

Análisis evolutivo de insectos transgénicos de la especie *Rhodnius prolixus* en el tratamiento de la enfermedad de Chagas

Nancy Ruiz-Sergio Hernández

Universidad de los Andes

May 22, 2015

- 1 Introducción
- 2 Protocolo y diseño experimental
- 3 Modelo evolutivo
- 4 Consideraciones éticas
- 5 Dificultades generales
- 6 Conclusiones
- 7 Referencias

- Enfermedad de Chagas
- *Tripanosoma cruzi*
- Vector *Rhodnius prolixus*

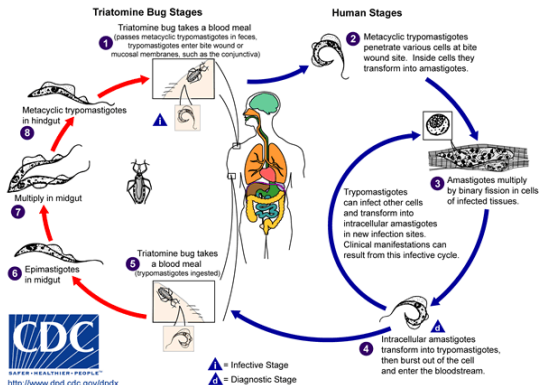


Figure: Ciclo de vida de *T. cruzi*

Paratransgenesis

- Inserción de un plásmido pRrMDWK6 en una bacteria simbiote del vector *R. prolixus*

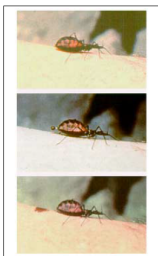


Figure 1. A triatomine bug vector of Chagas disease in the process of feeding. The fecal droplet contains infective trypomastigotes and bacterial symbionts. (Photographs courtesy of Robert B. Teal).

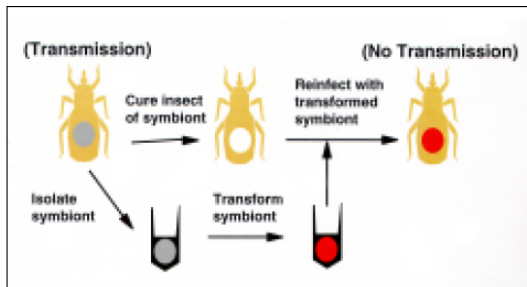


Figure: Idea General

Figure: Idea General

- Cultivo y Transformación de las bacterias
- Plásmido pRrMDWK6
- Transformación de los vectores
- Reconocimiento del anticuerpo

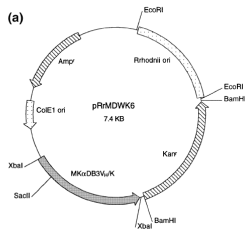


Figure: Plásmido pRrMDWK6

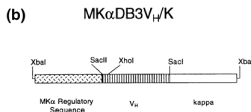


Figure: Circuito

- Escogencia de las constantes
- Modelo de Moran
- Algoritmo de Gillespie
- Exhaustivo
- Aproximaciones (plásmido R1)
- Poblaciones con *R. rhodnii*

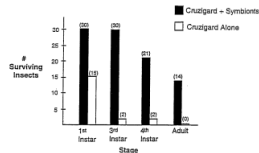


FIG. 6. Survival of aposymbiotic first-instar nymphs of *R. prolixus* exposed to CRUZIGARD. Thirty nymphs were exposed to CRUZIGARD impregnated with genetically transformed *R. rhodnii*. Fifteen nymphs were exposed to CRUZIGARD containing no added bacteria. Aposymbiotic first-instar nymphs exposed to natural feces in our insectary experience, on average, 50% mortality in the adult stage.

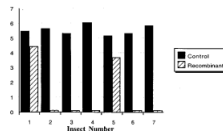


FIG. 5. Number of *T. cruzi* in the hind gut of *R. prolixus* in control (black bars) *R. prolixus* carrying native symbiotic *R. rhodnii* in the hind gut, and (hatched bars) recombinant group where *R. prolixus* carry genetically modified *R. rhodnii*, which express the gene for cecropin A peptide. Unstained metacyclic trypomastigotes were counted, using a Neubauer hemocytometer, and the count number is expressed as log₁₀. All values are the mean of four measurements. No trypanosomes were seen in recombinant insects 2, 3, 4, 6, and 7, and the hatched bars in these columns indicate that counts were performed.

