

INFORME DE MONITOREO DURANTE LA ESTANCIA

“Vinculación de Científicos y Tecnólogos”

Componente II – Fortalecimiento del Capital Humano para I+D

0. IDENTIFICACIÓN DE LAS INSTITUCIONES DE ORIGEN Y DESARROLLO DEL PROGRAMA

0.1.1 Nombre de la institución de origen: Universidad Nacional de Asunción

0.1.2 Nombre de la institución de destino: Universidade Federal do Rio Grande do Sul

1. IDENTIFICACIÓN DEL PROFESIONAL

1.1 Nombres: Silvia Susana Apellidos: Trigüis Vargas

1.2 Ciudad/País de destino: Porto Alegre/Brasil

1.3 Área de la ciencia: Ciencias Naturales y Exactas

1.4 Correo electrónico: vaniaraziel@gmail.com

1.5 Código de Postulación/adjudicación: PVCT15-324

2. PERIODO DE LA ESTANCIA

2.1 Duración del periodo de estancia:

Desde: (14/01/2016) Hasta: (12/02/2016)

2.2 La vinculación realizada es: () Investigativa (X) de transferencia tecnológica

3. DESCRIPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES REALIZADAS HASTA LA FECHA. Describa en detalle las actividades realizadas durante la estancia de vinculación hasta la fecha.

Semana 1: Participación en curso de Microscopía Electrónica de Barrido, en carácter de oyente. Preparación de muestras para 1era. sesión de microscopía electrónica de barrido.

Muestras:

A: Fago SBP/Cd1A

B: Fago SBP/Cd1A + Cd

C: Fago SBP/Cd/pet28b 2 + Cd

La preparación se hizo colocando directamente sobre una membrana de celulosa, una gota de las muestras a analizar. Se dejó secar y luego se envió a metalizar con oro. Seguidamente se realizó la 1era. sesión de microscopía.

Semana 2: Estudio de protocolos. Preparación de muestras según protocolo de preparación de muestras biológicas.

Se procesaron las muestras:

A: Fago SBP/Cd1A

B: Fago SBP/Cd1A + Cd

C: Fago SBP/Cd/pet28b 2 + Cd

Paso 1: Fijación

Paso 2: Lavado

Paso 3: Secado por punto crítico de CO₂

Semana 3:
 Paso 4: Metalización con plata
 Paso 5: 2da. sesión de microscopía electrónica de barrido
 Prueba de fago SBP/Cd1A con nanopartículas de oro, magnetita y preparación de muestra (Fago SBP/Cd1A) para 3ra. sesión de microscopía electrónica de barrido.
 Paso 1: Fijación de fago a magnetita
Semana 4:
 Paso 2: Lavado
 Paso 3: Secado a temperatura ambiente
 Paso 4: Metalización con plata
 Paso 5: 3ra. sesión de microscopía electrónica
 Preparación de muestra (Fago SBP/Cd1A) para ensayo de voltametría cíclica.

4. RESULTADOS OBTENIDOS HASTA LA FECHA. Explique con detalle los resultados obtenidos a partir de la vinculación realizada hasta la fecha.

Semana 1: Se participó como oyente del curso de microscopía electrónica mencionado. En la 1ra. sesión de microscopía se tomaron fotos solamente de la muestra B. No pudo observarse con buena resolución la estructura filamentosa del fago, aunque el EDS indica que en la región observada hay carbono que podría corresponder al fago estudiado y también se detectó Cd, que era lo esperado. En la muestra A no pudo distinguirse la estructura filamentosa del fago ya que éste se confundía con la estructura de la membrana utilizada como soporte. Debido a esto se sugirió cambiar el protocolo de preparación de muestras. No dio tiempo de analizar la muestra C debido a que también se debía analizar las muestras correspondientes a trabajos del laboratorio de destino.

Semana 2: Debido a los resultados obtenidos con la 1ra. sesión de microscopía, se decidió cambiar el protocolo de preparación de muestras. De esta manera, las muestras fueron procesadas según un protocolo de preparación de muestras biológicas.

