



Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular

Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas

**Análise do secretoma/excretoma da
forma tripomastigota de
*Trypanosoma cruzi***

MARA OLIMPIA MACHADO

Brasília – DF 2013



Universidade de Brasília

Faculdade de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Patologia Molecular

Laboratório de Bioquímica e Química de Proteínas

**Análise do secretoma/excretoma da
forma tripomastigota de
*Trypanosoma cruzi***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular da Universidade de Brasília como requisito parcial à obtenção ao Grau de Mestre em Patologia Molecular.

MARA OLIMPIA MACHADO

Orientador: Dr. Sébastien Olivier Charneau

Prof. Adjunto da Faculdade UnB-Ceilândia

Co-orientador: Dr. Carlos André Ornelas Ricart

Prof. Associado do Departamento de Biologia Celular da UnB-Darcy Ribeiro

Brasília – DF 2013

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, ao meu orientador Prof. Sébastien Olivier Charneau, pelo apoio, dedicação, compreensão, carinho e paciência dispensados a mim durante a realização desta pesquisa. Ao meu co-orientador Prof. Carlos André Ornelas Ricart, que esteve sempre pronto a auxiliar no que fosse necessário.

A Prof. Carla Nunes, que com muito amor me convidou para conhecer o meu, hoje, querido orientador Sébastien, confiando em meu potencial, bem mais que eu mesma.

Aos Professores e colaboradores desta pesquisa, Prof. Izabela Bastos, Prof. Jaime Martins de Santana e Prof. Peter Roepstorff, que sem o apoio e colaboração esta pesquisa não poderia realizar-se.

A todos os professores e alunos do LBQP pelo apoio e suporte ao longo do tempo. Em especial ao Rayner Myr que me auxiliou em momentos difíceis, em especial nessa fase final.

Aos meus familiares Mauro, Aparecida, Marina, Júnior e Maria Clara, por mesmo de longe, com suas palavras e expressões de confiança, ajudaram-me a chegar até aqui. Ao meu querido e amado noivo, Pedro Henrique, que soube cobrar nas horas necessárias e acima de tudo acreditou em mim quando achava que não poderia mais, que me deu forças quando falhava e nunca me abandonou. Amo vocês!

A minha amiga Siliana, que percorreu comigo esse caminho, me dando forças mesmo sem saber e que acima de tudo soube separar, quando necessário, os problemas ocorridos. Sua confiança nessa reta final me fez mais forte.

E a Deus, acima de tudo, pois sem Ele nada disso seria possível. “Te adorarei com todo meu ser, quando estou mais perto de ti, fortalecer o meu viver”
Gratidão.

APOIO FINANCEIRO

Esta dissertação foi desenvolvida com o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), que concedeu a bolsa de estudos, do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e do Decanato de Pesquisa e Pós-Graduação da UnB (DPP/UnB), que possibilitaram um bom desenvolvimento da pesquisa.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	2
APOIO FINANCEIRO	3
SUMÁRIO	4
RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE ABREVIACÕES	8
1 – INTRODUÇÃO	9
1.2 - Agente Etiológico e Ciclo de vida.....	13
1.3 - Progressão da doença de Chagas	15
1.4 - A invasão pelo <i>Trypanosoma cruzi</i>	16
1.5 - Secretoma ou Exoproteoma	18
2 – JUSTIFICATIVA	21
3 – OBJETIVOS	23
4 - MATERIAIS E MÉTODOS	25
4.1 - Cultura e obtenção de parasitos	26
4.2 - Obtenção das proteínas secretadas.....	26
4.3 - LC -MS/MS e análise de dados.....	27
4.4 - Enriquecimento de fosfopeptídeos por afinidade ao TiO ₂	28
4.5 - Enriquecimento de glicopeptídeos.....	28
4.6 - Proteínas consideradas como glicosiladas e fosforiladas	29
4.7 - Fracionamento HILIC	29
4.8 - Análise de bioinformática das proteínas identificadas.....	29
5 – RESULTADOS	31
5.1 - Proteínas totais	32
5.2 - Proteínas enriquecidas com glicopeptídeos.....	70
5.3 - Proteínas enriquecidas com fosfopeptídeos	72
5.3 - Proteínas secretadas apresentadas a partir do Gene Ontology.....	75
5.5 - Via metabólica que as proteínas identificadas interferem	82

6 – DISCUSSÃO	84
7 – CONCLUSÃO	91
8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	93

RESUMO

A doença de chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, encontra-se entre as Doenças Tropicais Negligenciadas com maiores taxas de prevalência no Brasil. A transmissão se dá, principalmente, por duas vias: pelas fezes do vetor triatomíneo e por transfusão sanguínea. Seu agente etiológico é o *Trypanosoma cruzi*, um protozoário flagelado. Nos vertebrados, os tripomastigotas, forma infectante do *T. cruzi*, podem aderir e penetrar em quase qualquer célula hospedeira. Nesses processos estão interligadas as proteínas da superfície celular e as secretadas.

Para caracterização das proteínas secretadas/excretadas pelo tripomastigota, utilizou-se a abordagem proteômica por nanoLC-MS/MS. Identificou-se as proteínas totais secretadas e realizou-se estudos preliminares de proteínas glicosiladas e fosforiladas. Os dados foram analisados por bioinformática.

Encontrou-se um total de 535 proteínas distintas, destas 24 eram proteínas glicosiladas e 40 fosforiladas. Em sua grande maioria, baseado em algoritmos de predição por análise de sequências, apresentam-se como secretadas, principalmente pela via não clássica (65%) e não pela via clássica (15%). As demais proteínas (20%) não foram preditas como secretadas, porém entre estas incluem-se proteínas já descritas anteriormente como liberadas no meio extracelular. Isso reflete provavelmente a limitação dos softwares bioinformáticos disponíveis e da peculiaridade do modo de liberar proteínas pelo parasito no meio externo.

Este estudo apresenta uma abordagem adequada para identificar uma grande diversidade de proteínas secretadas no sobrenadante da cultura de *T. cruzi* e oferece novas perspectivas para o estudo de moléculas potencialmente envolvidas nas fases iniciais da infecção, já que tais proteínas são mediadores-chave da interação parasito-hospedeiro.

Palavras chaves: Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; tripomastigota; invasão; secretoma; exoproteoma; espectrometria de massas.

ABSTRACT

Chagas disease, also known as American trypanosomiasis, is found to be one of the Tropical Neglected Diseases with highest prevalence in Brazil. The transmission occurs, mainly, for two ways: the vector triatomine faecal matter and blood transfusions. Its etiological agent is *Trypanosoma cruzi*, a flagellate protozoan. On vertebrate, the trypomastigote, infected form of *T. cruzi*, can adhere and penetrate in almost any host cell. On these processes both the secreted and the cellular surface protein are interlocking.

To character both secreted/ excreted proteins by trypomastigote, was used a proteomics approach by nanoLC-MS/MS. It was identify the total secreted proteins and preliminary studies of glucose and phosphorylation was held. The data were analyzed by bioinformatics.

It was found a total of 535 distinct proteins, among 24 were glycosylated and 40 were phosphorylated. The great part, based on sequential analysis of prediction algorithms, was presented as secreted, mainly by a non-classical way (65%), and not by a classic way (15%). The remaining proteins (20%) were not predicted as secreted, however among them there are proteins described previously released into the extracellular environment. This, probably, reveals the limitation of bioinformatic software available and the peculiarity of the mode of release proteins by the parasite in his medium.

This study presents an adequate approach to identify a great diversity of proteins secreted in the *T. cruzi* culture supernatant and it also offers new perspective to the study of molecules potentially involved on the initial phases of the infection, since such proteins are key mediators of the interaction parasite- host

Key words: Chagas disease; *Trypanosoma cruzi*; trypomastigote; invasion; secretome; exoproteome; mass spectrometry.

LISTA DE ABREVIACOES

BF	Bolsa flagelar
DCA	doença de Chagas aguda
DMEM	Dulbecco modificado por Eagle
DNT	Doença Tropical Negligenciada
GO	Gene Ontology
GPI	Glicosilfosfatidilinositol
KEGG	Kyoto encyclopedia of genes e genomas
LIT	<i>liver infusion tryptose</i>
MS	Espectrometria de massa
MS/MS	Espectrometria de massa em tandem
RE	Retículo endoplasmático
SBF	soro bovino fetal
SOD	superóxido dismutase

1 – INTRODUÇÃO

1.1 - A doença de Chagas

A doença de Chagas, também conhecida como tripanossomíase americana, encontra-se entre as Doenças Tropicais Negligenciadas (DTN) com maiores taxas de prevalência no Brasil. Recebem essa denominação, pois não há investimento em projetos importantes que desenvolvam novos medicamentos, vacinas ou programas eficientes que possam controlá-las (Lindoso e Lindoso, 2009).

Cem anos após sua descoberta e descrição pelo médico Carlos Chagas, a doença de Chagas é ainda considerada uma doença negligenciada pela Organização Mundial da Saúde (OMS). Estima-se que em 2009 dez milhões de pessoas estavam infectadas no mundo pelo protozoário parasito *Trypanosoma cruzi*, causador da doença de Chagas, e mais de 10.000 mortes são estimadas anualmente (WHO, 2010). Tradicionalmente limitada à América Latina, a doença de Chagas torna-se um importante problema de saúde pública também nos Estados Unidos e na Europa, evidenciado por números crescentes de sua incidência. Uma provável causa é o fluxo contínuo de imigrantes de países que tem essa doença como endêmica (Tarleton, Reithinger *et al.*, 2007).

Sua transmissão ocorre através das fezes de insetos vetores hematófagos contaminados (triatomíneos), da ordem Hemiptera, família *Reduviidae*, conhecidos popularmente como barbeiros. Entre 25 a 30% dos infectados, evoluem para irreversíveis patologias cardíacas, do esôfago e do cólon, causando considerável morbidade e mortalidade. Estima-se ainda, que na América Latina haja cerca de 120 milhões de pessoas em risco de contraí-la (WHO, 2010).

Dados do Ministério da Saúde (2012) descrevem o perfil atual da doença de Chagas no Brasil, onde há o predomínio dos casos crônicos desta doença decorrentes de infecções adquiridas no passado, com aproximadamente três milhões de indivíduos infectados. Considerando a taxa de letalidade, pode-se observar que em casos de doença de Chagas aguda (DCA), ultrapassa 3% no último ano apresentado (Tabela 1).

Tabela 1 - Óbitos e taxa de letalidade dos casos de doença de Chagas Aguda no período de 2007 a 2011.

Óbitos e Taxa de Letalidade dos casos com DCA. Brasil, 2007 a 2011.

Ano	Nº Casos	Nº Óbitos	Letalidade (%)
2007	161	4	2,484
2008	131	1	0,763
2009	258	2	0,775
2010	133	4	3,008
2011	166	5	3,012

Fonte: SVS/MS. Dados sujeitos à modificação.

Atualizado até 31/05/2012

A transmissão se dá principalmente por duas vias: pelas fezes do vetor triatomíneo e por transfusão sanguínea. Porém, vale ressaltar o aumento dos casos relatados de transmissão oral (Valente *et al*, 2009). Nos últimos anos, surtos de DCA relacionados à ingestão de alimentos contaminados (caldo de cana, açaí, bacaba, entre outros) e casos isolados por transmissão vetorial extradomiciliar, vem ocorrendo especialmente na Amazônia Legal (Tabela 2). No período de 2000 a 2011, foram registrados no Brasil 1.252 casos de DCA, destes, 70% (877/1.252) foram por transmissão oral, 7% por transmissão vetorial (92/1.252), em 22% (276/1.252) não foi identificada a forma de transmissão (Gráfico 1) (MS, 2012).

