

# PARASITUS

*Revista de la Sociedad Argentina de Protozoología*



MASCARAS, acuarela de Claudia Nose  
<https://claudianose.wixsite.com/claudia>

# PARASITUS

*Revista de la Sociedad Argentina de Protozoología*

## SECRETARIOS DE REDACCIÓN

Silvia A. Longhi

Juan José Lauthier

## COMITÉ EDITOR

Catalina Alba Soto

María Laura Belaunzarán

Fernanda M. Frank

Karina A. Gómez

Silvia A. Longhi

Valeria Tekiel

## Sede de la Sociedad Argentina de Protozoología

Vuelta de Obligado 2490

C1428ADN – CABA, Argentina

e-mail de contacto: [secretaria-sap@protozoologia.org.ar](mailto:secretaria-sap@protozoologia.org.ar)

# XXXIII REUNIÓN ANUAL DE LA SOCIEDAD ARGENTINA DE PROTOZOLOGÍA

## COMITÉ ORGANIZADOR

Presidente Alejandro Nusblat  
Miembros Gervasio Puca  
Leonardo Alonso  
Juan José Lauthier

## COMITÉ CIENTÍFICO

Presidente Karina Gómez  
Miembros Jacqueline Bua  
Oscar Bottasso  
Cecilia Alvareda  
Soledad Santini  
Silvina Wilkowsky  
Sheila Ons  
Mariana Potenza  
Margarita Bisio

## COMISIÓN DIRECTIVA

Presidente Fernanda Frank  
Vice-Presidente Catalina Alba Soto  
Secretaria María Laura Belaunzarán  
Pro-Secretaria Valeria Tekiel  
Tesorera Silvia Longhi  
Vocales Juan Burgos  
Salomé Vílchez Larrea  
Vocales Suplentes Juan Carlos Ramírez  
Alejandro Nusblat

## AUSPICIOS



expresión diferencial entre  $\delta$ -amastinas y  $\beta$ -amastinas lo que sugiere que estas subfamilias podrían cumplir funciones diferentes en el parásito.

El objetivo del trabajo es analizar el rol de amastinas como factor de virulencia en *T. cruzi*, estudiando su rol en la infección y persistencia. Se usará CRISPR-Cas9 para deletar cada uno de los 3 grupos de amastinas para estudiar función en la infección. Se diseñaron los ARNs guía para dirigir el corte por la enzima Cas9 a regiones cercanas al codon de inicio de los genes de las  $\beta$ -,  $\delta$ - y  $\omega$ -amastinas y se clonaron en el vector sgRNA/Cas9/pTREX-n.

Por phusion PCR se están generando ADN donador conteniendo gen de resistencia a hygromicina flanqueado por las regiones 5' y 3' homólogas al gen de interés.

Se estudiará rol de las amastinas en la infección y persistencia de la misma usando parásitos knock out obtenidos por transfección del ARNgua y el aDN donador correspondiente.

## BP-045

### Estudio de la composición de la maquinaria traduccional de *Trypanosoma cruzi*: re-anotación y aproximaciones ómicas.

Martín Rivara Espasandín<sup>1,2</sup>, Santiago Radío<sup>3</sup>, Pablo Smircich<sup>1,4</sup>, José Sotelo Silveira<sup>1,5</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Genómica, Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, MEC, Montevideo, Uruguay.

<sup>2</sup>Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

<sup>3</sup>Institute of Evolutionary Biology (CSIC-Universitat Pompeu Fabra), Barcelona, Spain. <sup>4</sup>Sección Genómica Funcional, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay. <sup>5</sup>Departamento de Biología Celular y Molecular, Sección Biología Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay

*Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), agente etiológico de la Enfermedad de Chagas, tiene una regulación de la expresión génica principalmente post-transcripcional. Nuestro grupo ha

observado que la regulación traduccional es un mecanismo importante durante la metacicloogénesis. Dado que se ha descrito en otros modelos biológicos que la composición de los ribosomas podría ser variable a nivel proteico y a su vez tendría impacto a nivel regulatorio, planteamos realizar un estudio detallado de la composición de la maquinaria traduccional de *T. cruzi* en los estadios epimastigota y tripomastigota metacíclico. Primero, revisamos y pulimos la anotación de proteínas ribosomales (PR) y proteínas asociadas al ribosoma. Esta re-anotación, incluye el análisis de número de copias, ubicación en el ribosoma, extensiones en extremos terminales, niveles de expresión, posibles funciones extra-ribosomales, etc. Con esta aproximación logramos depurar la anotación existente y sistematizar la información. Abordando el problema de forma experimental, observamos mediante *ribosome profiling* que, si bien existe una represión global de la traducción de los ARNm de PR en el estadio tripomastigota metacíclico, esta es variable, encontrando algunos que resisten la represión global observada. Esta observación podría ir en línea con una composición diferencial de la maquinaria traduccional durante la metacicloogénesis. Para profundizar en esta hipótesis, decidimos realizar un estudio proteómico de la maquinaria traduccional en ambos estadios involucrados. Logramos aislar fracciones enriquecidas tanto en monosomas como en polisomas en ambos estadios, mediante ultracentrifugación diferencial en gradiente de sacarosa. Estas fracciones serán analizadas por espectrometría de masas, buscando comparar abundancias relativas de las PR y proteínas asociadas al ribosoma tanto entre estadios como entre fracciones asociadas a diferentes niveles de expresión (monosomas y polisomas).

