Microbiological Monitoring and Rapid detection , 1 , 14Arbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Contaminación

*Medio de divulgación:* Papel;

Completo

GUISAN, J M; ; RODRÍGUEZ, V; PENZOL, G; HERNANDEZ-JUSTIZ O; FERNÁNDEZ-LAFUENTE, R; IRAZOQUI, G; A VILLARINO; OVSEJEVI, K; BATISTA-VIERA, F

Stabilisation of multimeric enzymes via immobilization and post-immobilization techniques . , 1998

*Evento:* Internacional , Enzyme Stabilisation Conference , Londres , 1998

*Anales/Proceedings:* Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic , 7 , 181 , 189Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Completo

## Sistema Nacional de Investigadores

A VILLARINO; IRAZOQUI G; BRENA B; BATISTA-VIERA, F

Efecto de la inmovilización y del microambiente sobre la estabilidad de beta-galactosidasa (E.coli) en solventes orgánicos. , 1997

*Evento:* Internacional , In: Xas Jornadas Argentinas de Catálisis, 22-25 de Setiembre , Buenos Aires , 1997

*Anales/Proceedings:* Xas Jornadas Argentinas de Catálisis , 268 , 270Arbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmovilización y estabilización de enzimas

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

BRENA, B; IRAZOQUI G; A VILLARINO; VIERA, FRANCISCO BATISTA

Solvent and microenvironmental effects on the activity and stability of beta-galactosidase. , 1997

*Evento:* Internacional , In: Biotecnología Habana '97 , La Habana , 1997

*Anales/Proceedings:* Aplicaciones Medicas de la Biotecnología, Avances en Biotecnología Moderna Arbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmovilización y estabilización de enzimas

*Medio de divulgación:* Papel;

Resumen

M. ZAMISCH; A VILLARINO; K. OVSEJEVI; GRAZU V.; C. GIACOMINI ; F. BATISTA-VIERA

Efecto de la inmovilización y del microambiente sobre la estabilidad de beta-galactosidasa (E.coli) en solventes orgánicos. , 1997

*Evento:* Internacional , II Encuentro Bromatológico Latinoamericano , Buenos Aires , 1997

*Anales/Proceedings:* II Encuentro Bromatológico LatinoamericanoArbitrado: SI

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmovilización y estabilización de enzimas

*Medio de divulgación:* Papel;

Completo

A VILLARINO; IRAZOQUI G; BATISTA-VIERA F; BRENA B

Novel Applications of immobilized metal-chelated gels: The immobilization of native b-galactosidases. , 1994

*Evento:* Internacional , 1994

*Anales/Proceedings:* Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent , 59 , 2387 , 2390Arbitrado: SI

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

*Medio de divulgación:* Papel;

Producción técnica

## Procesos

Otros procesos o técnicas

ALZARI, P.M. ; BOITEL, B; A VILLARINO; COLE ST.

*PknB kinase and Pstp phosphatase and methods of identifying inhibitory substances.* , Patente: WO 2005007880 , 2004

Aplicación: NO

Institución financiadora: Instituto Pasteur de París-Francia

## Patente ó Registro

Patente de invención

WO 2005007880 , *PknB kinase and Pstp phosphatase and methods of identifying inhibitory substances.*

Fechas: Depósito: 18/07/2003; Examen: 19/04/2004; Concesión: 21/04/2005

Patente nacional: NO

Areas del conocimiento: Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Enfermedades Infecciosas / BIOQUIMICA DE PROTEINAS

Medio de divulgación: Otros; Disponibilidad: Restricta; Ciudad: /Francia

<http://www.freshpatents.com/Pknb-kinase-and-pstp-phosphatase-and-methods-of-identifying-inhibitory-substances-dt20060126ptan20060019324.php>

Patente: WO 2005007880. D62 Título: *PknB kinase and Pstp phosphatase and methods of identifying inhibitory substances.* Inventores: Alzari P, Boitel B, Villarino A, Cole S. Aplicación: N° 10/892, 170, July 19, 2004. Fecha: 2005/01/27. 19 de Julio del 2004 Dueño: Instituto Pasteur de París-Francia (<http://www.freshpatents.com/Pknb-kinase-and-pstp-phosphatase-and-methods-of-identifying-inhibitory-substances-dt20060126ptan20060019324.php>).

## Trabajos Técnicos

Informe o Pericia técnica

A.M. FERREIRA ; A VILLARINO; M CASTELLANO; V. SILVA

ANÁLISIS DE LAS DEFENSAS INNATAS DE *Acipenser* spp: VÍA ALTERNATIVA DEL COMPLEMENTO Y ACTIVIDAD LISOZIMA , Resume los resultados obtenidos durante el convenio con la empresa Biotech , 2014 , 10 , 12

Institución financiadora: Convenio Facultad de Ciencias-Empresa Biotech

Medio de divulgación: Papel; Disponibilidad: Restricta; Ciudad: Montevideo/Uruguay

Resultados obtenidos en el marco del convenio del cuál soy responsable junto a la Dra. AM Ferreira.

Informe o Pericia técnica

V. SILVA; A.M. FERREIRA ; M CASTELLANO; A VILLARINO

CONTROL DE LA ACTIVIDAD DE LA VÍA ALTERNATIVA DEL COMPLEMENTO EN ESTURIONES MANTENIDOS EN EL RAS , Resume la evaluación de muestras solicitadas por la empresa Esturiones del Río Negro , 2014 , 2 , 3

Institución financiadora: Fondos de Donación de empresas

Medio de divulgación: Papel; Disponibilidad: Restricta; Ciudad: Montevideo/Uruguay

Resume los resultados de la evaluación de parámetros de la inmunidad innata realizado sobre muestras de interés de la empresa Esturiones del Río Negro.

Informe o Pericia técnica

V. SILVA; M CASTELLANO; A VILLARINO; A.M. FERREIRA

EFFECTO DE LA INFECCIÓN CON *Aeromonas hydrophila* SOBRE LA ACTIVIDAD DE LA VÍA ALTERNATIVA DEL COMPLEMENTO EN ESTURIÓN , Evaluar parámetros de la inmunidad innata sobre muestras de interés de la empresa. , 2014 , 3 , 6

Institución financiadora: Convenio Facultad de Ciencias-Empresa Biotech y Donación de Esturiones del Río Negro

Medio de divulgación: Papel; Disponibilidad: Restricta; Ciudad: Montevideo/Uruguay

Resume los resultados desarrollados en el marco del trabajo con la empresa Esturiones del Río Negro, trabajo del cual soy co-responsable junto a la Dra. AM Ferreira.

