

## CARACTERIZACIÓN DE LOS PRODUCTOS DEL GEN *LYT1* INVOLUCRADOS EN EL PROCESO DE INFECCIÓN Y DE TRANSICIÓN DE ESTADIO DE *Trypanosoma cruzi*

Ballesteros-Rodea G<sup>1,2</sup>, Márquez-Dueñas C<sup>1</sup> y Manning-Cela RG<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Departamento de Biología Molecular. Centro de Investigación y Estudios avanzados-IPN. Av. IPN No.2508, Col. Zacatenco, C.P. 07360, México, D.F. Teléfono: 50 61 33 22. Fax. 50 61 39 38. <sup>2</sup>Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad Universitaria. Delegación Coyoacán. C.P. 04510. Correo electrónico: gilbar@servidor.unam.mx rmaning@cinvestav.mx

La tripanosomosis americana es una enfermedad ocasionada por el protozooario flagelado *Trypanosoma cruzi*, parásito intracelular obligado que infecta una gran variedad de células del huésped. Presenta un ciclo de vida bifásico entre el insecto vector y el huésped mamífero. En el mamífero el proceso de infección es un evento complejo que involucra 4 etapas: adhesión, invasión, multiplicación y liberación, eventos en los que se ha sugerido participan diversas moléculas tanto del parásito como de la célula huésped. Nuestro grupo de investigación demostró por evidencias genéticas, que *LYT1* participa en el proceso de infección y transición de estadio de *T. cruzi* evaluado por ensayos *in vitro*. La diferente funcionalidad de esta molécula fue explicada por la presencia de tres transcritos diferentes obtenidos por *trans-splicing* alternativo. Dos de los cuales codifican para la proteína completa conteniendo una posible secuencia señal (relacionada con la infectividad) y el otro codifica para la proteína truncada sin la secuencia señal y con una secuencia de posible localización nuclear (relacionada con diferenciación).

El objetivo del presente trabajo es demostrar la generación de diferentes productos de *LYT1* con diferente localización. Obtuvimos y analizamos parásitos transfectados establemente con tres construcciones que codifican para la proteína verde fluorescente fusionada a *LYT1*: 1) conteniendo la posible secuencia señal y nuclear (*LYT1ps*), 2) conteniendo sólo la posible secuencia señal (*LYT1m*) y 3) conteniendo únicamente la posible secuencia nuclear (*LYT1pn*).

Los parásitos transfectados expresando *LYT1ps* mostraron la fluorescencia tanto en vacuolas y membrana como en otra estructura que podría corresponder al reservosoma. Por otro lado, aquellos que expresan *LYT1m* la fluorescencia fue observada en vacuolas y membrana. Finalmente, los parásitos expresando *LYT1n* la fluorescencia se localizó mayoritariamente en un compartimiento tipo vacuolar en la parte posterior del parásito cuya localización y estructura pudiera corresponder al reservosoma, que es un organelo que ha sido relacionado con el proceso de diferenciación del parásito. La diferente localización observada es consistente con los fenotipos obtenidos en los parásitos *knock-out* de *LYT1*. Estos resultados sugieren que efectivamente los distintos transcritos de *LYT1* producen dos proteínas con localización diferencial y por lo tanto posiblemente con diferente función. En este trabajo también se evaluó la infección *in vivo* de parásitos silvestres y *Knock-out* de *LYT1* en ratones Balb/c. Los resultados obtenidos mostraron que los parásitos *Knock-out* fueron aproximadamente 7 veces menos infectivos que los parásitos silvestres demostrando al igual que en los ensayos *in vitro* su participación en la infección *in vivo*.