

# BIONANOTECNOLOGÍA EN SANTIAGO DEL ESTERO

**Palabras clave:** Bionanotecnología, fotoquímica, fotobiología, electroquímica, enzimología estructural, simulación, producción animal.

**Key words:** Bionanotechnology, photochemistry, photobiology, electrochemistry, structural enzymology, animal production, simulation.

La integración entre biotecnología y nanotecnología conforma la bionanotecnología que es una disciplina que permite potenciar la utilización de biomoléculas con materiales abióticos de diseño a escala nanométrica para la obtención de sistemas supramoleculares con funcionalidades biocompatibles específicas y modulables por factores intrínsecos o extrínsecos, que abarcan numerosas aplicaciones en diversos campos, como la medicina, diagnóstico por imagen, inmunoproteómica, administración de fármacos, ingeniería de tejidos, cosmética, y agricultura, etc.

A diferencia de los estudios biológicos tradicionales, la bionanotecnología aborda la biología desde la nanoescala, o la nanotecnología desde una perspectiva biológica, lo que permite obtener conocimientos únicos sobre el funcionamiento de los sistemas biológicos y sobre cómo podemos desarrollar nuevas y mejores tecnologías bioinspiradas.

Esta apasionante frontera científica ha comenzado a desarrollarse en la provincia de Santiago del Estero desde la creación del Instituto de Bionanotecnología del NOA (INBIONATEC) en 2016, siendo la primera Unidad Ejecutora de Doble Dependencia (UEDD) del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) en la Universidad Nacional de Santiago de Estero (UNSE).

En este artículo describimos brevemente el aporte del INBIONATEC en el desarrollo de la bionanotecnología como disciplina emergente en el NOA por sus diversos grupos de investigación, que incluye enfoques temáticos multidisciplinares como la fisicoquímica de superficies, química analítica, electroquímica, fotoquímica, modelado computacional, fotobiología, biología molecular, microbiología, entre otros.

**BIONANOTECHNOLOGY IN SANTIAGO DEL ESTERO.** The integration between biotechnology and nanotechnology forms bionanotechnology, which is a discipline that enables the use of biomolecules with abiotic materials designed at the nanoscale to obtain supramolecular systems with specific biocompatible functionalities that can be modulated by intrinsic or extrinsic factors, covering numerous applications in various fields, such as medicine, diagnostic imaging, immunoproteomics, drug delivery, tissue engineering, cosmetics, and agriculture, etc.

Unlike traditional biological studies, bionanotechnology approaches biology from the nanoscale, or nanotechnology from a biological perspective, providing unique insights into how biological systems work and how we can develop new and better bio-inspired technologies.

This exciting scientific frontier has started to develop in the province of Santiago del Estero since the creation of the NOA Institute of Bionanotechnology (INBIONATEC) in 2016, being the first Dual Dependency Executing Unit (UEDD) of the National Council for Scientific and Technical Research (CONICET) at the National University of Santiago del Estero (UNSE). In this article we briefly describe the contribution of INBIONATEC in the development of bionanotechnology as an emerging discipline in the NOA by its various research groups, which includes multidisciplinary thematic approaches such as surface physicochemistry, analytical chemistry, electrochemistry, photochemistry, computational modeling, photobiology, molecular biology, microbiology, among others.

## ■ BIONANOTECNOLOGÍA: EL ENCUENTRO DE LA BIOLOGÍA CON LA QUÍMICA EN ESPACIO CONFINADOS

La *bionanotecnología* representa la intersección de la biología mole-

cular con varias disciplinas básicas como la química-física, bioquímica, e ingenierías, principalmente, que permiten el diseño racional de objetos o estructuras en la nanoescala (1-100 nm, 1 nm = milmillonésima de metro =  $10^{-9}$ m) y que posean fun-

cionalidades de impacto biológico con precisión molecular. A nivel nanométrico, las propiedades físicas, químicas y biológicas de los materiales difieren de forma fundamental y valiosa, y a nivel celular, esta escala incluye componentes biológi-

■ **Coria, MS<sup>1,2\*</sup>, Paz Zaninni, V.I<sup>1,2</sup>, González, J<sup>1,2</sup>, Morán, E<sup>1,2</sup>, Valle, L<sup>1,2</sup>, Abatedaga, I<sup>1</sup>, Pinto, OA<sup>1,2</sup>, López de Mishima, BA<sup>1,2</sup>, Borsarelli, CD<sup>1,2</sup>**

1. Instituto de Bionanotecnología del NOA (INBIONATEC), CONICET. Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE); RN9, km 1125. G4206XCP, Santiago del Estero, Argentina.

2. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Av. Belgrano (S) 1912. G4200ABT, Santiago del Estero, Argentina

\*E-mail: [inbionatec@conicet.gov.ar](mailto:inbionatec@conicet.gov.ar)

web: <https://inbionatec.conicet.gov.ar/>

cos como el ADN y las membranas celulares con tamaños de aproximadamente de 2 a 3 nm, mientras que el tamaño de proteínas oscila entre 5 a 10 nm. Por tanto, la biología de los seres vivos que comparten estos componentes celulares comunes (ADN, proteínas y membranas) ocurre en la nanoescala. En este contexto, la combinación de objetos nanoscópicos abióticos, de diferentes formas y dimensiones, como por ejemplo nanopartículas, nanohilos, micelas, dendrímeros, nanotubos, liposomas, etc., combinadas con biomoléculas confluyen en la construcción de bionanocompuestos con funcionalidades específicas y aumentadas, ya que la química-física de estos bionanoconjugados puede ser modulada por estímulos ambientales (pH, luz, campos magnéticos, temperatura, etc) (Jutz & Böker, 2011; Shaffer, 2005). Así se aprovechan las distintas propiedades funcionales de las biomoléculas y los nanomateriales, que comparten el mismo rango de tamaño, para una amplia gama de aplicaciones como: monitoreo molecular de sustratos de interés biomédico, señalizado ópti-

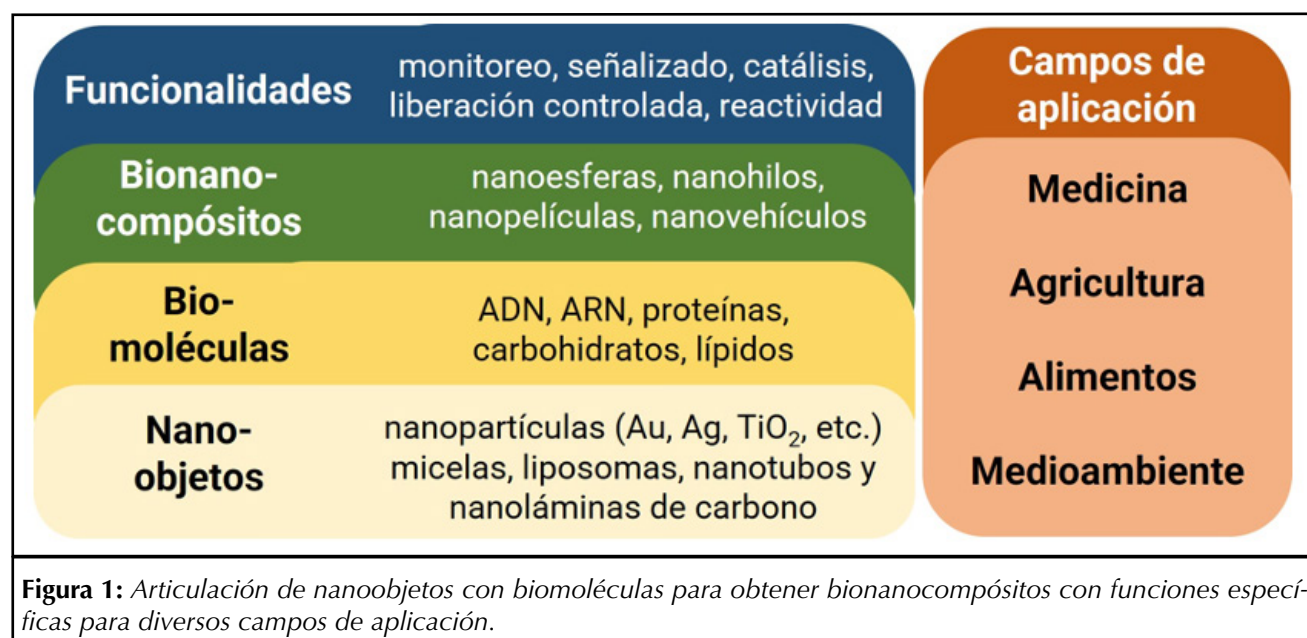
co de tejidos y organelas, liberación controlada de medicamentos, (foto/electro) reactividad, etc., aprovechables tanto en medicina, agricultura, medio ambiente, tecnología de alimentos, etc, (Figura 1) (Mack, 2005).

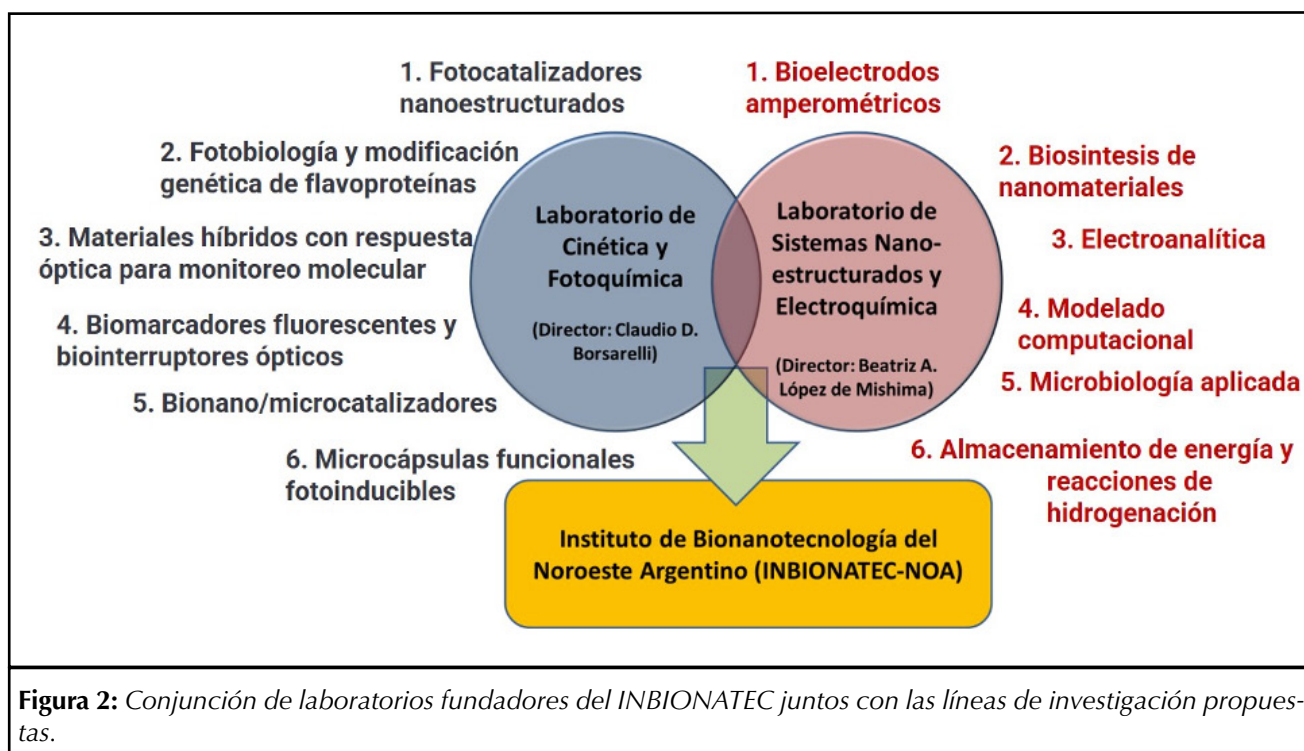
### ■ BIONANOTECNOLOGÍA AQUÍ Y AHORA EN SANTIAGO DEL ESTERO: INBIONATEC

El abordaje de la bionanotecnología en la provincia surgió paulatinamente en la medida que se fueron consolidando recursos humanos y facilidades edilicias e instrumentales a lo largo de más de 20 años, con las iniciativas de la Dra. Beatriz López de Mishima del área de electroquímica y tecnología de los alimentos y del Dr. Claudio D. Borsarelli del área de fotoquímica y espectroscopías que en 2015 confluyeron sus grupos de trabajo para proponer las bases del Instituto de Bionanotecnología del NOA (INBIONATEC), primera unidad ejecutora de doble dependencia creada entre CONICET y la Universidad Nacional de Santiago del Estero (UNSE), orientada al desarrollo de la bionanotecnología

con la variedad temática indicada en la Figura 2. En agosto de 2016, el INBIONATEC inicia oficialmente su actividad con la conformación de siete investigadores CIC-CONICET, 1 investigador UNSE, ocho becarios doctorales y un técnico CPA de CONICET con la dirección de Dr. Borsarelli.

