



FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA

ESCUELA DE BIOLOGÍA

Producción recombinante de la enzima Trypanothione reductase (TryR) de *Trypanosoma cruzi* como blanco terapéutico para la enfermedad de Chagas.

Trabajo previo a la obtención del título Bióloga

Autora:

María José Ayala Jimbo

Director:

Rodrigo Caroca Cáceres, Ph. D.

Cuenca - Ecuador

2026

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia, quienes han sido mi mayor apoyo y motivación a lo largo de este camino académico y personal. A mis padres, Luis Ayala y Diana Jimbo, por su amor, apoyo incondicional y por motivarme siempre a seguir adelante, incluso en los momentos más difíciles. Gracias por creer en mí y acompañarme en cada etapa de mi formación. A mi hermano, David Ayala, por estar siempre conmigo y brindarme su apoyo. A mis perros, por acompañarme durante las largas horas de trabajo y por convertirse en parte importante de este proceso. A mis tíos Miguel Ayala y Martha Cuesta, quienes han sido como unos segundos padres para mí, y a Miguel Ayala, Jessica Ayala, Jenny Ayala y Mia, por recibirme siempre como parte de su familia y hacerme sentir querida y acompañada. A mis tíos María del Carmen Jimbo y Cristian Jimbo, por estar presentes tanto en los buenos como en los malos momentos. A mis abuelos, José Jimbo y Carmen Pinos, por ser mi ejemplo, mi fortaleza y uno de los pilares más importantes de mi vida. Finalmente, a mis amigos y a todas las personas que de una u otra manera me acompañaron y apoyaron durante este camino académico. Gracias por creer en mí y ser parte de este logro.

Agradecimientos

Agradezco a mi director de tesis, Dr. Rodrigo Caroca, por su guía, apoyo y acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo. Asimismo, agradezco a David Siddons por sus observaciones, recomendaciones y apoyo durante este proceso académico. De manera especial, agradezco a Dani Ortiz, Gabi Pulgarín, Samara Zeas y Daysi Guamán, por su paciencia, apoyo, guía y por compartir conmigo sus conocimientos y enseñanzas durante este proceso. Su ayuda y acompañamiento fueron fundamentales para la realización de esta tesis y para mi formación durante esta etapa. Asimismo, agradezco a Johanna Tacuri, Pedro Guerra y Nicole, quienes con su apoyo, compañía y momentos de alegría hicieron esta etapa más llevadera. Finalmente, agradezco a todas las personas que de una u otra manera formaron parte de este proceso y contribuyeron a la realización de este trabajo.

Resumen

La enfermedad de Chagas constituye uno de los principales problemas de salud pública en América Latina. La enzima trypanothione reductase (TryR) de *Trypanosoma cruzi* representa un blanco terapéutico altamente selectivo debido a su papel esencial en el metabolismo redox del parásito y a la ausencia de un homólogo funcional en humanos. El presente estudio, desarrollado en la Universidad del Azuay, tuvo como objetivo expresar, purificar y evaluar preliminarmente la actividad enzimática de la TryR recombinante producida en *Escherichia coli*. La correcta inserción del gen en el plásmido pET28-TryR se verificó mediante análisis *in silico* y digestión con enzimas de restricción. Posteriormente, la proteína fue expresada en *E. coli* Rosetta (DE3) y purificada mediante cromatografía de afinidad (IMAC). Los ensayos enzimáticos confirmaron la obtención de una enzima recombinante funcional. Estos resultados establecen una base experimental para futuros estudios de inhibición enzimática y evaluación de compuestos tripanocidas.

Palabras clave: Trypanothione reductase, expresión recombinante, *Escherichia coli*, actividad enzimática, blanco terapéutico.

Abstract

Chagas disease is one of the major public health problems in Latin America. The enzyme trypanothione reductase (TryR) from *Trypanosoma cruzi* represents a highly selective therapeutic target due to its essential role in the parasite's redox metabolism and the absence of a functional homolog in humans. This study, conducted at the University of Azuay, aimed to express, purify, and preliminarily evaluate the enzymatic activity of recombinant TryR produced in *Escherichia coli*. Correct insertion of the gene into the pET28-TryR plasmid was verified through *in silico* analysis and restriction enzyme digestion. Subsequently, the protein was expressed in *E. coli* Rosetta (DE3) and purified by immobilized metal affinity chromatography (IMAC). Enzymatic assays confirmed the successful production of a functional recombinant enzyme. These results establish an experimental basis for future enzyme inhibition studies and the evaluation of trypanocidal compounds.

Keywords: Trypanothione reductase, recombinant expression, *Escherichia coli*, enzymatic activity, therapeutic target.