

RESUMO

As células são constantemente expostas a diversos agentes de origem endógena ou exógena que causam lesões no DNA. Como estas lesões podem gerar mutações ou causar a morte celular, as células desenvolveram complexos sistemas de reparo para minimizar os danos, mantendo assim, a integridade do genoma. Entretanto, muitas lesões podem escapar das proteínas envolvidas no reparo e bloquear a maquinaria de replicação. Uma das maneiras encontradas pelas células para contornar esta situação foi desenvolver um mecanismo para realizar a síntese de DNA passando por estas lesões. Esse processo, denominado de síntese translesão, é realizado por um conjunto de DNA polimerases adaptadas a esta função, as polimerases da família Y. Ao contrário da maioria das polimerases, a Pol η é capaz de replicar eficientemente a fita de DNA frente a uma variedade de lesões, como dímeros de timina, sítios AP e 8-oxoG, de uma forma livre de erros. Neste trabalho, nós clonamos e caracterizamos o gene da Pol η de *Trypanosoma cruzi*, o agente causador da doença de Chagas. O gene *TcPol η* codifica uma proteína que contém motivos que são conservados entre as polimerases da família Y. Ensaios *in vitro* demonstraram que a proteína recombinante é capaz de polimerizar diferentes moldes de DNA contendo ou não lesões. Apesar de complementar o fenótipo de sensibilidade à luz UV de leveduras que tiveram o gene *RAD30* mutado, a superexpressão da TcPol η em *T. cruzi* não aumentou a sobrevivência dos parasitos após tratamento com luz UV, cisplatina ou zeocina. A superexpressão também não foi capaz de promover a retomada do crescimento dos parasitos após a irradiação gama, mas aumentou a resistência destes após o tratamento com H₂O₂. Estes resultados sugerem que a TcPol η pode ter um papel importante na síntese translesão de lesões oxidativas remanescente na fita de DNA durante a fase S, impedindo assim, o bloqueio da replicação.

ABSTRACT

Cells are constantly exposed to endogenous or exogenous agents that cause injuries in DNA. These lesions can generate mutations or even lead to cellular death. A variety of repair mechanisms acts to maintain DNA integrity, but many lesions escape these processes leading to a replication fork blockage. To overcome this blockage, cells use a specialized group of DNA polymerases to bypass DNA lesions, restarting the replication forks and enhancing cell survival. This process is called translesion synthesis and is carried out by Y-family polymerases. Pol η is member of this group and is able to bypass many type of lesions, as thymine-thymine dimer, AP sites and 8-oxoG. We report the cloning and characterization of the *Po η* gene (*TcPo η*) from *Trypanosoma cruzi*, the causative agent of Chagas disease. This gene encodes protein containing motifs that are conserved between Y-family polymerases. *In vitro* assays showed that the recombinant protein is capable of synthesizing DNA in damage or undamaged primer-templates. Intriguingly, overexpression of *TcPo η* does not increase resistance to UV light, cisplatin or zeocin, despite its ability to enhance UV resistance in a *RAD30* mutant of *Saccharomyces cerevisiae*. *T. cruzi* overexpressing *TcPo η* is also unable to restore growth after gamma irradiation, but *T. cruzi* cells overexpressing *Po η* are more resistant to treatment with hydrogen peroxide (H₂O₂). The results presented here suggest that *TcPo η* plays an important role in the bypass of oxidative remanescents in DNA during S phase, stopping replication blockage.