En los años posteriores se acoplaron el grupo de Producción y Reproducción Animal dirigido por el Dr. Gustavo A. Palma, y de Enzimología Estructural del Dr. Javier M. González, repatriado de USA con el programa PRH-PIDRI Raíces. En los siete años de actividad, se produjo un próspero crecimiento del personal de planta ya que actualmente se cuenta con 15 investigadores CIC y 6 técnicos CPA y 1 personal administrativo. Además, se completaron las obras edilicias de la planta alta para disponer de un edificio de 800 m<sup>2</sup> que alberga más de 10 laboratorios con equipamiento de media y alta performance, además de oficinas y espacios de servicio, que permite desarrollar las diferentes líneas de investigación y brindar servicios tec-





nológicos de alto nivel (STAN) como se indica en la página web (<https://inbionatec.conicet.gov.ar/>), desarrollada por los siguientes grupos de investigación: 1) Fotoquímica y Bionanomateriales, 2) Nanomateriales y Electroquímica; 3) Enzimología Estructural; 4) Físicoquímica Teórica y Computacional; 5) Fotobiología Molecular, y 6) Producción y Reproducción Animal, como se resume a continuación.

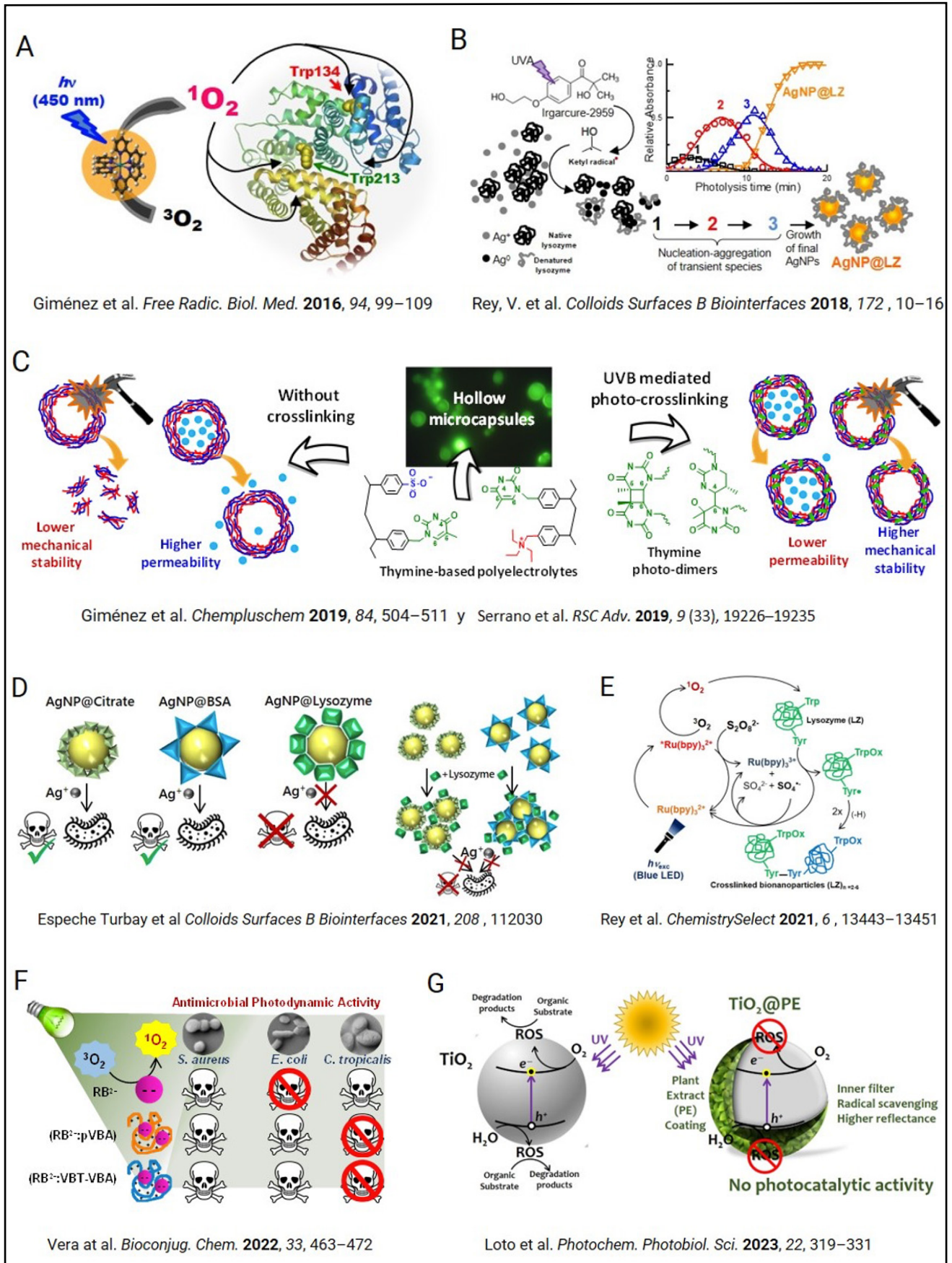
#### ■ FOTOQUÍMICA Y BIONANOMATERIALES: UTILIZANDO LUZ Y (BIO)NANOESTRUCTURAS PARA MODULAR ALGUNAS PROPIEDADES DE INTERÉS BIOLÓGICO Y AMBIENTAL

El diseño de (bio)nanomateriales que posean alguna funcionalidad por su interacción con la luz abre un abanico de aplicaciones desde el cambio de propiedades mecánicas y ópticas de estructuras supramoleculares, diferentes actividad antimicrobiana y enzimática, fotoseñalizado

selectivo de analitos, modulación de reactividad fotocatalítica, entre tantas otras. Desde el año 2000, conformando el pionero Laboratorio de Cinética y Fotoquímica (LACIFO), se han implementado progresivamente técnicas espectroscópicas de estado estacionario (absorción UV-vis e IR, fluorescencia, Raman) y resuelta en el tiempo (laser flash photolysis LFP, time-correlated single-photon counting TCSPC, laser induced optoacoustic, LIOAS), y ya como parte del INBIONATEC incorporando microscopias avanzadas como de fluorescencia invertida, de barrido electrónico (SEM), y confocal Raman, y recientemente técnicas analíticas de alta performance como Fast Protein Liquid Chromatography (FLPC) and High Performance Liquid Chromatography (HPLC) y HPLC-Espectroscopía de Masas.

La incorporación de estas tecnologías han sido consecuencia con el interés del grupo de trabajo en el INBIONATEC para la investigación de

procesos moleculares y supramoleculares que involucren la interacción de luz con nanomateriales y biomoléculas en líneas de investigación tales como la caracterización fotofísica y fotobiológica de enzimas con cofactores cromofóricos (Abatedaga et al., 2017, 2022; Albarracín et al., 2014; Golic et al., 2019; Pezza et al., 2019; Valle et al., 2015; Villegas et al., 2014; Xu et al., 2014) procesos fotofísicos y fotoquímicos tanto en solución (Castaño et al., 2019; Crosio et al., 2021; Martin et al., 2017; Salomón et al., 2020; Zúñiga-Núñez et al., 2018) como en sistemas nano/microorganizados, (Carabajal et al., 2020; Giménez et al., 2019; Serrano et al., 2019; Valle et al., 2016; N.L. Vanden Braber et al., 2018) bionanocompuestos (Chaves et al., 2016; Giménez et al., 2016; Rey et al., 2018) y actividad antimicrobiana fotoinducida de moléculas, supramoléculas y nanocompuestos (Comini et al., 2017; Noelia L. Vanden Braber et al., 2017; Vera et al., 2020) entre los principales.



**Figura 3:** resúmenes gráficos de algunos artículos publicados por el grupo de Fotoquímica y Bionanomateriales del INBIONATEC (<https://inbionatec.conicet.gov.ar/fotoquimica-y-nanomateriales/>)

La Figura 3 resume algunos de los sistemas macromoleculares, supramoleculares y bionano-organizados cuya reactividad y funcionalidad son inducidos por luz, como por ejemplo el efecto de la nano-compartimentalización proteica para la difusión y reactividad del oxígeno singlete generado por fotosensibilización (Fig. 3A),(Giménez et al., 2016) cinética de formación de nanopartículas de plata estabilizadas con lisozima mediante fotoreducción (Fig. 3B),(Rey et al., 2018) modulación de funcionalidades y propiedades de microcápsulas huecas de polielectrolitos autoensamblados (Fig 3C),(Giménez et al., 2019; Serrano et al., 2019) generación fotoinducida de nanopartículas de plata con diferente corona proteica y modulación de la actividad antibacteriana (Fig 3D),(Espeche Turbay et al., 2021) formación de bionanopartículas de proteínas intactas por reacciones de fotoentrecruzamiento (Fig 3E),(Rey et al., 2021) aductos polielectrolitos-fotosensibilizador por propiedades de actividad antimicrobiana fotodinámica selectiva (Fig 3F),(Vera et al., 2022) y preparación de nanopartículas de dióxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) recubiertas con extractos de plantas autóctonas para anular la actividad fotocatalítica del semiconductor y utilizar el material en formulaciones cosméticas (Fig 3G),(Loto et al., 2023) entre otros.

## ■ NANOMATERIALES Y ELECTROQUÍMICA

El laboratorio de Electroquímica comenzó sus actividades en la UNSE, en la década del 80, con el estudio electroquímico de electrodos de óxidos de manganeso como línea independiente y el estudio de la disolución de electrodos de cinc en medio alcalino, en colaboración con la UNC, temáticas de las tesis doctorales de las licenciadas en Química Mariana Hernandez Ubeda e Inés

Sánchez de Pinto respectivamente. El comportamiento electroquímico de los óxidos de manganeso comprendió la preparación de los óxidos, el análisis del proceso de óxido-reducción en medio alcalino a través de la reacción de carga-descarga, su reversibilidad y mecanismo. Las investigaciones espectroscópicas *in situ* y *ex situ* se realizaron con películas de óxido preparadas sobre electrodos de oro. Se utilizaron las técnicas espectroscópicas *in situ* de Raman y espectroscopía de reflexión infrarroja (IRAS), y *ex situ* como microscopía electrónica de barrido acoplada a espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (SEM-EDAX) y espectroscopía fotoelectrónica de rayos X, XPS. Se realizaron los cálculos de los cambios de los estados de oxidación de manganeso y con los espectros Raman la adjudicación de las bandas. Los estudios espectroscópicos se realizaron en la Universidad de Hokkaido (Sapporo, Japón) y en la Facultad de Ingeniería de la UNL. Los resultados se publicaron en revistas de la especialidad como *Journal of Electroanalytical Chemistry*, *Electrochimica Acta*.

