

Libro de resúmenes

Sociedad Argentina de Protozoología

Autoridades

Presidente: Dr. Alejandro G. Schijman

Vicepresidente: Dra. Silvina Wilkowsky

Secretaria: Dra. Gabriela A. García

Prosecretaria: Dra. Karina A. Gómez

Tesorero: Dr. Guillermo Daniel Alonso

Protesorero: Dra. Silvia Fernández Villamil

Vocales Titulares: Dra. Silvia Longhi y Dr. Claudio Pereira

Vocal suplente: Dr. Juan Mucci y Dra. Alejandra Schoijet



UNIVERSIDAD NACIONAL
DEL LITORAL
SANTA FE ARGENTINA



XXVIII Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Protozoología y Enfermedades Parasitarias

SIMPOSIO Internacional de Biología Celular y Molecular de la Enfermedad de Chagas

Noviembre 26, 27 y 28 de 2016 - Hotel UNL-ATE – Ciudad de Santa Fe

Comité Científico:

Pte. Dr. Sergio Guerrero

Colaboradores: Dr. Oscar Botasso, Dra. Ana Rosa Perez, Dr. Iván Marcipar, Dr. Diego Arias, Dr. Ivan Bontempi, Dra. Luz Rodeles, Dr Miguel Vicco

Comité Organizador:

Pte. Dr. Ivan Marcipar

Colaboradores: Dr. Iván Bontempi, Dr. Sergio González, Dr. Sergio Guerrero, Dr. Gabriel Cabrera, Dra. Diana Fabbro, Dr. Diego Mendicino.

quinasas presentes en *T. cruzi*: TcAUK1, TcAUK2 y TcAUK3. Al ser proteínas reguladoras del ciclo celular, sus niveles de expresión están sujetos a modificaciones post-transcripcionales y post-traduccionales que garantizan una fina regulación. Mediante análisis por western blot, de extractos proteicos de *T. cruzi* en sus tres estadios (epimastigote, amastigote y tripomastigote), hemos observado que los pesos moleculares obtenidos difieren de los teóricos, presentando en algunos casos doble banda. Para evaluar si estas proteínas podrían ser blanco de SUMOilación, inicialmente evaluamos la presencia de sitios consenso para esta modificación mediante análisis con el software (SUMOPlot™ Analysis Program), encontrando un posible motivo conservado en TcAUK1, tres en TcAUK2 y dos en TcAUK3, todos ellos con alto "score". Es interesante destacar que en todos los casos se observó que uno de los sitios de SUMOilación se ubicaba en el sitio activo de la enzima. Esta modificación, exclusiva de organismos eucariotas, provoca cambios en la localización subcelular, en la estabilidad y actividad de las proteínas, modificación en las interacciones entre proteínas y se encuentran relacionadas a la regulación de la transcripción y a la degradación de proteínas. Para avanzar con este estudio, en colaboración con la Dra. Vanina Alvarez (Universidad de San Martín) transformamos las distintas Aurora quinasas, en un sistema de SUMOilación in vivo generado en bacterias que expresan la maquinaria enzimática de *T. brucei*. Luego de inducir la expresión de las distintas proteínas, se prepararon extractos proteicos que fueron luego analizados por western blot.

49 - CARACTERIZACIÓN FUNCIONAL DE UNA GLUTARREDOXINA MONOTIÓLICA DE *Trypanosoma cruzi*

Natalia Sasoni⁽¹⁾, Vanina E Márquez⁽²⁾, Alberto A Iglesias⁽³⁾, Sergio A Guerrero⁽⁴⁾, Diego G Arias⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽³⁾⁽⁴⁾⁽⁵⁾Laboratorio de Enzimología Molecular – IAL – CONICET- UNL – Santa Fe.

⁽²⁾Laboratorio de Fermentaciones – FBCB – UNL – Santa Fe.

E-mail: darias@fbc.unl.edu.ar

Las glutarredoxinas (Grx) son pequeñas proteínas vinculadas al metabolismo redox y a la homeostasis del hierro intracelular. *Trypanosoma cruzi* es el parásito protozoario que causa la enfermedad de Chagas. En este trabajo, se presentan las propiedades funcionales y estructurales de una Grx monotiólica de *T. cruzi*. La proteína recombinante fue capaz de catalizar la reducción in vitro de GSSG usando T(SH)₂ como donante de electrones. Por otra parte, se observó que la proteína recombinante fue capaz de coordinar clúster de hierro-azufre (ISC) mediante un ensayo de reconstitución in vitro. Los espectros de absorción resultantes revelaron dos picos característicos de complejos de Grx-ISC. Además, el perfil obtenido mediante cromatografía de filtración por geles indicó que el complejo de Grx-ISC está formado por una especie dimérica de Grx. Por otra parte, se empleó un ensayo de complementación funcional basado en el rescate de fenotipos de levaduras mutantes para Grxs. Los experimentos de complementación demostraron que el fenotipo de las mutantes de delección en grx5 y grx4 pudieron ser rescatados por complementación con la Grx heteróloga, suprimiendo parcialmente la sensibilidad de las células a oxidantes exógenos. Estos resultados sugieren que la Grx en estudio puede tener funciones importantes en el metabolismo redox y en la biogénesis de ISC en *T. cruzi*. Financiado por: ANCyT (PICT2013-0253, PICT2014-2103 y PICT2014-3256).

