



Plan de Gestión de Datos

INFORMACIÓN SOBRE EL PROYECTO

1. – Datos del Proyecto

- Título del Proyecto (en castellano)

Propiedades biofísicas de membranas celulares y sistemas modelo. Rol de los esteroides en la determinación de las propiedades estructurales, dinámicas y funcionales de la membrana plasmática en células de insecto.

- Título del Proyecto (en inglés)

Biophysical properties of cell membranes and model systems. Role of sterols in determining the structural, dynamic and functional properties of the plasma membrane in insect cells.

- Descripción del Proyecto (en castellano) Resumen

En las células animales, el colesterol juega un rol central en las propiedades de la membrana plasmática. Las células de lepidópteros poseen un contenido significativamente bajo de colesterol, y se desconoce cómo se distribuye en la membrana plasmática, así como su rol en las características estructurales y funcionales de la membrana.

La adsorción de baculovirus sobre las membranas de células de lepidópteros es un fenómeno de interacción entre membranas. El estudio de esta interacción en respuesta a los cambios en la composición de esteroides de la membrana plasmática puede contribuir a dilucidar el rol del colesterol (o de los esteroides) en la etapa inicial del ciclo de replicación de los baculovirus en células de lepidópteros.

En este proyecto se propone como **objetivo general** investigar el rol que cumplen los esteroides en la determinación de las propiedades estructurales y dinámicas de la membrana plasmática de células de lepidópteros, y cómo, la modificación en el contenido de esteroides en la membrana puede condicionar el proceso de infección y replicación viral.

Se utilizará la línea celular UFL-AG-286 y dos sub-líneas estables generadas mediante la adaptación a proliferar en medios de cultivo que difieren sólo en la fuente de esteroles, uno con sitosterol (sub-línea 1) y otro sin esteroles agregados (sub-línea 2). Los experimentos de infección viral se llevarán a cabo utilizando el Virus de la poliedrosis nuclear múltiple de *Anticarsia gemmatalis*, AgMNPV. Familia *Baculoviridae*, género *Alphabaculovirus*.

Para caracterizar las propiedades biofísicas de la membrana se utilizarán técnicas de Resonancia Paramagnética Electrónica (EPR) con dos marcadores de espín (12-SALS y CLS). Esto permitirá sensar distintos dominios laterales (enriquecidos o reducidos en esteroides).

Por otra parte se propone evaluar, mediante espectroscopía de EPR, los cambios producidos sobre la membrana plasmática, de cada tipo celular, como consecuencia de la infección viral con AgMNPV.

También se propone evaluar la viabilidad y capacidad infectiva de los viriones de AgMNPV conservados en un medio al cual se le ha reemplazado el colesterol por sitosterol.

Finalmente se plantea estudiar, a un nivel atómico mediante técnicas de dinámica



molecular, el papel diferencial que desempeña el sitosterol en comparación con el colesterol.

- Descripción del Proyecto (en inglés) Resumen

In animal cells, cholesterol plays a central role in the properties of the plasma membrane. Lepidopteran insect cells have a significantly low cholesterol content, and how it is distributed in the plasma membrane is unknown, as well as the role it plays in the structural and functional characteristics of the membrane.

Baculovirus adsorption on lepidopteran insect cells is a phenomenon of interaction between membranes. The study of this interaction in response to changes in the composition of sterols in the plasma membrane may contribute to elucidate the role of cholesterol (or sterols) in the initial stage of the baculovirus replication cycle in lepidopteran insect cells.

In this project it is proposed as a general objective to investigate the role of sterols to determine the structural and dynamic properties of the plasma membrane of lepidopteran insect cells, and how, a modification in the content of sterols in the membrane conditions the infection process and viral replication.

The UFL-AG-286 cell line and two stable sub-lines generated by adapting to grow in different culture media will be used, with sitosterol (sub-line 1) and without any source of sterols (sub-line 2). Viral infection experiments will be carried out using the *Anticarsia gemmatalis* Multiple Nuclear Polyhedrosis Virus, AgMNPV. (Family Baculoviridae, genus Alphabaculovirus).