Posteriormente miembros del laboratorio trabajaron casi dos años en el *Institut für Physikalische Chemie* de la *Universität Bonn* en proyectos de la Comunidad Europea de celdas de combustible y con la participación de VARTA en baterías de litio. También con una empresa que desarrollaba sensores gaseosos en convenio con el Instituto, se estudió el sensor de amoníaco en solventes no acuosos. Se prepararon electrodos de polímeros conductores con pirrol y copolímeros de pirrol y tiofeno y para las celdas de combustible, electrodos bimetalicos como platino rutenio y trimetalicos con el agregado de cobalto y níquel. A nivel de investigación básica se hicieron algunos trabajos de las especies adsorbidas de metanol,

ácido fórmico y dióxido de carbono sobre platino utilizando FTIR y la reducción de oxígeno en la celda de combustible metanol /oxígeno (aire) con espectroscopía de masa electroquímica (DEMS). El funcionamiento de los electrodos con polímeros se analizó en celdas de litio en solventes no acuosos colocadas en cajas secas. Por otra parte, se realizó el estudio con DEMS de la oxidación de amoníaco en propilencarbonato. En la UNSE se continuó trabajando en electrocatalisis y sensores gaseosos a través de la preparación de electrodos de aleaciones de metales nobles como platino-iridio, platino-rutenio como electrodos para la oxidación de amoníaco.

Posteriormente, en el Instituto de Química de la Facultad se dio inicio a una nueva línea de trabajo en la electroquímica: el desarrollo de electrodos enzimáticos para la cuantificación de analitos de interés en la industria alimentaria. Esta última línea de trabajo, proyecto de tesis doctoral de la Lic. Verónica Paz Zanini, fue la que dio origen al laboratorio de electroquímica que hoy forma parte del INBIONATEC. Entre los principales logros podemos destacar la inclusión por primera vez de la enzima lactato oxidasa en hidrogeles de laponita, una nanoarcilla sintética. Esto geles fueron estabilizados mediante el uso de diferentes compuestos (silasesquioxano (Paz Zanini et al, 2010), quitosano (Paz Zanini et al, 2011) polielectrolito bioinspirado (Paz Zanini, et al., 2013), para lograr la estabilidad de los mismos en la superficie de los electrodos de trabajo. La verdadera utilidad de un biosensor se demuestra al analizar muestras reales, donde los analitos están acompañados por posibles interferentes. En este sentido, se analizaron muestras de vino blanco y tinto, cerveza, procesos de fermentación, yogur y leche cultivada. Se investigó el efecto de

azúcares, etanol, ácidos orgánicos (incluido ascórbico y ácido acético) y antioxidantes como las cianidinas, sin que interfirieran de manera significativa. Resultados similares se lograron con la inclusión de otras enzimas, glucosa oxidasa (Paz Zanini et al., 2016) y peroxidasa de rábano (Tulli et al., 2018).

En el caso de las nanopartículas metálicas de oro (Au-NP), sintetizadas en el laboratorio de acuerdo con técnicas de bibliografía, sus propiedades fueron estudiadas por microscopía electrónica de transmisión y espectrofotometría. Los estudios por espectroscopía de impedancia electroacústica (EIS) y técnicas electroanalíticas convencionales demostraron una mejora en el desempeño de los sensores (Araujo et al., 2021) y biosensores desarrollados (Paz Zanini et al., 2017), explicable por la excelente conductividad eléctrica de las Au-NP, mayor velocidad de transferencia de carga y mejor conexión de la enzima con el electrodo.

Actualmente, el grupo de trabajo cuenta 5 becarios doctorales que desarrollan sus trabajos de tesis enmarcados en el diseño y desarrollo de plataformas nanoestructuradas para la detección electroquímica de sustancias de interés en el ambiente, tales como especies de As(III), y contaminantes emergentes (antibióticos, analgésicos, colorantes, entre otros).

Así mismo, entre los nuevos desafíos del grupo podemos destacar la utilización de materiales sustentables, reciclados y/o con bajo impacto ambiental. En este sentido, se están llevando a cabo los primeros estudios con plataformas basadas en materiales carbonosos derivados de la biomasa para la detección de compuestos polifenólicos y la utilización de carbono grafito recuperado de pilas agotadas para la cuantificación de As(III) en aguas de uso y consumo.

## ■ FOTOBIOLOGÍA MICROBIOLÓGICA: FUENTE DE RECURSOS BIOTECNOLÓGICOS

La fotobiología es el estudio de la interacción entre los organismos vivos y la luz. La respuesta fotobiológica de un organismo, será el resultado de cambios físicos y/o químicos resultantes de la absorción de un fotón. La fotosíntesis es el ejemplo más importante y el más estudiado a la fecha. Sin embargo, fenómenos como el fototropismo y otros comportamientos en plantas (Kong y Okajima, 2016), la motilidad y formación de biofilms en microorganismos (Gomelsky y Hoff, 2011), motilidad de algas (Iseki et al., 2002, Jaubert et al., 2017) y la visión (Arshavsky y Burns, 2012), son algunos procesos dependientes de la calidad, intensidad y dirección de la luz. En todos, un tipo especializado de proteínas, los fotorreceptores, son los responsables primarios de la captación y respuesta al estímulo luminoso, lo que desencadena una respuesta celular.

Los fotorreceptores contienen dentro de la matriz proteica una molécula llamada cromóforo. La estructura química de los cromóforos que intervienen en la captación del fotón, o fotorrecepción, se reduce a unos pocos tipos de moléculas: tetrapirroles de cadena abierta, derivados de polienos, derivados de compuestos aromáticos y de reciente descubrimiento, derivados de vitamina B12. Los átomos de estas moléculas presentan un ordenamiento tal que les confieren la capacidad de absorber luz de diferentes longitudes de onda (Fig. 1). La posterior interacción del cromóforo con los aminoácidos presentes en la cavidad proteica que los contiene, les confiere la especificidad final que determina la función del fotorreceptor.

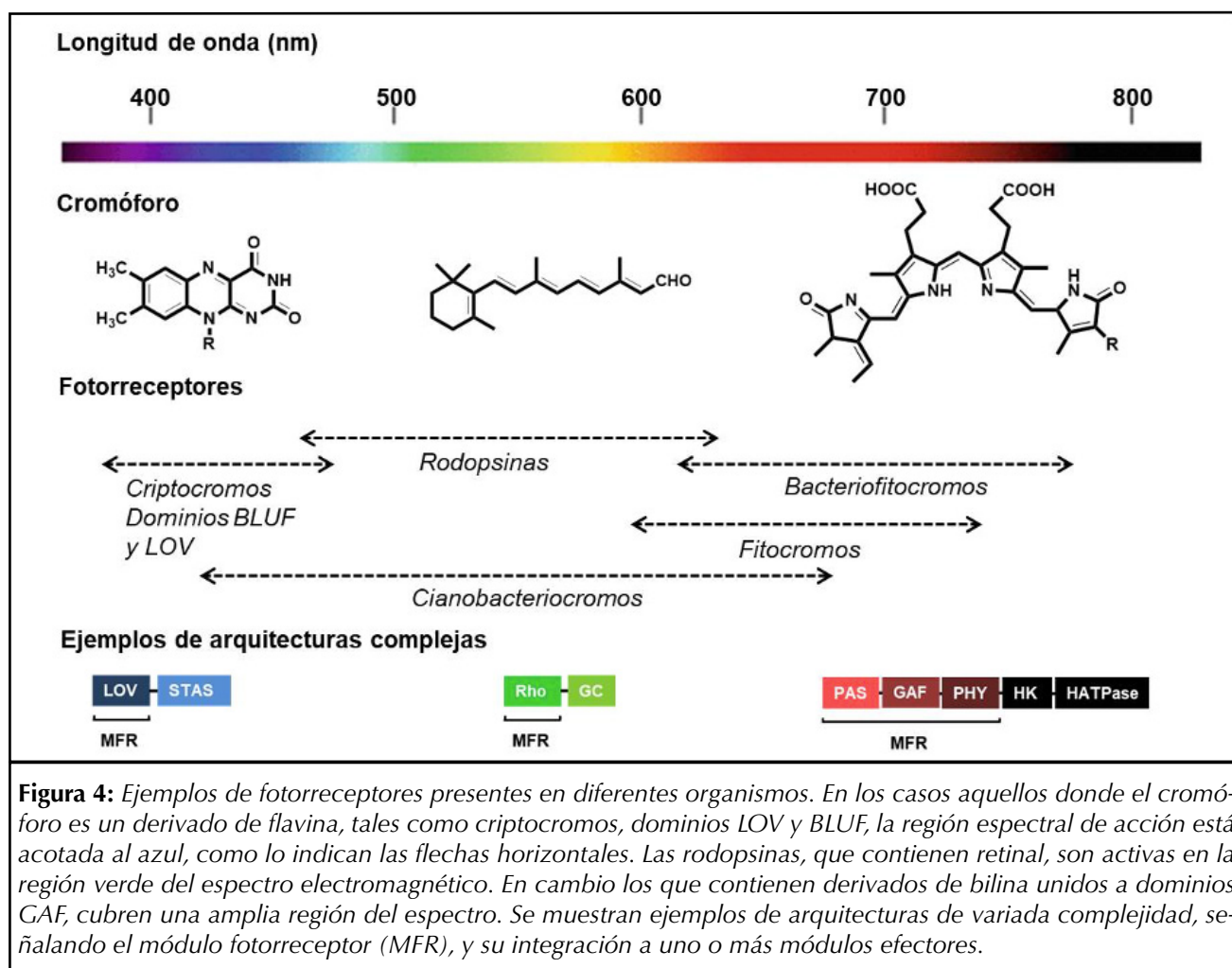
Los fotorreceptores pueden constituirse como una estructura proteica

netamente receptora o presentar una arquitectura proteica modular más compleja, en donde tanto la parte receptora del fotón, como la efectora de señal se encuentran integradas (Fig. 4). En estos últimos, generalmente existen uno o más módulos sensores por proteína lo que permite la integración de diversas señales, y un módulo efector, encargado de iniciar la respuesta específica en el microorganismo, la cual generalmente está asociada a un fenotipo que sirve de referencia para estudiar la respuesta a la luz *in vivo*.

Las secciones siguientes están dedicadas a aquellos fotorreceptores cuyas propiedades fotobiológicas han sido nuestro objeto de estudio a lo largo de estos últimos años en el grupo de Fotobiología Molecular: los dominios BLUF (Blue Light using FAD), LOV (Light-Oxygen-Voltage) y GAF (GMP-fosfodiesterasa- Adenilato ciclasa-FhIA).

El conocimiento de los eventos moleculares que generan las propiedades fotobiológicas de los distintos fotorreceptores, de la posterior transducción de esta señal al módulo efector (fotorreceptores complejos), o de su interacción con otras proteínas en la cascada de señalización (fotorreceptores simples) genera la posibilidad de modular estos eventos utilizando tecnología recombinante, y esto es la base de su aprovechamiento como herramientas biotecnológicas.