## BP-046

### Evaluación *in vitro* de inhibidores de cruzipaina (CZP) derivados del núcleo 1,2,3-triazol como potenciales

## agentes contra la infección por *Trypanosoma cruzi*.

Salomé C. Vilchez Larrea<sup>1</sup>, Juan Pablo Cerutti<sup>2,3</sup>, Win Dehaen<sup>3</sup>, Guillermo D. Alonso<sup>1</sup>, Mario A. Quevedo<sup>2</sup>

<sup>1</sup>INGEBI-CONICET, Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. <sup>2</sup>Laboratorio de Química Medicinal (MedChemLab), UNITEFA-CONICET - Facultad de Ciencias Químicas - Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. <sup>3</sup>Laboratory of Organic Synthesis, LOSA – Department of Chemistry - KU Leuven, Lovania, Belgium

Cruzipaína (CZP) es una enzima perteneciente a la familia multigénica de cisteín-proteasas presentes en *Trypanosoma cruzi*, para la cual se han descrito diversas funciones esenciales tales como la participación en la diferenciación metaciclogénica de *T. cruzi*, en la invasión celular y como factor de virulencia y modulador de la respuesta de los macrófagos ante la infección. Dado el rol imprescindible de CZP para el ciclo de vida del parásito, esta enzima constituye un blanco terapéutico con gran potencial para el desarrollo de inhibidores de naturaleza peptidomimética tanto reversibles como irreversibles. En un trabajo previo se han empleado técnicas de diseño de fármacos basado en estructuras para realizar un *screening* de candidatos a inhibidores de CZP que contienen el grupo 1,2,3-triazol 1,4-disustituido, fundamentado en una estrategia de reemplazo bioisostérico no clásico del enlace peptídico. En el presente trabajo se reportan los resultados obtenidos para la evaluación de actividad biológica de los 32 candidatos sintetizados más prometedores. Dicha evaluación se llevó a cabo empleando modelos de infección *in vitro* utilizando células Vero como células hospedadoras y tripomastigotes de la cepa Tulahuen que expresan la proteína  $\beta$ -galactosidasa. La determinación de los niveles de infección relativos en base a la actividad del gen reportero demostró que ~25% de los inhibidores diseñados y sintetizados poseen actividad contra la infección celular, disminuyendo en al menos un 50% la infección total a una concentración de 10  $\mu$ M sin afectar significativamente la viabilidad

de la célula hospedadora. De los resultados obtenidos, se diseñó una librería enfocada en el inhibidor irreversible más prometedor, orientado a la obtención de nuevas entidades químicas, refinando las relaciones cuantitativas estructura-actividad involucradas en una subcavidad particular del sitio catalítico de CZP.

## BP-047

### Fragmentos derivados de snoRNAs y snRNAs asociados a las fracciones ribosomales (rancRNAs) en tripanosomátidos.

Rafael Fort<sup>1,2</sup>, Juan Trinidad<sup>1,2,3</sup>, María Ana Duhagon<sup>2,3</sup>, José Sotelo-Silveira<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>IIBCE, Montevideo, Uruguay. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias, Montevideo, Uruguay. <sup>3</sup>Facultad de Medicina, Montevideo, Uruguay

La ausencia de regulación de la transcripción en los tripanosomátidos sitúa a la regulación postranscripcional de expresión génica como fundamental para modular los niveles de la producción de proteínas. Recientemente se reportó la existencia de ncRNAs (específicamente, mitades de tRNAs) capaces de asociarse a ribosomas y modular la traducción en *T. brucei*, los llamados rancRNAs (sigla proveniente del inglés: ribosome-associated ncRNAs). Los rancRNAs representan una clase emergente de ncRNAs reguladores de la traducción, que son rápidos y eficientes por su unión directa a los ribosomas. En levaduras fue incluso descrita la presencia de rancRNAs (en este caso, fragmentos derivados de snoRNAs) capaces de modular la traducción global. El conjunto de estos antecedentes motivó extender el estudio de rancRNAs en las fracciones polisomales de *T. cruzi* y *T. brucei*, basándonos en la hipótesis de la existencia de estos ncRNAs producidos a partir de otros ncRNAs (tRNAs, snoRNAs, snRNAs, etc) que serían capaces de asociarse a la fracción ribosomal y modular la traducción. Para ello