Informe o Pericia técnica

G. SAGRERA; G. SEOANE ; HERRERA F; A VILLARINO

INFORME ACADÉMICO Proyecto: Chalconas como potentes inhibidores de las dos únicas fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis*: síntesis, diseño racional y caracterización de nuevos , Informe de avance solicitado por la CSIC , 2014 , 5 , 12

Institución financiadora: CSIC

Medio de divulgación: Papel; Disponibilidad: Restricta; Ciudad: Montevideo/Uruguay

Resume los resultados obtenidos en los primeros 12 meses de proyecto CSIC I+D del cuál soy responsable.

Informe o Pericia técnica

M. MARGENAT; A VILLARINO

Informe final del proyecto ANII FCE2009\_1\_2631 Identificación de sustratos y mecanismos de regulación de las dos únicas tirosina fosfatasa, PtpA y PtpB de Mycobacterium tuberculosis. , Informe final solicitado por la ANII , 2013 , 33 , 24

*Institución financiadora:* ANII

*Medio de divulgación:* Papel; *Disponibilidad:* Restricta; *Ciudad:* Montevideo/Uruguay

Resume los resultados obtenidos durante el desarrollo del proyecto FCE 2631, del cuál fuí responsable. Estos resultados se encuentran en etapa de revisión en la revista Scientific Reports.

## Otros

Desarrollo de material didáctico o de instrucción

Todos nosotros somos organismos , 2013

Uruguay , Español , Papel

Libro para los niños que asistían a la feria de ciencia

*Palabras clave:* material para niños o docentes; de los organismos a los átomos

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

*Información adicional:* Material realizado para la feria en conjunto con un docente de la facultad de arquitectura (dibujos). Luego de la feria, le material generado ha sido utilizado por docentes de escuelas.

Desarrollo de material didáctico o de instrucción

Cartilla de práctico de Bioquímica I , 2012

Uruguay , Español , Papel

Cartilla englobando todas las prácticas de laboratorio.

*Palabras clave:* bioquímica

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

*Información adicional:* Material mejorado junto al cuerpo docente de bioquímica, en especial docentes del práctico de Bioquímica.

Desarrollo de material didáctico o de instrucción

Taller de estructura de proteínas de la Carrera de Bioquímica , 2009

Uruguay , Español , Otros

Introducción en el taller del curso de Bioquímica del modelado de una estructura proteica por parte de los estudiantes gracias a la utilización de un juego de armar de estructuras.

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / estructura de proteínas

## Evaluaciones

Evaluación de Proyectos

2015

*Institución financiadora:* FONCyT

*Cantidad:* Menos de 5

Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva

integro el Banco de Evaluadores del FONCyT de Argentina

Evaluación de Proyectos

2012 / 2013

*Institución financiadora:* CABBIO

*Cantidad:* De 5 a 20

CABBIO

Evaluador de dos proyectos Cabbio. Evaluador de 9 postulantes a curso CABBIO Escalamiento de bioprocesos: del cultivo a la purificación de proteínas heterólogas.

Evaluación de Proyectos

2012 / 2015

*Institución financiadora:* CSIC-PAIE

*Cantidad:* Mas de 20

CSIC-PAIE

Son unos 20 proyectos por año.

Evaluación de Proyectos

2011 / 2015

*Institución financiadora:* CSIC-Iniciación a la Investigación

*Cantidad:* Menos de 5

CSIC-Iniciación a la Investigación , Uruguay

Evaluación de Proyectos

2011

*Institución financiadora:* ECOS-Sud

*Cantidad:* Menos de 5

ECOS , Uruguay

Evaluación de 1 proyecto ECOS Sud

Evaluación de Eventos

2012 / 2017

*Nombre:* SUB,

2012- evaluador de pósters 2014-coordinador de la mesa de Biotecnología (junto a G. González) } Evaluador de pósters 2016-2017

Miembro de la directiva de la SUB

Evaluación de Eventos

2009 / 2015

*Nombre:* SBBM,

Uruguay

2009 Evaluador de pósters. 2011 Evaluador de póster y de presentaciones orales del Simposio Estructura y Funcionalidad de Proteínas

2015 Coordinador de la mesa de Biotecnología Evaluador de los resúmenes en dicha área Evaluador de pósters.

Evaluación de Publicaciones

2016

*Nombre:* Immunology Letters,

*Cantidad:* Menos de 5

Evaluación de Publicaciones

2011 / 2011

*Nombre:* Journal of Biotechnology,

*Cantidad:* Menos de 5

Evaluación de Convocatorias Concursables

2014

*Nombre:* Llamados a Gado 1,

*Cantidad:* Menos de 5

Facultad de Ciencias

Evaluación de Convocatorias Concursables

2013 / 2013

*Nombre:* LLAMADO N° 080/13 – Un cargo de Ayudante con cargo al Proyecto CSIC I+D.,

*Cantidad:* Menos de 5

Facultad de Ciencias

Evaluación de Convocatorias Concursables

2013 / 2013

*Nombre:* No. 093/13 Un cargo de Ayudante con cargo al Proyecto CSIC I+D.,

*Cantidad:* Menos de 5

Facultad de Ciencias

Sistema Nacional de Investigadores

Sistema Nacional de Investigadores

## Formación de RRHH

### Tutorías concluidas

#### Posgrado

##### Tesis de maestría

Caracterización funcional y estructural de la única fosfatasa del virus ORF. , 2016

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Danilo Segovia

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Maestría en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)

*Palabras clave:* fosfatasas; virus ORF

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

*Pais/Idioma:* Uruguay/Español

*Información adicional:* La co-tutora de esta tesis es Mabel Berois (Virología, Facultad de Ciencias) Defendida el 25 de Julio de 2016

##### Tesis de doctorado

Identificación de sustratos de las dos únicas tirosina- fosfatasas PtpA y PtpB de Mycobacterium tuberculosis, consideradas potenciales blancos terapéuticos. , 2016

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Mariana Margenat

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Doctorado en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)

*Palabras clave:* Mycobacterium tuberculosis; fosfatasas en fosfotirosina; señalización celular

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Biología celular, Proteómica