*Dominios BLUF:* Los dominios BLUF corresponden a una familia de proteínas fotorreceptoras que tienen como cromóforo asociado, una molécula de FAD (Flavina Adenina Dinucleótido). Se encuentran ampliamente distribuidos en procariontes, en algunos eucariontes unicelulares y en hongos. Pueden estar presentes como un dominio aislado, en el que la recepción de la luz modifica la interacción del fotorreceptor con



**Figura 4:** Ejemplos de fotorreceptores presentes en diferentes organismos. En los casos aquellos donde el cromóforo es un derivado de flavina, tales como criptocromos, dominios LOV y BLUF, la región espectral de acción está acotada al azul, como lo indican las flechas horizontales. Las rodopsinas, que contienen retinal, son activas en la región verde del espectro electromagnético. En cambio los que contienen derivados de bilina unidos a dominios GAF, cubren una amplia región del espectro. Se muestran ejemplos de arquitecturas de variada complejidad, señalando el módulo fotorreceptor (MFR), y su integración a uno o más módulos efectores.

proteínas asociadas a la transducción de señal, o bien formando parte de arquitecturas más complejas, del tipo sensor-efector (Fig. 1). En el último caso, el dominio BLUF es un sensor N-terminal que capta la luz, y está unido a un dominio C-terminal que inicia la transducción de la señal luminosa.

El motivo estructural característico de los dominios BLUF consiste en cinco láminas  $\beta$  y dos hélices  $\alpha$  entre las que encuentra una molécula de FAD, estabilizada por una red de interacciones por puente hidrógeno. Dos residuos altamente conservados, tirosina (Y) y glutamina (Q), son fundamentales para que suceda el

fotoproceso. La luz azul genera una modificación de las interacciones por puente hidrógeno en el entorno inmediato de la flavina, evidenciado por el corrimiento al rojo del máximo de absorción característico, por formación del estado adaptado a luz, IBLUF. En ausencia de luz, el sistema revierte al estado inicial, denominado dBLUF. Estos cambios sutiles en el ambiente inmediato del cromóforo son suficientes para generar una cascada de reacciones celulares evidenciadas por la expresión de fenotipos como motilidad o generación de biofilms, entre otros.

*Integración luz temperatura en dominios BLUF:* Como se ha men-

cionado, existen proteínas que en su extremo N-terminal presentan varios módulos sensores que permiten integrar diferentes señales físicas o químicas para regular su actividad. *Acinetobacter baumannii*, una  $\gamma$ -proteobacteria intrahospitalaria, presenta fenotipos en respuesta a la luz azul modulados por la temperatura. Se conocía que estos fenotipos (formación de biofilm, motilidad, etc.) estaban mediados por un fotorreceptor tipo BLUF, llamado BlsA (Blue light sensing A) (Mussi et al., 2010). Pero se desconocía como la temperatura influía en estas respuestas. El registro en el tiempo del cambio espectral de BlsA por acción de la luz azul y su reversión en os-

curidad determina un perfil cinético. La velocidad de formación del estado IBlsA, se utilizó para calcular el rendimiento cuántico de este proceso,  $F_{IBlsA}$  la que correspondería a una medida de la eficiencia global de BIsA como fotorreceptor, permitiendo estudiar la variación de este proceso con la temperatura (Fig. 5A). El conjunto de cambios conformacionales discretos producidos por la temperatura en BIsA alteran la respuesta a la luz, llevando a una completa pérdida de la fotorrecepción por encima de los 28°C. Análisis de la emisión de fluorescencia del FAD dentro de BIsA y su variación con la temperatura, evidenciaron la presencia de cambios locales que afectan la interacción proteína-cromóforo, generando una pérdida de foto-actividad. Esta inactivación de la proteína a T mayor a 28°C, está asociada a su vez a la formación de microagregados insolubles, tal como se demostró por el cambio de tamaño de partículas de dBIsA con la temperatura (Fig. 5B), usando la

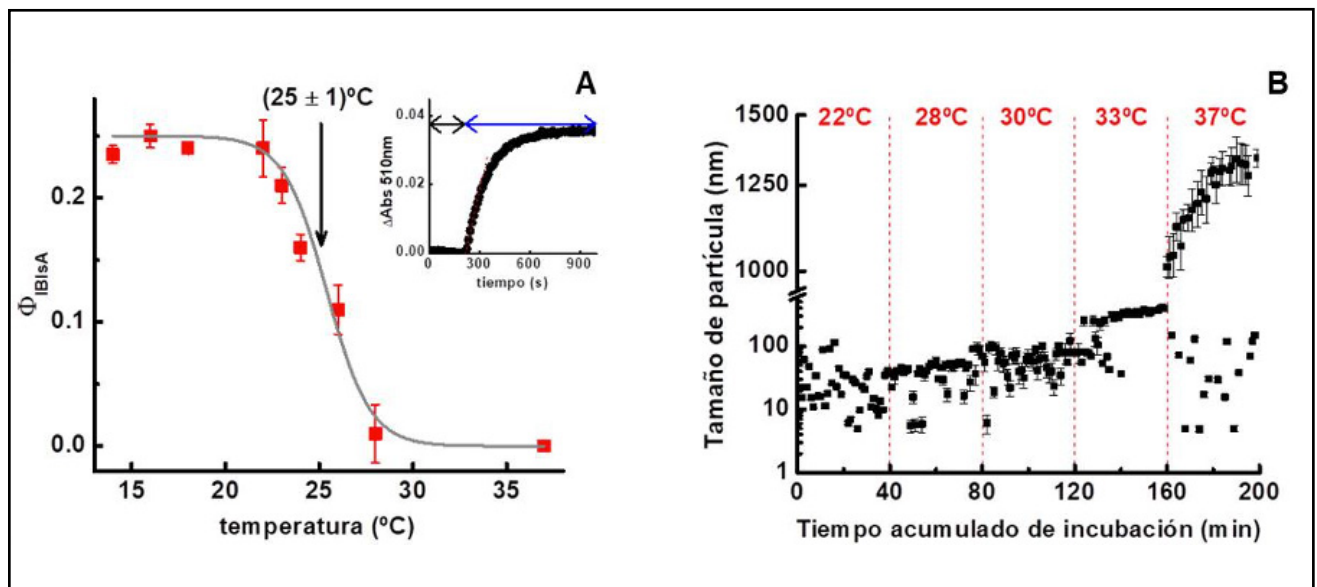
técnica de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) (Abatedaga et al., 2017, Golic et al., 2019).

Por lo tanto, los estudios *in vitro* de la proteína BIsA utilizando diversas espectroscopias, sumado a ensayos *in vivo*, permitieron confirmar que BIsA es un termosensor activo a temperatura baja a moderada (por debajo de 25°C), en donde la temperatura contribuye a la modulación del fenotipo a nivel proteico (estructura terciaria y cuaternaria) y a nivel transcripcional.

**Dominios LOV:** Los dominios LOV comprenden fotorreceptores de arquitectura modular compleja. Pueden estar asociados a otros dominios sensores, y las señales son integradas por el dominio efector localizado hacia el extremo C-Terminal de la proteína. Están constituidos por aproximadamente 100 aminoácidos y presentan una estructura conservada, formada por cinco láminas b antiparalelas y cuatro a hélices (Fig.

6A), en donde la molécula del cromóforo FMN (Flavina Mononucleótido) se une de manera no covalente, estabilizada por interacciones del tipo puente hidrógeno, puentes salinos e interacciones hidrofóbicas con residuos del entorno. En el proceso primario, la incidencia de un fotón de luz azul, provoca la formación de un fotoaducto entre el C-4a del anillo de isoaloxazina y el grupo sulfhidrido de un residuo conservado de cisteína, FMN-Cys (Fig. 6B). Esto reduce la conjugación de dobles enlaces en la estructura de la flavina, con el consecuente corrimiento al azul del máximo de absorción. El estado previo y post formación de aducto, se denominan  $LOV_{450}$  y  $LOV_{390}$  respectivamente, indicando en el subíndice el máximo de absorción de cada especie. Este comportamiento es térmicamente reversible. Es decir que en oscuridad se escinde el enlace C-S y se recupera la forma  $LOV_{450}$ .

El mecanismo de formación del fotoaducto responde a un proceso



**Figura 5:** A. Variación del rendimiento cuántico de formación del estado adaptado a luz,  $\Phi_{IBlsA}$  con la temperatura. Inserto. Perfil de formación del estado IBlsA. La muestra se mantiene en la oscuridad, y luego se ilumina con luz azul. Periodos señalados por las flechas horizontales. B. Distribución de tamaño de partícula de oligómeros de dBIsA, determinados por DLS.



secuencial, en donde el fotón que incide sobre la especie fundamental de la flavina, genera un estado excitado denominado singulete  $^1\text{FMN}^*$ . Por las características moleculares del cromóforo y su entorno proteico inmediato, se desactiva la emisión de fluorescencia y con una alta eficiencia, ocurre un cambio en la multiplicidad de spin, formando lo que se conoce como estado triplete  $^3\text{FMN}^*$ . Se trata de una entidad transitoria cuyo tiempo de vida es de unos pocos microsegundos y que forma el fotoaducto con el residuo de cisteína.

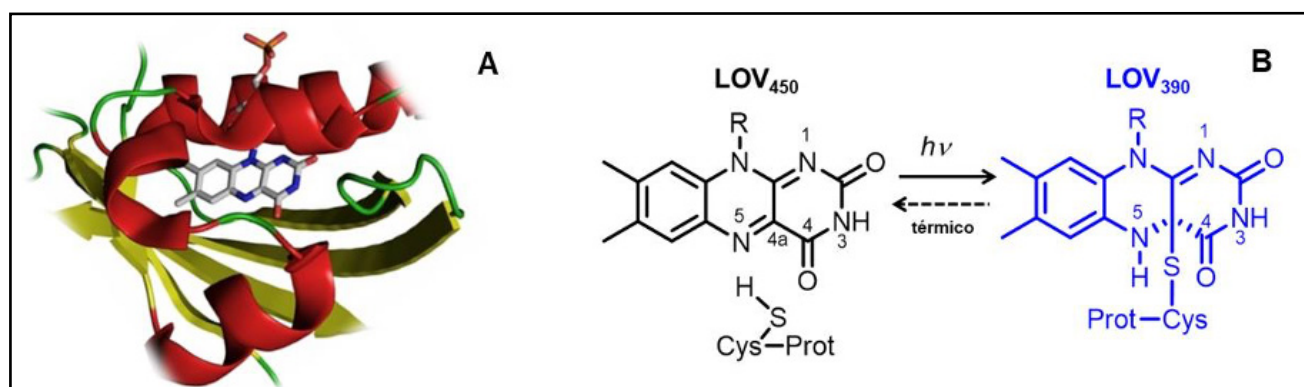
*De lo básico a lo aplicado. Proyecciones:*

A partir del conocimiento generado, se espera poder llevarlo a aplicaciones específicas. Uno de los perfiles, es la generación de sondas fluorescentes utilizadas en microscopía confocal para la marcación intracelular de genes target. En el caso de dominios GAF, la fluorescencia natural o incrementada por mutaciones sitio-dirigidas, deleciones o cambio de cromóforo (lo que es posible en este sistema), los hacen candidatos promisorios. La búsqueda está orientada a CBCRs, lo que

amplía la región espectral en las que las biliproteínas fluorescentes resultantes pueden ser usadas. En el caso de los dominios LOV, se analizan candidatos con propiedades fluorescentes incrementadas por efecto del entorno proteico, y con reversión térmica acelerada. La conjunción de estas propiedades, puede ser utilizada para formar un bioconjugado. Esto es una molécula de diseño en donde se unen varios módulos con distintas funcionalidades. Específicamente, se plantea anclar la proteína fluorescente bioconjugada con un antibiótico específico a la pared celular de bacterias contaminantes, como *E. coli*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, etc. permitiendo detectar la contaminación de modo inmediato y *in situ*, evitando la propagación de enfermedades. Otra de las posibles aplicaciones de los dominios LOV fluorescentes, es utilizarlas como nanoreactores en donde se forman especies reactivas de oxígeno (ROS), como el oxígeno singulete y/o anión superóxido. El proceso es inducido por luz azul y ocurre aún a bajas concentraciones de oxígeno del medio de reacción. Las especies ROS, pueden ser utilizados para atacar y/o hacer visibles tejidos celulares.