Modelo de Moran

Poblacion de bacterias con mismo fitness



- Proceso estocástico que describe poblaciones finitas.
- Fitness Relativo
- Implementado en Mathematica

Figure: Modelo de Moran

$$T_{i \rightarrow i+1} = \frac{if_A(i)}{if_A(i) + (N-i)f_B(i)} \frac{N-i}{N}$$

$$T_{i \rightarrow i-1} = \frac{(N-i)f_B(i)}{if_A(i) + (N-i)f_B(i)} \frac{i}{N}$$

$$T_{i \rightarrow i} = 1 - T_{i \rightarrow i+1} - T_{i \rightarrow i-1}$$

Resultados - Modelo de Moran

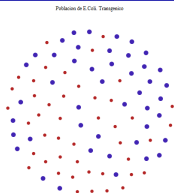


Figure: Primera Generación

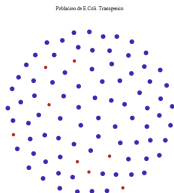


Figure: Generación 339

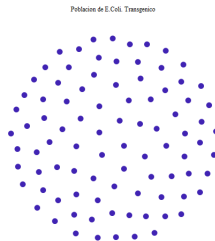


Figure: Generación final, 576

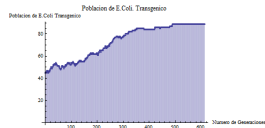


Figure: Evolución de la población de *E.coli*

Resultados - Algoritmo de Gillespie

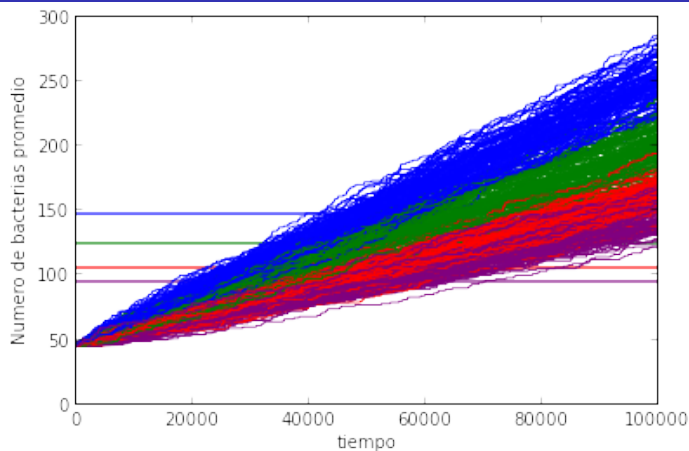


Figure: Evolución de las poblaciones

Consideraciones éticas

- Consecuencias ecológicas y regulación
- Dominancia de organismos no transformados
- Transferencia horizontal de genes



- Genetically modified bacterial formulation are applied to new homes or to insecticide-treated homes.
- Insects infest or reinfest homes.
- Triatomine nymphs ingest modified bacteria.
- Genetically modified symbionts are amplified and dispersed by newly infected insects.

Dificultades generales

- Evolución del proyecto
- Escogencia de las constantes
- Modelo

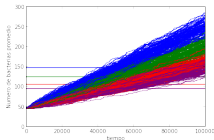


Figure: Evolución de las poblaciones

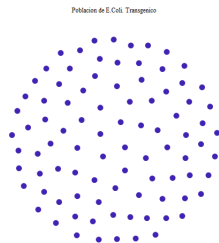


Figure: Generación final, 576

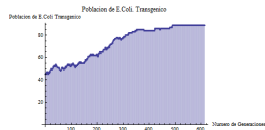


Figure: Evolución de la población de *E.coli*

- De nuestro análisis evolutivo es posible concluir que la bacteria que presentó el mayor fitness y por ende la que mejor pudo adaptarse a la inserción del plásmido para la eliminación de bacterias fue E.Coli, seguida de Salmonella y finalmente R.rhodnii
- No fue posible realizar un modelo sofisticado debido a la imposibilidad de encontrar las constantes de producción y degradación de anticuerpos.
- Para realizar adecuadamente este análisis es necesaria una parte experimental en la que se pueda medir el fitness de las bacterias con el plásmido y la tasa de degradación y producción de anticuerpos.

References



[Hurwitz, Fieck \(2011\)](#)

Paratransgenic control of vector borne diseases



[Eichler, Schaub \(2002\)](#)

Development of symbionts in triatomine bugs and the effects of infections with trypanosomatids



[Lenski, Mongold \(1998\)](#)

Evolution of competitive fitness in experimental populations of E. coli: what makes one genotype a better competitor than another?



[Dionisio, Conceicao \(2005\)](#)

The evolution of a conjugative plasmid and its ability to increase bacterial fitness



[Dotson, Plikaytis, Durvasula \(2003\)](#)

Transformation of Rhodococcus rhodnii, a symbiont of the Chagas disease vector Rhodnius prolixus, with integrative elements of the L1 mycobacteriophage



[He, Hamon, Liu \(1995\)](#)

Functional expression of a single-chain anti-progesterone antibody fragment in the cytoplasm of a mutant Escherichia coli



[Matsuo, Yamaguchi, Yamazaki \(1990\)](#)

Establishment of a foreign antigen secretion system in mycobacteria

Gracias!