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

*Información adicional:* Defendida el 16 de junio 2016 La co-tutora PEDECIBA es Ana Ferreira (Inmunología)

##### Tesis de maestría

Identificación de sustratos de las dos únicas tirosin fosfatasas de M. tuberculosis, PtpA y PtpB. Inicio: Marzo 2006. Universidad Federal de Santa Catarina. , 2008

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Marcela Purificação

##### Biología

*Palabras clave:* Mycobacterium tuberculosis; fosfatasas en fosfotirosina

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Ciencias de la Salud / Enfermedades Infecciosas / BIOQUIMICA DE PROTEINAS

*Medio de divulgación:* Papel, *Pais/Idioma:* Brasil/Portugués

<http://www.tede.ufsc.br/teses/PBTC0125-D.pdf>

*Información adicional:* Defendio en marzo del 2008. La estudiante trabajó en una de las dos líneas de investigación que introduce en la UFSC-Brasil y que había comenzado en Francia. Debido a que me encontraba como investigadora visitante en Brasil, en el programa de Posgraduación figure como co-tutora tal como fué estipulado por el director del laboratorio en el que estaba, Hernán Terenzi. Sin embargo fuí directora principal de dicha tesis.

##### Tesis de maestría

Obtención de un biocatalizador de la proteasa TEV , 2008

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Ana Cristina Puhl

Universidade Federal de Santa Catarina , Brasil , Biotecnología

*Areas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Biotecnología Industrial / Bioprosesamiento Tecnológico, Biocatálisis, Fermentación / INMOVILIZACION

*Medio de divulgación:* Papel, *Pais/Idioma:* Brasil/Portugués

<http://www.tede.ufsc.br/teses/PBTC0120-D.pdf>

*Información adicional:* Defendio en marzo del 2008. La estudiante trabajó en una de las dos líneas de investigación que introduce en la UFSC-Brasil y que implicó la colaboración con mi ex-laboratorio (FQ-Bioquímica, Uruguay) especialista en

la inmovilización de proteínas. Debido a que me encontraba como investigadora visitante en Brasil, en el programa de Posgraduación figuro como co-tutora tal como fué estipulado por el director del laboratorio en el que estaba, Hernán Terenzi. Sin embargo fuí directora principal de dicha tesis.

## Grado

Tesis/Monografía de grado

Avances en la utilización de la estrategia de doble híbrido para la validación de la interacción entre la fosfatasa de tirosina PtpA de *Mycobacterium tuberculosis* y sus potenciales sustratos identificados. , 2016

*Tipo de orientación:* Cotutor en pie de igualdad

*Nombre del orientado:* Vivian Irving

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica

*Palabras clave:* tuberculosis; fosfatasa; doble híbrido

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Señalización celular

*Medio de divulgación:* Internet, *Pais/Idioma:* Uruguay/Español

<http://www.bib.fcien.edu.uy/>

*Información adicional:* Co tutora Ana Ramón

Tesis/Monografía de grado

Evaluación de las defensas innatas de *Acipenser* spp. , 2015

*Tipo de orientación:* Cotutor en pie de igualdad

*Nombre del orientado:* Mauricio Castellano

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica

*Palabras clave:* esturiones; actividad lisozima; actividad de la vía alterna del complemento

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Otros Tópicos Biológicos / proteínas

*Pais/Idioma:* Uruguay/Español

*Información adicional:* Co-tutora junto a Ana Ferreira (Inmunología, Facultad de Ciencias). Se beneficia también de una beca de iniciación a la investigación.

Tesis/Monografía de grado

Extractos proteicos con actividad antimicrobiana , 2015

*Tipo de orientación:* Asesor/Orientador

*Nombre del orientado:* Matías Maidana

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica

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

*Medio de divulgación:* CD-Rom, *Pais/Idioma:* Uruguay/Español

*Información adicional:* Actué solo en la parte de evaluación de la escritura de su tesis antes de entregar la misma.

Tesis/Monografía de grado

Estudios de las únicas fosfatasas de proteínas en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis*: PtpA y PtpB: sensibilidad de PtpB frente a diferentes agentes oxidantes y caracterización de la interacción entre el mutante PtpA D126A con extractos proteicos de macrófagos. , 2011

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Ann-Marie Labandera

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica

*Palabras clave:* fosfatasas; oxidación; tuberculosis

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular, identificación de sustratos de tirosin-fosfatasas

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

*Información adicional:* Aprobada con 10.

Tesis/Monografía de grado

Estudio de la caracterización de inhibidores de las dos únicas fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis, PtpA y PtpB , 2011

*Nombre del orientado:* Lucia Rodriguez

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Licenciatura en Bioquímica

*Palabras clave:* inhibidores; chalconas; tuberculosis; fosfatasa

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica de proteínas, inhibidores de fosfatasa

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

*Información adicional:* Aprobada con 11.

Tesis/Monografía de grado

Purificación y análisis de tirosin fosfatasa , 2006

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Maria Emilia Zenteno

Universidad Nacional de Misiones , Argentina , Ciencias Biologicas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Métodos de Investigación en Bioquímica / Bioquímica de proteínas

*Medio de divulgación:* Papel, *Pais/Idioma:* Argentina/Español

*Información adicional:* Tutor principal. Co dirigida con Hernan Terenzi. Los trabajos fueron realizados en la UFSC-Brasil y la tesis defendida en Argentina UNM.

## Otras

Iniciación a la investigación

Puesta a punto de la estrategia de doble híbrido para la validación de la interacción entre la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis PtpA y dos posibles sustratos identificados. , 2015

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Vivian Irving

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay

*Palabras clave:* fosfatasa; doble híbrido

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

*Pais/Idioma:* Uruguay/Español

*Información adicional:* La co-tutora es Ana Ramón (Bioquímica, Facultad de Ciencias)

Iniciación a la investigación

Evaluación de las defensas innatas en esturiones criados en establecimientos de piscicultura , 2015

*Tipo de orientación:* Cotutor en pie de igualdad

*Nombre del orientado:* Mauricio Castellano

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay

*Palabras clave:* esturión; proteínas de fase aguda; lisozima; actividad vía alternativa del complemento