Semana 3: Se realizó la metalización de las muestras con plata. Durante la 2da. sesión de microscopía se observó sólo la muestra B y se obtuvieron dos fotos donde se distinguió mejor la estructura esperada del fago, aunque no se logró enfocar la imagen y no se logró distinguir una estructura definida del fago con el cadmio. No se realizó un EDS debido a que el área superficial a analizar era muy pequeña y además la señal del Cd es solapada por la señal de la Ag. Si bien no se registró en imagen, se vieron bacterias en la muestra. Esto era esperado ya que cuando se hizo la filtración del fago SBP/Cd1A en la universidad de origen, se usó un filtro no estéril. Al final de esta semana se realizaron los ensayos de fago con nanopartículas de oro y magnetita. Pudo observarse que el fago SBP/Cd1A agrega nanopartículas de oro ya que al entrar en contacto con la solución coloidal de oro produjo un cambio en la coloración del mismo. Al entrar en contacto el fago SBP/Cd1A con la magnetita también produjo un cambio en su organización espacial. Debido a esto se decidió utilizar la magnetita como herramienta que facilite la separación del fago del resto de bacterias que quedaron en solución, de modo a obtener un fago mejor purificado.

Semana 4: En la 3ra. sesión de microscopía se hicieron 8 fotos y 3 EDS. No se logró observar un filamento como el observado en la 2da. sesión de microscopía.

Obs.: EDS: Energy-dispersive X-ray Spectroscopy.

[Handwritten mark]

Se estima que las estructuras filamentosas observadas corresponden a estructuras formadas por el fosfato.

En el primer EDS se detectó Fe y O que corresponden a la magnetita, P y Na en gran cantidad, que corresponden al buffer empleado en la preparación de la muestra; y una pequeña cantidad de C, lo que podría indicar que el fago está presente pero no logra observarse en la imagen.

En el segundo EDS ya no se detectó C, sólo Fe y O en gran cantidad y menor cantidad de P y Na. En el tercer EDS se detectó gran cantidad de Fe.

En los voltamogramas cíclicos obtenidos luego de las mediciones con el potenciostato pudo observarse que cuando está presente el fago sobre las nanopartículas de Au/Fe_3O_4 , hay un aumento significativo de la corriente anódica.

5. Mencione, en caso de que hubiera, los inconvenientes o dificultades presentados hasta la fecha.

Durante la tercera y cuarta semana se presentaron feriados que redujeron los días disponibles para la realización de los ensayos.

La inseguridad en el Campus do Vale durante el receso de verano impidió que las jornadas de trabajo fueran de 8 horas y por ende, las mismas resultaron menos productivas.

Se desconocía que el microscopio electrónico empleado para el análisis de las muestras no es de alta resolución, lo que impidió obtener imágenes más concluyentes.

6. CONCLUSIONES de la actividad realizada hasta la fecha.

Se recomienda continuar en la búsqueda del mejor protocolo para la preparación de muestras a ser analizadas por microscopía electrónica de barrido.

Se requerirá de mejores fotos para determinar la estructura que forma el fago recombinante con el cadmio. De modo a mejorar la purificación de la muestra, la Dra. Arguello ha accedido a enviar magnetita al laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNA, de modo a preparar fagos más puros que puedan usarse tanto para ensayos de voltametría como en microscopía.

Se sugiere continuar con los experimentos de voltametría cíclica ya que el primer ensayo ha dado resultados promisorios.

7. Observaciones Finales

A este informe de monitoreo deberá de anexar Fotos de las actividades que realiza durante la estancia para la publicación en la página web del CONACYT.