## ■ ENZIMOLOGÍA ESTRUCTURAL: MICROORGANISMOS EXTREMÓFILOS DEL NORTE ARGENTINO: UN TESORO BIOTECNOLÓGICO PARA LA PRODUCCIÓN SOSTENIBLE Y EL SANEAMIENTO AMBIENTAL

El Laboratorio Enzimología Estructural, dirigido por el Dr. González está llevando a cabo una serie de estudios sobre la diversidad de microorganismos extremófilos nativos del norte argentino y su potencial para desarrollos en el área de la Biotecnología. Los microorganismos extremófilos son organismos unicelulares, como bacterias y arqueas, que pueden sobrevivir y prosperar en ambientes extremos que son considerados inhabitables para la mayoría de las formas de vida. Estos ambientes incluyen lugares con temperaturas extremadamente altas o bajas, acidez o alcalinidad extremas, y altas concentraciones de sales, entre otros. Estos organismos son de gran interés científico, ya que su capacidad de sobrevivir en condiciones extremas los convierte en modelos ideales para estudiar la adaptación y evolución de la vida. Además, muchas de estas bacterias y arqueas producen enzimas y compuestos útiles en la industria y la



**Figura 6:** A. Representación de la estructura de dominio LOV. En el centro, el anillo de isoaloxacina del cromóforo FMN. B. Resumen de la reacción de formación del fotoaducto FMN-cisteína y su reversión térmica.

medicina, por lo que se están investigando como fuentes potenciales de nuevos productos y procesos.

Una de las áreas de investigación del grupo se enfoca en las bacterias metilótrofas del género *Methylobacterium*, que tienen la capacidad de utilizar el metanol y otros compuestos de un carbono (C1) como única fuente de carbono y energía. Estas bacterias son ideales para la producción de biomasa con valor agregado de forma carbono-neutral a partir de compuestos C1 reducidos, que pueden obtenerse del biogás generado por la fermentación anaeróbica de residuos orgánicos. Las cepas de *Methylobacterium* extremófilas nativas del norte argentino tienen un gran potencial biotecnológico y económico en comparación con las cepas de *Methylobacterium* no extremófilas comúnmente propuestas para aplicaciones biotecnológicas.

El estudio de las enzimas implicadas en la asimilación y fijación de carbono en estos microorganismos permitirá desarrollar estrategias para mejorar el proceso natural de fijación de dióxido de carbono mediante el aprovechamiento de su diversidad genética. Para ello, el grupo ha tomado muestras de aguas salinas y suelos en el noroeste de Argentina en busca de ADN ambiental para su análisis metagenómico. La clonación, expresión y caracterización funcional-estructural de enzimas extremófilas nativas de estos ambientes proporcionará nuevas herramientas para mejorar el metabolismo del carbono en plantas, algas y cianobacterias.

Otra de las líneas de investigación del grupo del Dr. González son las glifosato oxidasas extremófilas procedentes de la Salina de Amargasta en Santiago del Estero (Figura

7). La Salina de Amargasta es una planicie salina de más de 4000 Km<sup>2</sup> al suroeste de Santiago del Estero con algunas lagunas saladas estacionales que albergan potencialmente microorganismos extremófilos adaptados a metabolizar xenobióticos presentes en acuíferos contaminados con desechos agrícolas. El glifosato es un herbicida organofosforado ampliamente utilizado que puede persistir en el suelo y el agua durante largos períodos de tiempo, lo que puede llevar a la acumulación en plantas, peces y aguas de consumo humano; así como en diversos alimentos tales como frutas y verduras frescas, mieles y vinos. La detección del glifosato en muestras de agua y suelo es un proceso complejo que requiere personal calificado y equipamiento avanzado de laboratorio. Este alto costo hace que el análisis no sea ampliamente utilizado por productores agrícolas y el público



**Figura 7:** Fotografía de la Salina de Amargasta en Santiago del Estero.

en general. Por lo tanto, el objetivo de estas investigaciones es desarrollar un test accesible y económico basado en la acción de enzimas capaces de modificar selectivamente el glifosato, generando un producto que da lugar a un cambio de color fácilmente visible a simple vista. Las investigaciones del Dr. González y su equipo permitirán además expandir las capacidades de la comunidad científica de la provincia de Santiago del Estero, mediante la obtención de nuevas fuentes de financiamiento para la adquisición de instrumental específico para investigaciones de alta complejidad, así como la atracción y formación de nuevos recursos humanos, quienes serán los científicos del futuro para beneficio de la sociedad en general.

### ■ **MODELADO COMPUTACIONAL**

Históricamente la ciencia se apoyó en dos grandes pilares. Los desarrollos teóricos, donde los científicos diseñaban conjeturas y predicciones solo basados en su experiencia, intuición y evidencia real sobre algún tema en particular. Todavía se puede hacer con lápiz y papel. El otro pilar es la experimentación, donde esas conjeturas se ponían a prueba a través de la ejecución de un experimento en algún laboratorio, con instrumental y equipamiento apropiado. Actualmente esta última es considerado la verdad absoluta, es decir, si la experimentación avala las predicciones teóricas, estas pueden ser considerados leyes o formaran las bases para dichas leyes. Este último pilar, requiere muchas veces de un financiamiento considerable. Instalar un laboratorio requiere equipamiento especializado, que muchas veces es difícil de conseguir en Argentina, también se necesita un espacio con instalaciones apropiado donde se pueda ejecutar. Pero desde hace algunas décadas, un nuevo pilar emergió, "La simulación". La

simulación básicamente es una técnica de cálculo que trata de imitar y predecir mediante objetos matemáticos las características más relevantes de un sistema real. Los objetos matemáticos pueden ser ecuaciones, números, funciones, etc. Estos objetos luego se convierten en modelos matemáticos. Un modelo matemático busca describir en un todo o en parte un sistema real. Si bien algunos de estos modelos se pueden desarrollar en una hoja de cálculo y con una calculadora de mano, el advenimiento de las computadoras ha llevado a la modelización a otro nivel, a tal punto de generar una nueva disciplina la llamada simulación computacional. Todas las áreas de las ciencias como las conocemos; naturales, sociales, políticas son susceptibles a simularse. Hay diversos tipos de simulaciones, una para cada tipo de problema y no todas sirven todo. Esta herramienta tiene varias ventajas, quizás la más relevante sea la capacidad de manejar variables o parámetros que en un laboratorio sería difícil o imposible, ya sea por deficiencia de un instrumental apropiado o simplemente porque no es posible con la tecnología actual. Otra ventaja es su bajo costo en comparación de un equipo de laboratorio, hoy en día cualquier computadora hogareña puede realizar cálculos computacionales de índole científico, como por ejemplo calcular la trayectoria de un cometa espacial.

La simulación se puede usar para predecir escenarios posibles, de acuerdo a las condiciones que dispongamos en nuestro sistema estudio. Como fue el caso de la propagación de la pandemia por el COVID -19. En tiempos de pandemia, en todas partes del mundo se generaban modelos y simulaciones computacionales que pretendía predecir la velocidad de contagio, tasas de letalidad y sobre todo que las acciones sociales y gu-

bernamentales que podrían mitigar la propagación. En el área de la física y química, hay muchos procesos que tienen un componente estocástico o al azar. Son sistemas tan complejos ya sea por la cantidad de variables o por lo impredecible de su comportamiento, que es imposible obtener una única ecuación de evolución. En lugar de ello se suele usar herramientas de probabilidad y estadística. Para esos sistemas probabilísticos hay una técnica específica: la Simulación de Monte Carlo. La idea básicamente es mediante el uso de números aleatorios o casi aleatorios tratar de decidir si un evento físico es probable o improbable que ocurra. Su uso se popularizó en los años 50 por Stanislaw Ulam y John Von Neumann junto con el proyecto Manhattan, durante la Segunda Guerra Mundial, para recrear una detonación nuclear. Su nombre deriva del casino de Monte Carlo en Mónaco, pues en sus comienzos los cálculos de la simulación se hacían a mano, que mejor lugar para conseguir números aleatorio que un casino. En el área de fisicoquímica y cálculo computacional de nuestro instituto se utilizan estas herramientas de cálculo, para caracterizar materiales y procesos superficiales. Como es bien sabido, las baterías recargables de ion litio, hoy están en casi todo dispositivo electrónico que usamos a diario, relojes, computadoras portátiles, tabletas, teléfonos móviles, etc. Estas se han vuelto populares por su relación precio, carga energética y volumen. Más en detalle en el proceso de carga y descarga, el ion litio se desplaza desde un material que se denomina ánodo a otro material que es el cátodo y viceversa. Sin embargo, estos ciclos de carga y descarga no son eternos, algunos fabricantes aseguran el funcionamiento óptimo de las baterías entre 500 y 1000 ciclos de carga y descarga, luego de eso el voltaje suministrado comienza a disminuir. En busca de mejorar las prestaciones de estas baterías, se

están estudiando nuevos materiales de tal forma que mejoren la durabilidad y el rendimiento energético. Un primer paso en esta dirección, es realizar simulaciones de Monte Carlo del proceso de carga y descarga con los nuevos materiales propuestos a fin de obtener una estimación de cuales mejoras son más viables y las condiciones más eficaces previas al diseño experimental. Otra área que se aborda con esta herramienta en el instituto, es la nanotecnología. La nanotecnología, se dedica al diseño y manipulación de la materia a nivel de átomos o moléculas, para diversas aplicaciones tecnológicas, como ser medicina o industria. Esta área presenta un desafío debido a que estos materiales presentan propiedades nuevas en relación a su tamaño macroscópico. Con esta técnica de simulación se puede emular detalles

