



**MARIANA MARGENAT  
ARRAMBIDE**

Dra. en Ciencias Biológicas

[mariana.margenat@gmail.com](mailto:mariana.margenat@gmail.com)  
27106761

### SNI

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas  
Categorización actual: Inicia ción (Activo)

Fecha de publicación: 19/09/2018  
Última actualización SNI: 19/09/2018

## Datos Generales

### INSTITUCIÓN PRINCIPAL

Institut Pasteur de Montevideo/ Institut Pasteur de Montevideo / Laboratorio de Immunovirología / Uruguay

### DIRECCIÓN INSTITUCIONAL

Institución: Institut Pasteur de Montevideo / Institut Pasteur de Montevideo / Sector Organizaciones Privadas sin Fines de Lucro/Sociedades Científico-Tecnológicas

Dirección: Mataojo 2020 / 11400 / Montevideo, Montevideo, Uruguay

Teléfono: (00598) 25220910 / 148

Correo electrónico/Sitio Web: [mmargenat@pasteur.edu.uy](mailto:mmargenat@pasteur.edu.uy) <http://pasteur.uy/es/inicio>

## Formación

### Formación académica

#### CONCLUIDA

#### DOCTORADO

##### Doctorado en Ciencias Biológicas (UDELAR-PEDECIBA) (2010 - 2016)

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

Título de la disertación/tesis: Fosfatasas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis: avances en la identificación de sustratos y posible rol en la adaptación de la bacteria al macrófago.

Tutor/es: Dra. Andrea Villarino y cotutora Dra. Ana María Ferreira

Obtención del título: 2016

Institución financiadora: Agencia Nacional de Investigación e Innovación / Agencia Nacional de Investigación e Innovación, Uruguay

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis fosfatasas en fosfotirosina señalización celular

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Fosfatasas en tirosina bacterianas/ Señalización celular

#### MAESTRÍA

##### Magister en Química (1996 - 1999)

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

Título de la disertación/tesis: Estudio de la ciclofilina de Echinococcus granulosus

Tutor/es: Dra. Cecilia Fernández y Dra. Mónica Marín

Obtención del título: 2003

Palabras Clave: E.granulosus; Ciclofilina; PPlasas

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

#### GRADO

##### Licenciatura en Bioquímica (1990 - 1996)

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

Título de la disertación/tesis: Estudio de proteasas en taquizoitos de Toxoplasma gondii

Tutor/es: Julio Battistoni

Obtención del título: 1996

Palabras Clave: proteasas

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

## Formación complementaria

### CONCLUIDA

#### CURSOS DE CORTA DURACIÓN

##### **Curso de Gestión de calidad en los laboratorios, dictado por Dra Pilar Rodriguez (Skaphia) (01/2014 - 01/2014)**

Sector Educación Superior/Público / Universidad de la República / Facultad de Ciencias - UDeLaR, Uruguay  
60 horas

##### **Introducción a la citometría de flujo y manejo del equipo CyAn. (01/2011 - 01/2011)**

Sector Organizaciones Privadas sin Fines de Lucro/Sociedades Científico-Tecnológicas / Institut Pasteur de Montevideo / Institut Pasteur de Montevideo, Uruguay  
15 horas

##### **Producción de Proteínas recombinantes (01/2010 - 01/2010)**

Sector Educación Superior/Público / Universidad de la República / Facultad de Ciencias - UDeLaR, Uruguay  
60 horas

Palabras Clave: proteínas recombinantes

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Producción de proteínas recombinantes

##### **Caracterización, estructura y función de macromoléculas de parásitos (01/1996 - 01/1996)**

Sector Extranjero/Internacional/Otros / Instituto Nacional De Investigaci3n de Enfermedad de Chagas, Argentina  
120 horas

##### **Utilización de emisores beta como trazadores en sistemas biológicos: seguridad en la manipulación y correcta medición (01/1996 - 01/1996)**

Sector Educación Superior/Público / Universidad de la República / Facultad de Química - UDeLaR, Uruguay  
40 horas

##### **Estructura y Modelización de Proteínas; dictado por Prof. Pedro Alzari, G. Pérez y E. Osinaga (01/1995 - 01/1995)**

Sector Educación Superior/Público / Universidad de la República / Facultad de Ciencias - UDeLaR, Uruguay

#### PARTICIPACIÓN EN EVENTOS

##### **XVI Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2017)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: SUB, Uruguay

##### **XV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2014)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: SUB, Uruguay

##### **Autophagy: Molecular Mechanisms in Biology and Diseases (2013)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA, Argentina

##### **Tuberculosis 2012: Biology, pathogenesis, intervention strategies. EMBO Conference. (2012)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: Institut Pasteur, Paris., Francia

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis

**XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2012)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: Sociedad Uruguaya de Biociencias, Uruguay

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis tirosin-fosfatasa

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

**Pasantía de entrenamiento en espectrometría de masa MALDI-TOF. Identificación de proteínas por MALDI-TOF MS/MS (huella peptídica, MS/MS) y búsqueda en bases de datos, dirigida por la Dra. Rosario Durán y Madelón Portela. (2012)**

Tipo: Otro

Institución organizadora: UByPA-Instituto Pasteur Montevideo, Uruguay

Palabras Clave: espectrometría de masa

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Proteómica

**Séptimas Jornadas de la SBBM (2011)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: SBBM, Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular., Uruguay

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis fosfatasa en tirosina

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

**Thiol metabolism and redox regulation of cellular functions (2011)**

Tipo: Simposio

Institución organizadora: Lab. Enzimología, Fac de Ciencias; Inst. Pasteur, Uruguay

**XIII Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2010)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: Sociedad Uruguaya de Biociencias, Uruguay

**Sextas jornadas de Bioquímica y Biología Molecular (2009)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: SBBM, Uruguay

**XXIII Congreso Mundial de Hidatidología (2009)**

Tipo: Congreso

**XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (2008)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: SBBq, Brasil

**XII Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2007)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: SUB, Uruguay

**Regional Workshop of the Southern Cone of Latin America; Molecular and Epidemiological aspects of Echinococcus and hydatid disease (1997)**

Tipo: Simposio

**Pasantía en el tema Síntesis química de péptidos (1996)**

Tipo: Otro

Institución organizadora: Instituto de Biotecnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, México

Palabras Clave: péptidos sintéticos

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Químicas / Química Orgánica / Síntesis química de péptidos

**Molecular, Biochemical and Immunological Approaches to Parasitic diseases (1994)**

Tipo: Simposio

**International Workshop on Biology of Parasitism. Molecular Biology and Immunology of the Adaptation and Development of Parasites (1993)**

Tipo: Simposio

**III Congreso de la Asociación Latinoamericana de Inmunología (1993)**

Tipo: Congreso

Institución organizadora: ALAI, Chile

## EN MARCHA

### POSDOCTORADOS

**Búsqueda de interactores intracelulares de la proteína de cápside del virus de la leucemia bovina (2017)**

Sector Organizaciones Privadas sin Fines de Lucro/Sociedades Científico-Tecnológicas / Institut Pasteur de Montevideo / Institut Pasteur de Montevideo , Uruguay

Institución financiadora: Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas / Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas , Uruguay

Palabras Clave: virus de la leucosis bovina cápside interactores

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Virología /

## Idiomas

### Inglés

Entiende muy bien / Habla bien / Lee muy bien / Escribe muy bien

### Francés

Entiende bien / Habla bien / Lee muy bien / Escribe bien

### Español

Entiende muy bien / Habla muy bien / Lee muy bien / Escribe muy bien

### Portugués

Entiende bien / Lee bien /

## Áreas de actuación

### CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Ciencias Biológicas/Bioquímica y Biología Molecular /Parasitología Molecular

### CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Ciencias Biológicas/Bioquímica y Biología Molecular

### CIENCIAS MÉDICAS Y DE LA SALUD

Medicina Básica/Genética Humana /Citogenética

### CIENCIAS MÉDICAS Y DE LA SALUD

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

### CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS

Ciencias Biológicas/Virología

## Actuación profesional

SECTOR ORGANIZACIONES PRIVADAS SIN FINES DE LUCRO/SOCIEDADES CIENTÍFICO-TECNOLÓGICAS - INSTITUT PASTEUR DE MONTEVIDEO - URUGUAY

# Institut Pasteur de Montevideo

## VÍNCULOS CON LA INSTITUCIÓN

### Otro (03/2017 - a la fecha)

Cargo financiado por PEDECIBA ,30 horas semanales

Actualmente me desempeño en el Laboratorio de Inmunovirología del Instituto Pasteur, dirigido por el Dr. Otto Pritsch y estoy realizando un Post Doc financiado por Pedeciba, luego de obtener una cargo a través del llamado Uruguay Retiene, realizado por PEDECIBA en set/2016.

## ACTIVIDADES

### LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

#### Búsqueda de interactores intracelulares de la proteína de cápside del virus de la leucemia bovina. (03/2017 - a la fecha)

El virus de la leucemia bovina (VLB), del género Deltaretrovirus, causa una enfermedad linfoproliferativa denominada Leucosis Enzootica Bovina (LEB), afectando principalmente a los linfocitos B bovinos y ocasionando linfocitosis y/o tumores malignos. De hecho, es la enfermedad neoplásica más frecuente del ganado bovino lechero y causa importantes pérdidas económicas en el sector agropecuario. En el virión maduro de VLB, su genoma se encuentra protegido dentro de la cápside viral construida a partir de la proteína de cápside (CA), que lo protege durante su tránsito hacia el núcleo. En otros retrovirus, se ha reportado que la proteína CA interacciona con múltiples proteínas celulares que posibilitan la replicación del genoma, el desensamblado de la cápside, el pasaje al núcleo y la integración del genoma viral al genoma de la célula hospedera. Sin embargo, en VLB todavía no se conocen cuales son los factores celulares que interaccionan con la proteína CA. El objetivo de este proyecto es identificar algunas de las moléculas con las cuales interacciona la proteína CA durante su tránsito hacia el núcleo.

Fundamental

30 horas semanales

Laboratorio de Inmunovirología , Integrante del equipo

Equipo: Otto Franz PRITSCH ALBISU , Natalia IBAÑEZ RIVERO

Palabras clave: cápside Virus leucosis bovina interactores

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Virología /

### SECTOR EDUCACIÓN SUPERIOR/PÚBLICO - UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA - URUGUAY

## Facultad de Ciencias - UDeLaR

## VÍNCULOS CON LA INSTITUCIÓN

### Otro (07/2016 - 12/2016)

,20 horas semanales

Luego de finalizar el Doctorado continué trabajando como investigadora en la Sección Bioquímica y Biología Molecular de Facultad de Ciencias, pero sin cargo.

