

RESUMEN - ABSTRACT

de la Tesis para optar por el título de Doctor en Biología Molecular y Biotecnología
en la Universidad Nacional de San Martín

“Rol de la proteína de unión al ARN TcUBP1 en la regulación
postranscripcional de *Trypanosoma cruzi*”

Lic. Karina Belén Sabalette

Director: Dr. Javier De Gaudenzi

Co-directora: Dra. Vanina Campo

Laboratorio de Regulación Postranscripcional de Genes, Instituto de Investigaciones
Biotecnológicas (IIBio), UNSAM, Prov. de Buenos Aires, Argentina.

2022

RESUMEN

Trypanosoma cruzi es el parásito protozoario causante de la enfermedad de Chagas. Esta enfermedad es endémica en América Latina y, dada su propagación, afecta actualmente entre 6 y 7 millones de personas en todo el mundo. A pesar de las numerosas investigaciones realizadas desde su caracterización, no existen vacunas preventivas y las drogas desarrolladas para su tratamiento poseen baja eficiencia y múltiples efectos secundarios.

En nuestro laboratorio se aborda el estudio de la biología molecular de *T. cruzi* centrado en la regulación de la expresión génica. A diferencia de la mayoría de los organismos eucariotas, los tripanosomas poseen un escaso control a nivel del inicio de la transcripción. Por contraparte, para regular el perfil de expresión poseen una compleja red de regulación que ejerce su función principalmente a nivel postranscripcional. Estos mecanismos están coordinados por proteínas de unión al ARN (*RNA-binding Proteins*, RBP) que desde la transcripción del ARN en el núcleo hasta su destino final, conforman los complejos ribonucleoprotéicos que dirigen al transcripto en su vía de procesamiento determinando su traducción, almacenamiento en regiones subcelulares o su degradación.

El objetivo general de este trabajo es profundizar en las redes postranscripcionales de interacción ARN-RBP que regulan la expresión coordinada de múltiples genes en *T. cruzi*. Concretamente, nos centramos en el estudio de TcUBP1 (*T. cruzi U-rich RNA Binding Protein 1*) —una pequeña RBP citosólica exclusiva de tripanosomas— y su función reguladora sobre numerosos transcriptos que codifican para glicoproteínas de superficie del estadio infeccioso del parásito. Estos ARNm pertenecen a la superfamilia *trans-sialidasa* y tipo *trans-sialidada* (TcS). En sus 3'-UTR hemos identificado un elemento lineal altamente conservado, localizado junto a un motivo de unión a TcUBP1. Evaluamos el comportamiento de estos transcriptos a lo largo del ciclo de vida del parásito y observamos que se relocalizan conjuntamente en diferentes regiones citoplasmáticas durante algunos procesos de diferenciación entre estadios. Posteriormente estudiamos los efectos de la sobreexpresión y disminución de TcUBP1 sobre el perfil de expresión de estos transcriptos, así como también los efectos biológicos sobre el ciclo de vida, evidenciando la existencia de una regulación estadio-específica con consecuencias directas en el desarrollo de la forma tripomastigote y su capacidad de infección. Por último, iniciamos la caracterización del interactoma de TcUBP1 en un estadio replicativo frente a uno infeccioso con el fin de dilucidar los interactores que colaboran en las diversas funciones que presenta esta proteína. En su conjunto, los resultados de esta tesis evidencian la estrecha relación que existe

entre los mecanismos de diferenciación hacia estadios infectivos y los procesos de traducción, en los cuales TcUBP1 se encuentra involucrada regulando la expresión de diversos conjuntos de ARNm, y de forma particular de las glicoproteínas de superficie.

Palabras clave: *Trypanosoma cruzi*, regulación postranscripcional, proteínas de unión al ARN, diferenciación.

ABSTRACT

The protozoan parasite *Trypanosoma cruzi* is the etiological agent of Chagas disease, which is endemic in Latin America and its spread currently affects between 6-7 million people worldwide. Despite the numerous investigations carried out, there are no preventive vaccines and the drugs developed for its treatment have low efficacy and multiple side effects.

In our group, the study of the molecular biology of *T. cruzi* is focused on the post-transcriptional regulation of gene expression. Unlike most eukaryote organisms, trypanosomes have little control at the level of initiation of RNA transcription. In contrast, to regulate the cellular expression profile they have developed a complex regulatory network that exerts its function mainly at the post-transcriptional level. These mechanisms are carried out by RNA-binding proteins (RBPs) that form ribonucleoprotein complexes which accurately guide transcripts into distinct post-transcriptional regulatory processes, including RNA processing, export, stabilization, localization and translation.

This work aims to get a deep insight into the RBP-RNA interactions involved in the coordinated modulation of multiple *T. cruzi* genes. Specifically, we focus on the study of TcUBP1 (*T. cruzi* U-rich RBP 1) —a small trypanosomatid-exclusive cytosolic RRM-type RBP— and its regulatory role on numerous mRNAs encoding cell-surface glycoproteins preferentially expressed in the trypomastigote infective stage, including members of the *transialidase* and *trans-sialidase-like (TcS)* superfamily. We first identified a highly conserved linear element in the 3'-UTR of *TcS* mRNAs located next to a TcUBP1-binding motif and analyzed the expression of these transcripts throughout the parasite life cycle. We were able to observe how these transcripts locate in different regions of the cytoplasm during parasite development. This result, together with the study of the biological effects of the TcUBP1 overexpression and knockdown, revealed the existence of a stage-specific regulation mechanism associated with the development of the trypomastigote form and its infectivity. Finally, we initiated the characterization of the TcUBP1 interactome in a replicative versus an infective stage of the parasite to elucidate those factors involved in the diversification of TcUBP1 functions. Altogether, our results demonstrate a close relationship between differentiation mechanisms to infective forms of the parasite and translation processes. Here, TcUBP1 plays an essential role in regulating the expression of various sets of trypomastigote surface glycoprotein transcripts.

Key words: *Trypanosoma cruzi*, post-transcriptional regulation, RNA-binding proteins, differentiation.