Firma del profesional: *Silvia Trigüis*

Fecha: 10 de marzo de 2016

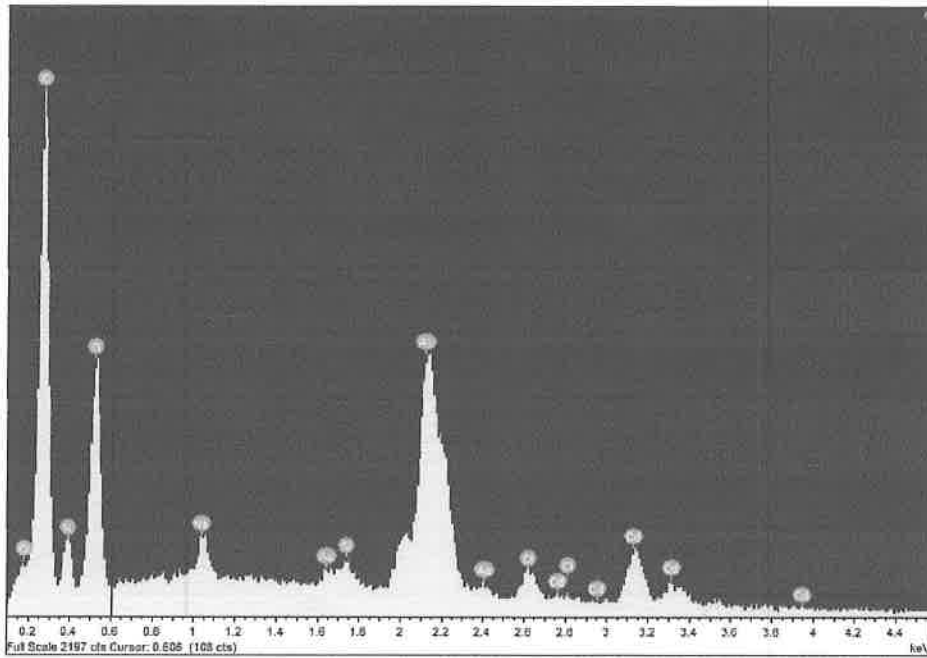
Aclaración de Firma: Silvia Trigüis



Esteban A. Ferro Bertolotto
Prof. Dr. Esteban A. Ferro Bertolotto
DECANO

ANEXO

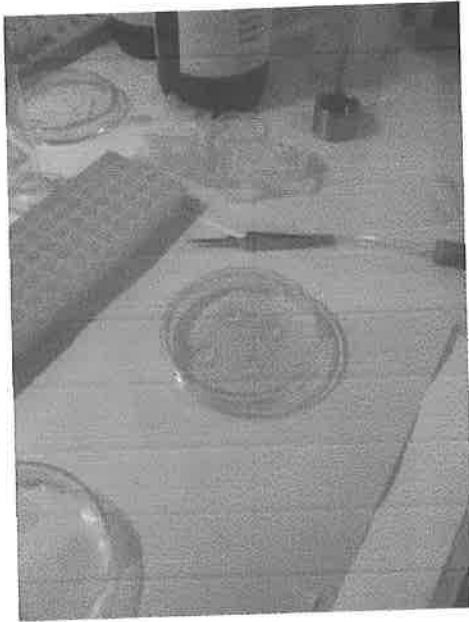
Resultados de primera sesión de microscopía



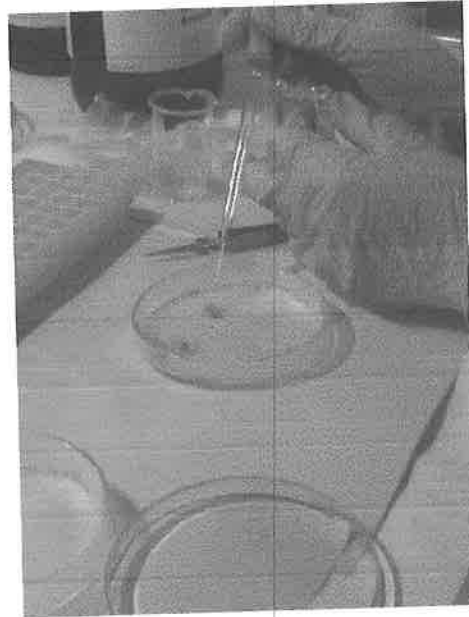
EDS



Preparación de muestras según protocolo de preparación de muestras biológicas



Colocación de poli-lisina sobre laminilla



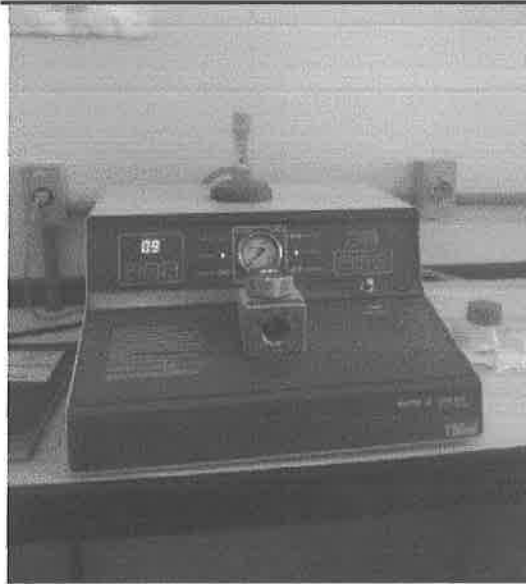
Adición de muestra para su adhesión a laminilla