Tabela 2 - Distribuição dos casos de doença de Chagas agudas no período de 2007 a 2011.

Casos de Doença de Chagas Aguda. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas, 2007 a 2011.

Região/ UF	2007	2008	2009	2010	2011	TOTAL
Norte	157	124	248	91	148	768
RO	0	0	0	1	1	2
AC	0	0	2	5	0	7
AM	28	0	3	23	12	66
RR	0	0	0	0	0	0
PA	109	99	233	59	113	611
AP	19	20	10	3	7	64
TO	1	5	0	0	15	21
Nordeste	3	7	1	21	10	42
MA	2	5	1	0	9	17
PI	1	1	0	8	1	11
CE	0	1	0	0	0	1
RN	0	0	0	0	0	0
PB	0	0	0	2	0	2
PE	0	0	0	9	0	9
AL	0	0	0	0	0	0
SE	0	0	0	2	0	2
BA	0	0	0	0	0	0
Sudeste	0	0	0	0	1	1
MG	0	0	0	0	0	0
ES	0	0	0	0	0	0
RJ	0	0	0	0	1	1
SP	0	0	0	0	0	0
Sul	0	0	4	3	0	7
PR	0	0	4	2	0	6
SC	0	0	0	0	0	0
RS	0	0	0	1	0	1
Centro-Oeste	1	0	5	18	7	31
MS	0	0	5	3	0	8
MT	1	0	0	0	1	2
GO	0	0	0	15	6	21
DF	0	0	0	0	0	0
Brasil	161	131	258	133	166	849

Fonte: SVS/MS. Dados sujeitos à modificação.

Atualizado até 31/05/2012

Casos Confirmados de DCA, segundo Ano de Notificação e Forma de Transmissão. Brasil, 2000 a 2011.

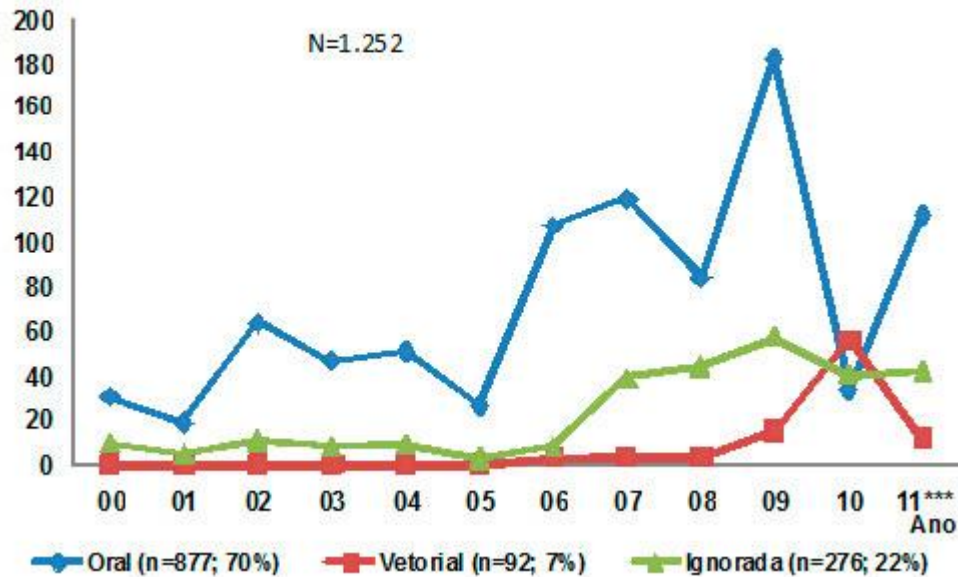


Gráfico 1 - casos confirmados de doença de Chagas aguda segundo ano de notificação e forma de transmissão, no períodos de 2000 a 2011

1.2 - Agente Etiológico e Ciclo de vida

O *T. cruzi* possui um ciclo biológico complexo. Apresenta um hospedeiro intermediário (triatomíneo) e um hospedeiro definitivo (mamífero). No tubo digestivo do triatomíneo, as formas evolutivas epimastigotas (não-infectivas e replicativas) se replicam por divisão binária. Durante a migração ao longo do tubo digestivo, os parasitos diferenciam-se nas formas infectivas tripomastigotas metacíclicas (não-replicativas e infectivas). As formas tripomastigotas metacíclicas podem ser liberadas junto com as fezes do inseto durante o repasto alimentar, podendo penetrar no hospedeiro vertebrado através de discontinuidades da pele ou mucosas. No hospedeiro vertebrado, os tripomastigotas metacíclicos invadem diversos tipos celulares e diferenciam-se nas formas amastigotas (replicativas e pouco infectivas), as quais se replicam e diferenciam-se nas formas

tripomastigotas sanguíneas (não-replicativas e infectivas), que, após liberadas, infectam novas células ou podem ser ingeridas pelo inseto fechando o ciclo (De Souza, 1984).

Nos hospedeiros vertebrados, *T. cruzi* comporta-se como um agente patogénico intracelular obrigatório que apresenta múltiplos mecanismos para manipular uma variedade de processos de células hospedeiras para a invasão. Dentro da célula, a forma infecciosa tripomastigota é temporariamente contida em uma vesícula membranar, o vacúolo parasitóforo e, posteriormente, o parasito escapa para o citosol, diferencia na forma amastigota, e replica por divisão binária. Este processo de replicação termina após vários ciclos, seguido de uma nova fase de diferenciação, em que os parasitos sofrem uma transição de volta para as formas tripomastigotas. Uma vez liberadas da célula, essas formas podem infectar as células vizinhas ou atingir a corrente sanguínea e circulam antes de aderir e penetrar novas células para iniciar outro ciclo de diferenciação e replicação.

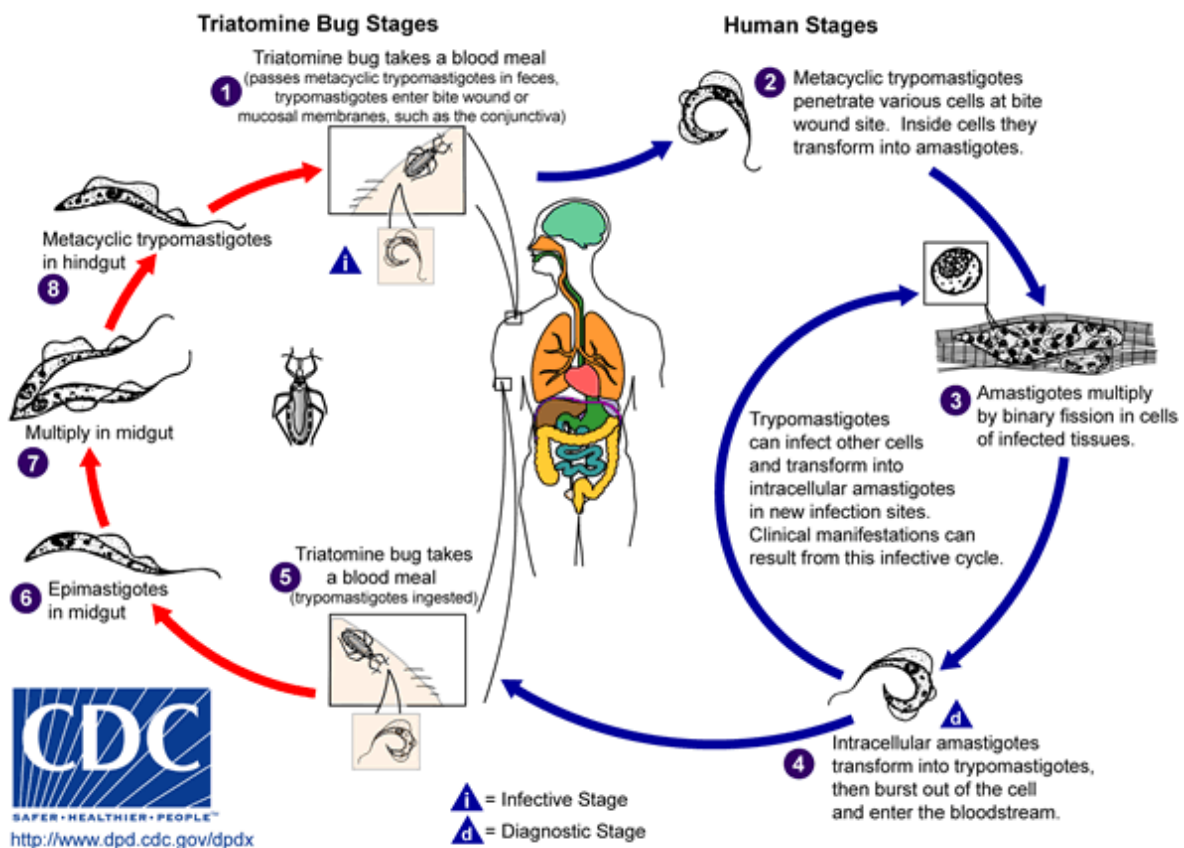


Figura 1 - Desenho esquemático do ciclo de vida de *T. cruzi*. (www.dpd.cdc.gov/dpdx)

Em consequência dos ambientes diversificados em que se apresenta, o parasito fica submetido a diversas mudanças de condições, como temperatura, nutrientes, *pH* e respostas imunes. Em resposta a estes fatores, ele modifica a expressão de certos genes de forma a se adaptar ao novo hábitat. O conhecimento da expressão de proteínas e das diferentes propriedades bioquímicas entre as formas do parasito pode levar à identificação de marcadores moleculares responsáveis por suas características biológicas assim como novos alvos de drogas.

1.3 - Progressão da doença de Chagas

A progressão da doença de Chagas divide-se basicamente em duas fases: aguda e crônica. A fase aguda é iniciada logo após a infecção, tem como características a alta parasitemia e a colonização de tecidos, neste momento apresentam-se apenas sintomas leves e inespecíficos. Entretanto, crianças e, menos frequentemente, adultos podem desenvolver sintomas severos após um período de incubação de 7 a 14 dias (Tanowitz, Kirchhoff *et al.*, 1992).

A presença do parasito induz acentuada resposta imunológica no indivíduo, e conseqüentemente diminuição da parasitemia a níveis sub-patentes, dando início à fase indeterminada ou crônica assintomática, onde a grande maioria dos casos não apresenta sintomas ou exames clínicos alterados. A fase indeterminada pode persistir por toda a vida do indivíduo e é nela que se encontra o maior número de pessoas infectadas (Prata, 2001). Entretanto, cerca de 20 a 30% dos casos podem progredir para as formas crônicas determinadas, evidenciadas geralmente após 10 a 25 anos de infecção, é caracterizada pela ausência de parasitos circulantes, presença ou ausência de formas amastigotas nos tecidos, presença de inflamação e lesões tissulares em determinados órgãos infectados, como coração e trato digestivo, levando a manifestações polarizadas. Assim temos duas formas principais: forma cardíaca, apresentando arritmias cardíacas,

eventos de tromboembolia ou insuficiência cardíaca congestiva (Tanowitz, Kirchhoff *et al.*, 1992); e a forma digestiva, apresentando distúrbios gastrointestinais (megaesôfago e megacólon) (Teixeira, Nascimento *et al.*, 2006). Tais manifestações estão relacionadas a fatores inerentes ao parasito (cepa, virulência, tropismo) e ao hospedeiro (idade, perfil da resposta imune) (DIAS, 2000).

