

RESUMO

O *Trypanosoma cruzi* expressa diversos antígenos contendo seqüências com aminoácidos repetitivos. Neste trabalho foram caracterizados os antígenos TcRpL7a e TcRBP28 que contém repetições de aminoácidos semelhantes e apresentam similaridade com a proteína ribossômica L7a de eucariotos e com proteínas de ligação a RNA de *T. brucei* respectivamente. Ensaio de “Western blot” usando a proteína TcRpL7a completa e truncada indicaram que a resposta humoral dos pacientes é exclusiva contra a região repetitiva. Uma análise das seqüências de TcRpL7a de seis cepas diferentes do parasito indicaram que o número de módulos repetitivos é maior em cepas pertencentes à linhagem II de *T. cruzi*. 73% de um painel de 59 pacientes chagásicos apresentaram reatividade contra TcRpL7a, 71% contra TcRBP28 e 80% contra uma mistura dos dois antígenos. Um peptídeo sintético correspondente a uma parte da região repetitiva de TcRpL7a apresentou 46% de reatividade com os soros. Anticorpos gerados em camundongos identificaram as proteínas nativas presentes em níveis similares em todas as formas do ciclo de vida do parasito. Análises de frações subcelulares indicaram que TcRBP28 está presente no citoplasma e que TcRpL7a co-precipita com a fração de polissomos. A fusão com GFP confirmou a localização citoplasmática de TcRBP28 e mostrou um acúmulo da proteína GFP::TcRpL7a no núcleo da célula onde ocorre a biogênese do ribossomo. Camundongos imunizados com TcRpL7a::his desenvolveram anticorpos anti-IgG1/2a e apresentaram maior número de células secretoras de IFN- γ . A capacidade de TcRpL7a de conferir proteção está sendo avaliada no presente momento.

ABSTRACT

Trypanosoma cruzi expresses several proteins containing highly antigenic amino acid repeats. Here we characterized TcRpL7a and TcRBP28, which carry similar repeat motifs and share homology to the eukaryotic L7a ribosomal protein and to a *T. brucei* RNA binding protein, respectively. Analyses of the full length and truncated recombinant TcRpL7a showed that the humoral response of patients with Chagas disease is directed towards its repetitive domain. Sequence analyses of copies of TcRpL7a genes present in the genome of six *T. cruzi* strains indicate that the number of repeats is higher in *T. cruzi* II than in *T. cruzi* I strains. A serum panel of 59 patients showed that 73% reacted with TcRpL7a, 71% reacted with TcRBP28 and 80% reacted with 1:1 mixture of both antigens. Synthetic peptide harboring the TcRpL7a repeat motif reacted with 46% of chagasic sera. Antibodies raised against both antigens identified equivalent amounts of the native proteins in all three stages of the parasite life cycle. Analyses of subcellular fractions indicated that TcRBP28 is present in the cytoplasm whereas TcRpL7a co-fractionates with polysomes. Confirming their predicted cellular localization, GFP fusions showed that, whereas GFP::TcRBP28 localizes in the cytoplasm, GFP::TcRpL7a accumulates in the nucleus, where ribosome biogenesis occurs. Mice immunized with TcRpL7a::his presented high levels of IgG1 and IgG2a antibodies and INF- γ secreting cells as well. Ongoing experiments are being done to evaluate the capacity of TcRpL7a to generate protection in mice against parasite infection.