50 - CLONACIÓN Y SOBREEXPRESIÓN DE LAS PROHIBITINAS 1 Y 2 DE *Trypanosoma cruzi*

Ana Karina Ibarrola Vannucci⁽¹⁾, Susana Vilchez Tornero⁽²⁾, María de los Ángeles Curto⁽³⁾, Alejandro Gabriel Schijman⁽⁴⁾, Antonio Osuna Carrillo de Albornoz⁽⁵⁾

⁽¹⁾⁽²⁾⁽⁵⁾Instituto de Biotecnología. Universidad de Granada. España. ⁽³⁾⁽⁴⁾Laboratorio de Biología Molecular de la Enfermedad de Chagas, INGEBI.

E-mail: ana_karinai@hotmail.com

Las prohibitinas (PHB) 1 y 2 son proteínas conservadas, pertenecientes a la superfamilia SPFH (Stomatins, Prohibitins, Flotillins, HflK/C),

con un dominio común PHB. En eucariotas superiores ésta familia está involucrada en eventos como: la proliferación celular, envejecimiento, apoptosis y el mantenimiento de la integridad mitocondrial. La familia de las prohibitinas, también puede actuar como chaperonas mitocondriales o jugar un papel en la biogénesis mitocondrial. Dentro del grupo de los tripanosomátidos, se comprobó su presencia en diferentes especies de *Leishmania* y en *Trypanosoma brucei*. En *Leishmania donovani*, se determinó que las prohibitinas juegan un papel importante en la interacción hésped-parásito, favoreciendo la infección del mismo. En cambio, en *Trypanosoma brucei*, se las encontró en las mitocondrias formando un complejo de proteínas, que participaría en el correcto plegamiento de las enzimas de la cadena respiratoria, actuando como chaperona / holdasa. Hasta el momento no hay estudios realizados en *Trypanosoma cruzi*. La comparación de las secuencias aminoacídicas de estas proteínas con la de eucariotas superiores, revelan un nivel de identidad entre 53 y 39% para la PHB1; y entre el 50 y el 34% para la PHB2. En los tripanosomátidos, estas proteínas se encuentran más conservadas, compartiendo valores de identidad hasta el 93%, sugiriendo un papel importante. Partiendo de extractos de proteínas totales de epimastigotas y amastigotas/tripomastigotas sanguíneos, a través de un Western blot se comprobó la presencia de las proteínas de estudio en estos estadios. Además, se realizó un rastreo de la presencia de los genes PHB1 y PHB2 por PCR en 7 cepas diferentes de *T. cruzi*, pertenecientes a distintos DTUs. Solo en la cepa CL-Brener estos genes se encuentran asignados a cromosomas, la primera se encuentra en el cromosoma 25 y la segunda en el cromosoma 38. En el presente trabajo, también se describe la clonación de expresión de los genes de estudio, partiendo de cDNA de epimastigotes de la cepa PAN4 (DTU I) en el vector pTREX-TAPtag-GW, la transfección y sobreexpresión de los mismos en las cepas DM28 (DTU I) y CL Brener (DTU VI).

51 - EXPRESION DE LA FAMILIA TCTASV DE T. CRUZI : MINERIA DE DATOS DE EXPRESION Y CORRELACION CON DATOS EXPERIMENTALES

Mariana Rizzi, Matias Rodriguez, Lucas Cairo, Daniel Sanchez, Valeria Tekiel

Instituto de Investigaciones Biotecnológicas.

E-mail: maj_r9@hotmail.com

La familia de proteínas de superficie TcTASV de *T. cruzi*, está compuesta por aproximadamente 40 miembros. No posee ortólogos en otros organismos y está conservada en diferentes linajes de *T. cruzi*. De acuerdo a la longitud, secuencia y motivos de la región central de las proteínas se definen 4 subfamilias: TcTASV-A, B, C y W. Realizando minería de datos de expresión (RNAseq y proteómica) y secuencias disponibles en bases de datos, intentamos identificar secuencias ó motivos que podrían estar determinando las diferencias en el patrón de expresión entre estadios de *T. cruzi*. Analizando los datos de RNAseq de la cepa Y (TcII;) (Li et al, 2016) observamos que en este linaje los mRNAs de TcTASVs de todas las subfamilias también están sobrerrepresentados en el estadio tripomastigote (T) respecto del amastigote (A). Los transcritos pueden ser agrupados de acuerdo a su nivel de sobre-expresión: HiHi sobre-expresados más de 20 veces (genes TcTASV-A, B y C), y HiLow sobre-expresados hasta 4 veces (en éste grupo sólo encontramos 2 genes TcTASV-A). En relación con datos de proteómica, se identificaron por primera vez péptidos de genes TcTASVs sobre-expresados en tripomastigotes sanguíneos, que no habían sido identificados en tripomastigotes de cultivo ni otros estadios (Brunoro et al, 2014). Los patrones y niveles de expresión pueden estar determinados al menos en parte por las secuencias de los 3'UTRs. El análisis de estas regiones mostró dos grupos principales: uno (G1) dentro del cual segregaron los genes HiHi y otro (G2) en el cual segregaron los genes HiLow y un gen identificado por proteómica. Cada grupo presentó alta identidad de secuencias en los 3'UTR (90%) pero entre grupos (G1 vs G2) la similitud fue de ~20%. Llamativamente todos los genes del G2 pertenecen a la subfamilia TcTASV-A. Esto sugiere fuertemente que las diferencias en el 3'UTR podrían explicar el patrón de expresión