Lavado de las muestras



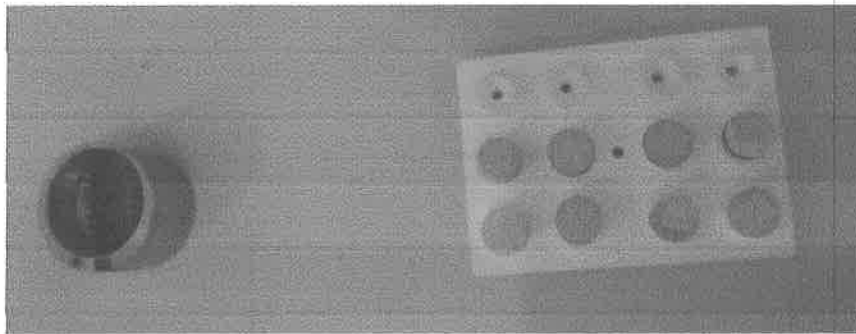
Secado por punto crítico del CO₂



Secado

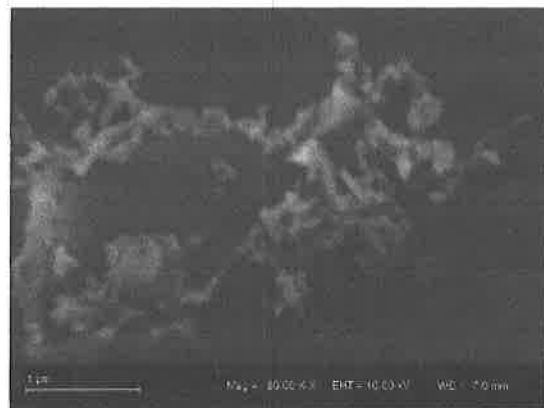


Muestras secas



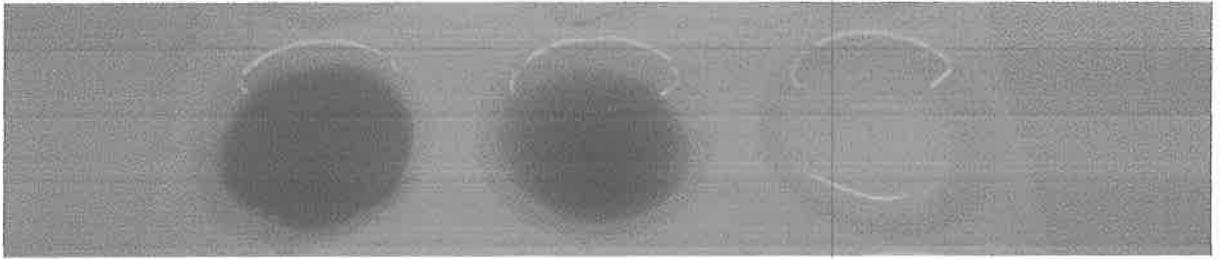
Muestras listas para ir a metalización

Resultados de segunda sesión de microscopía

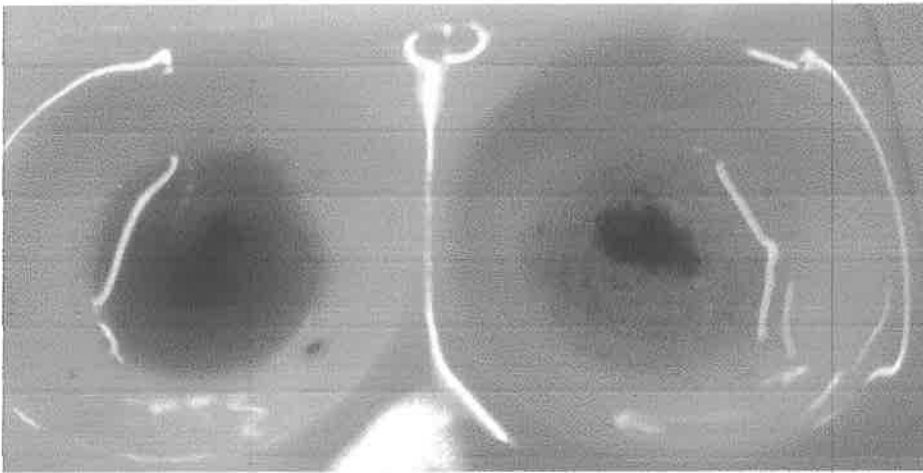


9

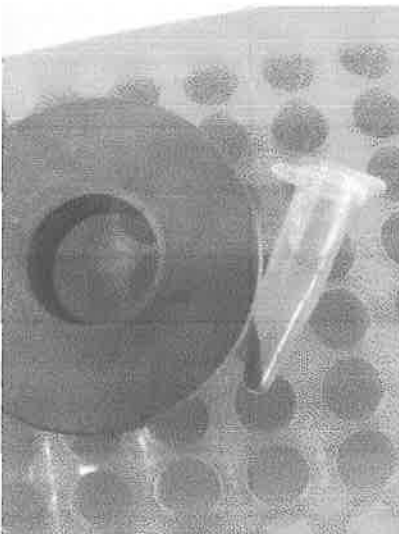
Ensayo de fago SBP/Cd1A con nanopartículas de Oro



