

# Localização de Flopases de Fosfatidilserina em *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis*

Beirigo, R.L., dos Santos, M.G., Floeter-Winter, L.M.  
Instituto de Biociências, Universidade de São Paulo, SP

## 1. Objetivos

No ciclo de vida da *Leishmania*, ocorre a alternância entre as duas formas relacionadas aos hospedeiros inseto e mamífero. Entretanto, alguns aspectos da infecção do macrófago de mamíferos ainda precisa ser elucidada. Foi sugerido que a organização lipídica de membrana plasmática do parasita possui um papel importante no processo fagocítico assim como na habilidade de sobreviver no hospedeiro mamífero. A exposição de Fosfatidilserina (PS) na camada externa da membrana plasmática poderia ser um dos sinais enviados pelas amastigostas que promoveriam a fagocitose, mas inibiriam a ativação dos macrófagos<sup>1</sup>. Flopase é uma translocase que é responsável pelo transporte de PS da camada citoplásmica para a camada exoplásmica. Nesse trabalho, descrevemos uma estratégia para isolar os genes responsáveis pela externalização de PS em *L. (L.) amazonensis*.

## 2. Material e Métodos

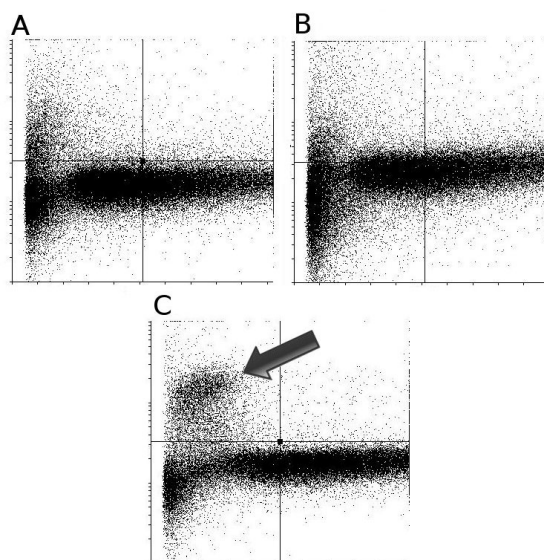
Promastigotas de *L. (L.) amazonensis* M2269 foram transfectadas com biblioteca genômica do mesmo organismo<sup>2</sup>, selecionadas com micro-esferas magnéticas associadas a anexina V. Realizou-se a extração dos cosmídeos das células selecionadas e o DNA foi clonado em *E. coli*. Mapas de restrição desses cosmídeos em *Bam*HI foram analisados, mostrando a existência de dois cosmídeos distintos, que foram então utilizados em uma nova transfecção de *L. (L.) amazonensis* selvagem. As células assim obtidas foram marcadas com anexina V-FITC e analisadas por citometria de fluxo (FACS).

## 3. Resultados e Discussão

Um clone das culturas selecionadas pela transfecção com os cosmídeos apresentou uma fluorescência diferencial, como mostrado

na Figura 1, mostrando uma mudança no fenótipo, provavelmente induzida pela expressão da informação presente no cosmídeo.

Figura 1: Leitura em FACS de fluorescência para culturas de *L. (L.) amazonensis*, (fluorescência de moléculas de Anexina-V-FITC em função do espalhamento frontal de luz no aparelho). A e B são significativos, e o clone C apresentou fluorescência diferencial (eventos apontados pela seta).



## 4. Conclusões

O resultado obtido com o presente estudo poderá ser utilizado em trabalhos futuros de análise dos genes presentes no cosmídeo, para se isolar aquele responsável pela fluorescência diferencial.

## 5. Referências Bibliográficas

- [1] de Freitas Balanco et al. (2001). *Curr Biol* 11(23): 1870-3.
- [2] Uliana, S. R. et al. (1999). *Exp Parasitol* 92(3): 183-91.