1.4 - A invasão pelo *Trypanosoma cruzi*

O processo de invasão é o primeiro passo da interação parasito-hospedeiro. Para completar seu ciclo de vida, o *T. cruzi* invade a matriz extracelular e/ou células hospedeiras para se diferenciar na forma replicativa amastigota. O parasito utiliza vários fatores de excreção/secreção (o secretoma) e de ligantes a membrana do hospedeiro para ter sucesso na infecção e na virulência.

Alguns dos mecanismos de invasão de células pelo *T. cruzi* têm sido descritos por vários autores, que estudaram-na ao nível ultra-estrutural e também investigaram algumas das estratégias bioquímicas envolvidas na interação entre o parasito e a sua célula hospedeira (Di Noia, Pollevick *et al.*, 1996); (Ferreira, Cortez *et al.*, 2006); (Osuna, Castanys *et al.*, 1990) ; (Tardieux, Nathanson *et al.*, 1994); (Villalta, Smith *et al.*, 2001). Entre estes mecanismos, ocorrem alterações na célula hospedeira enquanto está sendo invadida pelo *T. cruzi*, incluindo um aumento nos níveis de cálcio citosólicos causado por sua liberação a partir dos depósitos intracelulares (Osuna, Gamarro *et al.*, 1986) ; (Pollevick, Di Noia *et al.*, 2000); (Rodriguez, Samoff *et al.*, 1996), seguindo da despolimerização dos filamentos de actina e do recrutamento de lisossomos na direção da membrana plasmática por um processo dependente de cinesina, que resulta na participação do citoesqueleto da célula hospedeira na invasão pelo parasito (Osuna, Gamarro *et al.*, 1986); (Rodriguez, Samoff *et al.*, 1996); (Tardieux, Nathanson *et al.*, 1994); (Tarleton, Reithinger *et al.*, 2007); (Villalta, Smith *et al.*, 2001).

Nos últimos 20 anos, muitos laboratórios têm procurado identificar os componentes da superfície do *T. cruzi*, implicados na invasão da célula hospedeira por tripomastigotas metacíclicos e tripomastigotas derivados de cultura de tecidos. A imagem que surge a partir destes estudos é que a penetração do *T. cruzi* nas células hospedeiras é um processo multi-passos, envolvendo várias moléculas do parasito e da célula hospedeira que, em uma série de eventos, leva à mobilização intracelular de Ca^{2+} em ambas as células (Burleigh e Andrews, 1998); (Yoshida e Cortez, 2008). Para invadir as células de mamíferos, tripomastigotas metacíclicos utilizam as glicoproteínas de superfície, tais como gp82, gp35/50, ou gp30, uma variante da gp82 expressa em isolados deficientes de gp82, mucinas e trans-sialidases (Yoshida e Cortez, 2008); (De Pablos, Gonzalez *et al.*, 2011); (Buscaglia, Campo *et al.*, 2006). Estes parasitos podem também tirar partido de componentes, tais como proteínas secretadas a partir da família de proteínas SAP (proteínas ricas em serina, alanina, prolina) (Baida, Santos *et al.*, 2006). Tripomastigotas usam uma série de componentes para atravessar a matriz extracelular e invadir a célula hospedeira, tais como Tc-85, gp83, Tc-1, cruzipaina, oligopeptidase B e POP Tc80 (Burleigh e Andrews, 1998); (Yoshida e Cortez, 2008). A título de exemplo, já foi caracterizado por Santana, Grellier e colaboradores (1997), que a POP Tc80 (prolil oligopeptidases do *T. Cruzi*) é capaz de degradar fibras de colágeno nativo em mesentério de rato e foi sugerido que ela é secretada mesmo não possuindo sequência sinal de secreção (Grellier, Vendeville *et al.*, 2001); (Bastos, Grellier *et al.*, 2005).

Então, produtos secretados por células desempenham papéis biológicos fundamentais através de uma ampla gama de parasitos. Que representa a interface primária entre o parasito e o hospedeiro, os componentes incluem proteínas envolvidas em processos biológicos como a migração celular, adesão celular, comunicação célula-célula, a proliferação, a diferenciação, a morfogênese e a regulação das respostas imunes (Vallejo, Nakayasu *et al.*, 2012).

1.5 - Secretoma ou Exoproteoma

O termo “Secretoma” foi utilizado pela primeira vez em um estudo de proteínas secretadas pelo *Bacillus subtilis* através da via clássica (Tjalsma, Bolhuis *et al.*, 2000). Os autores definiram o secretoma como um subconjunto do proteoma, que incluiu proteínas secretadas e os componentes da maquinaria celular utilizada para a secreção das mesmas. Usando métodos computacionais, alguns pesquisadores previram todas as proteínas do *B. subtilis* exportadas através de peptídeos sinal. Antelmann e colaboradores (2001), usando uma abordagem proteômica para caracterizar mais profundamente essas proteínas secretadas, mostrou que 50% das abordadas na previsão original foram identificadas corretamente. Estes e outros estudos nesta linha, juntamente com a disponibilidade do sequenciamento completo do genoma de diversos organismos, abriram portas para a identificação e análise dos secretomas de diversos organismos.

Quando consideramos o secretoma de eucariotos, podemos observar que o termo já foi utilizado de inúmeras formas, a fim de descrever diversos subgrupos do proteoma, como por exemplo: proteínas secretadas pela via clássica (Klee, 2008); proteínas processadas através da via secretora sem domínios transmembrana ou com um sinal de âncora do tipo glicosilfosfatidilinositol (Grimmond, Miranda *et al.*, 2003); (Lee, Wormsley *et al.*, 2003); e o subconjunto de proteínas identificadas no proteoma extracelular (Zwickl, Traxler *et al.*, 2005); (Chevallet, Diemer *et al.*, 2007).

Em células eucarióticas, a via de secreção clássica envolve o reconhecimento de uma sequência de sinal de proteínas a ser exportada, o que resulta na sua translocação através do retículo endoplasmático (RE) e entrega para o aparelho de Golgi (Schatz e Dobberstein, 1996); (Lee, Miller *et al.*, 2004). No entanto, várias proteínas funcionais que faltam peptídeos sinal previstos foram mostradas como sendo secretadas para o meio extracelular, estimulando muitos a postular a existência de mecanismos convencionais para a secreção de proteínas em eucariotos (Nickel, 2005); (Prudovsky, Mandinova *et al.*, 2003); (Stegmayer, Kehlenbach *et al.*, 2005); (Nickel e Rabouille, 2009).

O secretoma de mamíferos, através da perspectiva da proteômica, foi definido como o mapa quantitativo para a distribuição de todas as proteínas e lipídios na via clássica de secreção (Simpson, Mateos *et al.*, 2007). Considerando isto, estes estudos revelam que o termo secretoma foi utilizado, ou mal utilizado, de uma variedade de maneiras.

Considerando o proteoma e o secretoma de protozoários e parasitos, observamos que nas últimas duas décadas vêm surgindo um número crescentes de estudos nessa área, principalmente envolvendo tripanossomatídeos. Estes estudos visam principalmente identificar e caracterizar os “fatores de secreção e excreção”. Isto justifica-se devido à importância do secretoma na virulência do parasito, na modulação da resposta imune do hospedeiro e ao seu potencial para o desenvolvimento de vacinas e/ou alvos de drogas, por ser um mediador-chave da interação parasito-hospedeiro.

Aos tripanossomatídeos, o termo secretoma foi introduzido a cerca de quatro anos, em uma abordagem proteômica a fim de identificar proteínas extracelulares de cultura de *Leishmania donovani* (Silverman, Chan *et al.*, 2008). Da mesma forma, uma estratégia proteômica clássica foi utilizada para definir o secretoma como os fatores naturalmente “excretados/secretados” de *Trypanosoma congolense* e *Trypanosoma evansi* (Holzmuller, Biron *et al.*, 2008); (Grebaut, Chuchana *et al.*, 2009).

É bem sabido que *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp. não apenas secretam proteínas para o espaço extracelular, mas também ocorre libertação de vários fatores *in vitro* (Jazin, Luquetti *et al.*, 1991). No entanto, o mecanismo pelo qual estes e outros fatores são liberados por *Leishmania* spp. são desconhecidos. Assim, o termo “fatores de secreção e excreção” foi utilizado para incluir todas as moléculas que se encontram fora da célula, incluindo as proteínas secretadas.

Visto essa vasta abrangência em que foi utilizado o termo secretoma, para este estudo vamos considerar o secretoma de *T. cruzi* como as proteínas que foram transportadas para o exterior da célula, através de qualquer mecanismo de secreção. Estas proteínas podem ter sido secretadas ativamente, usando um mecanismo clássico ou não clássico, ou mediadas por exossomas.

Em tripanossomas, endocitose e exocitose ocorrem através da estrutura denominada bolsa flagelar (BF), uma pelicular invaginação da membrana. Este tráfego não é totalmente compreendido e requer proteínas como actina, clatrina, e GTPase Rab (Gull, 2003); (Field, Natesan *et al.*, 2007); (Garcia-Salcedo, Perez-Morga *et al.*, 2004). Então, as formas infectantes tripomastigotas do *T. cruzi* e promastigotas de *Leishmania spp* liberam *in vitro* por exocitose vesículas ativas ligadas à membrana lembrando exossomos de células de mamíferos (Geiger, Hirtz *et al.*, 2010). A relevância desta pesquisa se dá pela escassez de estudos amplos do secretoma de *T. cruzi* terem sido realizados até o momento, embora o secretoma de outros parasitos da ordem *kinetoplastida* já tenham sido descritos (Geiger, Hirtz *et al.*; Silverman, Chan *et al.*, 2008; Cuervo, De Jesus *et al.*, 2009).

De fato, recentemente foi publicado o primeiro trabalho de análise proteômica de formas de vida epimastigota e tripomastigota metacíclico do *Trypanosoma cruzi* (Bayer-Santos, Aguilar-Bonavides *et al.*, 2013). Foi evidenciado que *T. cruzi* libera proteínas secretadas por via clássica não-classica e associadas a vesículas por no mínimo dois mecanismos. Existem pequenas vesículas saindo da bolsa flagelar resultando no exosoma e largas vesículas nascendo da membrana plasmática resultando no ectosoma.

Exossomos são pequenas microvesículas liberadas a partir de células e têm sido objeto de investigação intensiva nos últimos anos. Vários laboratórios mostraram a importância de exossomos para a biologia celular e em particular para o sistema imunológico (Keller, Sanderson *et al.*, 2006).

O *T. cruzi* libera vesículas para o meio, contendo material de sua superfície (Goncalves, Umezawa *et al.*, 1991), isso deixa propor que tais vesículas seriam uma maneira de ativar e preparar a célula hospedeira para a invasão. Em meio de cultura, elas variam de tamanho, medindo entre 20 a 80 nm (Goncalves, Umezawa *et al.*, 1991). Apresentam em sua composição glicoproteínas presentes na superfície do parasito, como as mucinas, transialidases e o grupo Tc-85, algumas fosfatases e proteases.