Escalafón: Docente

Cargo: Honorario

### Becario (03/2014 - 06/2016)

,35 horas semanales

Beca de Doctorado ANII

Escalafón: No Docente

### Funcionario/Empleado (09/2013 - 02/2014)

Cargo por Proyecto CSIC de la Dra. Villarino ,20 horas semanales

Escalafón: Docente

Grado: Grado 1

Cargo: Interino

### Otro (03/2012 - 08/2013)

Investigador honorario ,35 horas semanales

Durante este período continué realizando mi Doctorado en Biología en la Sección Bioquímica y Biología Molecular de Facultad de Ciencias, y trabajando para el Proyecto Clemente Estable de la Dra. Villarino pero sin tener financiación.

Escalafón: Docente

Cargo: Honorario

#### **Funcionario/Empleado (03/2011 - 02/2012)**

Ayudante ,20 horas semanales

Desde marzo/2011 hasta febrero 2012 tuve un cargo interino, por Proyecto Fondo Clemente Estable PR\_FCE\_2009\_1\_2631 a cargo de la Dra. Andrea Villarino.

Escalafón: Docente

Grado: Grado 1

Cargo: Interino

#### **Otro (08/2010 - 02/2011)**

,40 horas semanales

A partir de agosto del año 2010 me integré a la Sección Bioquímica y Biología Molecular de Facultad de Ciencias, para iniciar el Doctorado en Biología, trabajando en la Línea de Investigación dirigida por la Dra. Andrea Villarino, en el Estudio de fosfatasa y quinasas implicadas en la señalización celular de Mycobacterium tuberculosis. En este período no tuve financiación.

Escalafón: No Docente

### **ACTIVIDADES**

#### **LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN**

##### **Estudio de fosfatasa implicadas en la señalización celular de Mycobacterium tuberculosis (08/2010 - 12/2016)**

Esta línea de investigación es dirigida por la Dra. Andrea Villarino, y el objetivo central es encontrar sustratos de las dos únicas fosfatasa de tirosina de M. tuberculosis (PtpA y PtpB). Las fosfatasa actúan generalmente sobre numerosos sustratos, regulando la función de diversas vías de señalización intracelular, proporcionando al patógeno un mecanismo versátil para interferir con las vías de señalización celular que se activan en respuesta a la infección. PtpA y PtpB han sido caracterizadas estructuralmente y son consideradas factores de virulencia y potenciales blancos de nuevos fármacos. Yo comencé en agosto del 2010 mi tesis de Doctorado en su laboratorio, y mi trabajo de tesis se enmarcó en esta línea de investigación. El título de la Tesis fue Fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis: avances en la identificación de sustratos y posible rol en la adaptación de la bacteria al macrófago El objetivo general de la tesis fue avanzar en el conocimiento de las vías de señalización moduladas por tirosina- fosfatasa de Mycobacterium tuberculosis que están implicadas en la comunicación bacteria-hospedero. Hemos logrado identificar 4 potenciales sustratos eucariotas de PtpA, todos ellos relacionados a la producción de energía celular, validando uno de ellos como sustrato in vitro de la fosfatasa. Los resultados obtenidos hasta ahora fueron publicados en una revista de alto impacto en 2015, han sido recientemente citados por un grupo de reconocida trayectoria mundial en esta área y han abierto nuevas hipótesis de trabajo que esperamos explorar.

Fundamental

35 horas semanales

Facultad de Ciencias, Sección Bioquímica y Biología Molecular , Integrante del equipo

Equipo: MARGENAT M , Andrea Elizabeth VILLARINO RUFENER, Ana María FERREIRA VAZQUEZ , María Del Rosario DURÁN MUÑOZ , Anne-marie Lyse LABANDERA NADEAU

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis fosfatasa interacción bacteria - hospedero

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Fosfatasa en tirosina bacterianas/ Señalización celular

#### **PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO**

##### **Chalconas como potentes inhibidores de las dos únicas fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis: síntesis, diseño racional y caracterización de nuevos compuestos., Tipo de participación (05/2013 - 07/2015)**

A lo largo del proyecto se sintetizaron cuarenta chalconas, algunas de ellas no reportadas aún y se evaluaron sesenta en su poder inhibitorio de la actividad fosfatasa de PtpB y PtpA de M. tuberculosis. Las fosfatasa fueron producidas como proteínas recombinantes y el ensayo de actividad optimizado para la evaluación de los compuestos. De la evaluación de las sesenta moléculas detectamos dos que inhiben exclusivamente a PtpB, una que inhibe a PtpA y una capaz de inhibir a ambas. El poder inhibitorio de estas moléculas es aún leve si se compara con los mejores inhibidores reportados. El ensayo de actividad incluye un control negativo y positivo de inhibición que

funcionaron correctamente. Sintetizamos también una chalcona reportada como inhibidor de PtpB y otra reportada como inhibidor de PtpA. En la evaluación de los mismos observamos que el inhibidor reportado de PtpB inhibe unas tres veces menos que lo reportado y el de PtpA no inhibe. La información in silico obtenida del acoplamiento molecular fosfatasa-chalcona la utilizamos para definir el lugar más favorable de un sustituyente a ser agregado en el proceso de síntesis orgánica, para analizar las energías de interacción y detalles moleculares y para definir mejoras en la chalconas.

10 horas semanales

Facultad de Ciencias. UDELAR, Sección Bioquímica y Biología Molecular

Investigación

Integrante del Equipo

Concluido

Alumnos encargados en el proyecto:

Pregrado:2

Doctorado:1

Financiación:

Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR, Uruguay, Apoyo financiero

Equipo: Andrea Elizabeth VILLARINO RUFENER (Responsable), Lucía RODRÍGUEZ, Gustavo

SEOANE MUNIZ, HERRERA F, RODRIGUEZ D., Gabriel Jorge SAGRERA DARELLI, Matías

MAIDANA ETCHEVERRY, RAVEL F

Palabras clave: fosfatasas en tirosina inhibidores chalconas

Areas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Farmacología y Farmacia / Drogas para la tuberculosis

#### **Identificación de sustratos y mecanismos de regulación de las dos únicas tirosina fosfatasas, PtpA y PtpB de Mycobacterium tuberculosis. (02/2011 - 08/2013)**

El proyecto estudió dos enzimas con actividad fosfatasa secretadas por la bacteria Mycobacterium tuberculosis. Dicha bacteria, causal de la tuberculosis, produce en el mundo más de 2 millones de muertes por año y en Uruguay continúa siendo un problema de salud nacional. Este tipo de bacterias patógenas liberan dentro de las células del organismo infectado diferentes enzimas efectoras cuya finalidad es interferir con el mecanismo de defensa del hospedero. Una vez dentro del mismo estas enzimas actúan sobre sustratos eucariotas interfiriendo y frenando de alguna manera las vías de defensa del hospedero, que de otra forma darían lugar a la destrucción de la bacteria. Entre las enzimas efectoras implicadas en la comunicación entre la bacteria con el hospedero se encuentran las dos únicas tirosina fosfatasas de M. tuberculosis, PtpA y PtpB. Ambas fosfatasas son consideradas como posibles blancos en el desarrollo de nuevas drogas contra la tuberculosis pues existen evidencias de su rol en la propagación de la infección. Objetivo General: Avanzar en el conocimiento de vías de señalización dirigidas por las dos únicas tirosinas fosfatasas de Mycobacterium tuberculosis, PtpA y PtpB. Objetivos específicos: i) Identificar los sustratos de PtpA y PtpB aislados mediante una nueva metodología que combina la utilización del BIAcore y mutantes puntuales de las fosfatasas. ii) Caracterizar in vitro la interacción enzima-sustrato utilizando PtpA y PtpB y sustratos puros. En este proyecto se enmarcó parte de mi tesis de Doctorado. La principal contribución como consecuencia del desarrollo del Proyecto fue el avance en el conocimiento de los sustratos de PtpA y la vías de señalización eucariotas que parecen ser el blanco de esta fosfatasa bacteriana. Asimismo, se difundieron los resultados en varios congresos y en una publicación científica de alto impacto internacional.

35 horas semanales

Facultad de Ciencias, Sección Bioquímica y Biología Molecular

Investigación

Integrante del Equipo

Concluido

Alumnos encargados en el proyecto:

Pregrado:1

Doctorado:1

Equipo: Andrea Elizabeth VILLARINO RUFENER (Responsable), Gerardo FERRER SUETA, Madia

TRUJILLO GARRÉ, Ana María FERREIRA VAZQUEZ, Ana Cecilia RAMÓN PACHECO, Lucía

RODRÍGUEZ, Anne-marie Lyse LABANDERA NADEAU

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis fosfatasas

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Fosfatasas en tirosina bacterianas/ Señalización celular

#### **DOCENCIA**

##### **Pedeciba-Biología (05/2013 - 05/2013)**

Maestría

Asistente

Asignaturas:

Modificaciones Postraduccionales de Proteínas: Ampliando el Código Genético, coordinado por la Dra. Leonor Thomson y Dr José Tort., 30 horas, Teórico-Práctico

**Licenciatura en Bioquímica/Ciencias Biológicas (03/2011 - 06/2011 )**

Grado

Asistente

Asignaturas:

Curso de Bioquímica, 4 horas, Práctico

**SECTOR EDUCACIÓN SUPERIOR/PÚBLICO - UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA - URUGUAY**

Facultad de Química - UDeLaR

**VÍNCULOS CON LA INSTITUCIÓN**

**Funcionario/Empleado (09/2007 - 06/2010)**

,25 horas semanales

En el período 09/ 2007 hasta junio 2008 estuve contratada por el proyecto PDT 54/173 a cargo de la Dra. Cecilia Fernández, luego hasta junio 2009 continué trabajando en la misma línea de investigación, sin tener cargo, y a partir de junio de 2009 asumí el cargo de Asistente Gr 2 por proyecto CSIC I+D 407, continuando el proyecto anterior.