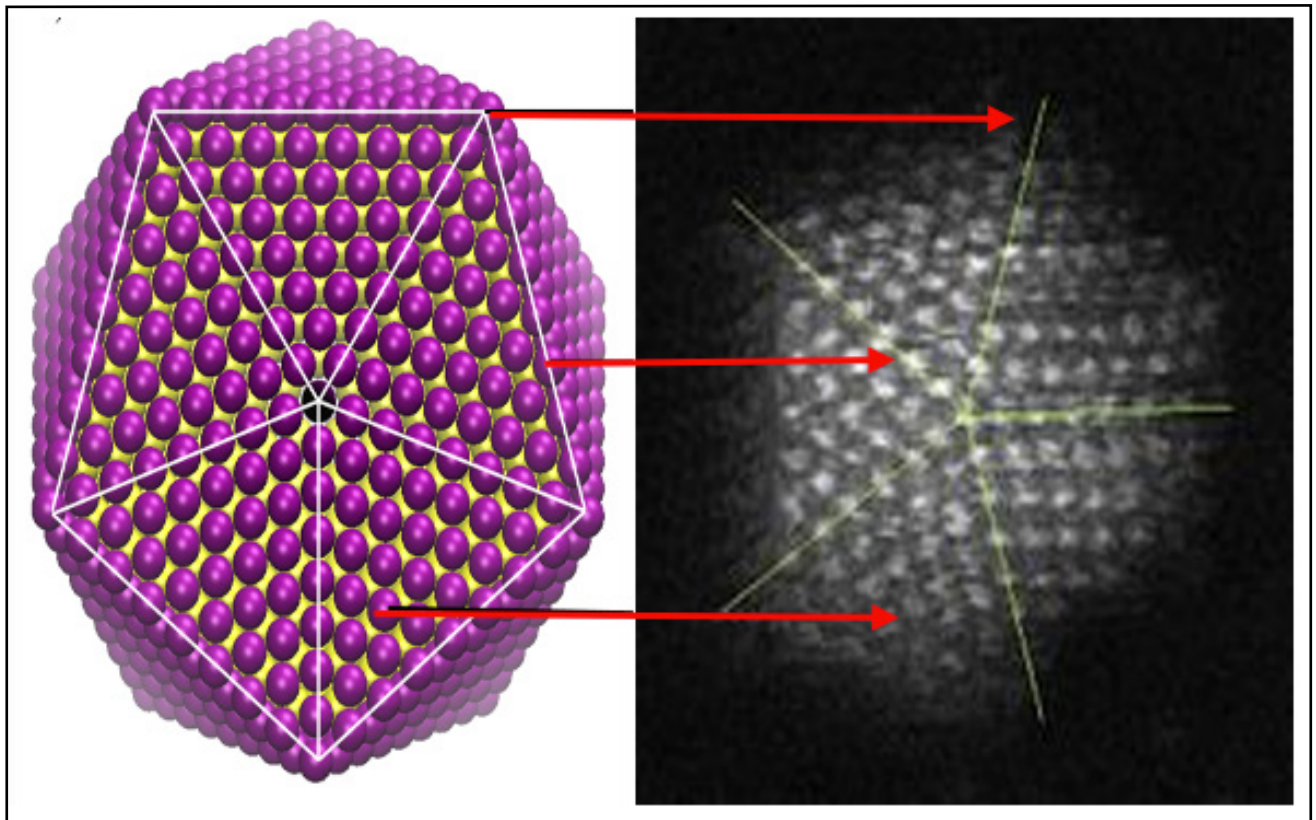
como interacciones entre partículas, que en un laboratorio es difícil, de manera tal que se puede tener una mirada más detallada sobre los procesos que ocurren a esta escala. Por ejemplo, en el panel izquierdo de la Figura 8, se muestra un modelo de una nanopartícula metálica denominada icosaedro obtenido con una simulación, a la derecha se muestra una imagen del mismo sistema real obtenido con un microscopio, donde se puede apreciar la similitud entre ambas. Las flechas indican tres partes de la nanopartículas típicas como ser las facetas, las aristas y los vértices.

Además de las temáticas mencionadas, hacemos diversos estudios en colaboración con otros laboratorios en áreas relacionadas a la biofísica donde hacemos simulación de membranas lipídicas y simulación

en sistemas electroquímicos donde se aplica la técnica para confirmar hipótesis que surgen de los experimentos. Actualmente disponemos para nuestros cálculos un clúster de computadoras de alta performance, capaz de realizar más de 50 cálculos en simultáneo denominado "hauake", hermano en lengua quechua. El cual se encuentra en dependencias de nuestro instituto.

## ■ PRODUCCIÓN Y REPRODUCCIÓN ANIMAL

El Laboratorio de Producción y Reproducción Animal, dirigido por el Dr. Gustavo Palma y la Dra. María Sumampa Coria trabaja en tres líneas principales: Biotecnología de la Reproducción Animal, Microbiología Ruminal y Calidad de Carne.



**Figura 8:** Nanopartícula metálica icosaedrica. izquierda modelo computacional , derecha imagen de una nanopartícula real.

**Biocología de Reproducción Animal:** se realizaron estudios que permitieron evaluar la dinámica de ondas foliculares en vaquillonas para carne con dos y tres ondas. A su vez, estos resultados fueron relacionados con la expresión génica de factores de crecimiento, sugiriendo que el uso de ultrasonografía, asociada con las determinaciones moleculares, podrían utilizarse como una herramienta sencilla y efectiva para estudiar la dinámica folicular (Reineri et al., 2018, 2019). En este contexto se desarrolló el STAN "Análisis de expresión de genes en tejido ovárico bovino" (ST 5319). Asimismo, se realizaron investigaciones vinculadas al diseño de protocolos para inseminación artificial, re sincronización y transferencia embrionaria a tiempo fijo, con la finalidad de desarrollar estrategias que mejoren los índices reproductivos y/o faciliten la logística de aplicación de los protocolos utilizados actualmente (Reineri et al., 2020, 2021).

**Microbiología del Rumen:** El rumen es un complejo ecosistema compuesto por bacterias anaerobias, protozoos, arqueas metanogénicas y hongos, los cuales interactúan entre sí para digerir el material vegetal que no puede ser digerido por los monogástricos, mientras proveen de energía al rumiante. Conocer el microbioma ruminal y sus interacciones es fundamental para lograr tecnologías que permitan manipular las poblaciones microbianas y de esta manera lograr eficientizar el aprovechamiento de los alimentos y por lo tanto, la producción animal. En colaboración con el INTA Santiago del Estero se está trabajando en idear estrategias de manejo que modifiquen directa o indirectamente las poblaciones de arqueas metanogénicas, mediante la aplicación de compuestos secundarios como taninos, o alternativas de alimentación que disminuyan las emisiones

de metano por los rumiantes. En primer lugar, se identificó un método de extracción de ADN eficiente para su uso en técnicas de biología molecular (Uñates Pellene et al., 2022). Posteriormente se realizó la identificación, caracterización y cuantificación de protozoos en muestras de líquido ruminal mediante microscopía óptica y electrónica de barrido. Se identifican protozoos de las familias Ophryoscolecidae e Isotrichidae, entre ellos los siguientes géneros: *Entodinium*, *Epidinium*, *Diplodinium*, *Eudiplodinium*, *Ophryoscolex*, *Isotricha* y *Dasytricha* (Nieto et al., 2023). Por último, recientemente se ha determinado que la sustitución del grano de maíz por bagazo de limón al 50% no generó diferencias significativas en la concentración y caracterización de protozoos ruminales en corderos. Los resultados obtenidos sugieren que sería posible revalorizar subproductos de la industria del limón al incluirlos como ingrediente en la formulación de raciones para rumiantes.

**Calidad de Carne:** La alimentación que reciben los animales influye significativamente sobre el peso, la edad de faena, el grado de terminación del animal y la composición de la canal. En este sentido, Coria et al. (2020a) evaluaron el efecto de una suplementación con silo de maíz sobre las características fisicoquímicas en novillos de raza Braford. Los resultados mostraron que los novillos con una dieta suplementada con silo de maíz durante 120 días presentaron carcasas con mayor peso, mayor contenido de grasa y menores valores de terneza comparados con animales terminados con pastura. Por otro lado, se ha determinado que los cambios proteolíticos que ocurren en el período de maduración *post mortem* influyen en la terneza de la carne. En muestras de *longissimus dorsi* de novillos Braford, el proceso de maduración produjo un aumento

del pH y del contenido de calcio, y disminución de los valores de dureza hasta los 21 días, con resultados significativos en los primeros 7 días (Coria et al., 2022).

A su vez, el grupo de trabajo ha realizado estudios en los que la terneza de la carne fue asociada con marcadores genéticos presentes en las proteínas del sistema calpaína (Castaño Ledesma et al, 2021a, Coria et al., 2018). En este sentido, se determinaron las frecuencias de los marcadores CAPN1 316 y CAPN1 4751 y su asociación con la terneza de la carne en una población de novillos Braford. Estos estudios permitieron al grupo generar un servicio tecnológico de alto nivel (STAN ST4450) para el análisis de marcadores moleculares presentes en el ADN y la identificación de genotipos con variantes favorables para la terneza, convirtiéndose en un servicio pionero en la región.

Asimismo, Coria et al. (2020a) evaluaron la expresión de los genes calpaína (1 y 2) y calpastatina en el músculo *longissimus dorsi* de animales terminados en diferentes sistemas de alimentación (pastura exclusiva vs. suplementación) obteniendo diferencias en la expresión de los mismos, asociadas a la calidad de la carne. Cuando se evaluaron los tiempos de maduración, las proteasas calpaína 1 y 2, al igual que su inhibidor, pudieron determinarse hasta los 21 días de maduración, sugiriendo que la terneza de la carne podría deberse a la inactivación de la calpaína por una actividad excesiva de la calpastatina, demostrando que ambas contribuyen en el proceso de degradación de las fibras musculares y resaltando el rol del inhibidor en este proceso (Coria et al., 2022). Por otro lado, se determinó la expresión de genes involucrados en la adipogénesis (*glut4*, *igf1* y *miostatina*). Los resultados obtenidos sugie-

ren una interacción expresión genética-dieta en los genes *glut4* y *igf1*, la cual impacta en el engrasamiento de la canal y el contenido de grasa intramuscular (Coria et al., 2021). Por otro lado, el estudio de la expresión de las proteasas cisteín- aspartato específicas, capasasas y las proteínas de estrés térmico (HSPs: *heat shock proteins*), permitió determinar que la expresión de los genes *casp9*, *Bax*, *Bcl2* no se vio afectada por la dieta (Fig 9). Sin embargo, los resultados sugieren que los genes *Hsp27* y *Hsp70* protegieron a las miofibrillas de la proteólisis de las fibras musculares y por lo tanto su expresión se correlacionó con altos valores de dureza (menor terneza) (Coria et al.,

2020b). Asimismo, Castaño Ledesma et al. (2021b) evaluaron el efecto de la suplementación con silo de maíz en la expresión de estos genes, obteniendo mayor expresión de *cat*, *sod* y *gpx* en los animales terminados a pasto con respecto a los que recibieron la suplementación, sugiriendo que los animales suplementados poseen menor actividad antioxidante y ello podría afectar negativamente la calidad de la carne.

Por otro lado, se realizó un análisis exploratorio de asociación genómica amplia (GWAS: *Genome-wide association study*), en el cual se asocian variables productivas con marcadores moleculares pre-

sentes en el ADN de los animales evaluados, permitió identificar regiones genómicas asociadas con características de calidad de carne para la raza Braford (QTL: *quantitative trait loci*, locus o sección de ADN de rasgo cuantitativo). (Coria et al., 2019). Finalmente, estudios recientes sugieren que el uso de la espectroscopia Raman, permite obtener información cuantitativa *in situ* de la microestructura de la carne, un objetivo muy perseguido en la industria cárnica y que la implementación de esta técnica robusta y no invasiva podría resultar prometedora para cuantificar y calificar la calidad de la carne (Coria et al., 2023). En conjunto, los resultados obtenidos