2 – JUSTIFICATIVA

As drogas existentes para o tratamento da doença de Chagas são insatisfatórias, seja por não agirem de forma adequada na fase crônica ou até mesmo por sua grande toxicidade (Atwood, Weatherly *et al.*, 2005). Portanto, ressalta-se a importância de buscar novas estratégias de tratamento da doença, que utilizem a identificação de proteínas relevantes no ciclo de vida do parasito, as quais possam sofrer atuação de fármacos. Isso requer a compreensão detalhada da biologia do flagelado e dos seus mecanismos moleculares envolvidos na infecção e interação parasito-hospedeiro.

Geiger e colaboradores (2010) identificaram proteínas secretadas pelo *Trypanosoma brucei*, que inibem a maturação das células dendríticas e sua capacidade de induzir resposta linfocitária alogênico. Nten e colaboradores (2010) identificaram proteínas de duas cepas de *T. brucei*, que pertenciam a 12 diferentes classes funcionais. Corales, Sereno e Mathieu-Daudé (2010), publicaram uma revisão sobre as proteínas secretadas pelo parasito do gênero *Leishmania* e os seus mecanismos de secreção. Assim como esses trabalhos comprovam a importância da elucidação das proteínas secretadas pelos parasitas utilizados, pode-se afirmar que para o *T. cruzi* essa identificação contribui para o aumento da compreensão do processo de infecção e pode levar à identificação de alvos potenciais de drogas ou até mesmo auxiliar na concepção de uma vacina. Este trabalho poderá afirmar se algumas proteínas descritas por colaboradores deste projeto, são realmente secretadas como sugerido (Grellier, Vendeville *et al.*, 2001); (Bastos, Grellier *et al.*, 2005).

3 – OBJETIVOS

Investigar a composição do secretoma/excretoma de *Trypanosoma cruzi*, em especial o tripomastigota, a forma infectante nos hospedeiros mamíferos, por análise proteômica.

A fim de atingir os objetivos do projeto as seguintes etapas foram cumpridas:

Cultivo do *T. cruzi*, formas epimastigota e tripomastigota;

Ensaio *in vitro* de obtenção das proteínas secretadas/excretadas pelo epimastigota (para verificar a viabilidade das células);

Ensaio *in vitro* de obtenção das proteínas secretadas/excretadas pelo tripomastigota derivado de células de mamífero em cultura (verificando a viabilidade das células);

Identificação das proteínas secretadas/excretadas por nanoLC-MSMS e

Análises bioinformáticas das sequências de proteínas.

4 - MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os experimentos foram otimizados com parasitos na forma epimastigota e posteriormente com a forma tripomastigota.

4.1 - Cultura e obtenção de parasitos

Todos os parasitos foram obtidos da linhagem Y.

As formas epimastigotas foram obtidas por cultura em meio LIT (*liver infusion tryptose*) suplementado com 5% de soro bovino fetal (SBF), incubados a 25 °C.

Para obtenção das formas tripomastigotas, deixou-se uma cultura de epimastigota, sem trocar de meio, por 15 dias, para que alguns parasitos modificassem-se para formas infectantes tripomastigotas. Esta amostra foi utilizada para infecção de células L6, mantidos em meio Dulbecco modificado por Eagle (DMEM) suplementado com soro bovino fetal 5%, 100 µg/mL de gentamicina, a 37 °C em atmosfera contendo 5% CO₂.

Trocamos diariamente o meio, para o bom desenvolvimento da cultura e propagando-a a cada sete dias após tratamento com tripsina 0,1%.

A contagem de parasitos foi realizada usando diluições crescentes em câmara de Neubauer.

4.2 - Obtenção das proteínas secretadas

Para ambas as formas de vida, a cultura foi expandida até se obter um quantitativo esperado de epimastigotas (5×10^9) e tripomastigotas (1×10^9), foram lavados por três vezes com meio DMEM não suplementado, intercalando com centrifugações $2.500 \times g$ por 10 min a 4 °C. A incubação ocorreu com este mesmo meio por 3 horas, a forma epimastigota a 28°C e o tripomastigota a 37°C, assim como foi realizado por Cuervo e colaboradores (2010).

Para cada forma, este ensaio foi realizado em triplicata. A integridade e viabilidade dos parasitos foram monitoradas a cada 30 minutos com o teste de exclusão azul de Trypan para assegurar uma viabilidade de 98%. Além disso

houve contagem das células antes e após o experimento, obtendo a mesma quantidade e certificando-se desta forma que não houve lise celular durante a incubação.

Em suma, os sobrenadantes foram recolhidos após três etapas de centrifugações, primeiro a $2.000 \times g$ por 10 min a 4°C , na segunda etapa a $4.000 \times g$ por 10 min a 4°C e a terceira etapa a $6.000 \times g$ por 10 min a 4°C .

A solução foi liofilizada, ressuspensa em 1 ml e precipitada posteriormente com TCA (10% v/v) por 1 hora a -20°C e lavados por 3 vezes com acetona gelada, a $14.000 \times g$, 15 min, a 4°C .

A quantificação foi estimada por análise de aminoácidos.

4.3 - LC -MS/MS e análise de dados

As proteínas de interesse da forma tripomastigota foram analisadas por LC-MS/MS em colaboração. As amostras foram analisadas por um sistema EASY-nano LC (Proxeon Biosystems) acoplado a um espectrômetro de massa LTQ-Orbitrap Velos (Thermo Scientific). Os péptidos de cada fração foram carregados em um emissor de 18 cm de sílica fundido ($75 \mu\text{m}$ de diâmetro interno) embalado internamente com uma coluna de fase reversa de resina de ReproSil-Pur C18-AQ $3 \mu\text{m}$ (Dr. Maisch GmbH, Alemanha) e eluída utilizando um gradiente a partir de 100% da fase A (0,1% de ácido fórmico) 35% da fase B (0,1% de ácido fórmico, 95% de acetonitrilo) para 210 min para as frações de fosfopeptídeos e glicopeptídeo enriquecidas e 77 min de cada fração HILIC, 35% a 100% de fase B, durante 5 minutos e a fase B a 100% durante 8 min em um total de 223 min e 90 min a 250 nl / min. Depois de cada corrida, a coluna foi lavada com a fase B a 90% e re-equilibrada com a fase A. Os espectros de massa foram adquiridos em modo positivo aplicando dados dependentes de levantamento automático MS scan e espectros de massa em tandem (MS/MS) de aquisição. Cada varredura MS no Orbitrap (intervalo de massas de m/z de 400-1800 e resolução 60.000) foi seguido por MS/MS dos sete íons mais intensos do LTQ. A fragmentação do LTQ foi realizada por HCD e íons selecionados foram sequenciados de forma dinâmica e

excluídos durante 30s. Os dados brutos foram vistos em Xcalibur v.2.1 (Thermo Scientific) e o processamento dos dados foi realizado utilizando Discoverer Proteome v.1.3 (Thermo Scientific). Os arquivos brutos foram gerados e estes foram submetidos a pesquisa usando Discoverer Proteome com o Mascote V.2. 3 contra *Trypanosoma cruzi* gerado pelo Banco de dados em Demand Tool (<http://www.ebi.ac.uk/pride/dod/pages/dodStart.jsf>) e os banco de dados UniProt/SWISS-PROT e UniProt/TrEMBL como fonte . A pesquisa foi realizada com os seguintes parâmetros: MS de precisão 10 ppm, MS/MS precisão de 0,5 Da, digestão com tripsina permitido, a modificação carbamidomethyl fixo de cisteína e modificação variável de metionina oxidada assim como fosforilação da serina, treonina e resíduos de tirosina ou desamidação da asparagina para as frações fosfopeptídeos ou glicopeptídeos enriquecidas, respectivamente. O número de proteínas, os grupos de proteínas e o número de peptídeos foram filtrados por FDR menos do que 1%, em primeiro lugar com peptídeos e proteínas com pelo menos 2 peptídeos (exceto para as amostras de fosfopeptídeos ou glicopeptídeos enriquecidas) utilizando Discoverer Proteome (RESINGER e MARTENS; 2009).

4.4 - Enriquecimento de fosfopeptídeos por afinidade ao TiO₂

Entre 20 e 30 µg de amostra foram ressuspendidas em 1M ácido glicólico em ACN 80% / TFA 5% (v/v) e foi adicionado 0,3 mg de TiO₂ e incubada a temperatura ambiente sub agitação vigorosa por 10-15 min. Em seguida o microtubo será centrifugado brevemente para descer o TiO₂ com os fosfopeptídeos ligados e o sobrenadante, contendo peptídeos não fosforilados será transferido para outro tubo. O TiO₂ será lavado com ACN 80% / TFA 1% (v/v) e, depois, com ACN 10% / TFA 0,1% (v/v). Após as incubações e lavagens, os fosfopeptídeos foram eluídos com solução de amônia pH 11.

4.5 - Enriquecimento de glicopeptídeos

O “flow-through” (fração não aderida) foi combinado e lavado a partir do enriquecimento de fosfopeptídeos e foram submetidos a um enriquecimento com

glicopeptídeos e digestão PNGase F, tal como descrito no Anal Chem (Mysling, Palmisano *et al.*, 2010) com pequenas modificações.

Preparou-se uma suspensão de material de coluna em 100% de acetonitrilo, posteriormente fizeram microcolunas de HILIC com um plug de C8 em analogia com o método utilizado para a preparação de microcolunas de TiO₂. Limpou-se a coluna com 20 µL de tampão de eluição (99,5% H₂O e 5% de ácido fórmico) e, posteriormente, foi lavada e equilibrada com 40 µL de solução de equilíbrio (acetonitrila 80% e 1% TFA). A amostra foi colocada neste mesmo tampão e já rediluída, sobre a microcoluna com mais 10 µL desta solução, foi pressionada através da coluna utilizando uma seringa descartável de 1ml. O filtro foi utilizado para análise de peptídeos não glicosilados na amostra. A coluna foi lavada com 40 uL de solução de equilíbrio e os peptídeos foram eluídos em 10 uL de tampão de eluição.

4.6 - Proteínas consideradas como glicosiladas e fosforiladas

Somente N-glicopeptídeos com sitio de desamidação dentro da sequência consenso de PNGase (N-X-S/T/C, X ≠ P) e fosfopeptídeos com probabilidade pRS superior a 50% foram considerados para análises posteriores.

4.7 - Fracionamento HILIC

O “*flow-through*” das etapas de enriquecimento anteriores foram combinadas e separados em frações em uma coluna TSKGel 80 Amida HILIC (comprimento: 15 cm, diâmetro: 2 mm, tamanho de partícula: 3 µm) essencialmente como descrito por McNulty (2008).

4.8 - Análise de bioinformática das proteínas identificadas

A partir do arquivo FASTA das proteínas identificadas por LC-MS/MS utilizamos o programa Blast2GO para obter a anotação de função, processo biológico e localização celular.

Este programa é uma ferramenta web com interface Java (Java é uma linguagem de programação e uma plataforma de computação), para análise funcional de sequências, neste caso, de proteínas.

O programa nos permitiu buscar sequências similares (Altschul, Gish *et al.*, 1990), InterProScan – busca por assinaturas proteicas similares (Zdobnov e Apweiler, 2001), GO-Slim – um sub-conjunto dos termos do Gene Ontology (Ashburner, Ball *et al.*, 2000), Enzyme Code – busca do código da enzima (<http://www.chem.qmul.ac.uk/iubmb/enzyme/>) e KEGG - Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes – visualização dos mapas metabólicos onde os genes e/ou seus produtos atuam (Kanehisa e Goto, 2000) para determinar suas possíveis funções e ontologias.

