



XXVI Comunicaciones Científicas y Tecnológicas

Orden Poster: CE-031 (ID: 2085)

Autor: Acevedo Gomez, Antonella

Título: Potencial aplicación en técnicas de cultivo celular del colágeno obtenido de la piel de surubí

Director: Bustillo, Soledad

Palabras clave: surubí, colágeno, subproductos, matrices, cultivo celular

Área de Beca: Cs. Naturales Y Exactas

Tipo Beca: Cofinanciadas Pos-doctorales

Periodo: 01/04/2019 al 01/09/2021

Lugar de trabajo: Iquiba Nea - Inst. De Química Básica Y Aplicada Del Nordeste Argentino

Proyecto: (PICTO UNNE-2019-00011) Enzimas de fuentes alternativas, con potencial utilidad industrial, para un desarrollo sostenible en la región del Impenetrable.

Resumen:

El colágeno se emplea en la fabricación de alimentos, productos cosméticos, farmacéuticos y en la industria biomédica debido a su versatilidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad. En las últimas décadas el colágeno proveniente de animales acuáticos ha concitado un gran interés, siendo numerosos los estudios publicados sobre su extracción y caracterización. Entre otras propiedades interesantes que posee, ha demostrado ser una alternativa al colágeno extraído de mamíferos en diversas aplicaciones biomédicas. La fuente principal del colágeno de animales acuáticos es la piel, subproducto abundante de la industrialización del pescado. En el NEA se producen 74 tn de surubí cuyo procesamiento genera subproductos que podrían transformarse en productos de valor agregado, contribuyendo a la disminución de los problemas ambientales asociados a su deposición final y aumentando el retorno económico de las industrias procesadoras de pescado. En este sentido, el colágeno es la proteína de la matriz extracelular más usada para el cultivo celular puesto que facilita la fijación celular, el crecimiento, la diferenciación, la migración y la morfogénesis del tejido. En estas técnicas se emplean matrices naturales o artificiales que permiten desarrollar cultivos tridimensionales, siendo la más utilizada la matriz de colágeno. Así, el objetivo de este trabajo fue obtener colágeno de la piel de surubí pintado utilizando un extracto con actividad pepsina y evaluar la formación de geles para ser empleados en técnicas de cultivo celular. Las vísceras y la piel de ejemplares de surubí (*P. corruscans*) fueron suministrados por miembros del SIVEP y almacenados a -20°C hasta su utilización. El extracto crudo rico en pepsina (EC) se preparó por disgregación mecánica del estómago de surubí empleando buffer fosfato 50mM pH 7 (1g tejido/5mL), se centrifugó, el sobrenadante se liofilizó y se conservó a -20°C hasta su utilización. La extracción de colágeno de la piel de surubí (CS) se realizó mediante adición del EC (10 U/g de piel) durante 72h. El CS se secó empleando una bomba de vacío y el sólido obtenido se reservó a -20°C hasta su utilización. Se cuantificó el contenido de hidroxiprolina y el patrón de proteínas (SDS-PAGE) del CS. Se prepararon soluciones de CS en ácido acético 0,5M (5mg/mL), se esterilizaron con filtros de $0,22\mu\text{m}$. Para la formación de geles en baño de hielo se mezclaron en proporción 8:1 solución de CS estéril:10X (DMEM) y se llevó a pH 7 con NaOH 0,1M. Se sembraron 500 μL de la mezcla por pocillo en placas para cultivo celular de 24 wells. La polimerización se realizó en un incubador de CO_2 durante 24h a 37°C . Como patrón se utilizó el colágeno comercial bovino (CB). En el SDS-PAGE se observó que el CS presenta un patrón de bandas análogo al descrito para el colágeno tipo I, compuesto por cadenas por cadenas alfa y beta. La cuantificación de hidroxiprolina y contenido de colágeno determinó que las soluciones reconstituidas de CS de 5,71mg/mL contenían $0,20\pm 0,01$ mg/mL y $1,62\pm 0,07$ mg/mL de hidroxiprolina y colágeno. Demostrando que el 28,4% del CS corresponde efectivamente a colágeno y la muestra está acompañada de impurezas no detectables mediante SDS-PAGE. El CS fue capaz de formar geles a las 24h en condiciones de pH y temperatura estándares utilizadas en cultivo celular. La adición de medio de cultivo (DMEM) no alteró la estabilidad de la matriz y los geles se mantuvieron intactos en la parte inferior de cada well. La observación macroscópica no evidenció diferencias entre los geles formados con CS y el CB. En la microscopía de contraste de fases se observó una menor densidad de entrecruzamiento en el gel formado por el CS. Al emplear pepsina es posible que ésta digiera el colágeno hasta cierto punto, conduciendo a una disminución significativa de la actividad de reticulación de las fibras nativas. Si bien estos resultados son preliminares, la utilización del colágeno de surubí para la formación de geles y matrices en condiciones adecuadas de esterilidad resulta una línea de gran interés para las técnicas de cultivos celulares. Además, la utilización de un subproducto abundante como la piel del surubí para la obtención de una molécula de alta demanda como el colágeno mediante una metodología sencilla podría potenciar la producción ictícola de la región y generar nuevas cadenas de valor.