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Inmunidad Innata

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

Iniciación a la investigación

Estudio de la única tirosina fosfatasa del virus ORF , 2014

*Nombre del orientado:* Eliana Segovia

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay

*Palabras clave:* fosfatasa; virus ORF

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Virología / proteínas

*Pais/Idioma:* Uruguay/Español

Otras tutorías/orientaciones

PAIE\_ Clonado de las fosfatasa en tirosina de *Listeria Monocytogenes* , 2013

*Tipo de orientación:* Tutor único o principal

*Nombre del orientado:* Bibiana Nieves, Vivian Irving, Matias Maidana

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay

*Palabras clave:* fosfatasa, listeria monocitogenes

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

*Pais/Idioma:* Uruguay/Español

*Información adicional:* Dicho trabajo recibió mención del GAIE-CSIC

## Tutorías en marcha

### Posgrado

Tesis de maestría

Desarrollo de herramientas moleculares para el monitoreo de las defensas innatas del esturión (*Acipenser spp.*) , 2015

*Tipo de orientación:* Cotutor en pie de igualdad

*Nombre del orientado:* Mauricio Castellano

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Maestría en Biotecnología

*Palabras clave:* esturión; proteínas de fase aguda; proteínas de respuesta al estrés térmico

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas / Marcadores proteicos del estado sanitario en peces

*Medio de divulgación:* Internet, *Pais/Idioma:* Uruguay/Español

*Información adicional:* Tutora Ana María Ferreira (Inmunología), co-tutor Andrea Villarino, en pie de igualdad. Obtuvo recientemente la beca de la ANII.

Tesis de maestría

Expresión y evaluación de la interacción a nivel celular de la fosfatasa en tirosina del virus ORF , 2013

*Tipo de orientación:* Cotutor en pie de igualdad

*Nombre del orientado:* Darío Porley

Facultad de Ciencias - UDeLaR , Uruguay , Maestría en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)

*Palabras clave:* virus ORF; vectores virales

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / expresión de fosfatasa de patógenos en células eucariotas

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

*Información adicional:* Iniciada en 10/2013, Tutora Principal Mabel Berois (Virología Facultad de Ciencias)

## Otros datos relevantes

### Premios y títulos

2013 Premio al mejor póster (Nacional) ENAQUI

El póster presentado por la Lucía Rodríguez que resume el trabajo realizado durante su tesis de grado y beca de iniciación de la ANII.

## Jurado/Integrante de comisiones evaluadoras de trabajos académicos

Tesis

*Candidato:* Laura Pinelli

A VILLARINO; A CABEZAS; S VERO

Composición y estabilidad de consorcios de bacterias degradadoras de atrazina provenientes de plantas potabilizadoras de agua , 2015

Tesis (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español



Tesis

*Candidato:* Paola Russi

A VILLARINO; E PÉREZ; L YIM

Efecto in vivo de agroquímicos a base de cobre sobre *Xanthomonas axonopodis* pv. citri, agente causal del cancro cítrico. , 2014

Tesis (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Tesis

*Candidato:* Diego Alem

A VILLARINO; L FRANCO FRAGUAS

Purificación, Caracterización y Evaluación Funcional de Péptidos Antimicrobianos en la Agricultura , 2014

Tesis (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Tesis

*Candidato:* Virginia Pereyra

A FERNÁNDEZ; A VILLARINO; N GUCHIN

Producción de levaduras oleaginosas a partir de glicerol para la obtención de triglicéridos utilizables como sustrato en la producción de biodiesel , 2013

Tesis (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* biodiesel, microorganismos

*Áreas del conocimiento:* Ingeniería y Tecnología / Biotecnología Industrial / Bioproductos, Biomateriales, Bioplásticos, Biocombustibles, Bioderivados, etc. / Levaduras, biodiesel

Tesis

*Candidato:* Natalia Ruétalo

A VILLARINO; C FERNÁNDEZ; O BORSANI

Biosíntesis de proteínas complejas en células vegetales: expresión del biofármaco recombinante Hormona Folículo Estimulante Humana en *Physcomitrella patens* , 2012

Tesis (Maestría en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Tesis

*Candidato:* Analía Lima

DENICOLA A; FABIANO E; A VILLARINO

Caracterización del dominio catalítico de una quinasa de proteínas en serina y teonina de *Listeria monocytogenes* , 2009

Tesis (Maestría en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* quinasas; listeria

*Áreas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Proteómica

Tesis

*Candidato:* Marcela Purificação

A VILLARINO; TRENZI H; PEREZ C; STEINDEL M; AM FERREIRA

IDENTIFICAÇÃO DE POTENCIAIS SUBSTRATOS DE PTP A, TIROSINA - FOSFATASE DE MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS , 2008

Tesis (Maestría en Biotecnología) - Universidad Federal de Santa Catarina - Brasil

*Referencias adicionales:* Brasil , Portugués

Tesis

*Candidato:* Ana Cristina Puhl

A VILLARINO; TRENZI H; LEAL R; J ASSREUY FILHO; L CHUBATSU

OBTENÇÃO DE UM BIOCATALISADOR DA PROTEASE TEV PARA A REMOÇÃO DE CAUDAS DE HISTIDINAS DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES , 2008

Tesis (Biotecnología) - Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil

*Referencias adicionales:* Brasil , Portugués

Tesis

*Candidato:* Debora Trichez

A VILLARINO; STAMBUK; TEREZI H; SOARES DE ARAUJO P; PERES; STEINDEL M

Identificacao de residuos de aminoacidos involucrados no transporte ativo de açucares pela permease Agt1p de *Sacharomyces cerevisiae* , 2007

Tesis (Biotecnologia) - Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil

*Referencias adicionales:* Brasil , Portugués

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

Tesis

*Candidato:* Sofía Horjales

A VILLARINO; B GARAT; S PANTANO

Biología Estructural de Protein Quinasas: las Serin/Treonin-Quinasas de *Leishmania* , 2015

Tesis (Doctorado en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* quinasas

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

Tesis

## Sistema Nacional de Investigadores

*Candidato:* María Rosa García Silva

B GARAT; A VILLARINO; O PRITSCH

Caracterización y significado biológico de fragmentos derivados de ARN de transferencia , 2013

Tesis (Doctorado en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Candidato:* Cecilia Silvarrey

A VILLARINO; ESTEVES A

Licenciatura de Bioquímica y Licenciatura de Biología , 2011

(Licenciatura en Bioquímica) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* ácidos grasos; proteínas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica de proteínas