As proteínas identificadas foram analisadas em termos de vias de secreção de mamíferos, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas de acordo com o SecretomeP 2.0 (<http://www.cbs.dtu.dk/services/SecretomeP/>). Se a rede neural exceder o valor de 0,5 (NN-score > 0,50), mas sem que o peptídeo sinal tenha sido previsto, considera-se a proteína como secretada através de uma via não clássica. Essas proteínas com uma sequência de sinal N-terminal prevista foram confirmados utilizando o SignalP 4.0 (Petersen, Brunak *et al.*, 2011), disponível em <http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/> (definido para eucariotos) e foram considerados como sendo secretadas através de uma via clássica (retículo endoplasmático - Golgi). Além disso, utilizou-se o FragAnchor, para atribuir as proteínas preditas ancora GPI (<http://navet.ics.hawaii.edu/~fraganchor/NNHMM/NNHMM.html>).

5 – RESULTADOS

Inicialmente os experimentos de incubação foram realizados com PBS, como descrito por Cuervo (2009) em sua pesquisa, porém, desta forma, acidificava-se rapidamente o meio levando os parasitos à morte e, conseqüente, lise celular. Por tal motivo, optou-se pela utilização de meio DEMEM sem suplementação para incubação no tempo necessário (três horas) sem inviabilizar o *T. cruzi*.

A viabilidade dos parasitos manteve-se constante e foi superior a 94% em todos os experimentos. Os tripanossomas incubados apresentaram morfologia e motilidade normal, isto indica que o secretoma resultou da exportação ativa das proteínas pelo parasito e não de lise celular.

A quantificação de proteínas por análise de aminoácidos estimou 212 µg de proteínas secretadas pela forma epimastigota (5×10^9 parasitos) e 60 µg pela tripomastigota (1×10^9 parasitos). Considerando uma quantidade de 1×10^9 células, obteve-se 42,4 µg de proteínas secretados pelo epimastigota.

Diversas técnicas propiciariam uma análise da amostra, optou-se pela espectrometria de massas para esta identificação, afim de obter uma abrangente caracterização das proteínas secretadas pela principal forma infectiva do *T. cruzi*, o tripomastigota.

Nas análises de espectrometria de massas, encontrou-se 535 proteínas diferentes no total no secretoma de tripomastigotas obtidos em cultura. Essas proteínas foram identificadas com 2 ou mais espectros MS/MS de peptídeos válidos. Realizou-se também estudos preliminares para determinar proteínas nas frações enriquecidas para glicopeptídeos e para fosfopeptídeos, onde foram encontradas, respectivamente, 24 e 40 proteínas.

5.1 - Proteínas totais

Nas análises utilizou-se um banco de dados não redundante, encontrou-se um total de 535 proteínas identificadas (Tabela 3). Dentre essas, pode-se observar que aproximadamente 80% (427) foram descritas como proteínas secretadas

quando analisadas através do SecretomeP (65%) ou SignalP(15%). E que entre os 20% restantes encontram-se proteínas que já foram observadas em estudos anteriores como secretadas por diferentes organismos, como a enolase.

Das proteínas preditas como secretadas, 82 foram positivas para secreção pela via clássica (SignalP) e 345 pela via não clássica (SecretomeP) (Gráfico 2).

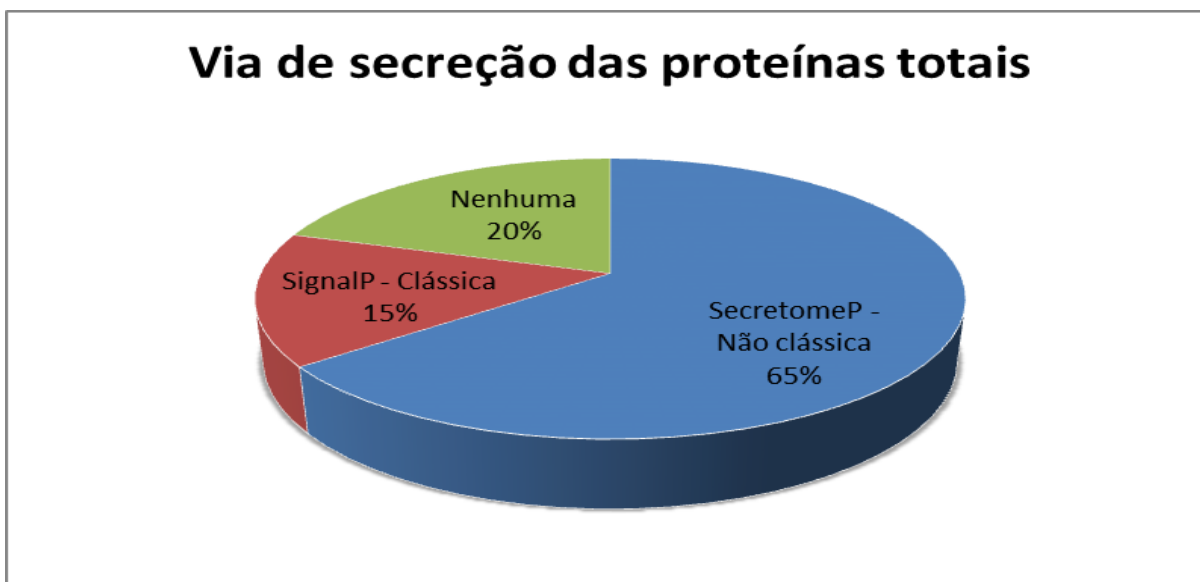


Gráfico 2 – Predição da via de secreção utilizada pelas proteínas identificadas, analisadas pelo SecretomeP e SignalP.

Tabela 3: Proteínas totais analisadas por meio do Blast2GO

Accession number	Description (Uniprot)	Gos Blast2GO	Enzyme Codes	GPI-anchor	SignalP	SecretomeP_mammalian	SecretomeP_gram positive	SecretomeP_gram negative
gi 10119900	pyruvate phosphate dikinase 2 [Trypanosoma cruzi]	F:ligase activity; C:glycosome; F:pyruvate, phosphate dikinase activity; F:kinase activity; P:phosphorylation; F:ATP binding; P:pyruvate metabolic process	EC:2.7.9.1	-	-	-	-	-
gi 10626	Heat shock protein 70 [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; F:ATP binding; P:response to stress	-	-	-	-	-	-
gi 1066332	Fe-superoxide dismutase [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; P:superoxide metabolic process; F:superoxide dismutase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.15.1.1	-	-	-	Yes	yes
gi 106775676	protein kinase-A catalytic subunit [Trypanosoma cruzi]	F:ATP binding; P:protein phosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity; F:protein tyrosine kinase activity	EC:2.7.11.0	-	-	-	-	-
gi 11161	Flagellum-Associated Protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	-	Yes	yes
gi 11163	Flagellum-Associated Protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	Yes	yes	yes
gi 115531	RecName: Full=Calmodulin; Short=CaM	C:flagellum; F:calcium ion binding	-	-	-	-	-	-
gi 118157	Cruzipain	F:cysteine-type endopeptidase activity; P:proteolysis	EC:3.4.22.0	-	yes	-	-	-
gi 120679	RecName: Full=Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, glycosomal; Short=GAPDH	C:glycosome; F:NAD binding; P:glycolysis; F:glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (NAD+) (phosphorylating) activity; P:oxidation-reduction process; F:NADP binding	EC:1.2.1.12	-	-	Yes	-	yes
gi 122061	RecName: Full=Histone H2B	C:nucleosome; F:DNA binding; P:nucleosome assembly; C:nucleus; F:protein heterodimerization activity	-	-	-	Yes	-	yes
gi 123603	RecName: Full=Heat shock 70 kDa protein	P:protein folding; F:ATP binding; P:response to stress	-	-	-	-	-	yes
gi 123667	RecName: Full=Heat shock-like 85 kDa protein	P:response to unfolded protein; C:centrosome; F:ATP binding; F:unfolded protein binding; P:protein refolding; F:ATPase activity, coupled; P:response to heat	-	-	-	-	-	-
gi 12643703	RecName: Full=Proteasome subunit alpha type-1; AltName: Full=Proteasome 29 kDa subunit; AltName:	C:cytoplasm; C:proteasome core complex, alpha-subunit complex; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; F:threonine-type endopeptidase activity	EC:3.4.25.0	-	-	-	-	-

Full=TCPR29

gi 129279126	trans-sialidase-like protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	Yes	yes	yes
gi 13346428	co-chaperone protein [Trypanosoma cruzi]	P:protein refolding; F:unfolded protein binding; P:response to unfolded protein; F:heat shock protein binding	-	-	-	-	-	yes
gi 13488615	iron superoxide dismutase A [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; P:superoxide metabolic process; F:superoxide dismutase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.15.1.1	-	-	-	-	yes
gi 13506836	pyruvate phosphate dikinase [Trypanosoma cruzi]	F:ligase activity; C:glycosome; F:pyruvate, phosphate dikinase activity; F:kinase activity; P:phosphorylation; F:ATP binding; P:pyruvate metabolic process	EC:2.7.9.1	-	-	-	-	-
gi 1389837	complement regulatory protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	yes	-	-	-
gi 14279174	aldo/keto reductase [Trypanosoma cruzi]	P:oxidation-reduction process; F:aldo-keto reductase (NADP) activity	-	-	-	Yes	-	-
gi 14600010	trypanothione reductase [Trypanosoma cruzi]	F:trypanothione-disulfide reductase activity; P:cell redox homeostasis; F:flavin adenine dinucleotide binding; C:cytoplasm; P:oxidation-reduction process; F:disulfide oxidoreductase activity	EC:1.8.1.12	Yes	-	Yes	-	-
gi 14600012	trypanothione reductase [Trypanosoma cruzi]	F:trypanothione-disulfide reductase activity; P:cell redox homeostasis; F:flavin adenine dinucleotide binding; C:cytoplasm; P:oxidation-reduction process; F:disulfide oxidoreductase activity	EC:1.8.1.12	Yes	-	Yes	-	-
gi 148251370	surface protein-2 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 148251378	surface protein-2 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	Yes	-	yes
gi 151558834	putative complement regulatory protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	-	yes	yes
gi 151558836	putative complement regulatory protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	Yes	yes	yes
gi 151558838	putative complement regulatory protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	-	yes	yes
gi 151558844	putative complement regulatory protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 151558846	putative FL-160-CRP protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes

gi 151558848	putative FL-160-CRP protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 151558850	putative FL-160-CRP protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 151558852	putative FL-160-CRP protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 151558854	putative FL-160-CRP protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 151558860	putative FL-160-CRP protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 152212387	P21 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	yes	-	-	-
gi 154347421	glycoprotein 82 kDa [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	Yes	-	Yes	yes	yes
gi 154347427	glycoprotein 82 kDa [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 154347429	glycoprotein 82 kDa [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 154347433	glycoprotein 82 kDa [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 159137078	transaldolase [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:sedoheptulose-7-phosphate:D-glyceraldehyde-3-phosphate glyceronetransferase activity; P:pentose-phosphate shunt	EC:2.2.1.2	-	-	-	-	-
gi 159157547	glycosomal glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; F:NAD binding; P:glycolysis; F:glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (NAD+) (phosphorylating) activity; P:oxidation-reduction process; F:NADP binding	EC:1.2.1.12	-	-	-	yes	yes
gi 162117	heat shock protein HSP70 [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; F:ATP binding; P:response to stress	-	-	-	-	-	yes
gi 162179	major paraflagellar rod protein [Trypanosoma cruzi]	C:cytoskeleton; F:calmodulin binding; C:cytoplasm; P:forward locomotion; C:microtubule-based flagellum; C:cilium; P:cellular component movement	-	-	-	Yes	-	-
gi 162268	sialidase [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 162315	trypomastigote surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 1781355	histone H2A [Trypanosoma cruzi]	C:nucleosome; F:DNA binding; P:nucleosome assembly; C:nucleus; F:protein heterodimerization activity	-	-	-	Yes	-	yes