Escalafón: Docente

Grado: Grado 2

Cargo: Interino

**Funcionario/Empleado (05/1995 - 10/1999)**

,40 horas semanales

Durante este período, la financiación de los distintos cargos desempeñados fue realizada con fondos de Proyectos de Investigación de la Cátedra de Inmunología de Facultad de Química, entre ellos Proyecto CSIC I+D año 1996 de la Dra C. Fernández (En el período julio 1998 a octubre 1999 tuve un cargo de asistente Gr 2 por ese proyecto). Durante este período también inicié el trabajo experimental correspondiente a la Tesis de Maestría en Química en el tema "Estudio de la Ciclofilina de Echinococcus granulosus", bajo la dirección de la Dra. Cecilia Fernández y la Dra. Mónica Marín. En octubre de 1999 finalizó la realización del trabajo experimental de la tesis. Sin embargo, la escritura y defensa de la misma recién se realizó en el año 2003 debido a que a partir de noviembre de 1999 me integré a trabajar en el área privada, con dedicación a tiempo completo.

Escalafón: Docente

Grado: Grado 1

Cargo: Interino

**Becario (01/1994 - 12/1994)**

Beca de Iniciación en Investigación. CONICYT ,30 horas semanales

Esta beca de Iniciación en Investigación se desarrolló en el tema "Producción de anticuerpos policlonales contra péptidos de la hormona gonadotrofina coriónica humana (hCG) con el fin de mejorar el diagnóstico de embarazo", fue dirigida por el Prof. Julio Battistoni, y llevada a cabo en la Cátedra de Inmunología.

Escalafón: Docente

Grado: Grado 1

Cargo: Interino

**Funcionario/Empleado (09/1993 - 12/1993)**

Ayudante de Inmunología ,40 horas semanales

Escalafón: Docente

Grado: Grado 1

Cargo: Interino

**Becario (03/1992 - 08/1993)**

,25 horas semanales

Durante este período me desempeñé como becaria honoraria en la Cátedra de Inmunología, y realicé el trabajo de licenciatura en el tema "Estudio de proteasas en taquizoitos de Toxoplasma



gondii", dirigido por el Prof. Julio Battistoni.  
Escalafón: No Docente  
Cargo: Interino

## ACTIVIDADES

### LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

#### **Estudio de una familia de inhibidores tipo Kunitz de Echinococcus granulosus (07/2007 - 06/2010)**

Participé en esta línea de Investigación dirigida por la Dra Cecilia Fernández, que estudia una familia de inhibidores de serina proteasas, tipo Kunitz, que están presentes en el transcriptoma de E. granulosus, y cuya síntesis se induce cuando el gusano larvario es expuesto a las condiciones del tracto digestivo del perro y serían secretadas al duodeno. Esta familia de inhibidores actuaría en la interfase entre el parásito - hésped definitivo, interfiriendo con los procesos fisiológicos que desarrolla el hospedero en las etapas iniciales de la infección. Para ello, se planteó el estudio de: i) la actividad de cada inhibidor frente a blancos potenciales (enzimas digestivas caninas y proteasas de serina asociadas con la inflamación; y canales de K<sup>+</sup>), ii) el perfil de la síntesis y secreción de estos inhibidores, mediante espectrometría de masa y sondas de ARN. Personalmente, participé en la caracterización de EgKU-3 (clonado, expresión y purificación, y estudio de su actividad inhibidora) y estudié la expresión de estos inhibidores en los distintos estadios del parásito.

Fundamental

25 horas semanales

Facultad de Química, Cátedra de Inmunología, Integrante del equipo

Equipo: Martín FLÓ DÍAZ, PELLIZA L., Cecilia FERNANDEZ GRANJA, Beatriz ALVAREZ SANNA, Gustavo SALINAS GRECCO, María Del Rosario DURÁN MUÑOZ

Palabras clave: Echinococcus granulosus Kunitz

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

### PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO

#### **Estudios de la divergencia funcional de una familia de inhibidores Kunitz involucrados en la instalación de Echinococcus granulosus en su hospedero definitivo (01/2009 - 06/2010)**

En el marco de este proyecto dirigido por la Dra. Cecilia Fernández (responsable del proyecto), se continuó la caracterización de ocho inhibidores Kunitz identificados en el transcriptoma de E. granulosus (EgKU-1 a EgKU-8). Se purificaron a homogeneidad dos de ellos (EgKU-1 y EgKU-8) a partir de un homogeneizado del parásito. El análisis de sus secuencias predichas y ensayos in vitro de la capacidad inhibidora de proteasas de serina de los componentes purificados indican que esta familia de E. granulosus incluye tanto inhibidores de proteasas de alta afinidad (EgKU-8) como integrantes del grupo de inhibidores Kunitz que no presentan esa actividad y, en cambio, bloquearían canales de tipo K<sub>v</sub> (EgKU-1). El objetivo del proyecto fue confirmar esta diversidad funcional y caracterizarla. Personalmente, en este proyecto trabajé hasta julio del 2007, y realicé un estudio de expresión de los inhibidores Kunitz en los distintos estadios del parásito. Mediante una estrategia de purificación de los inhibidores, y posterior espectrometría de masa y digestión trípica se confirmó la secreción de por lo menos dos de estos inhibidores (KU-3 y KU-8) en el líquido hidático que correspondería a la secreción in vivo de los parásitos. Los resultados obtenidos en este proyecto han sido presentados en congresos internacionales, parte de ellos fueron incluidos en el manuscrito "Tuned Escherichia coli as a host for the expression of disulfide-rich proteins".

Salinas G, Pellizza L, Margenat M, Fló M, Fernández C., Biotechnology Journal, 2011, y el manuscrito Functional diversity of secreted cestode kunitz proteins: inhibition of serine peptidases and blockade of cation channels, Plos Pathogens 2017. Fló M, Margenat M, Pellizza L, Graña M, Durán R, Báez A, Salceda E, Soto E, Alvarez B, Fernández C.

25 horas semanales

Facultad de Química, Cátedra de Inmunología

Investigación

Integrante del Equipo

Concluido

Alumnos encargados en el proyecto:

Pregrado: 1

Maestría/Magister: 1

Financiación:

Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR, Uruguay, Apoyo financiero

Programa de Desarrollo de las Ciencias Básicas, Uruguay, Apoyo financiero

Equipo: M. MARGENAT, Cecilia FERNANDEZ GRANJA (Responsable), FLÓ M., PELLIZA L., SALINAS G., DURÁN R., ALVAREZ B.

Palabras clave: Echinococcus granulosus Inhibidores Kunitz

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

**Funciones de una familia de inhibidores tipo Kunitz en la instalación de *Echinococcus granulosus* en su hospedero definitivo (06/2007 - 10/2008 )**

Este proyecto aportó financiación para el estudio de los inhibidores tipo Kunitz identificados en el transcriptoma de la larva. Las proteínas tipo Kunitz son generalmente inhibidoras de proteasas de serina. Sin embargo, existen integrantes de la familia que bloquean canales iónicos. Ambos tipos de moléculas estarían presentes en *E. granulosus*. Como los inhibidores se secretarían cuando la larva ingresa a su hospedero definitivo, se buscó caracterizar la actividad de cada uno frente a blancos potenciales, es decir frente a moléculas presentes en el escenario de la instalación del parásito (proteasas de serina - tanto digestivas como asociadas con la inflamación; y canales de K<sup>+</sup>). Durante mi participación en el proyecto caractericé uno de los integrantes de la familia (EgKU-3), lo cual implicó la preparación de una forma recombinante del inhibidor maduro, y el estudio de su actividad inhibidora de proteasas de serina. Los resultados obtenidos han sido reunidos en el manuscrito "A diverse family of Kunitz inhibitors from *Echinococcus granulosus* potentially involved in host-parasite cross-talk", González S, Fló M, Margenat M, Durán R, Graña M, González-Sapienza G, Parkinson J, Maizels RM, Salinas G, Álvarez B y Fernández C (PLoS One, 2009)

25 horas semanales

Facultad de Química, Cátedra de Inmunología

Investigación

Integrante del Equipo

Concluido

Alumnos encargados en el proyecto:

Pregrado:2

Maestría/Magister:1

Financiación:

Consejo Nacional de Innovación, Ciencia y Tecnología (CONICYT), Uruguay, Apoyo financiero

Equipo: Cecilia FERNANDEZ GRANJA (Responsable), Martín FLÓ DÍAZ, Gustavo SALINAS

GRECCO, María Del Rosario DURÁN MUÑOZ, Beatriz ALVAREZ SANNA, GONZÁLEZ S.

Palabras clave: *Echinococcus granulosus* Kunitz

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

**Estudio de las bases moleculares de la toxicidad de la ciclosporina A sobre protoescoléces de *Echinococcus granulosus* (04/2000 - 04/2000)**

La elaboración de este proyecto estuvo a mi cargo, y se presentó como Proyecto de Iniciación en Investigación. Sin embargo, este proyecto aprobado por CSIC, no pudo ser llevado a cabo, debido a que en el momento en que fue aprobado, yo me encontraba trabajando en el área privada por haberme quedado sin cargo en la Universidad.

40 horas semanales

Facultad de Química, Cátedra de Inmunología

Investigación

Coordinador o Responsable

Cancelado

Alumnos encargados en el proyecto:

Maestría/Magister:1

Financiación:

Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR, Uruguay, Apoyo financiero

Equipo: Cecilia FERNANDEZ GRANJA

Palabras clave: ciclofilina ciclosporina A

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

**Estudio de la ciclofilina de *Echinococcus granulosus* (01/1998 - 12/1999)**

En este proyecto se caracterizó una ciclofilina del parásito cuyo ADNc había sido aislado previamente (se purificó la proteína nativa, se analizó su actividad isomerasa de prolinas y su expresión en distintos materiales parasitarios); y se estudió el efecto de su inhibición con la droga ciclosporina A sobre la vitalidad y el metabolismo del parásito. Personalmente llevé a cabo todas las actividades experimentales planteadas en el proyecto. En el marco de este proyecto yo realicé mi tesis de Maestría, bajo la orientación de la Dra Cecilia Fernández, y la Dra M Marín.