*Candidato:* Ann-Marie Labandera

A VILLARINO; TRUJILLO M

Posgrado de Biotecnología , 2011

(Licenciatura en Bioquímica) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* proteínas; oxidación

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica de proteínas

Tesis/Monografía de grado

*Candidato:* Joaquín Dalla Rizza Aishemberg

A VILLARINO

Desarrollo de métodos fluorescentes de medida de actividad quinasa de PknG de *Mycobacterium tuberculosis*, enzima clave en la infección por este patógeno , 2014

Tesis/Monografía de grado () - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Tesis/Monografía de grado

*Candidato:* Lucía Rodríguez

A VILLARINO; BATTHYÁNY C

Estudio de potenciales inhibidores de la únicas fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis: PtpA y PtpB , 2012

Tesis/Monografía de grado ()

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Tesis/Monografía de grado

*Candidato:* Viviane I Serpa

A VILLARINO; TERENZI H; VERNAL J

Clonagem, expressao, purificacao e analise estrutural de duas hemoglobinas truncadas de Herbaspirillum seropedicae , 2006

Tesis/Monografía de grado () - Universidade Federal de Santa Catarina - Brasil

*Referencias adicionales:* Brasil , Portugués

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

Otros tipos

*Candidato:* Victoria Veroli

A VILLARINO

Sistema Nacional de Investigadores

Evalué el proyecto y el avance del mismo , 2015

Otra participación (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Paula Tucci

A VILLARINO

Evalué el avance del proyecto , 2015

Otra participación (Posgrado en Biotecnología (Doctorado)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Julio Guarnaschelli

A VILLARINO; MARÍN M

Evalué el avance de su proyecto de Doctorado , 2015

Otra participación (Posgrado en Biotecnología (Doctorado)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Jessica Rosello

C ROBELLO; A VILLARINO

Fosforilación de sustratos de PknG involucrados en el metabolismo de nitrógeno en micobacterias: Rol en la adaptación al ambiente del hospedero , 2015

Otra participación (Doctorado en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* tuberculosis; quinasas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / Señalización celular

Otros tipos

*Candidato:* Anibal M Reyes

A VILLARINO; DENICOLA A; J SOUZA

Formé parte de la comisión que evaluó su pasaje a Doctorado , 2014

Otra participación (Doctorado en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Paula Tucci

A VILLARINO

Desarrollo de herramientas que contribuyan al diagnóstico de la infección activa por *Mycobacterium tuberculosis* (evaluación del proyecto de doctorado) , 2013

Otra participación (Posgrado en Biotecnología (Doctorado)) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Laura Pinelli

A VILLARINO

Composición y estabilidad de consorcio bacterianos degradadores de atrazina provenientes de plantas potabilizadoras de agua. Evalué su proyecto de maestría. , 2012

Otra participación (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Paola Russi

A VILLARINO

Efecto/ in vivo/ de agroquímicos a base de cobre sobre *Xanthomonas axonopodis* /pv. citri/, agente causal del cancro cítrico. Evaluación de proyecto de maestría y avance del proyecto. , 2011

Otra participación (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Carolina Acevedo

A VILLARINO

Búsqueda del inhibidor enzimático Cistatina en *Boophilus (Rhipicephalus) microplus*. Evalué el avance del proyecto de maestría. , 2011

Otra participación (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* inhibidores

Otros tipos

*Candidato:* Lucilla Pizzo

A VILLARINO

Desarrollo de herramientas para mejorar el diagnóstico molecular y asesoramiento genético de Fibrosis Quística en Uruguay. Evalué el proyecto de maestría. , 2011

Otra participación (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

Otros tipos

*Candidato:* Virginia Pereyra

MARÍN M; A VILLARINO

Búsqueda y producción de levaduras oleaginosas capaces de asimilar glicerol para la obtención de triglicéridos utilizables como sustrato en la producción de biodiesel , 2010

Otra participación (Maestría en Biotecnología) - Facultad de Ciencias - UDeLaR - Uruguay

*Referencias adicionales:* Uruguay , Español

*Palabras clave:* levaduras; biodiesel

*Areas del conocimiento:* Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Biología Celular, Microbiología / biodiesel

## Presentaciones en eventos

Congreso

Enaqui 4 , 2015

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* ENAQUI 4; *Nombre de la institución promotora:* UdeLaR

El póster fué presentado por Matías Maidana, yo soy último autor del trabajo

Congreso

SBBM , 2015

*Tipo de participación:* Moderador, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* SBBM; *Nombre de la institución promotora:* UdelaR

en mesa de BT

Congreso

Europhosphatase , 2015

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Finlandia; *Nombre del evento:* Europhosphatase; *Nombre de la institución promotora:* EMBO

Congreso

Mesa temática-Biotecnología , 2014

*Tipo de participación:* Moderador, *Carga horaria:* 2

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB;

Organización y moderación de la mesa de Biotecnología.

Congreso

Síntesis de nuevas chalconas potenciales inhibitoras de la fosfatasa en tirosina PtpB de Mycobacterium tuberculosis. , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

PtpB es un factor de virulencia de Mycobacterium tuberculosis, liberado durante la infección dentro de las células que infecta. PtpB, pertenece a la familia de fosfatasas lipídicas atípicas, presentando elementos estructurales adicionales a los observados en las fosfatasas de doble especificidad humanas. En humanos no existe homólogo de PtpB por lo cual es considerada como un blanco atractivo para el diseño de nuevos fármacos contra la Tuberculosis. Las chalconas son un tipo de flavonoides que poseen la estructura básica de 1,3-difenil-2-propen-1-ona (PhA- CO-CH=CH-PhB, donde Ph representa grupos fenilo). Se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza, principalmente en el reino vegetal. Muchas chalconas naturales y sintéticas poseen actividad biológica en animales y el hombre, o son utilizadas en la industria. Recientemente se ha reportado que diversas chalconas poseen actividades como inhibidores de las dos únicas fosfatasas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis (PtpA y PtpB). En particular, el ácido 4-[3-(2-naftalenil)-3-oxo-1-propen-1-il]-benzoico resultó ser el compuesto más activo de entre un conjunto de 100 chalconas evaluadas contra PtpB. En nuestro estudio sintetizamos una serie de chalconas, para las cuales la posición de los sustituyentes fue definida teniendo en cuenta los parámetros del acoplamiento molecular de cada chalcona con los sustituyentes en diferente posición con la fosfatasa en estudio. Las chalconas seleccionadas, poseen grupos no polares en el anillo A (halógenos) y grupos polares en el anillo B (COOH). Las mismas fueron obtenidas a partir de los correspondientes precursores (acetofenonas y benzaldehídos) por condensación aldólica, con buenos rendimientos y caracterizados por RMN y MS y su actividad biológica evaluada contra PtpB.