gi 1800107	elongation factor 2 [Trypanosoma cruzi]	F:translation elongation factor activity; P:translational elongation; P:GTP catabolic process; F:GTPase activity; F:GTP binding C:microtubule; P:protein polymerization; P:microtubule cytoskeleton organization; P:GTP catabolic process; P:microtubule- based movement; P:cellular component movement; F:GTPase activity; F:structural constituent of cytoskeleton; C:cytoplasm;	-	-	-	-	-	-
gi 18568141	beta tubulin 2.3 [Trypanosoma cruzi]	F:GTP binding	-	-	-	Yes	-	-
gi 189396135	aldo-keto reductase [Trypanosoma cruzi]	P:oxidation-reduction process; F:aldo-keto reductase (NADP) activity C:cytoplasm; F:antioxidant activity; F:disulfide oxidoreductase activity; P:hydrogen peroxide catabolic process; P:cell redox homeostasis; P:oxidation- reduction process	-	-	-	Yes	-	-
gi 19171158	tryparedoxin [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis;	-	-	-	Yes	-	yes
gi 19263257	Tcc1i14-1.1 [Trypanosoma cruzi]	F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	yes	-	Yes	-	yes
gi 193299649	trans-sialidase [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 193299657	trans-sialidase [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 19424451	Tcc2i18.3 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	-	-
gi 19549237	Tcc1j12.4 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 19549240	Tcc1j12.7 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	yes	-	-	-
gi 205278868	heat shock protein 70 [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; F:ATP binding; P:response to stress P:DNA replication; P:protein folding;	-	-	-	-	-	-
gi 205278870	mitochondrial heat shock [Trypanosoma cruzi]	P:response to stress; C:kinetoplast; F:ATP binding; F:unfolded protein binding	-	-	-	-	-	yes
gi 205278876	amastigote surface protein 4 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 205278886	elongation factor alpha G5 [Trypanosoma cruzi]	F:translation elongation factor activity; P:translational elongation; P:GTP catabolic process; F:GTPase activity; C:cytoplasm; F:GTP binding	-	-	-	-	-	-
gi 21321389	surface glycoprotein GP90 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis F:metal ion binding; P:superoxide metabolic process; F:superoxide dismutase activity; P:oxidation-reduction process	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 2149612	iron superoxide dismutase B [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:1.15.1.1	-	-	-	yes	yes
gi 22209012	surface antigen PHGST#5 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes

gi 222354608	antigen [Trypanosoma cruzi]	C:intracellular; P:proteolysis; F:calcium-dependent cysteine-type endopeptidase activity	-	-	-	Yes	-	-
gi 2226088	Par3 [Trypanosoma cruzi]	C:cytoskeleton; F:calmodulin binding; C:cytoplasm; P:forward locomotion; C:microtubule-based flagellum; C:cilium; P:cellular component movement	-	-	-	Yes	-	-
gi 229463112	DNA polymerase beta [Trypanosoma cruzi]	F:DNA-directed DNA polymerase activity; P:DNA repair; F:DNA binding	EC:2.7.7.7	-	-	Yes	-	-
gi 23452221	amastigote cytoplasmic antigen [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	-	yes
gi 2623612	mucin-like protein [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	yes	-	-	-
gi 28195111	protein kinase A regulatory subunit [Trypanosoma cruzi]	P:regulation of protein phosphorylation; F:protein kinase activity; F:cAMP-dependent protein kinase regulator activity; C:cAMP-dependent protein kinase complex	-	-	-	-	-	-
gi 284180153	amastigote surface protein-2 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 2981057	sialidase homolog [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 2981059	sialidase homolog [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 3023478	RecName: Full=Chaperonin HSP60, mitochondrial; Short=Protein Cpn60; AltName: Full=Heat shock protein 60; AltName: Full=groEL protein; Flags: Precursor	P:protein refolding; P:protein import into mitochondrial matrix; P:protein complex assembly; F:ATP binding; C:mitochondrial matrix; F:unfolded protein binding; P:response to stress	-	-	-	-	-	-
gi 302595808	RecName: Full=Ubiquitin-60S ribosomal protein L40; Contains: RecName: Full=Ubiquitin; Contains: RecName: Full=60S ribosomal protein L40; Flags: Precursor	C:ribosome; C:vacuole; P:cellular protein modification process; P:response to UV-B; F:structural constituent of ribosome; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; P:translation; F:protein binding	-	-	-	-	-	-
gi 308517184	putative surface protein TASV-B-09 [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-	-
gi 308517218	putative surface protein TASV-C-19 [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-	-

gi 308517274	putative surface protein TASV-C-11 [Trypanosoma cruzi]	-	yes	yes	-	-	-
gi 322812882	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-	yes	-	-	yes	yes
gi 322812912	histone H3, putative [Trypanosoma cruzi]	C:nucleosome; F:DNA binding; P:nucleosome assembly; C:nucleus; F:protein heterodimerization activity	-	-	-	Yes	yes
gi 322812986	hypothetical protein TCSYLVIO_10599 [Trypanosoma cruzi]	F:nucleic acid binding	-	-	-	Yes	-
gi 322813050	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813056	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:transferase activity; P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes
gi 322813075	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813178	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813204	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes
gi 322813290	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813332	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813410	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813438	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes
gi 322813546	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813594	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813625	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813629	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	-	-	-	-
gi 322813652	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	-
gi 322813662	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes
gi 322813765	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes
gi 322813856	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes

gi 322813870	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322813881	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322813888	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322813892	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322813906	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	-	-	Yes	yes	yes
gi 322813944	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	-	yes
gi 322813960	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322813966	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	yes	-	-	yes	yes
gi 322813983	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322813997	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814018	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814041	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814050	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322814077	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814087	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814115	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814152	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814156	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	-	-	-	-	yes	yes
gi 322814172	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814240	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:transferase activity; P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814258	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814323	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes

gi 322814372	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi] hypothetical protein TCSYLVIO_10299	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814388	[Trypanosoma cruzi] trans-sialidase, putative	C:cytoplasm F:exo-alpha-sialidase activity;	-	-	yes	-	-	-
gi 322814390	[Trypanosoma cruzi]	P:pathogenesis P:thiamine biosynthetic process;	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814393	NADH-dependent fumarate reductase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; F:succinate dehydrogenase activity; F:fumarate reductase (NADH) activity; F:electron carrier activity;	EC:1.3.99.1; EC:1.3.1.6	-	yes	-	-	-
gi 322814407	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi] hypothetical protein TCSYLVIO_10270	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322814488	[Trypanosoma cruzi] trans-sialidase, putative	- F:exo-alpha-sialidase activity;	-	-	-	-	-	-
gi 322814507	[Trypanosoma cruzi]	P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814508	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322814518	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi] mucin-associated surface protein (MASP), putative	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814573	[Trypanosoma cruzi] trans-sialidase, putative	- F:exo-alpha-sialidase activity;	-	-	-	-	yes	yes
gi 322814584	[Trypanosoma cruzi]	P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322814663	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814671	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814678	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814684	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814695	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi] hypothetical protein TCSYLVIO_10199	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322814746	[Trypanosoma cruzi] trans-sialidase, putative	- F:exo-alpha-sialidase activity;	-	-	-	Yes	-	-
gi 322814755	[Trypanosoma cruzi]	P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322814801	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814828	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes

gi 322814855	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814879	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis		-	-	-	yes	yes
gi 322814894	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814900	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322814908	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814928	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814931	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814943	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322814947	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814952	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322814961	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322814966	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-		yes	yes	-	-	-
gi 322814968	aminopeptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; P:proteolysis; F:manganese ion binding; F:metalloexopeptidase activity; F:aminopeptidase activity	EC:3.4.11.0	yes	-	Yes	-	-
gi 322814989	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis		yes	-	-	yes	yes
gi 322814994	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322815003	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322815027	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322815035	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322815045	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	-	-	-	-	yes	yes
gi 322815049	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322815184	mitochondrial RNA binding protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:RNA modification; P:RNA secondary structure unwinding; F:RNA binding; P:DNA duplex unwinding; F:double- stranded DNA binding; C:mitochondrion; P:regulation of transcription, DNA- dependent; P:response to cold; F:single-	-	-	-	-	yes	yes

		stranded DNA binding; C:nucleus							
gi 322815302	isocitrate dehydrogenase [NADP], mitochondrial precursor, putative [Trypanosoma cruzi]	F:NAD binding; F:isocitrate dehydrogenase (NADP+) activity; F:magnesium ion binding; P:tricarboxylic acid cycle; P:isocitrate metabolic process; C:mitochondrion	EC:1.1.1.42	-	-	-	-	-	-
gi 322815446	triosephosphate isomerase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:fatty acid biosynthetic process; P:pentose-phosphate shunt; F:triose-phosphate isomerase activity; P:glycolysis; P:gluconeogenesis; C:glycosome	EC:5.3.1.1	-	-	-	-	-	-
gi 322815479	ATPase beta subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:plasma membrane ATP synthesis coupled proton transport; F:hydrogen-exporting ATPase activity, phosphorylative mechanism; F:hydrogen ion transporting ATP synthase activity, rotational mechanism; C:mitochondrial proton-transporting ATP synthase complex, catalytic core F(1); F:ATP binding; F:proton-transporting ATPase activity, rotational mechanism; P:ATP hydrolysis coupled proton transport; F:GTP binding	EC:3.6.3.6	-	-	-	-	-	-
gi 322815486	eukaryotic initiation factor 5a, putative [Trypanosoma cruzi]	F:translation initiation factor activity; P:translational initiation; F:translation elongation factor activity; P:translational frameshifting; P:peptidyl-lysine modification to hypusine; P:positive regulation of translational termination; F:ribosome binding; F:protein binding; P:positive regulation of translational elongation; C:cytoplasm	-	-	-	-	yes	yes	
gi 322815489	protein phosphatase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein dephosphorylation; F:metal ion binding; F:protein serine/threonine phosphatase activity; C:protein serine/threonine phosphatase complex	-	-	-	-	-	-	-
gi 322815638	cyclophilin A [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; P:protein peptidyl-prolyl isomerization; C:cytosol; F:peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity; C:flagellum	EC:5.2.1.8	-	-	-	-	-	yes
gi 322815641	isocitrate dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:NAD binding; F:isocitrate dehydrogenase (NADP+) activity; F:magnesium ion binding; P:tricarboxylic acid cycle; P:isocitrate metabolic process	EC:1.1.1.42	-	-	-	-	-	-
gi 322815663	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	
gi 322815675	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	
gi 322815687	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes	

gi 322815689	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	-	yes
gi 322815715	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322815717	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322815734	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322815759	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322815761	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322815794	calpain cysteine peptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:intracellular; P:proteolysis; F:calcium- dependent cysteine-type endopeptidase activity	-	-	-	-	-	yes
gi 322815799	calpain-like cysteine peptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:intracellular; P:proteolysis; F:calcium- dependent cysteine-type endopeptidase activity	-	-	-	-	yes	yes
gi 322815816	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 322815834	hypothetical protein TCSYLVIO_9492 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	Yes	yes	yes
gi 322815950	phosphoglycerate kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; F:phosphoglycerate kinase activity; P:phosphorylation; F:ATP binding; P:glycolysis	EC:2.7.2.3	-	-	-	-	-
gi 322816045	adenylate kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:adenylate kinase activity; P:nucleotide biosynthetic process; P:phosphorylation; P:nucleobase-containing small molecule interconversion; F:ATP binding	EC:2.7.4.3	-	-	Yes	-	-
gi 322816170	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322816172	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322816221	arginine kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:ATP binding; P:phosphorylation; F:arginine kinase activity	EC:2.7.3.3	-	-	-	-	-
gi 322816239	40S ribosomal protein S3, putative [Trypanosoma cruzi]	F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; P:ribosome biogenesis; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:translation	-	-	-	Yes	-	-
gi 322816246	glutamate dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:glutamate catabolic process to 2- oxoglutarate; F:glutamate dehydrogenase (NAD+) activity; C:mitochondrion; P:oxidation-reduction process; F:nucleotide binding	EC:1.4.1.2	-	-	-	-	-
gi 322816304	proliferative cell nuclear antigen (PCNA), putative	F:DNA polymerase processivity factor activity; F:DNA binding; P:regulation of	-	-	-	Yes	-	-