Lamentablemente, la tesis fue interrumpida dado que, al finalizar la ejecución financiera del proyecto, me quedé sin cargo. La defensa de la tesis la realicé en el año 2003. El alejamiento de la UDELAR a fines de 1999 y la realización de una pasantía por parte de la Dra Cecilia Fernández en Edimburgo (2000-2002) demoraron la publicación de un manuscrito que reunía los resultados

principales de este estudio. Desafortunadamente, un trabajo similar fue publicado por otros investigadores (Colebrook AL et al (2002) Anti-parasitic effect of cyclosporin-A on E. granulosus and characterization of its associated cyclophilin gene. Parasitology 125, 485-493).

40 horas semanales

Facultad de Química, Cátedra de Inmunología

Investigación

Integrante del Equipo

Concluido

Alumnos encargados en el proyecto:

Maestría/Magister:1

Financiación:

Comisión Sectorial de Investigación Científica - UDeLaR, Uruguay, Apoyo financiero

Área Química (PEDECIBA), Uruguay, Apoyo financiero

Equipo: M. MARGENAT, Monica MARIN, FERNÁNDEZ C. (Responsable)

Palabras clave: ciclofilina PPIasas Echinococcus granulosus

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

#### **Producción de antisueros contra péptidos sintéticos de la hormona hCG con el fin de mejorar el diagnóstico de embarazo. (01/1994 - 12/1994)**

Este fue un proyecto de Iniciación en Investigación, dirigido por el Dr. Julio Battistoni. El objetivo del mismo fue la obtención de anticuerpos policlonales contra péptidos sintéticos de la subunidad alfa y beta de la hormona hCG, evaluación de la especificidad y afinidad de los anticuerpos obtenidos por técnica de ELISA.

40 horas semanales

Cátedra de Inmunología

Investigación

Integrante del Equipo

Concluido

Alumnos encargados en el proyecto:

Pregrado:1

Financiación:

Consejo Nacional de Innovación, Ciencia y Tecnología (CONICYT), Uruguay, Beca

Equipo: Julio Battistoni (Responsable)

Palabras clave: hormona gonadotrofica humana péptidos sintéticos

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Inmunología

#### **DOCENCIA**

##### **Carreras de Facultad de Química (03/1995 - 12/1997)**

Grado

Asistente

Asignaturas:

Curso práctico de Introducción a la Inmunología, 12 horas, Teórico-Práctico

##### **Educación Permanente (11/1995 - 12/1995)**

Perfeccionamiento

Responsable

Asignaturas:

Actualización en técnicas de inmunodiagnóstico, 15 horas, Teórico-Práctico

#### **OTRA ACTIVIDAD TÉCNICO-CIENTÍFICA RELEVANTE**

##### **Pasantía en síntesis química de péptidos (06/1996 - 07/1996)**

Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Biotecnología. Lab. de Dr. Lourival Possani  
50 horas semanales

#### **GESTIÓN ACADÉMICA**

##### **Representante del orden Egresados en la Comisión Asesora de Bioquímica (03/1997 - 05/1998)**

Participación en consejos y comisiones, 5 horas semanales

**SECTOR EMPRESAS/PRIVADO - EMPRESA PRIVADA - URGUAY**

## Asociación Española Primera de Socorros Mutuos

### VÍNCULOS CON LA INSTITUCIÓN

#### Funcionario/Empleado (11/1999 - 08/2006)

Bioquímica. Laboratorio de Análisis Clínicos. ,40 horas semanales  
 En el período 11/1999 a 10/2003 me desempeñé en la Sección Bioquímica del Laboratorio de Análisis Clínicos. Durante este período trabajé en la Sección Inmunología, realizando la cuantificación en suero de inmunoglobulinas, subclases de inmunoglobulinas, Factor reumatoideo, Proteína C Reactiva, Anticuerpos anti-estreptolisina, así como también proteinogramas. A partir de 11/2003, y hasta 08/2006 trabajé en el Laboratorio de Citogenética, realizando estudios de citogenética constitucional y diagnóstico prenatal. Para ello, realicé los cultivos celulares a partir de los líquidos amnióticos y sangre, la preparación de las láminas y luego su estudio y observación al microscopio para informe del cariotipo.

### ACTIVIDADES

#### OTRA ACTIVIDAD TÉCNICO-CIENTÍFICA RELEVANTE

##### Bioquímica en el Laboratorio de Citogenética Constitucional y diagnóstico prenatal (10/2003 - 08/2006)

Laboratorio de Análisis Clínicos, Biología Molecular  
 40 horas semanales  
 Areas de conocimiento:  
 Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Clínica / Otros tipos de Medicina Clínica / Citogenética constitucional y diagnóstico prenatal

##### Bioquímica en el Laboratorio de Análisis Clínicos (11/1999 - 10/2003)

Laboratorio de Análisis Clínicos, Inmunología  
 40 horas semanales  
 Areas de conocimiento:  
 Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Clínica / Otros tipos de Medicina Clínica / Análisis clínicos

#### CARGA HORARIA

Carga horaria de docencia: Sin horas  
 Carga horaria de investigación: 35 horas  
 Carga horaria de formación RRHH: 10 horas  
 Carga horaria de extensión: Sin horas  
 Carga horaria de gestión: Sin horas

## Producción científica/tecnológica

Durante mi tesis de Maestría, purifiqué una ciclofilina A de *E. granulosus* (EgCyP-A) a partir de extractos de varios estadios del parásito. Caractericé su actividad peptidil-prolil-cis/trans-isomerasa así como su inhibición por la ciclosporina-A. Demostré la toxicidad de ciclosporina-A sobre el protoescólex, y estudié la expresión de EgCyP-A en los diferentes estadios: protoescólex y gusanos adultos, mediante hibridización in situ, detectando aumento de la expresión en los tipos celulares que están en activa proliferación. Los resultados no fueron publicados dado que otro grupo publicó gran parte del trabajo (Colebrook, 2002)

Trabajé en la caracterización de una familia multigénica de inhibidores tipo Kunitz de *E. granulosus*. Caractericé EgKU-3 (clonado, expresión y purificación, y actividad inhibidora) y estudié la expresión de estos inhibidores en los distintos estadios del parásito. Mediante purificación a partir de líquido hidático y MS se confirmó la presencia de KU-3 y KU-8 en líquido, sugiriendo que serían secretados in vivo por el parásito. Esta familia de inhibidores actuaría en la interfase huésped-parásito interfiriendo con los procesos fisiológicos que desarrolla el hospedero en las etapas iniciales de la infección (Publicación PLoS One 2009; PLoS Pathogens 2017).

Durante mi tesis de doctorado Fosfatasa de tirosina de *Mycobacterium tuberculosis*: avances en la identificación de sustratos y posible rol en la adaptación de la bacteria al macrófago, mejoramos la estrategia clásica de Substrate trapping para identificar sustratos de Tyr-fosfatasa a partir de extractos de macrófagos, utilizando el mutante PtpA D126A. Aislamos e identificamos cuatro nuevos posibles sustratos de PtpA mediante MALDI-TOF-MS y nano LC-MS: tres proteínas mitocondriales (ECHA o Trifunctional protein subunit-alpha, ATPA o ATP synthase subunit-alpha y

SQRD o Sulfide quinone oxidoreductase) y la proteína citosólica K6PP (6-phosphofruktokinase). Todas juegan un rol importante en el metabolismo energético celular. Utilizando resonancia plasmónica de superficie encontramos que PtpA se une a la Trifuncional protein(TFP) inmunopurificada, a través de su sitio catalítico ya que la unión fue inhibida por un inhibidor específico de fosfatasa. Además, PtpA fue capaz de defosforilar in vitro la TFP inmunopurificada, lo cual indica que TFP podría ser un buen sustrato de PtpA. La defosforilación mediada por PtpA podría afectar vías involucradas en el metabolismo energético celular, particularmente la beta oxidación de ácidos grasos mediante la modulación de la actividad y/o localización de la TFP. Pusimos a punto un modelo celular eucariota donde se expresa la PtpA de M. tuberculosis para evaluar el efecto de la actividad PtpA en los macrófagos humanos, mediante la utilización de un vector viral (VHS-1 tipo amplicón). Realizamos ensayos preliminares buscando evaluar ciertos parámetros metabólicos de interés como glucosa y lactato luego de la transfección. Los resultados son preliminares, pero el modelo de transfección de los macrófagos con este vector viral ya está puesto a punto como para continuar los experimentos.

La defensa de tesis fue realizada en junio 2016 y los resultados obtenidos durante la misma fueron publicados en una revista internacional (New potential eukaryotic substrates of the mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hints of a bacterial modulation of macrophage bioenergetics state, 2015).

## Producción bibliográfica

### ARTÍCULOS PUBLICADOS

#### ARBITRADOS

##### **Functional Diversity of Secreted Cestode Kunitz Proteins: Inhibition of Serine Peptidases and Blockade of Cation Channels (Completo, 2017)**

FLÓ M., MARGENAT M., PELLIZA L., GRAÑA M., DURÁN, R., BÁEZ A., SALCEDA E., SOTO E., ALVAREZ, B., FERNANDEZ, C.

PLOS Pathogens, v.: 13(2) e1006169, 2017

Palabras clave: Kunitz cestodes serine peptidases

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

Medio de divulgación: Internet

ISSN: 15537366

DOI: [10.1371](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006169)

[journal.ppat.1006169](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006169)

We previously reported a multigene family of monodomain Kunitz proteins from *Echinococcus granulosus* (EgKU-1-EgKU-8), and provided evidence that some EgKUs are secreted by larval worms to the host interface. In addition, functional studies and homology modeling suggested that, similar to monodomain Kunitz families present in animal venoms, the *E. granulosus* family could include peptidase inhibitors as well as channel blockers. Using enzyme kinetics and whole-cell patch-clamp, we now demonstrate that the EgKUs are indeed functionally diverse. In fact, most of them behaved as high affinity inhibitors of either chymotrypsin (EgKU-2-EgKU-3) or trypsin (EgKU-5-EgKU-8). In contrast, the close paralogs EgKU-1 and EgKU-4 blocked voltage-dependent potassium channels (Kv); and also pH-dependent sodium channels (ASICs), while showing null (EgKU-1) or marginal (EgKU-4) peptidase inhibitory activity. We also confirmed the presence of EgKUs in secretions from other parasite stages, notably from adult worms and metacestodes. Interestingly, data from genome projects reveal that at least eight additional monodomain Kunitz proteins are encoded in the genome; that particular EgKUs are up-regulated in various stages; and that analogous Kunitz families exist in other medically important cestodes, but not in trematodes. Members of this expanded family of secreted cestode proteins thus have the potential to block, through high affinity interactions, the function of host counterparts (either peptidases or cation channels) and contribute to the establishment and persistence of infection. From a more general perspective, our results confirm that multigene families of Kunitz inhibitors from parasite secretions and animal venoms display a similar functional diversity and thus, that host-parasite co-evolution may also drive the emergence of a new function associated with the Kunitz scaffold.

