

importantes en la vida de las bacterias como es la formación de biofilm y la movilidad. Anteriormente en nuestro laboratorio, hemos descrito el papel de *cdG* en la movilidad y la formación de biofilm. El *c-di-GMP* es sintetizado por enzimas denominadas diguanilato ciclasas. Nosotros mostramos que la sobreexpresión de *BdcA* (*Bordetella diguanilate cyclase A*) desencadena niveles altos de *cdG*, dando lugar a una movilidad significativamente disminuida y a una mayor formación de biofilm. En este trabajo determinamos que *BdcA* no solo reduce la movilidad de las bacterias sino que también disminuye la expresión de la flagelina, principal componente del flagelo. Esta inhibición depende de la actividad de la diguanilato ciclasa (DGC) porque una versión inactiva de *BdcA* (GGDEFxGGAAF) no fue capaz de inhibir la movilidad ni de modificar la formación de biofilm. *CdG* se une a diferentes proteínas para desencadenar respuestas específicas. Sobre la base de las proteínas de unión a *cdG* conocidas, propusimos proteínas que pueden participar en la inhibición de *BdcA*: *LapD*, *YcgR* y *BB2109*. Se obtuvieron mutantes de delección individuales de cada gen en *B. bronchiseptica* y *BdcA* se sobreexpresó en ellos. Todas las cepas fueron evaluadas en experimentos

de movilidad y formación de biofilm. La eliminación de *lapD* o *ycgR* no mostró efectos. Sin embargo, la inhibición de la movilidad y el aumento de la formación de biofilm en *B. bronchiseptica* mediadas por *BdcA* se abolieron cuando se eliminó el gen *BB2109*. También cuantificamos los niveles de *cdG* intracelulares en la cepa *BB2109* que sobreexpresa *BdcA* (*Bb1BB2109pbdcA*). Los niveles de *CdG* fueron significativamente más bajos en *Bb1BB2109pbdcA* que en *BbpbdcA* ($0,75 \pm 0,6$ vs 10 ± 2 nM *cdG* / mg peso seco respectivamente), lo que sugiere que la actividad de *BdcA* DGC depende de la presencia de *BB2109*.

Estos resultados indican que la actividad de la DGC *BdcA* es necesaria para la regulación de la formación de biofilm y la movilidad. Además, una proteína GGDEF-EAL, *BB2109*, es necesaria para el rol de *BdcA* en la regulación de la formación de biofilm y la movilidad en *B. bronchiseptica*. Proponemos un modelo en el que ambas proteínas y *cdG* están involucradas en la movilidad y la formación de biofilm, probablemente al interactuar entre ellas.

DESARROLLO DE NANOMATERIALES HÍBRIDOS A BASE DE HIDROXIAPATITA Y SEDA DE ORIGEN NATURAL CON POTENCIAL USO EN LA RECONSTRUCCIÓN DE TEJIDO ÓSEO

Bertoli Emiliano

Gonzalez Mónica C. (Dir.), Bosio Valeria E. (Codir.)

Instituto de Investigaciones Físicoquímicas Teóricas y Aplicadas (INIFTA), Facultad de Ciencias Exactas, UNLP-CONICET.

emibertoli4@gmail.com

PALABRAS CLAVE: Ingeniería de Tejidos, Fibroína de seda, Hidroxiapatita.

El daño generado en tejido óseo por diferentes tipos de fracturas, ya sea por impactos de alta energía o asociadas a patologías de base, representan una gran problemática para el sistema de salud debido a los altos costos que es éstos implican y a las falencias de las terapias existentes. En la búsqueda de nuevas alternativas para el tratamiento de fracturas que impliquen una disfunción y la necesidad de prótesis o rellenos óseos, nuevas alternativas vienen siendo exploradas en este campo. Entre las nuevas estrategias destacan aquellas que buscan mimetizar las características del tejido óseo natural con materiales biocompatibles porosos y nanoestructurados, con adecuadas propiedades mecánicas, y que permitan restaurar la funcionalidad del hueso dañado a través de propiedades como la osteoinducción, osteoconducción y osteogenicidad.

Para un mejor abordaje de esta problemática, hemos propuesto el desarrollo de nanocompositos híbridos basados en nanohidroxiapatitas y polímeros naturales para su aplicación en la medicina regenerativa de tejido óseo. De este modo, se buscará mimetizar la matriz generada por el colágeno en el tejido vivo a través de la fibroína de seda (SF) del gusano *Bombix mori*, en conjunto con hidroxiapatita (HA), el componente en mayor proporción dentro del hueso. El plan de este trabajo comprende una primera instancia de síntesis y caracterización de nanoHA derivatizadas con grupos funcionales que permitan el posterior anclaje de biomoléculas. Una segunda instancia de obtención de nanocompositos al acoplar la SF a las nanoHA. Y una tercera etapa de evaluación de la

capacidad de soluciones de SF y nanocompositos de formar geles mediante reacciones de entrecruzamiento con mecanismos basados en la fotoquímica clic. Finalmente, se caracterizarán las capacidades de osteogenicidad, osteoconductividad y evolución de los procesos de mineralización de los biomateriales desarrollados en sistemas biológicos in vivo e in vitro.

Al presente se ha logrado sintetizar y funcionalizar nanoHA. Para la caracterización de las partículas se emplearon las técnicas de FTIR-ATR, TEM, TGA. Las micrografías de TEM permitieron observar nanopartículas en forma de varilla de 90 -50 nm de largo, dependiendo de las modificaciones introducidas en la síntesis. Espectroscopía IR ha permitido evidenciar picos característicos para la apatita y picos asociados a sus grupos funcionales carboxilos corroborando así la funcionalización superficial de la hidroxiapatita. Por otra parte, los espectros de XPS permitieron confirmar el anclaje de grupos funcionales con aminos libres. A su vez, el análisis por TGA permitió calcular la relación entre la cobertura orgánica superficial y la masa de partícula. Por otra parte, luego de la síntesis y funcionalización de la nanoHA, se procedió a su acople a la SF tanto por adsorción física como química. Los espectros de FTIR mostraron picos característicos para apatita y SF en los sistemas híbridos. Las micrografías TEM permitieron observar la presencia de nanopartículas porosas, las que estarían aumentando la estabilidad térmica de la SF en los sistemas híbridos (resultados asociados a TGA) relacionada a una interacción entre SF y nanoHA.