	[Trypanosoma cruzi]	DNA replication; C:PCNA complex; C:nucleus P:negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle; P:positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle; F:threonine-type endopeptidase activity; P:anaphase-promoting complex-dependent proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:cytoplasm; C:nucleus; C:proteasome core complex,							
gi 322816363	proteasome beta-1 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	beta-subunit complex	EC:3.4.25.0	-	-	Yes	yes	yes	
gi 322816486	hypothetical protein TCSYLVI0_9079 [Trypanosoma cruzi]	F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component		-	-	-	-	-	
gi 322816535	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-	
gi 322816545	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes	
gi 322816699	hypothetical protein TCSYLVI0_8934 [Trypanosoma cruzi]	-		-	yes	-	-	-	
gi 322816762	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes	
gi 322816771	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	-	yes	
gi 322816773	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	-	yes	
gi 322816796	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	
gi 322816798	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-	
gi 322816860	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis		yes	yes	-	-	-	
gi 322816909	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes	
gi 322816928	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-	
gi 322817045	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes	
gi 322817073	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	
gi 322817082	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-		-	yes	-	-	-	
gi 322817092	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	-	-	-	-	yes	

gi 322817101	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 322817103	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322817159	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322817203	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322817248	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322817270	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322817311	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis		-	yes	-	-	-
gi 322817366	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322817436	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322817464	hypothetical protein TCSYLVIO_8586	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322817546	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	-		-	-	-	-	-
gi 322817614	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322817748	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	-	yes
gi 322817766	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322817830	succinyl-CoA synthetase alpha subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:tricarboxylic acid cycle; F:succinate-CoA ligase (ADP-forming) activity; F:ATP citrate synthase activity; F:succinate-CoA ligase (GDP-forming) activity; F:cofactor binding; F:nucleotide binding	EC:6.2.1.5; EC:2.3.3.8; EC:6.2.1.4	-	-	Yes	-	-
gi 322817894	3-oxo-5-alpha-steroid 4- dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:oxidoreductase activity, acting on the CH-CH group of donors; P:lipid metabolic process		-	-	yes	-	-
gi 322817902	pyruvate dehydrogenase E1 beta subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:oxidation-reduction process; F:pyruvate dehydrogenase (acetyl-transferring) activity	EC:1.2.4.1	-	-	-	-	-
gi 322817954	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322817989	hypothetical protein TCSYLVIO_8307	-		-	-	Yes	-	-
gi 322818025	60S ribosomal protein L34, putative	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation		-	-	-	Yes	yes

	[Trypanosoma cruzi]								
gi 322818031	heat shock protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; F:ATP binding; P:response to stress	-	-	-	-	-	-	-
gi 322818143	citrate synthase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:cellular carbohydrate metabolic process; ; C:mitochondrial matrix; F:citrate (Si)-synthase activity; P:tricarboxylic acid cycle F:citrate hydro-lyase (cis-aconitate-forming) activity; P:response to oxidative stress; C:cytosol; F:copper ion binding; C:cell wall; P:ethylene biosynthetic process; P:cellular response to iron ion; C:mitochondrion; P:response to salt stress; F:1-aminocyclopropane-1-carboxylate oxidase activity; P:cellular response to fatty acid; F:isocitrate hydro-lyase (cis-aconitate-forming) activity; C:vacuolar membrane; F:4 iron, 4 sulfur cluster binding; P:cellular response to potassium ion starvation; F:ATP binding; F:mRNA 5'-UTR binding; P:response to abscisic acid stimulus; F:aconitate hydratase activity; P:isocitrate metabolic process; P:cellular response to nitric oxide; C:chloroplast; P:response to cadmium ion; P:citrate metabolic process; C:plasma membrane; C:apoplast	EC:2.3.3.1	-	-	-	Yes	-	-
gi 322818173	aconitase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:carbohydrate metabolic process; F:maltose alpha-glucosidase activity; F:carbohydrate binding	EC:4.2.1.3; EC:1.14.17.4	-	-	-	-	-	-
gi 322818229	hypothetical protein TCSYLVI0_8136 [Trypanosoma cruzi]		EC:3.2.1.20	-	-	-	-	-	-
gi 322818256	hypothetical protein TCSYLVI0_8119 [Trypanosoma cruzi]	-		-	-	-	-	-	-
gi 322818257	pyruvate kinase 2, putative [Trypanosoma cruzi]	F:pyruvate kinase activity; P:phosphorylation; F:potassium ion binding; F:ATP binding; F:magnesium ion binding; P:glycolysis	EC:2.7.1.40	-	-	-	-	-	-
gi 322818298	hypothetical protein TCSYLVI0_8079 [Trypanosoma cruzi]	-		-	-	-	-	yes	yes
gi 322818341	hypothetical protein, conserved [Trypanosoma cruzi]	C:clathrin coat of trans-Golgi network vesicle; P:vesicle-mediated transport; P:intracellular protein transport; F:structural molecule activity; C:clathrin coat of coated pit		-	-	-	Yes	yes	yes
gi 322818346	hypothetical protein TCSYLVI0_8043 [Trypanosoma cruzi]	F:sequence-specific DNA binding		-	-	-	Yes	-	yes

gi 322818364	C-terminal motor kinesin, putative [Trypanosoma cruzi]	P:microtubule-based movement; F:ATP binding; P:intracellular protein transport; C:cytoplasmic microtubule; F:microtubule motor activity; C:microtubule associated complex	-	-	-	-	-	-
gi 322818400	arginase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; F:hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds, in linear amidines C:glycosome; P:cellular carbohydrate metabolic process; F:L-malate dehydrogenase activity; P:malate metabolic process; P:tricarboxylic acid cycle;	EC:3.5.3.0	-	-	Yes	-	-
gi 322818443	glycosomal malate dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:nucleotide binding	EC:1.1.1.37	-	-	-	-	-
gi 322818499	hypothetical protein TCSYLVIO_7942 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	-	-
gi 322818545	peptidylprolyl isomerase-like, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; F:isomerase activity; F:protein binding	-	-	-	Yes	-	-
gi 322818571	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322818583	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322818641	succinyl-CoA ligase [GDP-forming] beta-chain, putative [Trypanosoma cruzi]	F:succinate-CoA ligase (GDP-forming) activity; F:ATP binding; P:tricarboxylic acid cycle; F:succinate-CoA ligase (ADP-forming) activity; C:mitochondrion	EC:6.2.1.4; EC:6.2.1.5	-	-	-	-	-
gi 322818664	40S ribosomal protein S24E, putative [Trypanosoma cruzi]	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation; F:nucleotide binding	-	-	-	-	yes	yes
gi 322818698	40S ribosomal protein S6, putative [Trypanosoma cruzi]	C:ribosome; P:regulation of cell proliferation; F:structural constituent of ribosome; P:regulation of cell growth; P:translation	-	-	-	Yes	-	yes
gi 322818915	F:ATP-dependent helicase activity; P:nucleobase-containing compound metabolic process; F:nucleic acid binding; F:ATP binding	ATP-dependent RNA helicase, putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	yes	yes
gi 322819003	hypothetical protein TCSYLVIO_7569 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	-	-
gi 322819013	t-complex protein 1, eta subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; C:chaperonin-containing T-complex; P:regulation of cell cycle; F:ATP binding; F:unfolded protein binding	-	-	-	-	-	-
gi 322819024	calmodulin, putative [Trypanosoma cruzi]	F:calcium ion binding	-	-	-	Yes	-	-
gi 322819064	poly(A)-binding protein, putative [Trypanosoma]	F:protein binding; F:nucleotide binding; F:mRNA 3'-UTR binding; F:poly(A) RNA	-	-	-	-	-	yes

	cruzi]	binding; C:precatalytic spliceosome; P:spermatid nucleus differentiation; P:positive regulation of translation; C:catalytic step 2 spliceosome; P:RNA processing; P:synaptic transmission; P:meiosis; C:microtubule associated complex; P:meiosis cytokinesis; P:oogenesis; P:dorsal/ventral pattern formation; C:lipid particle							
gi 322819121	hypothetical protein TCSYLVIO_7481 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	yes	yes	
gi 322819183	proteasome alpha 1 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:regulation of cellular amino acid metabolic process; P:positive regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle; C:polysome; P:viral reproduction; P:negative regulation of ubiquitin-protein ligase activity involved in mitotic cell cycle; F:threonine-type endopeptidase activity; C:proteasome core complex, alpha-subunit complex; P:S phase of mitotic cell cycle; F:NF-kappaB binding; C:nuclear matrix; F:RNA binding; P:M/G1 transition of mitotic cell cycle; P:anaphase-promoting complex-dependent proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; P:positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity; P:regulation of inflammatory response; P:regulation of apoptotic process; P:mRNA metabolic process; P:DNA damage response, signal transduction by p53 class mediator resulting in cell cycle arrest; C:mitochondrion	EC:3.4.25.0	-	-	-	-	-	-
gi 322819192	NIMA-related kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:ATP binding; P:protein phosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity; F:protein binding; F:phospholipid binding	EC:2.7.11.0	-	-	-	-	-	-
gi 322819215	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	-	-
gi 322819217	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	yes
gi 322819321	heat shock protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; P:response to stress; F:ATP binding; F:unfolded protein binding; F:ATPase activity, coupled; C:mitochondrion	-	-	-	-	-	-	-
gi 322819376	60S acidic ribosomal protein P0 [Trypanosoma cruzi]	F:structural constituent of ribosome; P:ribosome biogenesis; C:large ribosomal subunit; P:translational elongation	-	-	-	-	-	-	-