In order to characterize the biophysical properties of the membrane, Electronic Paramagnetic Resonance (EPR) techniques with two spin labels (12-SASL and CLS) will be used. This will allow us to probe different lateral domains (enriched or reduced in sterols) at the membrane.

On the other hand, it is proposed to evaluate, using EPR spectroscopy, the changes produced on the plasma membrane of each cell type, as a consequence of the viral infection with AgMNPV.

It is also proposed to evaluate the viability and infective capacity of AgMNPV virions conserved in a medium that has been replaced cholesterol with sitosterol.

Finally, it is proposed to study, at an atomic level using molecular dynamics techniques, the differential role that sitosterol plays compared to cholesterol.

- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en castellano)

Dominios de membrana, Células de Lepidopteros Baculovirus

- Palabras Claves descriptivas del Proyecto (en inglés)

Membrane domains Lepidopteran insect cells Baculovirus

2 – Datos del Director/ar del Proyecto

- Nombre y Apellido

Pablo Marcelo RODI

- Unidad Académica

Facultad de Bioquímica y Ciencias Biológicas (FBCB)

- Teléfono oficial de contacto

+54 342-457 5213

-Teléfono móvil de contacto

+54 342-6980 445

-E-mail del Director/a del Proyecto

pablorodi@gmail.com, prodi@fcb.unl.edu.ar



DATOS RESULTANTES DE LA EJECUCIÓN DEL PROYECTO

-Describa la toma de muestras / datos a realizar

Se usarán cultivos de la línea celular UFL-AG-286. Se utilizarán diversos medios de cultivo (Laboratorio de Virología, FBCB, UNL).

- El contenido de colesterol remanente en las células se determinará por cromatografía de gases (CONICET, Santa Fe. Contratado como Servicio externo)
- Se determinará la viabilidad celular por Trypan blue (Laboratorio de Virología, FBCB, UNL).
- El ordenamiento lipídico de la membrana plasmática de las células viables se determinará mediante el análisis de espectros de EPR de marcadores de espín liposolubles incorporados a la membrana. (Departamento de Física, FBCB, UNL)

Se utilizará una cepa del virus de la poliedrosis nuclear múltiple de Anticarsia gemmatalis (AgMNPV) para los ensayos de Infección viral (Laboratorio de Virología, FBCB, UNL).

- Se cuantificará el título de viriones brotados siguiendo un procedimiento de dilución límite (Laboratorio de Virología, FBCB, UNL).

Se realizarán simulaciones de Dinámica Molecular de sistemas de bicapas lipídicas con diferentes composiciones. (Departamento de Física, FBCB, UNL)

- Se obtendrán resultados cuantitativos a partir de análisis característicos para sistemas de membranas: perfiles de densidad, área por lípido, parámetros de orden, etc (Departamento de Física, FBCB, UNL).

- Datos: ¿Existe alguna razón por la cual los datos declarados no deban ser puestos a disposición de la comunidad/ser de acceso público? (marque X)

	NO
X	<p>SI. Elija una de las opciones:</p> <p>Se solicita confidencialidad debido a que los resultados serán parte de una publicación científica en una revista especializada del área, para lo cual es necesario que los datos no hayan sido publicados con anterioridad.</p>
<p>- Período de Confidencialidad: Es el período durante el cual los datos no deberían ser publicados, contado a partir del momento de la toma de los mismos. El período máximo para la no publicación es de 5 (CINCO) años posteriores a su obtención. Luego de este periodo, los datos estarán disponibles para la comunidad/serán de acceso público.</p> <p>Si Ud. considera que este tiempo es insuficiente, y necesita prorrogar el período de confidencialidad, indique sus motivos y la cantidad de años adicionales que considera necesarios. Marque su opción con "X".</p>	
<input type="checkbox"/>	1 (UN) año
<input checked="" type="checkbox"/>	2 (DOS) años



	3 (TRES) años
	4 (CUATRO) año
x	5 (CINCO) años
	Otro.
	Motivos:

Pablo M. RODI
DNI 25.126.548