Congreso

Optimización de herramientas para el monitoreo de componentes de la inmunidad innata del esturión ( Acipenser spp). , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

Los esturiones (Orden Acipenseriformes), peces de gran valor comercial, son criados actualmente en Uruguay en emprendimientos de acuicultura dedicados principalmente a la comercialización de caviar. Si bien estos emprendimientos han sido exitosos, en los meses cálidos del año hay aumento en la mortandad por una combinación de factores medioambientales que posiblemente afectan el sistema inmune innato de los peces. Por tanto, para contribuir a solucionar esta problemática, buscamos desarrollar metodologías que permitan evaluar la inmunidad innata del esturión. Hemos ajustado un ensayo hemolítico para monitorear la actividad funcional de la vía alternativa del complemento (VA) y estamos optimizando un ensayo enzimático para determinar actividad lisozima en suero. Hasta el momento los estudios realizados muestran que los niveles funcionales de la VA en suero tienden a ser menores cuando aumenta la temperatura del ambiente: los esturiones machos de 4 años de edad presentaron niveles de 151 +/- 52 UA/ml en octubre vs 105 +/- 58 UA/ml en febrero (p=0.09, t test). Además, observamos que las hembras adultas de 9 años de edad presentaron en verano los niveles de actividad más bajos (52 +/- 16 UA/ml). Esta disminución de la VA debilitaría las defensas innatas de los peces, lo cual podría contribuir al aumento en la mortandad registrada durante el verano. Como esta deficiencia parecería acentuarse en la población de hembras adultas, su impacto sobre la producción del caviar sería considerable. En conjunto, los resultados sugieren que el monitoreo de la actividad de la VA en suero puede ser un parámetro útil para monitorear el estado sanitario del esturión.

Congreso

Clonado de las fosfatasas en tirosina de Listeria Monocytogenes , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

Listeria monocytogenes es una bacteria patógena responsable de la Listeriosis. L. monocytogenes puede sobrevivir a muchas de las condiciones usadas en la preservación de los alimentos y por lo tanto contaminarlos y convertirse en un riesgo potencial para la salud humana. Es poco frecuente en humanos, pero extremadamente grave en grupos sensibles como niños, ancianos, embarazadas e inmuno-deprimidos, causando una mortalidad de un 70 %. El primer objetivo de

este proyecto fue clonar las tres fosfatasa en tirosina de *L. monocytogenes* codificadas por los genes lmo0938, lmo 1935, lmo 2540 ya que estas fosfatasa se piensan son factores de virulencia importantes en la definición de la enfermedad. El segundo objetivo fue optimizar las condiciones de producción de dichas fosfatasa en forma recombinante, expresándolas en *Escherichia coli* para obtenerla en cantidades adecuadas para su posterior purificación y caracterización bioquímica. Hasta el momento hemos logrado clonar la fosfatasa codificada por el gen lmo0938 utilizando la metodología de "RF-cloning", la cual expresamos en *E. coli* y confirmamos su actividad fosfatasa utilizando un sustrato artificial de fosfatasa, el p-nitrofenil fosfato (pNPP). Nos encontramos optimizando su purificación, determinando el grado de oligomerización y determinando sus parámetros cinéticos ( $k_m$  y  $V_{max}$ ). Esta información será comparada con la obtenida para sus homólogos presentes en otros patógenos intracelulares, como el virus ORF y *M. tuberculosis*

#### Congreso

Nuevos potenciales sustratos eucariotas de la fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis* PtpA: indicios de una modulación bacteriana del estado bionergético del macrófago , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

PtpA es un factor de virulencia de *M. tuberculosis* importante para la sobrevivencia de la bacteria durante la infección del macrófago. Hemos logrado aislar e identificar varios candidatos a sustratos de PtpA, entre ellos tres proteínas mitocondriales (la ECHA o Trifunctional protein subunit-alpha, la ATPA o ATP synthase subunit-alpha y la SQRD o Sulfi de quinone oxidoreductase) y la K6PP (6-phosphofructokinase), todas ellas relacionadas directamente o indirectamente con la producción de ATP. Curiosamente ha sido reportado recientemente que las tres proteínas mitocondriales identificadas dejan de ser detectadas en la mitocondria de macrófagos infectados con una cepa virulenta de TB y no en aquellos infectados con una cepa avirulenta. Por lo tanto PtpA podría constituir el factor de virulencia responsable de este efecto. Todos nuestros esfuerzos apuntan a validar estos posibles candidatos como sustratos de PtpA. Hemos comenzado en estudiar la interacción/actividad de PtpA con la TFP, proteína identificada con el mejor score y clave en la beta-oxidación de los lípidos. En paralelo, buscamos poner a punto un modelo celular eucariota donde se exprese la PtpA de TB para poder estudiar si se alteran las vías metabólicas asociadas a la producción de ATP. Las diferentes herramientas que están siendo abordadas apuntan a demostrar si los candidatos identificados son sustratos fisiológicos de PtpA, cuál es el efecto de la actividad de PtpA sobre la localización/funcionalidad de los mismos y en especial sobre el metabolismo energético de los macrófagos.