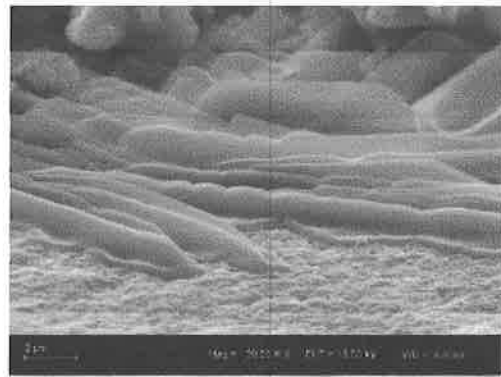
Ensayo de fago SBP/Cd1A con magnetita



Preparación de muestra para tercera sesión de microscopía

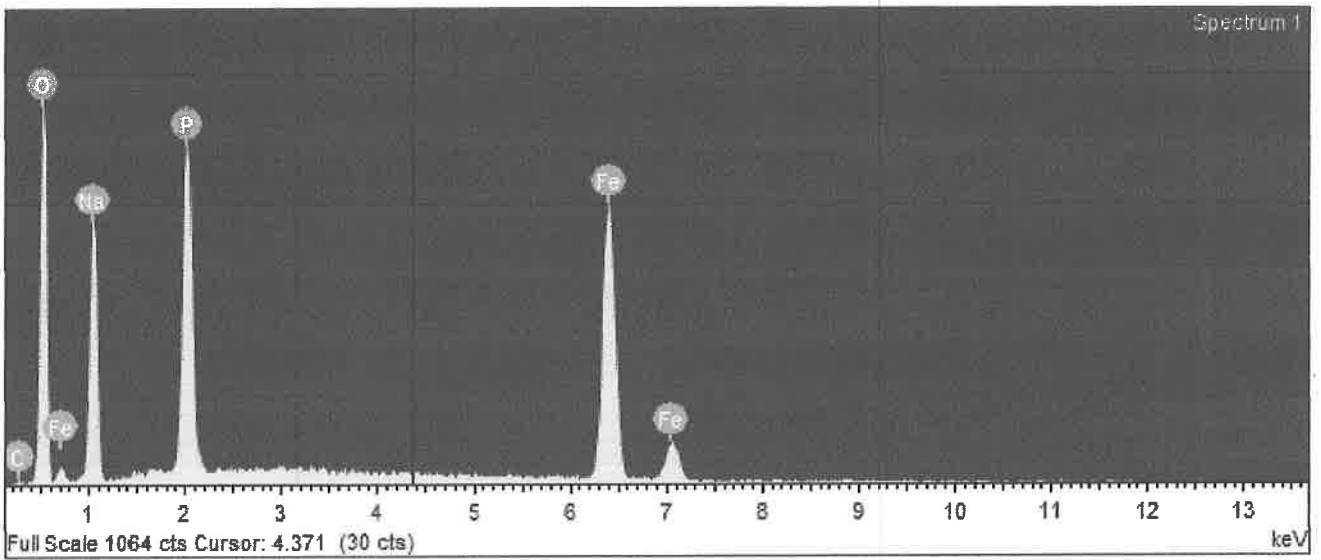