Scopus® WEB OF SCIENCE™

##### **New potential eukaryotic substrates of the mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hints of a bacterial modulation of macrophage bioenergetics state. (Completo, 2015)**

MARGENAT M., LABANDERA AM, GIL M., CARRIÓN F, PURIFICAÇÃO M, RAZZERA G, PORTELA M, OBAL G, TEREZI H, PRITSCH O, DURÁN R., FERREIRA A., VILLARINO A., v.: 5 8819, p.:1 - 11, 2015

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis fosfatasa en tirosina

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Fosfatasas en tirosina bacterianas/ Señalización celular

Medio de divulgación: Internet

Lugar de publicación: UK

ISSN:

DOI: [10.1038/srep08819](https://doi.org/10.1038/srep08819)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25743628>

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

Scopus' WEB OF SCIENCE™

#### **Tuned *Escherichia coli* as a host for the expression of disulfide-rich proteins. (Completo, 2011)**

SALINAS G. , PELLIZA L. , MARGENAT M. , FLÓ M., FERNÁNDEZ C.

Biotechnology Journal, v.: Jun 6 6, p.:686 - 699, 2011

Palabras clave: cysteine thiol oxidative folding recombinant proteins

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

Medio de divulgación: Papel

ISSN: 18606768

DOI: [10.1002/biot.201000335](https://doi.org/10.1002/biot.201000335)

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21567960>

Disulfide-bond formation is a major post-translational modification and is essential for protein folding, stability, and function. This is especially true for secreted proteins, many of which possess great potential for biotechnological applications. Focusing on the use of *Escherichia coli* for the production of this class of proteins, we describe the mechanisms that maintain redox compartmentalization in the cell, with an emphasis on those that promote the formation and isomerization of disulfide bonds in the bacterial periplasm, while presenting parallel pathways in the eukaryotic endoplasmic reticulum. Based on these concepts, we review the use of *E. coli* as a cell factory for the production of heterologous disulfide-containing proteins using either peri- or cytoplasmic expression and, in particular, how these compartments can be tuned to improve the yield of correctly folded recombinant proteins. Finally, we describe a few examples of the production of small disulfide-rich proteins (protease inhibitors) to illustrate how soluble, active, and fully oxidized recombinants may be successfully obtained upon peri- or cytoplasmic expression in *E. coli*.

Scopus' WEB OF SCIENCE™

#### **A family of diverse kunitz inhibitors from *Echinococcus granulosus* potentially involved in host-parasite cross-talk (Completo, 2009)**

GONZÁLEZ S. , FLÓ M., MARGENAT M. , DURÁN R. , GONZALEZ-SAPIENZA G. , GRAÑA M. , PARKINSON J. , MAIZELS R.M. , SALINAS G. , ALVAREZ B. , FERNÁNDEZ C.

PLoS ONE, v.: 4(9) e7009, 2009

Palabras clave: kunitz inhibitors host-parasite cross-talk parasite secretions

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

Medio de divulgación: Internet

ISSN: 19326203

DOI: [10.1371](https://doi.org/10.1371)

[journal.pone.007009](http://journal.pone.007009)

The cestode *Echinococcus granulosus*, the agent of hydatidosis/echinococcosis, is remarkably well adapted to its definitive host. However, the molecular mechanisms underlying the successful establishment of larval worms (protoscoleces) in the dog duodenum are unknown. With the aim of identifying molecules participating in the *E. granulosus*-dog cross-talk, we surveyed the

transcriptomes of protoscoleces and protoscoleces treated with pepsin at pH 2. This analysis identified a multigene family of secreted monodomain Kunitz proteins associated mostly with pepsin/H<sup>+</sup>-treated worms, suggesting that they play a role at the onset of infection. We present the relevant molecular features of eight members of the *E. granulosus* Kunitz family (EgKU-1 EgKU-8). Although diverse, the family includes three pairs of close paralogs (EgKU-1/ EgKU-4; EgKU-3/EgKU-8; EgKU-6/EgKU-7), which would be the products of recent gene duplications. In addition, we describe the purification of EgKU-1 and EgKU-8 from larval worms, and provide data indicating that some members of the family (notably, EgKU-3 and EgKU-8) are secreted by protoscoleces. Detailed kinetic studies with native EgKU-1 and EgKU-8 highlighted their functional diversity. Like most monodomain Kunitz proteins, EgKU-8 behaved as a slow, tight-binding inhibitor of serine proteases, with global inhibition constants (K<sub>i</sub><sup>\*</sup>) versus trypsins in the picomolar range. In sharp contrast, EgKU-1 did not inhibit any of the assayed peptidases. Interestingly, molecular modeling revealed structural elements associated with activity in Kunitz cation-channel blockers. We propose that this family of inhibitors has the potential to act at the *E. granulosus*-dog interface and interfere with host physiological processes at the initial stages of infection

Scopus<sup>®</sup> WEB OF SCIENCE™

## PUBLICACIÓN DE TRABAJOS PRESENTADOS EN EVENTOS

### Decoding the signaling pathways modulated by phosphatases of intracellular pathogens (2015)

Resumen

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

Evento: Internacional

Descripción: Europhosphatase 2015: Phosphorylation switches and cellular homeostasis

Ciudad: Turku, Finlandia

Año del evento: 2015

Anales/Proceedings: Phosphorylation switches and cellular homeostasis

Volumen:107

Publicación arbitrada

Editorial: Turku

Palabras clave: tyrosine phosphatase

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

Medio de divulgación: Internet

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

[events.embo.org/15-europhosphatase](http://events.embo.org/15-europhosphatase) Several evidences show that bacterial and viral PTPs act as virulence factors dephosphorylating eukaryotic proteins critical to cell cycle, altering metabolic and/or inflammatory responses of cells. Our interest is focused on the functional characterization of two PTPs of intracellular pathogens: PtpA of *Mycobacterium tuberculosis*, and the only PTP of the Orf virus. The Orf virus is responsible for contagious pustular dermatitis disease of sheep, goats and humans. The viral PTP Orf has a 40% sequence homology with the VH1 phosphatase of *Vaccinia virus*, crucial for the viability and replication of the viral particle, and the blocking of interferon gamma signaling in the host. Our work seeks to characterize the Orf virus phosphatase to go through elucidate its role during the viral infection. By an in silico and experimental approach we demonstrated that the Orf phosphatase is a dimer in solution involving the amino terminal region, and the essentiality of the Cys 112 for the activity. The bacterial PtpA is a key virulence factor released by *Mycobacterium tuberculosis* in the cytosol of infected macrophages. PtpA shows 37% of sequence identity and high structural similarity to its human orthologue HCPTPB. Our group recently identified four novel putative PtpA substrates, all related to energy metabolism: three mitochondrial proteins - the trifunctional enzyme, the ATP synthase, and the sulfide quinone oxidoreductase - and the cytosolic 6-phosphofructokinase. These substrates were isolated by an improved methodology to pull down novel PtpA substrates from an enriched P-Y macrophage extract, using the mutant PtpA D126A. By different approaches we are addressing the validation of these proteins candidates as PtpA substrates. We believe that our work may contribute to understanding which is the role of PTP in pathogen adaptation to host macrophages, and at the same time, it sheds light into novel targets of eukaryotic orthologue phosphatases, as HCPTPB.

### Nuevos potenciales sustratos eucariotas de la fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis* PtpA: indicios de una modulación bacteriana del estado bionerético del macrófago (2014)

Resumen

MARGENAT M., GIL M., DURÁN R., BEROIS M., FERREIRA A., VILLARINO A.

Evento: Nacional

Descripción: XV JORNADAS DE LA SOCIEDAD URUGUAYA DE BIOCENCIAS

Ciudad: Maldonado

Año del evento: 2014

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

Publicación arbitrada

Palabras clave: fosfatasa de tirosina

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

Medio de divulgación: Internet

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

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

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

Resumen

MARGENAT M. , LABANDERA AM , PORTELA M , DURÁN R. , FERREIRA A. , VILLARINO A.

Evento: Internacional

Descripción: AUTOPHAGY: Molecular Mechanisms in Biology and Diseases

Ciudad: Buenos Aires

Año del evento: 2013

Anales/Proceedings: AUTOPHAGY: Molecular Mechanisms in Biology and Diseases

Publicación arbitrada

Palabras clave: tirosin fosfatasa macrófago

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Búsqueda de sustratos fosfatasa

Medio de divulgación: Internet

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

**New putative eukaryotic substrates of the tyrosine phosphatase PtpA from *Mycobacterium tuberculosis* (2012)**

Resumen

MARGENAT M. , LABANDERA A. , PORTELA M , DURÁN R. , FERREIRA A. , VILLARINO A.

Evento: Internacional

Descripción: Tuberculosis 2012: Biology, pathogenesis, intervention strategies. EMBO Conference

Ciudad: París

Año del evento: 2012

Publicación arbitrada



Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatases

Areas de conocimiento:

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

Medio de divulgación: Internet

<http://www.pasteur.fr/infosci/conf/sb/tuberculosis2012/>

Protein tyrosine phosphatases (PTPs) PtpA and PtpB from *M. tuberculosis* are attractive targets for anti-TB drug development, however little is known about their possible mycobacterial and/or eukaryotic protein substrates. Our goal is to isolate PtpA eukaryotic substrates using a substrate trapping mutant of the phosphatase in which the affinity for the substrate remained similar to that of the wild-type enzyme but in which catalytic activity had been reduced, to such an extent that an enzyme-substrate complex, once formed, would be stable enough to withstand isolation. We perform the following strategy: (i) the characterization, by Surface Plasma Resonance (SPR), of the interaction between a substrate trapping mutant of mycobacterial PtpA and protein extracts of activated and non-activated macrophages; (ii) the scaling up of the process and isolation and identification of putative substrates by mass spectrometry. By SPR we detected an interaction between the PtpAD126A with macrophages protein extracts which occurs through the phosphatase active site (binding altered by a competitive inhibitor) and is stable to high ionic strength. By scaling up the process we isolated and identify by mass spectrometry (MS) a total of ten proteins, among which there are five proteins that are frequently detected in proteomic studies or proteins that bind non-specifically to Sepharose and must be regarded as potential nonspecific contaminants. However, we identified five related proteins which could be putative substrates of PtpA, all of them related to the oxidative metabolism of the macrophage. These were detected as Tyr phosphorylated proteins and have known Tyr-phosphorylated sites and are now under study for the validation as putative substrates of the mycobacterial Tyr-phosphatase PtpA.