#### Congreso

Estudio de una fosfatasa en tirosina considerada potencial factor de virulencia del virus Orf , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

Existen evidencias que demuestran que las fosfatasa de patógenos intracelulares pueden actuar como factores de virulencia defosforilando residuos celulares y modulando la respuesta inmune. Sin embargo, las moléculas y los mecanismos implicados se conocen de forma incompleta. Nuestro interés está focalizado en la tirosina fosfatasa del virus Orf (PTP-Orf) perteneciente al género Parapoxvirus (Familia Poxviridae). Este virus es responsable del Ectima Contagioso, una enfermedad proliferativa de la piel y mucosas que afecta principalmente a ovinos. Las reinfecciones son frecuentes y plantean la hipótesis de que factores de virulencia podrían jugar un rol importante en dicho proceso. En este contexto la PTP-Orf es una buena candidata a estudio existiendo hasta ahora sólo antecedentes para su homóloga VH1 en el Virus Vaccinia. En este trabajo se clonó el gen de la PTP-Orf en un vector de expresión procariota para su producción en *E. coli*. Se purificó la proteína recombinante, la cual se caracterizó en términos de actividad, parámetros cinéticos, grado de oligomerización y estabilidad frente a temperatura y pH. En este momento estamos realizando ensayos de cristalización y nos planteamos dilucidar los sustratos y vías de señalización que modularía la PTP-Orf. Para ello, estamos buscando introducir la actividad fosfatasa del virus en células blanco (Madin-Darby bovine kidney) mediante la utilización del sistema de transducción basado en vectores herpéticos de tipo amplicón. Hemos iniciado la introducción del gen de la PTP-Orf en el vector HSV-1. Empleando dicho sistema de transducción buscaremos determinar la localización e identificar los sustratos y posibles vías de señalización moduladas.

#### Congreso

Hacia una síntesis racional de una chalcona inhibidora de la fosfatasa en tirosina PtpB de *Mycobacterium tuberculosis* . , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

En este estudio 25 chalconas fueron evaluadas como potenciales inhibidores de PtpB, factor de virulencia de *Mycobacterium tuberculosis* . De este grupo sólo dos chalconas, la 9 (2-hidroxi-4,4'-di-n-butiloxichalcona) y la 22 ((2E,4E)-1-(2-hidroxifenil)-5-fenil-2,4-pentadien-1-ona) presentaron un efecto inhibitorio. El análisis de los acoplamientos moleculares, realizados para entender cómo se posicionan estas chalconas en la estructura de PtpB, nos sugiere que ambas chalconas se encontrarían estabilizadas únicamente por 2 enlaces de hidrógeno y no por 4 o más, como fue descrito para potentes inhibidores de PtpB ya reportados (Isoxazol-salicilato y OMTS: oxalilaminometilantiofenosulfonamida). Por otro lado se observa que el anillo A de las mismas se ubicaría en el sitio activo, al igual que otros inhibidores competitivos. Un aspecto interesante es que el anillo B de la chalcona 9 se ubicó hacia la hélice alfa 7, que forma parte de un elemento estructural que actúa como puerta ("Lid") del sitio activo y que no se encuentra en las PTPs humanas. Con esta información buscamos mejorar el diseño de nuevas chalconas derivadas de la chalcona 9, a las cuáles le modificaremos el sustituyente del anillo B buscando estabilizarlo aún más hacia la hélice alfa 7 de PtpB. En paralelo realizamos el acoplamiento molecular para ver cómo se posicionarían estas nuevas variantes en la estructura de PtpB y cuál sería la energía de unión. Los resultados muestran que todas siguieron posicionándose de forma similar a la chalcona 9 y presentaron diferentes energías de unión. Una vez sintetizadas se les evaluará su poder inhibitorio frente a PtpB.

Congreso

3er Encuentro Nacional de Ciencias Químicas , 2013

*Tipo de participación:* Poster,

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* ENAQUI; *Nombre de la institución promotora:* PEDECIBA, FQ

Presentamos dos pósters

Congreso

3er Encuentro Nacional de Ciencias Químicas , 2013

*Tipo de participación:* Moderador,

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* ENAQUI; *Nombre de la institución promotora:* PEDECIBA, FQ

Moderador de la mesa junto a F. Batista-Viera de los conferencias invitados: D Prof. Lorena Betancor y Prof. Gualberto González

Congreso

Tuberculosis 2012 , 2012

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 45

*Referencias adicionales:* Francia; *Nombre del evento:* Tuberculosis 2012 Biology, pathogenesis, intervention strategies; *Nombre de la institución promotora:* Institut Pasteur París

Congreso

XIV Jornadas de la SUB , 2012

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* XIV Jornadas de la SUB; *Nombre de la institución promotora:* SUB

Congreso

SBBM , 2011

*Tipo de participación:* Expositor oral,

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* SIMPOSIO I: Estructura y funcionalidad de proteínas; *Nombre de la institución promotora:* SBBM

*Palabras clave:* fosfatasas; patogenos

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Bioquímica y Biología Molecular / Bioquímica de proteínas, señalización celular

Congreso

Gordon Research Conference , 2011

*Tipo de participación:* Poster,

*Referencias adicionales:* Italia; *Nombre del evento:* Tuberculosis Drug Development;

*Palabras clave:* drogas antituberculosas

*Areas del conocimiento:* Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Farmacología y Farmacia / Drogas contra la tuberculosis

Congreso

Encuentro Nacional de Microbiólogos, , 2001

*Tipo de participación:* Expositor, *Carga horaria:* 8

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Encuentro Nacional de Microbiólogos; *Nombre de la institución promotora:*

Sociedad Uruguaya de Microbiología

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

Seminario

Presentación de resultados sobre los sustratos de PtpA de M. Tuberculosis , 2015

*Tipo de participación:* Expositor oral, *Carga horaria:* 2

*Referencias adicionales:* Francia; *Nombre del evento:* Ciclo de Seminarios de INRA; *Nombre de la institución promotora:* INRA

Seminario

Presentación de los resultados obtenidos en el estudio de PtpA de M. tuberculosis , 2015

*Tipo de participación:* Expositor oral, *Carga horaria:* 2

*Referencias adicionales:* Francia; *Nombre del evento:* Ciclo de seminarios del Institut Pasteur de París; *Nombre de la institución promotora:* IP

Seminario

Subversión de las vías de señalización eucariotas , 2013

*Tipo de participación:* Expositor oral,

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Ciclo regular de Seminario de Virología; *Nombre de la institución promotora:*

FCIEN

Invitada por Mabel Berois

#### Seminario

New putative eukaryotic substrates of mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hint of a bacterial modulation of macrophage mitochondrial functions. , 2013

*Tipo de participación:* Conferencista Invitado,

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Ciclo regular de Seminario del IBR; *Nombre de la institución promotora:* Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-IBR

Invitada por los Drs. Hugo Gramajo y Gabriela Gago

#### Seminario

Potenciales sustratos de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis, PtpA. , 2013

*Tipo de participación:* Expositor oral, *Carga horaria:* 4

*Referencias adicionales:* Argentina; *Nombre del evento:* Ciclos de seminario en el IBR de Rosario-Argentina; *Nombre de la institución promotora:* Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario-IBR

Además de la charla mantuve reuniones con estudiantes e investigadores del Instituto intercambiando ideas y definiendo puntos de interés.

