



Título: DIHIDROFOLATO REDUCTASA-TIMIDILATO SINTASA DE TRYPANOSOMA CRUZI: CARACTERIZACION DEL GEN Y DE LA PROTEINA RECOMBINANTE.

Nombre: RECHE GALLARDO, PEDRO ANTONIO

Universidad: Universidad de Granada

Fecha de lectura: 01/01/1995

Programa de doctorado: DESCONOCIDO

Dirección:

> **Director:** DOLORES GONZÁLEZ PACANOWSKA

Tribunal:

> **presidente:** Josefa Liboria Segovia Parra

> **secretario:** FRANCISCO GAMARRO CONDE

> **vocal:** LUIS IGNACIO RIVAS LÓPEZ

> **vocal:** FRANCISCO MIGUEL CANOVAS RAMOS

> **vocal:** Obdulio López Mayorga

Descriptores:

> QUIMICA

> PROTEINAS

> BIOQUIMICA MOLECULAR

> BIOQUIMICA

El fichero de tesis no ha sido incorporado al sistema.

Resumen: TRYPANOSOMA CRUZI ES UN PROTOZOO FLAGELADO CAUSANTE DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS, UNA ENFERMEDAD ENDEMICA DE CENTRO Y SUR AMERICA QUE AFECTA ALREDEDOR DE 18 MILLONES DE PERSONAS Y A LA QUE UNOS 90 MILLONES ESTAN EXPUESTAS. HOY EN DIA NO EXISTE TRATAMIENTO NI VACUNA EFICAZ CONTRA EL PARASITO, POR LO QUE UNA APROXIMACION RACIONAL PARA ELLO CONSISTIRIA EN LA CARACTERIZACION DE ENZIMAS BLANCO DE ACCION DE FARMACOS.

DOS DE ESTAS ENZIMAS SON LA DIHIDROFOLATO REDUCTASA (DHFR) Y LA TIMIDILATO SINTASA (TS), QUE JUNTO LA SERINA HIDROXIMETIL TRANSFERASA (SHT) CATALIZAN EL CICLO DE SINTESIS DE NOVO DEL DTMP. LA INHIBICION TANTO DE LA TS



COMO LA DHFR PROVOCA LA MUERTE DEL PARASITO POR DISMINUCION DE LOS NIVELES DE DTMP. MIENTRAS QUE EN LA MAYOR PARTE DE LOS ORIGENES ESTAS DOS ENZIMAS SON INDEPENDIENTES, EN TODOS LOS PROTOZOOS DESCRITOS HASTA LA FECHA FORMAN PARTE DE UNA MISMA ENZIMA BIFUNCIONAL, LO QUE INDICA QUE "A PRIORI" EXISTEN CLARAS DIFERENCIAS ENTRE LA ENZIMA DEL PARASITO Y LAS CORRESPONDIENTES DEL HUMANO, QUE PODRIAN EXPLOTARSE EN EL DESARROLLO DE UN FARMACO EFECTIVO FRENTE EL PARASITO.

CON ESTAS PREMISAS HEMOS AISLADO EL GEN DE LA ENZIMA DHFR-TS DE T. CRUZI, LO HEMOS SECUENCIADO Y HEMOS DESARROLLADO UN SISTEMA HETEROLOGO DE EXPRESION EN ESCHERICHIA COLI A PARTIR DEL CUAL ES POSIBLE PURIFICAR CANTIDADES RELATIVAMENTE ELEVADAS DE LA PROTEINA RECOMBINANTE DE T. CRUZI DE UN MODO SENCILLO Y CON UN COSTE REDUCIDO. CON LA ENZIMA PURIFICADA SE HAN REALIZADO DIFERENTES ESTUDIOS PARA SU CARACTERIZACION, TALES COMO LA DETERMINACION DE LOS PARAMETROS CINETICOS Y SU INTERACCION CON INHIBIDORES TALES COMO LA PIRIMETAMINA (PYR), EL TRIMETOPRIM (TMP) Y EL METOTREXATO (MTX).

ADEMAS, SE HA EXPRESADO INDIVIDUALMENTE EN E. COLI EL DOMINIO DHFR DE LA ENZIMA BIFUNCIONAL DE T. CRUZI, SE HA PURIFICADO Y SE HA CARACTERIZADO SU COMPORTAMIENTO CINETICO ASI COMO SU INTERACCION CON LOS INHIBIDORES ENSAYADOS CON LA ENZIMA BIFUNCIONAL.

LA PROFUNDIZACION EN E