#### **Potenciales sustratos de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis, PtpA. (2012)**

Resumen

MARGENAT M. , LABANDERA A. , PORTELA M , DURÁN R. , FERREIRA A. , VILLARINO A.

Evento: Nacional

Descripción: XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias

Ciudad: Piriápolis

Año del evento: 2012

Publicación arbitrada

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis tirosin-fosfatasa

Areas de conocimiento:

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

Medio de divulgación: Papel

*Mycobacterium tuberculosis* posee dos tirosin-fosfatasa, PtpA y PtpB, implicadas en la virulencia de la bacteria y consideradas potenciales blancos para el desarrollo de drogas anti-TB. El objetivo del trabajo es el aislamiento de sustratos eucariotas de PtpA mediante la metodología Substrate trapping, basada en el uso de mutantes puntuales en el sitio activo que tendrían similar afinidad por el sustrato respecto a la enzima salvaje, pero menor actividad catalítica que ésta, lo que permitiría aislar el complejo enzima-sustrato. La estrategia seguida consistió en i) la caracterización, por Resonancia Plasmónica de Superficie (SPR), de la interacción entre el mutante de la PtpA y extractos proteicos de macrófagos; ii) el escalado del proceso para el aislamiento e identificación de posibles sustratos. De esta forma, se detectó que existe interacción entre el mutante PtpA-D126A y los extractos de macrófagos; estable a alta fuerza iónica, y a través del sitio activo de la fosfatasa, ya que disminuye en presencia de un inhibidor competitivo. Mediante el escalado, aislamos e identificamos por espectrometría de masa un total de diez proteínas; cinco corresponden a proteínas frecuentemente detectadas en estudios de proteómica o que se unen no específicamente a la sefarosa y deben ser considerados como posibles contaminantes. Sin embargo, identificamos cinco proteínas que podrían ser posibles sustratos de PtpA, todas ellas relacionadas con el metabolismo oxidativo del macrófago. Estas proteínas fueron detectadas como proteínas fosforiladas en Tyr, poseen sitios conocidos de fosforilación en Tyr, y están actualmente en estudio para su validación como posibles sustratos de PtpA.

#### **A global study of the two unique tyrosine phosphatases from Mycobacterium Tuberculosis (2011)**

Resumen

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

Evento: Regional

Descripción: Thiol metabolism and redox regulation of cellular functions

Ciudad: Punta del Este, Uruguay

Año del evento: 2011

Publicación arbitrada

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatases

Áreas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas /

Medio de divulgación: Papel

Protein tyrosine phosphatases PtpA and PtpB from *M. tuberculosis* are attractive targets for anti-TB drug development. Our goal is to isolate substrates of these phosphatase by: (i) characterization by Surface Plasma Resonance (SPR) of the interaction between substrate trapping mutants of PtpA and PtpB and protein extracts of mycobacteria and activated macrophages, (ii) scaling up of the process and identification of putative substrates. We produced the PtpA mutant D126A and detected an interaction with protein extracts from activated macrophages stable to high ionic strength that seems to occur through the active site (assays with competitive inhibitor). By scaling up the process we isolated a single protein whose sequence is at present under study. To validate our strategy we are designing other mutants in conserved catalytic residues. We are extending our study also to uncharacterized homologues of mycobacterial PTPs, specifically cloning the gene of a putative PTP from the Orf virus and from the *Listeria monocitogenes*. Evidence that certain eukaryotic PTPs may be susceptible to oxidation and inactivation has introduced an additional level to possible regulation, however, nothing is known about bacterial PTPs. We are investigating the potential of reversible oxidation of the N-terminal active-site cysteine of PtpA (Cys11) and PtpB (CysX) by determination of their pKa by monobromobimane alkylation and the second-order rate constants of the oxidation with peroxide and peroxynitrite. Information on the possible involvement of PtpA and PtpB in redox signaling networks through regulatory cysteine switches and identification of their substrates may open new perspectives in the design of specific inhibitors.

#### **Caracterización molecular de la inhibición de la fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis* PtpB por el ácido nitro-oleico. (2011)**

Resumen

GIL M. , MARGENAT M. , DURÁN R. , BATTHYÁNY C. , VILLARINO A.

Evento: Nacional

Descripción: Séptimas Jornadas de la SBBM, Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular, Uruguay

Ciudad: Montevideo

Año del evento: 2011

Publicación arbitrada

Palabras clave: fosfatasas

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

La fosfatasa en tirosina de *M. tuberculosis* PtpB no posee homólogo eucariota y actuaría tanto dentro de la bacteria como en las células infectadas, existiendo evidencias que la supresión de su gen disminuye la supervivencia de la bacteria en los macrófagos. In vitro, PtpB defosforila proteínas (en Ser/Thr y Tyr) y fosfoinositoles. Su actividad reside en la capacidad de la Cys160 en realizar el ataque nucleofílico al sustrato, la cual presenta un bajo pKa favorecido por la presencia de la His159 en el sitio activo. La regulación redox mediante una modificación reversible de la cisteína catalítica podría ser un mecanismo clave en la regulación de las fosfatasas eucariotas. Diferentes especies reactivas de oxígeno y nitrógeno modulan la actividad de estas fosfatasas y recientemente se demostró que lípidos oxidados son también potentes inhibidores. Los ácidos grasos insaturados nitrados en un doble enlace constituyen una familia de potentes electrófilos formados durante situaciones de estrés oxidativo y que median acciones anti-inflamatorias en las células a través de la modificación reversible de los residuos nucleofílicos Cys e His de diferentes blancos moleculares, incluyendo enzimas y los receptores PPAR $\gamma$ . En el presente trabajo estudiamos la inhibición de la PtpB por el ácido nitro-oleico (ácido 9- y 10-nitro-9-cis-octadecenoico; OA-NO<sub>2</sub>). Determinamos el IC<sub>50</sub> de la inhibición e identificamos el sitio de la reacción que media la inhibición enzimática. Dada la ausencia de homólogos de estas fosfatasas en eucariotas, la potente inhibición descrita presenta una interesante perspectiva farmacológica para el diseño de inhibidores específicos de esta enzima.

#### **Characterization of tyrosine phosphatase mutants used in substrate-trapping strategy (2011)**

Resumen

LABANDERA A., MARGENAT M., TRUJILLO M., FERRER G., FERREIRA A., RODRÍGUEZ L., VILLARINO A.

Evento: Regional

Descripción: Free Radicals VII Meeting of the SFRBM South American Group 2011, Brasil.

Año del evento: 2011

Publicación arbitrada

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatases

Áreas de conocimiento:  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /  
Medio de divulgación: Papel

**Búsqueda de sustratos de las dos únicas fosfatasa de proteínas en tirosina de Mycobacterium, PtpA y PtpB, utilizando mutantes en el sitio activo. (2011)**

Resumen

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

Evento: Nacional

Descripción: Séptimas Jornadas de la SBBM, Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular, Uruguay

Ciudad: Montevideo

Año del evento: 2011

Publicación arbitrada

Palabras clave: Mycobacterium tuberculosis tirosin-fosfatasa

Áreas de conocimiento:

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

Medio de divulgación: CD-Rom

Mycobacterium tuberculosis posee dos tirosin-fosfatasa, PtpA y PtpB, las cuales están implicadas en la virulencia de la bacteria y sus sustratos podían ser tanto proteínas de la bacteria como del macrófago infectado. El objetivo del presente estudio es utilizar la metodología de substrate trapping para el aislamiento de potenciales sustratos de PtpA y PtpB, basada en el uso de mutantes puntuales en residuos conservados del sitio activo. Se obtuvieron los mutantes PtpA-Cys11Ser, PtpA-Asp126Ala, PtpA-Arg17Ala y PtpB-Cys160Ser y PtpB-Asp82Ala por mutagénesis sitio dirigida, los que están siendo producidos en forma recombinante y purificados por cromatografía de afinidad y gel filtración. En paralelo, se obtuvieron extractos de proteínas de macrófagos enriquecidos en fosfotirosin-proteínas a partir del cultivo de la línea premonocítica humana THP1 diferenciados a macrófagos mediante incubación con acetato de forbol miristato. Se prepararon tres extractos de proteínas de macrófagos: 1) activados con lipopolisacáridos, 2) activados con lipopolisacáridos e interferón gamma y 3) sin activar. Para la obtención de extractos de M. tuberculosis se realizó el cultivo en medio mínimo Sauton y en medio enriquecido (7H9). Utilizando como herramienta la Resonancia Plasmónica de Superficie (SPR), hemos definido las características de la interacción del mutante PtpA D126A y los extractos proteicos de macrófagos, encontrándonos actualmente en condiciones de realizar el escalado de dicho proceso. Para ello, utilizando la misma química usada en el ensayo de SPR, se inmovilizó la proteína mutante PtpA D126A a la resina N-hidroxisuccinimida-sefarosa, la cual se utilizará para el aislamiento de posibles sustratos de PtpA.

**Estudio de la inhibición de tripsina con la proteína kunitz EgKU-7. (2010)**

Resumen

PELLIZA L., FLÓ M., MARGENAT M., SALINAS G., ALVAREZ B., FERNÁNDEZ C.

Evento: Nacional

Descripción: Sextas Jornadas de la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular

Ciudad: Montevideo

Año del evento: 2010

Publicación arbitrada

Palabras clave: kunitz inhibitors

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

**Expresión recombinante de inhibidores Kunitz en un sistema procariota (2010)**

Resumen

PELLIZA L., FLÓ M., MARGENAT M., SALINAS G., FERNÁNDEZ C.