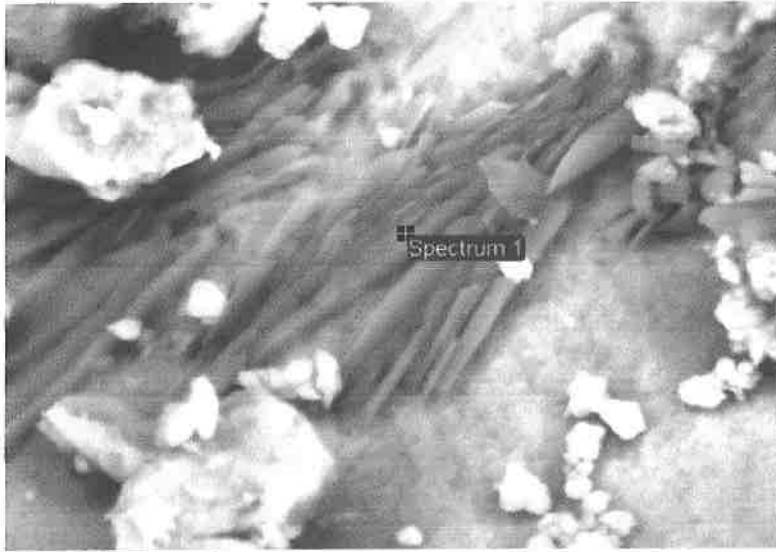


Resultados de tercera sesión de microscopía

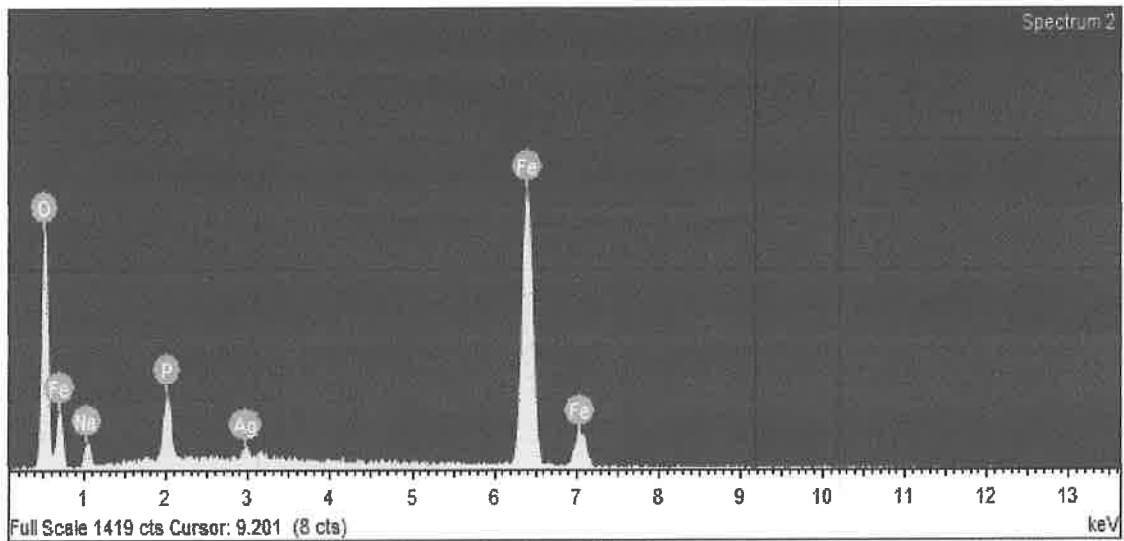
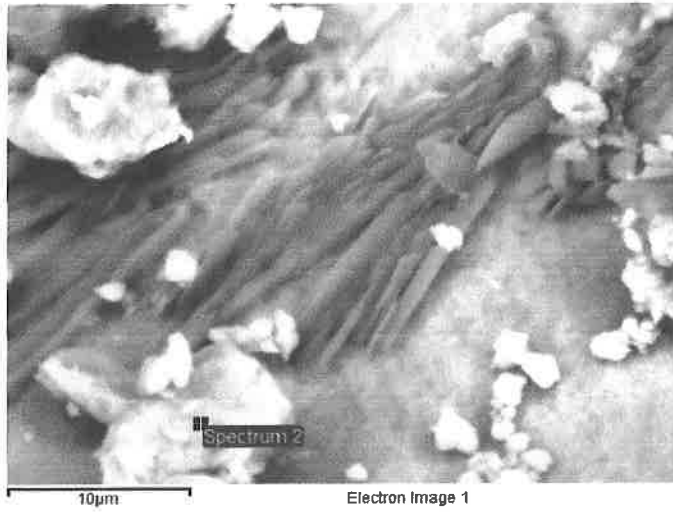