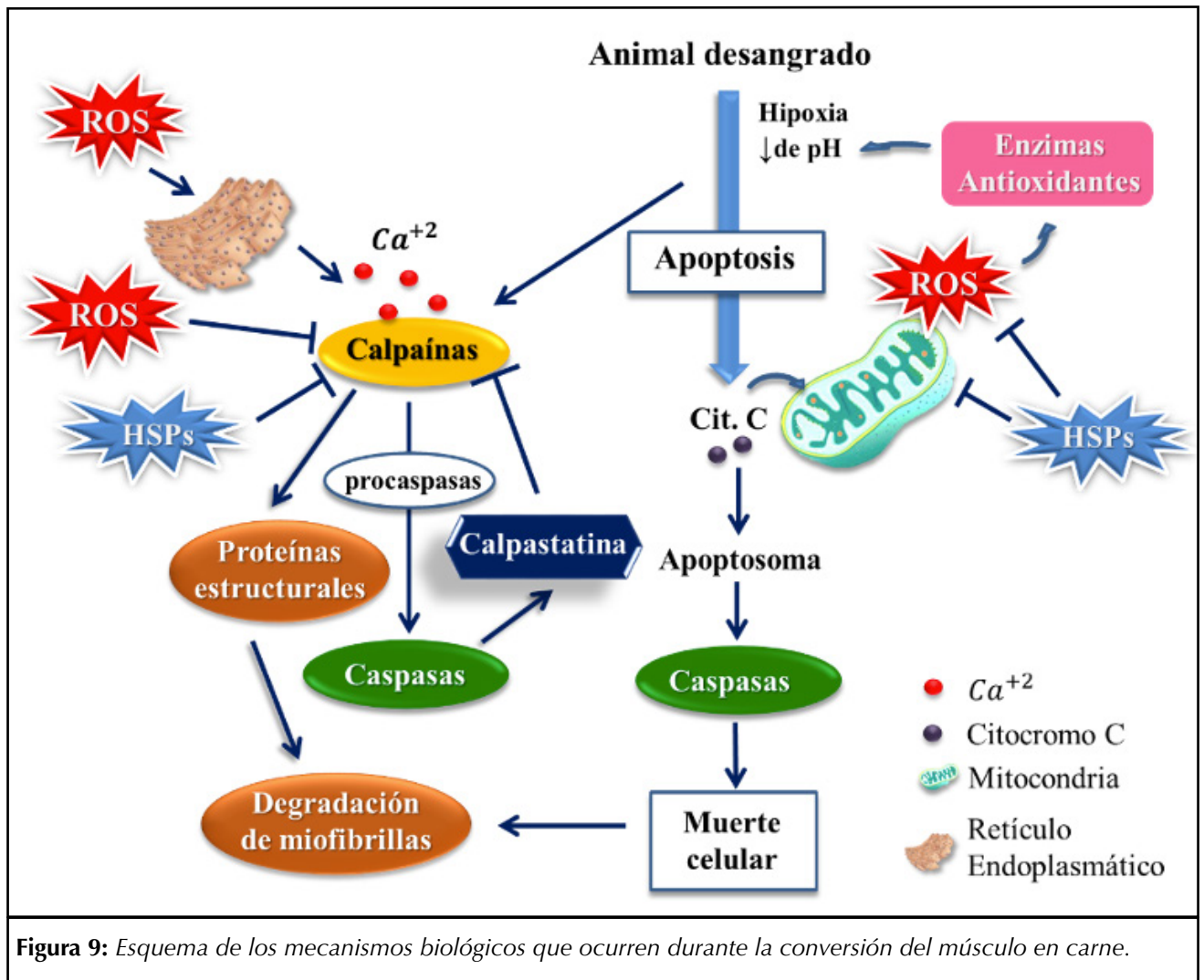


Figura 9: Esquema de los mecanismos biológicos que ocurren durante la conversión del músculo en carne.

contribuyen al conocimiento de la estructura genética que subyace en la producción de carne, proporcionando información útil para el desarrollo de protocolos, que permitan mejorar los sistemas de producción y calidad de bovinos para carne.

## ■ CONCLUSIÓN

Los investigadores de diferentes áreas del INBIONATEC desarrollan trabajos de vanguardia en las áreas de fotoquímica, fotobiología, enzimología estructural, electroquímica, modelado computacional y producción animal con un enfoque multidisciplinario orientados a la bionanotecnología. Los estudios realizados permiten la formación de recursos académicos de excelente nivel y la producción científica en revistas indexadas internacionales, como así también la generación de servicios tecnológicos de alto nivel que permiten responder a demandas puntuales de la sociedad. Teniendo en cuenta la multidisciplinariedad del instituto, la financiación obtenida por proyectos y subsidios, el equipamiento de avanzada y el personal capacitado, se espera continuar generando conocimiento y planteando soluciones en el campo bionanotecnológico, con un alto potencial de transferencia tecnológica en el corto plazo al sector productivo provincial.

## ■ REFERENCIAS

- Abatedaga, I., Perez Mora, B., Tutto-bene, M., Müller, G., Biancotti, D., Borsarelli, C. D., Valle, L., & Mussi, M. A. (2022). Characterization of BLUF-photoreceptors present in *Acinetobacter nosocomialis*. *PLOS ONE*, 17(4), e0254291.
- Abatedaga, I., Valle, L., Golic, A. E., Müller, G. L., Cabruja, M., Morán Vieyra, F. E., Jaime, P. C., Mussi, M. A., & Borsarelli, C. D. (2017). Integration of Temperature and Blue-Light Sensing in *Acinetobacter baumannii* Through the BlsA Sensor. *Photochemistry and Photobiology*, 93(3), 805–814. <https://doi.org/10.1111/php.12760>
- Albarracín, V. H., Simon, J., Pathak, G. P., Valle, L., Douki, T., Cadet, J., Borsarelli, C. D., Farias, M. E., & Gärtner, W. (2014). First characterisation of a CPD-class I photolyase from a UV-resistant extremophile isolated from High-Altitude Andean Lakes. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 13(5), 739–750. <https://doi.org/10.1039/C3PP50399B>
- Araujo, MA, Pinto, OA, Paz Zanini, VI. (2021). Addressing the Surface coverage of Au nano-agglomerates and the electrochemical properties of modified carbon paste electrodes: Experimental and theoretical studies on ascorbic acid oxidation". *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 200, 111585.
- Arshavsky, V.Y. y Burns, M. E. (2012). Photoreceptor signaling: supporting vision across a wide range of light intensities. *Journal of Biological Chemistry*. 287(3), 1620–1626
- Carabajal, M. P. A., Isla, M. I., Borsarelli, C. D., & Zampini, I. C. (2020). Influence of in vitro gastro-duodenal digestion on the antioxidant activity of single and mixed three "Jarilla" species infusions. *Journal of Herbal Medicine*, 19(May 2018), 100296.
- Castaño Ledesma, M. S., Coria, M. S., Palma, G. A. (2021a). Allelic and genotypic frequencies of CAPN1 316 and CAPN1 4751 markers in Braford type cattle. *Revista Agronómica Del Noroeste Argentino*, 41(1), 9–14.
- Castaño Ledesma, M. S., Coria, M. S., Borsarelli, C. D., Palma, G. A. (2021b). Effect of corn silage supplementation on gene expression of antioxidant indicators in Braford steers. *Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica y Biología Molecular (SAIB), Libro de Resúmenes*.
- Castaño, C., Serrano, M. P., Lorente, C., Borsarelli, C. D., & Thomas, A. H. (2019). Quenching of the Singlet and Triplet Excited States of Pterin by Amino Acids. *Photochemistry and Photobiology*, 95(1), 220–226.
- Chaves, S., Pera, L. M., Avila, C. L., Romero, C. M., Baigori, M., Morán Vieyra, F. E., Borsarelli, C. D., & Chehin, R. N. (2016). Towards efficient biocatalysts: photo-immobilization of a lipase on novel lysozyme amyloid-like nanofibrils. *RSC Adv.*, 6(11), 8528–8538.
- Comini, L. R., Morán Vieyra, F. E., Mignone, R. A., Páez, P. L., Laura Mugas, M., Konigheim, B. S., Cabrera, J. L., Núñez Montoya, S. C., & Borsarelli, C. D. (2017). Parietin: an efficient photo-screening pigment in vivo with good photosensitizing and photodynamic antibacterial effects in vitro. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 16(2), 201–210.
- Coria, M.S, Reineri, P. S., Tonhati, H., Palma, G.A. (2019). Genome-wide association analysis for tenderness and marbling in Braford steers. *Revista Argentina de Producción Animal*, 39(1), 9–19.
- Coria, M.S., Álvarez-Gutiérrez, M. A., Reineri, P. S., Palma, G. A. (2021). Effect of corn supplementen-

- tation on the expression of intramuscular fat genes. *Revista MVZ Cordoba*, 26(1), 1–7.
- Coria, M.S., Carranza, P.G., Palma, G. A., (2018). Calpain System in meat tenderization: A molecular approach. *Revista MVZ Cordoba*, 23(1), 6523–6536.
- Coria, M.S., Castaño Ledesma, M. S., Palma, G. A. (2020b). Early post mortem expression of apoptosis genes in longissimus dorsi muscle of Braford steers differing in managing fed system. *Animal Gene*, 16, 200101.
- Coria, M.S., Castaño Ledesma, M., Gómez Rojas, J., Grigioni, G., Palma, G.A., Borsarelli, C. (2023). Prediction of tenderness in Braford bovine longissimus thoracis et lumborum muscles using Raman spectroscopy. *Animal Bioscience* (2023). (en prensa)
- Coria, M.S., Reineri, P. S., Pighin, D., Barrionuevo, M. G., Carranza, P. G., Grigioni, G., Palma, G. A. (2020a). Feeding strategies alter gene expression of the calpain system and meat quality in the longissimus muscle of Braford steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(5), 753–762.
- Coria, María Sumampa, Pighin, D., Grigioni, G., Palma, G. A. (2022). Feeding strategies and ageing time alter calpain system proteins activities and meat quality of Braford steers. *Animal Bioscience*, 35(2), 272-280.
- Crosio, M. A., Silber, J. J., Moran Vieyra, F. E., Falcone, R. D., Borsarelli, C. D., & Correa, N. M. (2021). Deciphering Solvation Effects in Aqueous Binary Mixtures by Fluorescence Behavior of 4-Aminophthalimide: The Comparison between Ionic Liquids and Alcohols as Cosolvents. *The Journal of Physical Chemistry B*, 125(48), 13203–13211.
- Espeche Turbay, M. B., Rey, V., Dorado, R. D., Sosa, M. C., & Borsarelli, C. D. (2021). Silver nanoparticle-protein interactions and the role of lysozyme as an antagonistic antibacterial agent. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 208(April), 112030.
- Fushimi, K., y Narikawa, R. 2019. Cyanobacteriochromes: photoreceptors covering the entire UV-to-visible spectrum. *Current Opinion in Structural Biology*. 57, 39-46
- Giménez, R. E., Serrano, M. P., Álvarez, R. M. S., Martino, D. M., & Borsarelli, C. D. (2019). Fabrication and Characterization of Hollow Microcapsules from Polyelectrolytes Bearing Thymine Pendant Groups for Ultraviolet-B (UVB)-Induced Crosslinking. *ChemPlusChem*, 84(5), 504–511.
- Giménez, R. E., Vargová, V., Rey, V., Turbay, M. B. E., Abatedaga, I., Morán Vieyra, F. E., Paz Zanini, V. I., Mecchia Ortiz, J. H., Katz, N. E., Ostatná, V., & Borsarelli, C. D. (2016). Interaction of singlet oxygen with bovine serum albumin and the role of the protein nano-compartmentalization. *Free Radical Biology and Medicine*, 94, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2016.02.014>
- Golic, A. E., Valle, L., Jaime, P. C., Álvarez, C. E., Parodi, C., Borsarelli, C. D., Abatedaga, I., & Mussi, M. A. (2019). BlsA Is a Low to Moderate Temperature Blue Light Photoreceptor in the Human Pathogen *Acinetobacter baumannii*. *Frontiers in Microbiology*, 10(August), 1925.
- Gomelsky, M. y Hoff, W.D. 2011. Light helps bacteria make important lifestyle decisions, *Trends in Microbiology*. 19(9), 441-448
- Iseki, M., Matsunaga, S., Murakami, A., Ohno, K., Shiga, K., Yoshida, K., Sugai, M., Takahashi, H., Hori, T., Watanabe, M. (2002). A blue-light-activated adenylyl cyclase mediates photoavoidance in *Euglena gracilis*. *Nature*. 415(6875), 1047-1051
- Jaubert, M., Bouly, J-P., d'Alcalà, M. R., Falciatore, A. 2017. Light sensing and responses in marine microalgae. *Current Opinion in Plant Biology*. 37, 70-77
- Jutz, G., & Böker, A. (2011). Bionanoparticles as functional macromolecular building blocks - A new class of nanomaterials. *Polymer*, 52(2), 211–232.
- Kong, S-G y Okajima, K. (2016). Diverse photoreceptors and light responses in plants, *Journal of Plant Research*. 129(2), 111-114
- Legris, M., Klose, M., Burgie, E. S., Costigliolo Rojas, C., Neme, M., Hiltbrunner, A., Wigge, P. A., Schäfer, E., Vierstra, R. D., Casal, J. J. (2016). Phytochrome B integrates light and temperature signals in *Arabidopsis*. *Plant Science*. 354(6314), 897-900
- Loto, A. M., Morales, J. M. N., Cisneros, A. B., Coria, M. S., Tulli, F., Morán Vieyra, F. E., & Borsarelli, C. D. (2023). Simple preparation of broadband UV filters based on TiO<sub>2</sub> coated with aqueous extracts of native trees from the Chaco region of Argentina. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 22(2), 319–331.