Evento: Nacional

Descripción: XIII Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias

Ciudad: Piriápolis, Uruguay

Año del evento: 2010

Publicación arbitrada

Palabras clave: proteínas recombinantes Kunitz

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

Medio de divulgación: Internet

**Functional diversity of a family of kunitz inhibitors potentially involved in host-parasite cross-talk in echinococcosis (2009)**

Resumen

FLÓ M., MARGENAT M., PELLIZA L., PÉREZ G., DURÁN R., SALINAS G., ALVAREZ B., FERNÁNDEZ C.

Evento: Internacional

Descripción: XXIII Congreso Mundial de Hidatidosis

Ciudad: Colonia del Sacramento

Año del evento: 2009

Publicación arbitrada

Palabras clave: Echinococcus granulosus Kunitz

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

Medio de divulgación: Papel

**Studies on two members of a family of kunitz inhibitors from Echinococcus granulosus larvae (2008)**

Resumen

MARGENAT M., FLÓ M., GONZÁLEZ S., DURÁN R., SALINAS G., ALVAREZ B., FERNÁNDEZ C.

Evento: Regional

Descripción: XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)

Ciudad: Aguas de Lindoia, San Pablo.

Año del evento: 2008

Publicación arbitrada

Palabras clave: Echinococcus granulosus kunitz inhibitors

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

Medio de divulgación: Papel

**Biochemical characterization of Echinococcus granulosus cyclophilins (1997)**

Resumen

MARGENAT M., MARÍN M., FERNÁNDEZ C.

Evento: Regional

Descripción: Regional Workshop of the Southern Cone of Latin America; Molecular and Epidemiological aspects of Echinococcus and hidatid disease

Ciudad: Porto Alegre, Brasil

Año del evento: 1997

Palabras clave: Echinococcus granulosus Cyclophilins

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

Medio de divulgación: Papel

**Proteinases in Tachyzoites of Toxoplasma gondii (1993)**

Resumen

MARGENAT M., MARCO M., J. BATTISTONI

Evento: Internacional

Descripción: International Workshop on Biology of Parasitism. Molecular Biology and Immunology of the Adaptation and Development of Parasites

Ciudad: Solís, Uruguay

Año del evento: 1993

Palabras clave: Toxoplasma gondii Proteinases

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular /

Medio de divulgación: Papel

## Formación de RRHH

TUTORÍAS EN MARCHA

## POSGRADO

### **Búsqueda de interactores intracelulares de la cápside del virus de la leucosis bovina (2017)**

Tesis de maestría  
Sector Educación Superior/Público / Universidad de la República / Facultad de Medicina - UDeLaR, Uruguay  
Programa: PROINBIO  
Tipo de orientación: Asesor/Orientador  
Nombre del orientado: Natalia Ibañez  
País/Idioma: Uruguay, Español  
Áreas de conocimiento:  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Virología

## Otros datos relevantes

### **PREMIOS, HONORES Y TÍTULOS**

#### **Beca Post Doc otorgada en el llamado Uruguay Retiene, realizado por PEDECIBA (2017)**

(Nacional)  
PEDECIBA  
El proyecto de Post Doc se titula Búsqueda de interactores intracelulares de la proteína de cápside del Virus de la Leucemia Bovina, está siendo llevado a cabo en el Laboratorio de Inmunovirología del Instituto Pasteur de Montevideo, bajo la dirección del Dr. Otto Pritsch. La Beca de Post Doc obtenida era de un año de duración a partir de marzo 2017 y se renovó por un segundo año, hasta marzo 2019.

#### **Beca de Postgrado - Doctorado (2014)**

(Nacional)  
ANII  
Beca otorgada para finalizar el Doctorado en el tema " Identificación de sustratos de la tirosina-fosfatasa PtpA de Mycobacterium tuberculosis, considerada potencial blanco terapéutico, con código de beca POS\_NAC\_2013\_1\_11977, otorgada por 15 meses de duración a partir del 1/03/2014.

#### **Beca otorgada para asistir al XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq), en Aguas de Lindoia, Brasil (2008)**

(Internacional)  
PABMB  
Obtuve una beca para cubrir gastos de pasaje y alojamiento para asistir al Congreso de la SBBq y presentar un trabajo en el mismo.

#### **Proyecto de Iniciación en Investigación (2000)**

(Nacional)  
CSIC  
El título del proyecto financiado fue Estudio de las bases moleculares de la toxicidad de la CsA sobre protoescoléces de E. granulosus. El proyecto no pudo ejecutarse ya que en el momento en que fue otorgado no tenía cargo en la Universidad, y ya me encontraba trabajando en el área privada.

#### **Beca otorgada para asistir al curso Caracterización de macromoléculas en parásitos (1996)**

(Internacional)  
Red de entrenamiento de enfermedades parasitarias del cono sur  
La obtención de la beca implicó la selección como estudiante del curso, así como el pago de pasaje y estadía en Buenos Aires durante los 15 días que se realizó el curso.

#### **Beca otorgada por CONICYT para realizar una pasantía en el Instituto de Biotecnología de la UNAM, México (1996)**

(Nacional)  
CONICYT  
La beca otorgada consistió en apoyo financiero para realizar una pasantía durante un mes en el laboratorio del Dr. Possani, Instituto de Biotecnología de la UNAM, Cuernavaca, México.

#### **Beca de Iniciación en Investigación (1994)**

(Nacional)  
CONICYT

Obtuve una Beca de Iniciación en Investigación, por un año de duración, que fue realizada en la Cátedra de Inmunología de Facultad de Química, en el tema "Producción de anticuerpos policlonales contra péptidos de la hormona gonadotrofina coriónica humana", bajo la dirección del Prof. Julio Battistoni.

#### **PRESENTACIONES EN EVENTOS**

##### **XVI Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2017)**

Congreso

Búsqueda de interactores intracelulares de la proteína de cápside del virus de la leucemia bovina. N. Ibañez, M. Margenat, F. Carrión, N. Olivero, M. Fló, A. Addiego, S. Bianchi, O. Pritsch.

Uruguay

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 24

Nombre de la institución promotora: SUB

Palabras Clave: cápside Virus leucemia bovina

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Virología

##### **Europhosphatase 2015: Phosphorylation switches and cellular homeostasis , Turku Finlandia , 2015 (2015)**

Congreso

Decoding the signaling pathways modulated by phosphatases of intracellular pathogens. M. Margenat; D Segovia; D Porley; V Irving; A Ramón; G André-Leroux; A.M. Ferreira; Berois M; A Villarino

Finlandia

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 40

Nombre de la institución promotora: EMBO

Palabras Clave: tyrosine phosphatase

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

[events.embo.org/15-europhosphatase](https://events.embo.org/15-europhosphatase) Several evidences show that bacterial and viral PTPs act as virulence factors dephosphorylating eukaryotic proteins critical to cell cycle, altering metabolic and/or inflammatory responses of cells. Our interest is focused on the functional characterization of two PTPs of intracellular pathogens: PtpA of Mycobacterium tuberculosis, and the only PTP of the Orf virus. The Orf virus is responsible for contagious pustular dermatitis disease of sheep, goats and humans. The viral PTP Orf has a 40% sequence homology with the VH1 phosphatase of Vaccinia virus, crucial for the viability and replication of the viral particle, and the blocking of interferon gamma signaling in the host. Our work seeks to characterize the Orf virus phosphatase to go through elucidate its role during the viral infection. By an in silico and experimental approach we demonstrated that the Orf phosphatase is a dimer in solution involving the amino terminal region, and the essentiality of the Cys 112 for the activity. The bacterial PtpA is a key virulence factor released by Mycobacterium tuberculosis in the cytosol of infected macrophages. PtpA shows 37% of sequence identity and high structural similarity to its human orthologue HCPTPB. Our group recently identified four novel putative PtpA substrates, all related to energy metabolism: three mitochondrial proteins - the trifunctional enzyme, the ATP synthase, and the sulfide quinone oxidoreductase - and the cytosolic 6-phosphofructokinase. These substrates were isolated by an improved methodology to pull down novel PtpA substrates from an enriched P-Y macrophage extract, using the mutant PtpA D126A. By different approaches we are addressing the validation of these proteins candidates as PtpA substrates. We believe that our work may contribute to understanding which is the role of PTP in pathogen adaptation to host macrophages, and at the same time, it sheds light into novel targets of eukaryotic orthologue phosphatases, as HCPTPB.

##### **XV congreso de la SUB. (2014)**

Congreso

Nuevos potenciales sustratos eucariotas de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis PtpA: indicios de una modulación bacteriana del estado bionergético del macrófago. Mariana Margenat, Magdalena Gil, Rosario Durán, Mabel Berois, Ana Ferreira y Andrea Villarino.

Uruguay

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 24

Nombre de la institución promotora: SUB , Sociedad Uruguaya de Biociencias.

Palabras Clave: fosfatasa de tirosina

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

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

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

Congreso

New putative eukaryotic substrates of mycobacterial protein tyrosine phosphatase PtpA: hint of a bacterial modulation of macrophage mitochondrial functions. Mariana Margenat, Anne-Marie Labandera, Madelón Portela, Rosario Durán, Ana María Ferreira, Andrea Villarino

Argentina

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 24

Nombre de la institución promotora: Facultad de Farmacia y Bioquímica. UBA

Palabras Clave: tirosin fosfatasa macrófagos tuberculosis mitocondria

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Señalización celular

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

**XIV Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (2012)**

Congreso

Potenciales sustratos de la fosfatasa en tirosina de *Mycobacterium tuberculosis*, PtpA. M. Margenat, A.M. Labandera, M. Portela, R. Durán, A.M. Ferreira y A. Villarino

Uruguay

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 24

Nombre de la institución promotora: SUB, Sociedad Uruguaya de Biociencias

Palabras Clave: *Mycobacterium tuberculosis* tirosin fosfatasa

Áreas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas

**Tuberculosis 2012: Biology, pathogenesis, intervention strategies. EMBO Conference. (2012)**

Congreso

New putative eukaryotic substrates of the tyrosine phosphatase PtpA from *M. tuberculosis*. M. Margenat, A.M. Labandera, M. Portela, R. Durán, A.M. Ferreira y A. Villarino.

Francia

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 36

Nombre de la institución promotora: Institut Pasteur, Paris, France.