Obs.: En este informe se presentan sólo 3 de las 8 imágenes que se capturaron.

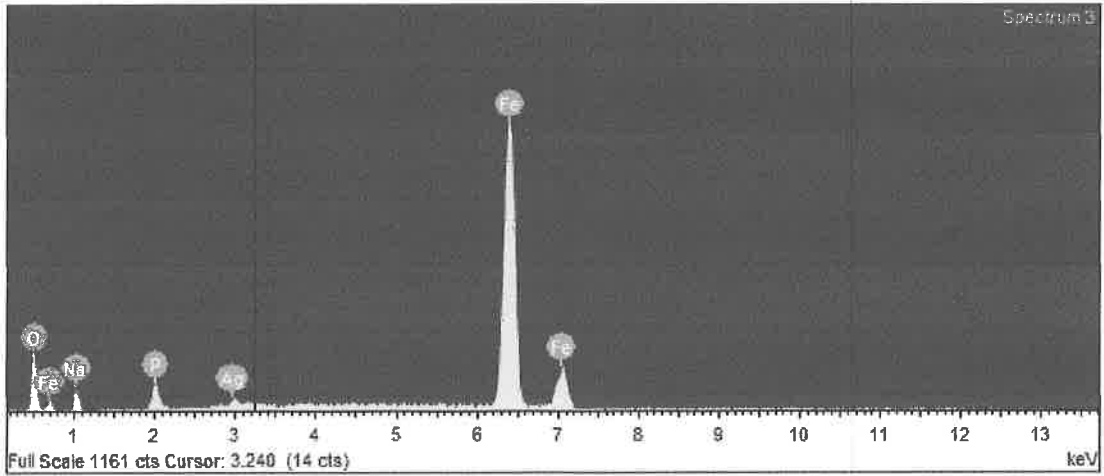
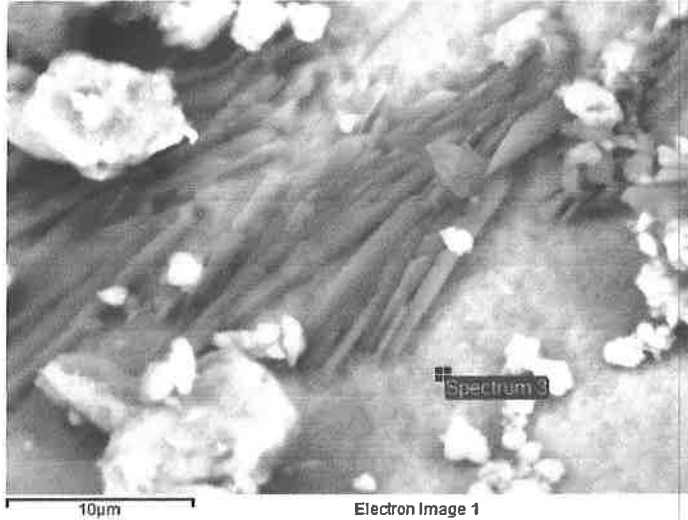
27



α



α



Q