- Nieto RA, Uñates Pellene A F, Juárez Sequeira AV, López A, Gómez Rojas JR, Cerón Cucchi, ME, Palma GA, Coria MS (2023). Estudio preliminar: caracterización y cuantificación de protozoos ruminales bovinos mediante microscopía. Comunicación. 46° Congreso Argentino de Producción Animal, Pergamino, Buenos Aires.
- Mack, J. (2005). Nanotechnology: What's in it for Biotech? *Biotechnology Healthcare*, 2(6), 29–36.
- Martin, M. V., Mignone, R. A., Rosso, J. A., David Gara, P., Pis Diez, R., Borsarelli, C. D., & Mártire, D. O. (2017). Transient spectroscopic characterization and theoretical modeling of fulvic acid radicals formed by UV-A radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 332, 571–579.
- Mussi, M. A., Gaddy, J. A., Cabruja, M., Arivett, B. A., Viale, A. M., Rasia, R., Actis, L. A. (2010). The opportunistic human pathogen *Acinetobacter baumannii* senses and responds to light. *Journal of Bacteriology*. 192(24), 6336-6345
- Oliinyk, O. S., Chernov, K. G., Verkhusha, V. V. (2017). Bacterial phytochromes, cyanobacteriochromes and allophycocyanins as a source of near-infrared fluorescent probes. *International Journal of Molecular Sciences*. 18(8), 1691-1718
- Paz Zanini, VI, Gavilán, M, López de Mishima, BA, Martino, DM, Borsarelli, CD. (2016) A highly sensitive and stable glucose biosensor using thymine-based polycations into laponite hydrogel films. *Talanta* 150, 646-654.
- Paz Zanini, VI, López de Mishima, B, Labbé, P., Solís, V. (2010) An L-Lactate Amperometric Enzyme Electrode Based on L-Lactate Oxidase Immobilized in a Laponite Gel on a Glassy Carbon Electrode. Application to Dairy Products and Red Wine". *Electroanalysis*. 22 (9) 946-954
- Paz Zanini, VI, Linarez Pérez, OE, López Teijelo, M, Labbé, P, López de Mishima, BA, Borsarelli, CD. (2017) Development of a bioelectrode fabricated with a multilayer thin film of poly(diallyldimethylammonium)/gold-nanoparticle/lactate oxidase for analysis of L-lactate in food samples". *Sensors and Actuators B* 247, 830-839.
- Paz Zanini, VI, López de Mishima, BA, Solís, VM. (2011) An amperometric biosensor based on Lactate oxidase immobilized in laponite-chitosan hydrogel on a glassy carbon electrode. Application to the analysis of L-lactate in food samples". *Sensors and Actuators B*. 155, 75-80.
- Paz Zanini, VI, Tulli, F, Martino, DM, López de Mishima, BA, Borsarelli, CD. (2013) Improvement of the amperometric response to L-lactate by using a cationic bioinspired thymine polycation in a bioelectrode with immobilized lactate oxidase. *Sensors and Actuators B*. 181, 251- 258.
- Pezza, A., Tuttobene, M., Abatedaga, I., Valle, L., Borsarelli, C. D., & Mussi, M. A. (2019). Through the eyes of a pathogen: light perception and signal transduction in *Acinetobacter baumannii*. *Photochemical & Photobiological Sciences*, 18, 2363–2373.
- Reineri, PS, Piccardi, M., Arroquy, J., Fumagali, A., Coria, M.S., Hernandez, O. Bó, G., Palma, GA. (2019) Hormones and monensin use to improve pregnancy rates in grazing lactating beef cows in the semiarid region of Argentina" *Animal Reproduction Science*. 15, (1), 56-63.
- Reineri, PS, Coria, MS, Barrionuevo, MG, Hernández, O, Callejas, S, Palma, GA. (2018) Gene expression of growth factor BMP15, GDF9, FGF2 and their receptors in bovine follicular cells" *MVZ Córdoba*. 23, (3) 6778 - 6787.
- Reineri, PS, Coria, MS, Punta Pérez, R, Callejas, S, Palma, GA. (2021) Pregnancy rate to FTAI in Braford heifers submitted to J-Synch protocol" *Medicina Veterinaria (UFRPE)* 14 (4) 328-333.
- Reineri, PS, Coria, MS, Callejas, S, Palma, GA. (2020) Characterization of ovarian follicular wave dynamics, growth factors expression and their receptors in beef heifers. *Anatomia, Histologia, Embryologia* 49 (6) 820-829.
- Rey, V., Abatedaga, I., Vera, C., Vieyra, F. E. M., & Borsarelli, C. D. (2021). Photosensitized Formation of Soluble Bionanoparticles of Lysozyme. *ChemistrySelect*, 6(47), 13443–13451.
- Rey, V., Gramajo Feijoo, M. E., Giménez, R. E., Tuttolomondo, M. E., Morán Vieyra, F. E., Sosa Morales, M. C., & Borsarelli, C. D. (2018). Kinetics and growth mechanism of the photoinduced synthesis of silver nanoparticles stabilized with lysozyme. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 172(August), 10–16.
- Salomón, F. F., Vega, N. C., Parella, T., Morán Vieyra, F. E., Borsarelli, C. D., Longo, C., Cattaneo, M., & Katz, N. E. (2020). Novel Hetero-

- leptic Ruthenium(II) Complexes with 2,2'-Bipyridines Containing a Series of Electron-Donor and Electron-Acceptor Substituents in 4,4'-Positions: Syntheses, Characterization, and Application as Sensitizers for ZnO Nanowire-Based Solar Cells. *ACS Omega*, 5(14), 8097–8107.
- Serrano, M. P., Rafti, M., Thomas, A. H., & Borsarelli, C. D. (2019). Photosensitizing properties of hollow microcapsules built by multilayer self-assembly of poly(allylamine hydrochloride) modified with rose Bengal. *RSC Advances*, 9(33), 19226–19235. <https://doi.org/10.1039/C9RA03153G>
- Shaffer, C. (2005). *Bionanotechnology Applications*. News Medical . Net.
- Tulli, F., Gulotta, FA, Martino, DM, Paz Zanini, VI, Borsarelli, CD. (2018) Ultra-sensitive biosensor for biosensor for polyphenols detection based on horseradish peroxidase immobilized onto a hydrogel film containing laponite, gold nanoparticles and DNA-bioinspired polycations". *Journal of The Electrochemical Society*, 165 (10) B452-B457.
- Uñates Pellene, F.A.; Nieto, R.A.; Coria, M.S.; López, A.; Juárez Sequeira, A.V.; Palma, G.A. (2022) Estudio comparativo de la eficacia de métodos de extracción de ADN de muestras de líquido ruminal. X Jornada de Jóvenes Estudiantes y Jóvenes Investigadores. Santiago del Estero. Modalidad Póster. Publicado en Libro de Resúmenes.
- Valle, L., Abatedaga, I., Vieyra, F. E. M., Bortolotti, A., Cortez, N., & Borsarelli, C. D. (2015). Enhancement of photophysical and photosensitizing properties of flavin adenine dinucleotide by mutagenesis of the C-terminal extension of a bacterial flavodoxin reductase. *ChemPhysChem*, 16(4), 872–883.
- Valle, L., Morán Vieyra, F. E., & Borsarelli, C. D. (2016). Nanoenvironmental effect in AOT reverse micelles on the triplet excited state properties of flavins and quenching by molecular oxygen. *Journal of Physical Organic Chemistry*, 29(11), 629–635. <https://doi.org/10.1002/poc.3575>
- Vanden Braber, N.L., Paredes, A. J., Rossi, Y. E., Porporatto, C., Allemandi, D. A., Borsarelli, C. D., Correa, S. G., & Montenegro, M. A. (2018). Controlled release and antioxidant activity of chitosan or its glucosamine water-soluble derivative microcapsules loaded with quercetin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 399–404. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.085>
- Vanden Braber, Noelia L., Díaz Vergara, L. I., Morán Vieyra, F. E., Borsarelli, C. D., Yossen, M. M., Vega, J. R., Correa, S. G., & Montenegro, M. A. (2017). Physicochemical characterization of water-soluble chitosan derivatives with singlet oxygen quenching and antibacterial capabilities. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.04.028>
- Vera, C., Gallucci, M. N., Marioni, J., Sosa Morales, M. C., Martino, D. M., Nuñez Montoya, S., & Borsarelli, C. D. (2022). "On-Demand" Antimicrobial Photodynamic Activity through Supramolecular Photosensitizers Built with Rose Bengal and (p-Vinylbenzyl)triethylammomium Polycation Derivatives. *Bioconjugate Chemistry*, 33(3), 463–472. <https://doi.org/10.1021/acs.bioconjchem.1c00596>
- Vera, C., Tulli, F., & Borsarelli, C. D. (2020). Supramolecular photosensitizers as improved tools for anticancer and antimicrobial treatments. *Anales de La Asociación de Química Argentina*, En Prensa(2), 1–37.
- Villegas, J. M., Valle, L., Morán Vieyra, F. E., Rintoul, M. R., Borsarelli, C. D., & Rapisarda, V. A. (2014). FAD binding properties of a cytosolic version of Escherichia coli NADH dehydrogenase-2. *Biochimica et Biophysica Acta - Proteins and Proteomics*, 1844(3), 576–584. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2013.12.021>
- Xu, X. L., Gutt, A., Mechelke, J., Raffelberg, S., Tang, K, Miao, D., Valle, L., Borsarelli, C.D., Zhao, K.H, Gärtner, W. 2014. Combined Mutagenesis and Kinetics Characterization of the Bilin-Binding GAF Domain of the Protein Slr1393 from the Cyanobacterium Synechocystis PCC6803. *ChemBiochem*. 15(8), 1190–1199
- Xu, X. L., Gutt, A., Mechelke, J., Raffelberg, S., Tang, K., Miao, D., Valle, L., Borsarelli, C. D., Zhao, K. H., & Gärtner, W. (2014). Combined mutagenesis and kinetics characterization of the bilin-binding GAF domain of the protein Slr1393 from the cyanobacterium synechocystis PCC6803. *ChemBioChem*, 15(8), 1190–1199. <https://doi.org/10.1002/cbic.201400053>

- Zúñiga-Núñez, D., Barrias, P., Cárdenas-Jirón, G., Ureta-Zañartu, M. S., Lopez-Alarcón, C., Morán Vieyra, F. E., Borsarelli, C. D., Alarcon, E. I., & Aspée, A. (2018). Atypical antioxidant activity of non-phenolic amino-coumarins. *RSC Advances*, 8(4), 1927–1933. <https://doi.org/10.1039/c7ra12000a>