

CON HOMOLOGÍA A CORONINA

Julio V. Figueroa¹, Eric Precigout², Bernard Carcy², André Gorenflot².

¹CENID-PAVET, INIFAP, Jiutepec, Morelos, México C.P.62550. Fax: 01(73) 20-55-44.

²Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Faculté de Pharmacie, Université Montpellier I, Avenue Charles Flahault 15, Montpellier, 34000, France.

Correo electrónico: figueroj@pavet.inifap.conacyt.mx

Palabras clave: *Babesia*, *Coronina*, *Actina-asociada*.

Introducción. *Babesia* spp., importante agente etiológico de la babesiosis en animales domésticos, es un parásito protozoario Apicomplexa que invade los eritrocitos en su hospedero intermediario. Se desconoce exactamente el mecanismo de internalización que los parásitos Apicomplexa utilizan para invadir la célula hospedera, sin embargo se piensa que la fuerza motriz conductora involucra la polimerización de la actina y algunas proteínas asociadas a esta (1). En búsqueda de moléculas que puedan regular la dinámica de la actina en *Babesia* spp, el presente estudio tuvo como objetivo el caracterizar una proteína similar a coronina (1, 3), presente en *Babesia bovis*, *B. bigemina*, *B. divergens* y *B. canis*.

Metodología. Un fragmento de 2 Kpb del cDNA de *B. bovis*, insertado en el plásmido BvN9 fue secuenciado por el método enzimático de terminación de cadena con didesoxinucleótidos. La secuencia fue analizada mediante el uso del programa PSI-BLAST (2). El inserto de cDNA fue subclonado en el vector de expresión pGEX 4T-3 para producir una proteína recombinante fusionada a GST (GST-Bvcoronin). Se prepararon anticuerpos policlonales mediante la inoculación de conejos con la proteína de fusión (50 µg, 3 inoculaciones). Con el suero de los conejos inmunizados se caracterizó, mediante ensayos de inmunoprecipitación e inmuno-electrotransferencia (1, 3) la molécula en los extractos proteicos de las distintas especies de *Babesia* analizadas en este estudio; y por medio de una prueba de inmunofluorescencia indirecta, su localización en el parásito intraeritrocítico. Para determinar la posible función de la molécula identificada, se realizó una prueba de cosedimentación con la proteína de fusión y actina exógena de hígado de conejo (1).

Resultados y discusión. La secuencia contenía un marco de lectura abierta de 1719 pb codificadora de una proteína de 61.7 KDa. Análisis de la secuencia con el programa PSI-BLAST reveló 30% de identidad en la secuencia deducida de aminoácidos, con una proteína de *Plasmodium falciparum* y de *Dictyostelium discoideum* (1, 3). El suero de conejos inmunizados con la proteína de fusión reaccionó con una proteína de *Babesia bovis* de aproximadamente 60 KDa mediante inmunoprecipitación con parásitos radiomarcados con ³⁵S-Metionina. Sin embargo, dos bandas con tamaños relativos de 60 y 70 KDa se reconocieron en extractos de eritrocitos parasitados analizados por inmuno-electrotransferencia. La molécula de 70 KDa siendo, aparentemente, de origen eritrocítico. No obstante, la molécula de 60 KDa fue reconocida en las cuatro especies de *Babesia* analizadas. En el ensayo de inmunofluorescencia indirecta, el suero de conejo reaccionó intensamente con el estadio merozoito de las cuatro especies de *Babesia* probadas, pero también, aún cuando en forma débil, con el eritrocito hospedero. El análisis por SDS-PAGE e inmuno-electrotransferencia del producto de la prueba de cosedimentación realizada con la proteína de fusión y actina exógena, mostró que la proteína recombinante GST-Bvcoronin, pero no la proteína GST sola, se asoció con la actina.

Conclusiones. Con base en los resultados, se concluye que la proteína identificada en las diferentes especies de *Babesia* analizadas podría considerarse como una proteína semejante a coronina y la cual está asociada a la actina.

Bibliografía.

1. Tardieux, I., Liu, X., Poupel, O., Parzy, D., Dehoux, P., Langsley, G. (1998). A *Plasmodium falciparum* novel gene encoding a coronin-like protein which associates with actin filaments. *FEBS Letters*. 441, 251-256.
2. Altschul, S.F., Warren, G., Web M, Eugene, W.M., & David J.L. (1990). Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* 215, 403-410.
3. de Hostos, E.L., Bradtke, B., Lottspeich, F., Guggenheim, R., Gerisch, G. (1991). Coronin, an actin binding protein of *Dictyostelium discoideum* localized to cell surface projections, has sequence similarities to G protein β subunits. *EMBO J.* 10, 4097-4104.