#### Seminario

Reunión organizada por la Unidad de Cristalografía del IPMon con el Prf. PM Alzari , 2013

*Tipo de participación:* Expositor oral, *Carga horaria:* 8

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Seminario conjunto;

En esta reunión cada responsable de grupo presentó los avances en los temas relacionados a la señalización celular, tratando de identificar puntos de colaboración futuros y tener la opinión de un experto, el Prf. PMA Alzari.

#### Seminario

Ciclo regular de seminarios del Centro de Biotecnología-UFRGS , 2006

*Tipo de participación:* Conferencista Invitado,

*Referencias adicionales:* Brasil; *Nombre del evento:* Ciclo regular de seminarios del Centro de Biotecnología-UFRGS; *Nombre de la institución promotora:* UFRGS

Dictado de un seminario (Invitada por el Prof. Henrique B. Ferreira de la Universidad Federal de Río Grande del Sur) en el ciclo regular de seminarios del Centro de Biotecnología. Dicho seminario engloba mi trabajo realizado en Francia 'Proteomic Identification of M. tuberculosis Protein Kinase Substrates: PknB Recruits GarA, a FHA Domain-containing Protein, Through Activation Loop-mediated Interactions', 28/04/2006.

#### Taller

Workshop on TUBERCULOSIS , 2015

*Tipo de participación:* Otros, *Carga horaria:* 10

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Workshop on TUBERCULOSIS; *Nombre de la institución promotora:* Institut Pasteur de Montevideo

asistí

#### Taller

Primer Taller de vinculación de la diáspora calificada con sectores intensivos de conocimiento , 2015

*Tipo de participación:* Otros, *Carga horaria:* 6

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Primer Taller de vinculación de la diáspora calificada con sectores intensivos de conocimiento; *Nombre de la institución promotora:* MIEM, BID

#### Taller

Primer Foro Nacional sobre Pautas Estratégicas en Biotecnología para Sectores Productivo realizado en Montevideo-Uruguay los días 22, 23 y 24 de julio. , 2014

*Tipo de participación:* Panelista, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Primer Foro Nacional sobre Pautas Estratégicas en Biotecnología para Sectores Productivo; *Nombre de la institución promotora:* MEC

El evento contó con la participación de más de 200 representantes de empresas, agencias públicas e instituciones de investigación vinculadas a la Biotecnología nacional y regional con el objetivo de definir líneas de acción que promuevan la aplicación de los conocimientos biotecnológicos en áreas prioritarias de actividad para el país. Se realizaron talleres de trabajo con intercambio facilitado entre los expositores y el público presente, obteniendo así insumos para la toma de decisiones en materia de políticas públicas sub-sectoriales en biotecnología animal, humana, agropecuaria e Industrial. Las presentaciones realizadas están disponibles en el siguiente link: <http://gp.gub.uy/es/node/864>

#### Encuentro

Presentación de los resultados FCE en TRAMA expone , 2014

*Tipo de participación:* Poster, *Carga horaria:* 4

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* TRAMA expone; *Nombre de la institución promotora:* ANII

#### Encuentro

Forum Franco Uruguayen des Sciences, des Technologies et de l'Education , 2014

*Tipo de participación:* Otros, *Carga horaria:* 24

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Forum Franco Uruguayen des Sciences, des Technologies et de l'Education; *Nombre de la institución promotora:* MEC, Academia de Ciencias del Uruguay y de Francia



Encuentro

participación en el encuentro 20 años ECOS-SUD , 2013

*Tipo de participación:* Otros, *Carga horaria:* 6

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* ECOS-SUD; *Nombre de la institución promotora:* UDELAR y Embajada Francesa

Participé como invitada al haber tenido cooperación anterior con Francia

Encuentro

Encuentro 20 años de ECOS-Sud en Uruguay , 2013

*Tipo de participación:* Otros, *Carga horaria:* 10

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Encuentro 20 años de ECOS-Sud en Uruguay; *Nombre de la institución promotora:* Cooperación científica franco-uruguaya

Otra

Entrevista realizada por el Canal de la Presidencia de la República-Informe Semanal , 2008

*Tipo de participación:* Otros,

*Referencias adicionales:* Uruguay; *Nombre del evento:* Informe Semanal; *Nombre de la institución promotora:* Canal de la Presidencia de la República

Entevista en la cuál expuse mi experiencia como bioquímica graduada en Uruguay que retorna a su país luego de 10 anos de formación en Francia-Brasil.

## Indicadores de producción

<i>Producción bibliográfica</i>	<b>62</b>
<i>Artículos publicados en revistas científicas</i>	<b>19</b>
Completo (Arbitrada)	19
<i>Artículos aceptados para publicación en revistas científicas</i>	<b>0</b>
<i>Trabajos en eventos</i>	<b>42</b>
Completo (Arbitrada)	4
Resumen (Arbitrada)	34
Resumen expandido (Arbitrada)	4
<i>Libros y capítulos de libros publicados</i>	<b>0</b>
<i>Textos en periódicos</i>	<b>0</b>
<i>Documentos de trabajo</i>	<b>1</b>
Completo	1
<i>Producción técnica</i>	<b>9</b>
<i>Productos tecnológicos</i>	<b>0</b>
<i>Procesos o técnicas</i>	<b>1</b>
Con registro o patente	1
<i>Trabajos técnicos</i>	<b>5</b>
<i>Otros tipos</i>	<b>3</b>
<i>Evaluaciones</i>	<b>13</b>
Evaluación de Proyectos	5
Evaluación de Eventos	2
Evaluación de Publicaciones	2
Evaluación de Convocatorias Concursables	4
<i>Formación de RRHH</i>	<b>16</b>
<i>Tutorías/Orientaciones/Supervisiones concluidas</i>	<b>14</b>
Tesis de maestría	3
Tesis de doctorado	1
Tesis/Monografía de grado	6
Iniciación a la investigación	3
Otras tutorías/orientaciones	1
<i>Tutorías/Orientaciones/Supervisiones en marcha</i>	<b>2</b>
Tesis de maestría	2

**Sistema Nacional de Investigadores**

**Sistema Nacional de Investigadores**