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosin phosphatases

Areas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Biotecnología de la Salud / Tecnologías que involucran la identificación de ADN, proteínas y enzimas

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

Protein tyrosine phosphatases (PTPs) PtpA and PtpB from *M. tuberculosis* are attractive targets for anti-TB drug development, however little is known about their possible mycobacterial and/or eukaryotic protein substrates. Our goal is to isolate PtpA eukaryotic substrates using a substrate trapping mutant of the phosphatase in which the affinity for the substrate remained similar to that of the wild-type enzyme but in which catalytic activity had been reduced, to such an extent that an enzymesubstrate complex, once formed, would be stable enough to withstand isolation. We perform the following strategy: (i) the characterization, by Surface Plasma Resonance (SPR), of the interaction between a substrate trapping mutant of mycobacterial PtpA and protein extracts of activated and non-activated macrophages; (ii) the scaling up of the process and isolation and identification of putative substrates by mass spectrometry. By SPR we detected an interaction between the PtpAD126A with macrophages protein extracts which occurs through the phosphatase active site (binding altered by a competitive inhibitor) and is stable to high ionic strength. By scaling up the process we isolated and identify by mass spectrometry (MS) a total of ten proteins, among which there are five proteins that are frequently detected in proteomic studies or proteins that bind non-specifically to Sepharose and must be regarded as potential nonspecific contaminants. However, we identified five related proteins which could be putative substrates of PtpA, all of them related to the oxidative metabolism of the macrophage. These were detected as Tyr-phosphorylated proteins and have known Tyr-phosphorylated sites and are now under study for the validation as putative substrates of the mycobacterial Tyr-phosphatase PtpA.

#### **Gordon Research Conferences, Tuberculosis Drug Development (2011)**

Congreso

A study of the two unique tyrosine phosphatases from *M. tuberculosis*. Mariana Margenat, Anne-Marie Labandera, Natalia Olivero, Ana Ferreira, Madia Trujillo, Gerardo Ferrer, Mabel Berois and Andrea Villarino

Italia

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 32

Nombre de la institución promotora: Gordon Research

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatases

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

#### **Free Radicals VII Meeting of the SFRBM South American Group (2011)**

Congreso

Characterization of tyrosine phosphatase mutants used in substrate-trapping strategy. Anne-Marie Labandera, Mariana Margenat, Madia Trujillo, Gerardo Ferrer, Ana Ferreira, Lucía Rodríguez and Andrea Villarino

Brasil

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 25

Nombre de la institución promotora: SFRBM South American Group

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatases

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

#### **Thiol metabolism and redox regulation of cellular functions (2011)**

Simposio

A global study of the two unique tyrosine phosphatases from *M. tuberculosis*. Mariana Margenat, Anne-Marie Labandera, Natalia Olivero, Ana Ferreira, Madia Trujillo, Gerardo Ferrer, Mabel Berois and Andrea Villarino

Uruguay

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 16

Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis tyrosine phosphatases



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

**Séptimas Jornadas de la SBBM (2011)**

Congreso  
Búsqueda de sustratos de la dos únicas fosfatasa de proteínas en tirosina de Mycobacterium tuberculosis, PtpA y PtpB, utilizando mutantes en el sitio activo. M. Margenat, A.M. Labandera, M. Corbo, C. Rivas, L. Rodríguez, A.M. Ferreira y A. Villarino  
Uruguay  
Tipo de participación: Poster  
Carga horaria: 20  
Nombre de la institución promotora: SBBM, Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular.  
Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis tirosin-fosfatasa  
Areas de conocimiento:  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

**Séptimas Jornadas de la SBBM (2011)**

Congreso  
Caracterización molecular de la inhibición de la fosfatasa en tirosina de Mycobacterium tuberculosis PtpB por el ácido nitro-oleico. M. Gil, M. Margenat, R. Durán, C. Batthyány y A. Villarino.  
Uruguay  
Tipo de participación: Poster  
Carga horaria: 20  
Nombre de la institución promotora: SBBM, Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular.  
Palabras Clave: Mycobacterium tuberculosis fosfatasa en tirosina  
Areas de conocimiento:  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

**XXIII Jornadas de la Sociedad Uruguaya de Biociencias (SUB) (2010)**

Congreso  
Expresión recombinante de inhibidores Kunitz en un sistema procariota. Leonardo Pellizza, Martín Fló, Mariana Margenat, Gustavo Salinas, Cecilia Fernández.  
Uruguay  
Tipo de participación: Poster  
Carga horaria: 24  
Nombre de la institución promotora: SUB  
Palabras Clave: proteínas recombinantes Kunitz  
Areas de conocimiento:  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

**XXIII Congreso Mundial de Hidatidología (2009)**

Congreso  
Functional diversity of a family of kunitz inhibitors potentially involved in host-parasite cross-talk in echinococcosis. Fló, M., Margenat, M. Pellizza, L. Perez, G. Durán, R., Salinas, G. Alvarez, B. and Fernández, C.  
Uruguay  
Tipo de participación: Poster  
Carga horaria: 16  
Palabras Clave: Echinococcus granulosus kunitz inhibitors  
Areas de conocimiento:  
Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

**6º Jornadas de la Sociedad de Bioquímica y Biología Molecular (2009)**

Congreso  
Estudio de la inhibición de tripsina con la proteína kunitz EgKU-7. Pellizza, L., Fló, M. Margenat, M., Salinas, G., Alvarez, B., Fernández, C.  
Uruguay  
Tipo de participación: Poster  
Carga horaria: 24  
Nombre de la institución promotora: SBBM  
Palabras Clave: kunitz inhibitors  
Areas de conocimiento:

**XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq) (2008)**

Congreso

Studies on two members of a family of kunitz inhibitors from Echinococcus granulosus larvae

Brasil

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 40

Nombre de la institución promotora: SBBq

Palabras Clave: Echinococcus granulosus kunitz inhibitors

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

**3rd International Conference on Birth Defects Disabilities in the developing world (2007)**

Congreso

Limb-body wall complex & trombophilia: causal or casual relationship?. Reyno, S.; Bruzzone, R.;

Margenat, M.; Bagnasco P.; Bianchi, A.; Barillaro, S; Capurro, A.; Gutierrez, Ma. Del C.

Brasil

Tipo de participación: Poster

Palabras Clave: limb-body wall complex

Areas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Genética Humana / Citogenética

**XXI International Congress of the Society The fetus as a Patient 2005 (2005)**

Congreso

A case of partial trisomy 11 inherited from the mother. Reyno, S.; Bruzzone, R.; Bagnasco P.;

Margenat, M; De Barbieri, M; Gutierrez, Ma. Del C, Beltramo P.

Argentina

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 24

Nombre de la institución promotora: Society The Fetus as a Patient

Palabras Clave: Trisomy 11

Areas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Genética Humana / Citogenética

**XXI International Congress of the Society The fetus as a Patient 2005 (2005)**

Congreso

Limb-body wall complex and trombophilic state: causal or casual relation?. Reyno, S.; Bruzzone, R.;

Margenat, M.; Bagnasco P.; Bianchi, A.; Barillaro, S; Capurro, A.; Gutierrez, Ma. Del C.

Argentina

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 24

Nombre de la institución promotora: Society The Fetus as a Patient

Areas de conocimiento:

Ciencias Médicas y de la Salud / Medicina Básica / Genética Humana / Citogenética

**Regional Workshop of the Southern Cone of Latin America; Molecular and Epidemiological aspects of Echinococcus and hidatid disease (1997)**

Encuentro

Biochemical characterization of Echinococcus granulosus cyclophilins; Mariana Margenat, Mónica Marín, Cecilia Fernández.

Brasil

Tipo de participación: Poster

Carga horaria: 25

Palabras Clave: Echinococcus granulosus Cyclophilins

Areas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular / Parasitología Molecular

**III Congreso de la Asociación Latinoamericana de Inmunología (ALAI) (1993)**

Congreso

Estudio de proteasas involucradas en la degradación de antígenos de Toxoplasma gondii utilizados

en inmunodiagnóstico. Mariana Margenat, Marta Marco, Julio Battistoni.  
Chile

Tipo de participación: Poster

Nombre de la institución promotora: ALAI

Palabras Clave: proteasas Toxoplasma gondii

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

#### **International Workshop on Biology of Parasitism. Molecular Biology and Immunology of the Adaptation and Development of Parasites (1993)**

Encuentro

Proteinases in Tachyzoites of Toxoplasma gondii, Mariana Margenat, Marta Marco, Julio Battistoni.

Uruguay

Tipo de participación: Poster

Palabras Clave: Toxoplasma gondii proteasas

Áreas de conocimiento:

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Bioquímica y Biología Molecular

## Información adicional

Me gustaría aclarar que el trabajo experimental de mi tesis de Maestría en Química, realizada en la Cátedra de Inmunología de Facultad de Química en el tema "Estudio de ciclofilinas de *E. granulosus*?", fue realizado a continuación de la Licenciatura en Bioquímica, entre 1996-1999.

Sin embargo, debido a la falta de financiación me alejé de la universidad y me dediqué a la actividad privada. Desde diciembre/1999 trabajé en el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Asociación Española: durante tres años en el sector Inmunología del Laboratorio de Bioquímica, y posteriormente en el Laboratorio de Citogenética constitucional y diagnóstico prenatal, hasta setiembre del año 2006. Sin embargo mi interés de no alejarme de la academia me llevo a escribir y defender la tesis de maestría en 2003. La demora en concretar esta instancia también fue debido a la situación familiar, 2 hijos pequeños y una dedicación completa al trabajo en el área privada.

Mi trabajo de maestría dio lugar a una presentación en un congreso internacional. Sin embargo, no fue posible publicarlo debido a que tanto mi alejamiento del laboratorio como la realización de una estadía en Edimburgo de la Dra. Cecilia Fernandez demoraron su publicación y otro grupo publicó antes parte de los mismos.

En el año 2007 logré reincorporarme como Grado 2 de investigación en un proyecto que se enmarca también en el área de biología parasitaria.

En setiembre 2010 inicié mi trabajo de Tesis de Doctorado con la Dra. Andrea Villarino sobre las fosfatasa de *M. tuberculosis*, que defendí en junio de 2016.

## Indicadores de producción

<b>PRODUCCIÓN BIBLIOGRÁFICA</b>	<b>19</b>
<b>Artículos publicados en revistas científicas</b>	4
Completo	4
<b>Trabajos en eventos</b>	15
<b>FORMACIÓN RRHH</b>	<b>1</b>
<b>Tutorías/Orientaciones/Supervisiones en marcha</b>	1
Tesis de maestría	1