	hypothetical protein TCSYLVIO_7149								
gi 322819629	[Trypanosoma cruzi] threonyl-tRNA synthetase, putative [Trypanosoma cruzi]	-	F:threonine-tRNA ligase activity; F:ATP binding; P:threonyl-tRNA aminoacylation; C:cytosol	EC:6.1.1.3	-	-	-	-	-
gi 322819645	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322819688	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322819720	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322819888	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 322819907	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 322819921	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322819959	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322819966	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322819977	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322820004	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	-
gi 322820059	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-			yes	yes	-	-	-
gi 322820099	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322820101	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322820124	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]		F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322820174	NADH-dependent fumarate reductase, putative [Trypanosoma cruzi]		P:thiamine biosynthetic process; C:glycosome; F:succinate dehydrogenase activity; F:fumarate reductase (NADH) activity; F:electron carrier activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.3.99.1; EC:1.3.1.6	-	-	Yes	-	-
gi 322820260	NADH-dependent fumarate reductase, putative [Trypanosoma cruzi]		P:thiamine biosynthetic process; C:glycosome; F:succinate dehydrogenase activity; F:fumarate reductase (NADH) activity; F:electron carrier activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.3.99.1; EC:1.3.1.6	-	-	-	-	-
gi 322820262	aspartate aminotransferase, putative [Trypanosoma cruzi]		C:cytoplasm; F:pyridoxal phosphate binding; P:L-methionine salvage from methylthioadenosine; F:L-aspartate:2- oxoglutarate aminotransferase activity	EC:2.6.1.1	-	-	-	-	-

gi 322820275	proteasome activator protein PA26, putative [Trypanosoma cruzi]	P:proteasomal protein catabolic process; C:proteasome-activating nucleotidase complex; P:ATP catabolic process; C:proteasome activator complex; P:GTP catabolic process; F:ATPase activity; P:protein unfolding; F:CTPase activity; F:GTPase activity	EC:3.6.1.3	-	-	Yes	-	-
gi 322820290	60S ribosomal protein L18a, putative [Trypanosoma cruzi]	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation	-	-	-	Yes	-	yes
gi 322820307	40S ribosomal protein S3a, putative [Trypanosoma cruzi]	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation	-	-	-	-	-	-
gi 322820318	ATP-dependent DEAD/H RNA helicase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:nucleic acid binding; F:ATP binding; P:nucleobase-containing compound metabolic process; F:ATP-dependent helicase activity	-	-	-	-	-	-
gi 322820329	hypothetical protein TCSYLVIO_6822 [Trypanosoma cruzi]	F:oxidoreductase activity; F:coenzyme binding; P:oxidation-reduction process	-	-	-	-	-	-
gi 322820477	phosphomannomutase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:mannose biosynthetic process; F:metal ion binding; F:fructose 1,6-bisphosphate 1-phosphatase activity; P:protein targeting to ER; F:phosphomannomutase activity; F:protein binding; C:cytosol	EC:3.1.3.11; EC:5.4.2.8	-	-	Yes	-	-
gi 322820493	universal minicircle sequence binding protein (UMSBP) [Trypanosoma cruzi]	F:zinc ion binding; F:nucleic acid binding	-	-	-	Yes	yes	yes
gi 322820539	transitional endoplasmic reticulum ATPase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:ATPase activity; F:ATP binding; C:cytoplasm; P:cell division	EC:3.6.1.3	-	-	-	-	-
gi 322820794	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322820862	hypothetical protein TCSYLVIO_6438 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	yes	yes
gi 322820998	2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:gluconeogenesis; F:manganese ion binding; F:2,3-bisphosphoglycerate-independent phosphoglycerate mutase activity; P:glycolysis; C:cytosol	-	-	-	-	-	-
gi 322821023	protein disulfide isomerase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; F:electron carrier activity; P:cell redox homeostasis; P:glycerol ether metabolic process; F:protein disulfide isomerase activity; F:protein disulfide oxidoreductase activity;	EC:5.3.4.1	-	yes	-	-	-

		C:endoplasmic reticulum							
gi 322821027	chaperonin, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; C:chaperonin-containing T-complex; P:regulation of cell cycle; F:ATP binding; F:unfolded protein binding	-	-	-	Yes	-	-	-
gi 322821087	malate dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:cellular carbohydrate metabolic process; F:L-malate dehydrogenase activity; P:malate metabolic process; P:tricarboxylic acid cycle; C:mitochondrion; F:nucleotide binding	EC:1.1.1.37	-	-	-	-	-	yes
gi 322821137	enolase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cell surface; C:phosphopyruvate hydratase complex; F:phosphopyruvate hydratase activity; F:magnesium ion binding; P:glycolysis	EC:4.2.1.11	-	-	-	-	-	-
gi 322821360	60S ribosomal protein L13, putative [Trypanosoma cruzi]	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation	-	-	-	Yes	-	-	yes
gi 322821386	enoyl-CoA hydratase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:enoyl-CoA hydratase activity	EC:4.2.1.17	-	-	Yes	-	-	-
gi 322821392	dynamamin, putative [Trypanosoma cruzi]	F:GTP binding; P:GTP catabolic process; F:GTPase activity	-	-	-	-	-	-	-
gi 322821395	aminopeptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metallopeptidase activity; P:proteolysis; F:zinc ion binding; F:aminopeptidase activity	EC:3.4.11.0	-	-	-	-	-	-
gi 322821453	fumarate hydratase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:fumarate hydratase activity; P:generation of precursor metabolites and energy	EC:4.2.1.2	-	-	Yes	-	-	-
gi 322821474	paraflagellar rod protein 3, putative [Trypanosoma cruzi]	F:calmodulin binding; P:forward locomotion; C:microtubule-based flagellum; P:cellular component movement	-	-	-	Yes	-	-	-
gi 322821589	guanine deaminase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:zinc ion binding; F:guanine deaminase activity; P:guanine catabolic process	EC:3.5.4.3	-	-	Yes	-	-	-
gi 322821597	high mobility group protein, putative [Trypanosoma cruzi]	C:nucleus; F:DNA binding; F:protein binding	-	-	-	yes	yes	yes	yes
gi 322821621	lipophosphoglycan biosynthetic protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; C:cytoplasm; F:unfolded protein binding; F:ATP binding; P:response to stress	-	-	yes	-	-	-	-
gi 322821648	cofilin/actin depolymerizing factor, putative [Trypanosoma cruzi]	F:actin binding; C:intracellular	-	-	-	Yes	-	-	-
gi 322821683	26S proteasome regulatory non-ATPase subunit, putative	P:regulation of protein catabolic process; F:binding; F:enzyme regulator activity; C:proteasome complex; P:regulation of	-	-	-	Yes	-	-	-

	[Trypanosoma cruzi]	catalytic activity							
gi 322821768	RNA-binding protein, putative [Trypanosoma cruzi]	F:RNA binding; P:RNA processing; C:nucleus; F:nucleotide binding	-	-	-	-	-	-	yes
gi 322822088	surface protein TolT, putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	-	-	Yes	-	-
gi 322822100	iron superoxide dismutase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; P:superoxide metabolic process; F:superoxide dismutase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.15.1.1	-	-	-	-	yes	yes
gi 322822136	nucleoside diphosphate kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:nucleoside diphosphate phosphorylation; F:nucleoside diphosphate kinase activity; F:metal ion binding; P:UTP biosynthetic process; F:ATP binding; P:GTP biosynthetic process; C:cytoplasm; P:CTP biosynthetic process; C:nucleus	EC:2.7.4.6	-	-	-	Yes	-	-
gi 322822155	hypothetical protein TCSYLVIO_5484 [Trypanosoma cruzi]	F:protein binding		-	-	-	-	-	-
gi 322822172	pyrroline-5-carboxylate synthetase-like protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:oxidation-reduction process; P:hyperosmotic salinity response; F:glutamate-5-semialdehyde dehydrogenase activity; P:response to abscisic acid stimulus; P:proline biosynthetic process; C:chloroplast; P:embryo development ending in seed dormancy; F:glutamate 5-kinase activity	EC:1.2.1.41	-	-	-	Yes	-	-
gi 322822190	chaperonin alpha subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; C:chaperonin-containing T-complex; P:regulation of cell cycle; F:ATP binding; F:unfolded protein binding	-	-	-	-	Yes	-	-
gi 322822192	F:hydrolase activity; P:N-acetylglucosamine catabolic process; F:glucosamine-6-phosphate deaminase activity		EC:3.5.99.6	-	-	-	yes	-	-
gi 322822198	glucosamine-6-phosphate isomerase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:flavin adenine dinucleotide binding; F:disulfide oxidoreductase activity; P:cell redox homeostasis; P:glycolysis; F:dihydrolipoyl dehydrogenase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.8.1.4	-	-	-	-	-	-
gi 322822254	dihydrolipoyl dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:enoyl-CoA hydratase activity; F:isomerase activity	EC:4.2.1.17	-	-	-	Yes	-	-
gi 322822302	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:anchored to membrane; F:exo-alpha-sialidase activity; C:plasma membrane; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	Yes	-	yes

gi 322822309	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	-	-	-	yes	yes
gi 322822313	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322822322	hypothetical protein TCSYLVIO_5368 [Trypanosoma cruzi]	C:flagellum		-	-	-	-	-
gi 322822346	25 kDa translation elongation factor 1-beta [Trypanosoma cruzi]	F:translation elongation factor activity; C:eukaryotic translation elongation factor 1 complex; P:translational elongation		-	-	-	Yes	yes
gi 322822467	hypothetical protein TCSYLVIO_5262 [Trypanosoma cruzi]	F:calcium ion binding		-	-	-	Yes	yes
gi 322822573	hypothetical protein TCSYLVIO_5179 [Trypanosoma cruzi]	F:protein binding		-	-	-	-	-
gi 322822580	antigenic protein, putative [Trypanosoma cruzi]	-		-	-	-	-	-
gi 322822583	hypothetical protein TCSYLVIO_5171 [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; P:translational initiation; F:translation initiation factor activity; F:nucleotide binding; P:RNA processing		-	-	-	Yes	-
gi 322822648	hypothetical protein TCSYLVIO_5124 [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm		-	-	-	-	-
gi 322822797	glutamate dehydrogenase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:cellular amino acid metabolic process; P:oxidation-reduction process; F:glutamate dehydrogenase (NADP+) activity; F:nucleotide binding	EC:1.4.1.4	yes	-	-	-	yes
gi 322822800	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322822812	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis		yes	yes	-	-	-
gi 322822899	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322822905	hypothetical protein TCSYLVIO_4910 [Trypanosoma cruzi]	P:NAD biosynthetic process; F:kynureninase activity; P:tryptophan catabolic process; C:cytoplasm; F:pyridoxal phosphate binding	EC:3.7.1.3	yes	-	Yes	-	-
gi 322822962	kynureninase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:nucleolus; P:G2/M transition of mitotic cell cycle		-	-	-	-	-
gi 322822993	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	yes	-	-	-	-
gi 322823034	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-

gi 322823114	fatty acyl CoA synthetase 2, putative [Trypanosoma cruzi]	P:fatty acid metabolic process; C:membrane; F:long-chain fatty acid-CoA ligase activity; F:fatty-acyl-CoA synthase activity	EC:6.2.1.3; EC:2.3.1.86	-	-	-	-	-
gi 322823143	eukaryotic initiation factor 4a, putative [Trypanosoma cruzi]	P:translational initiation; F:ATP-dependent helicase activity; F:ATP binding; F:RNA cap binding; F:translation initiation factor activity; C:cytosol		-	-	-	-	-
gi 322823186	S-adenosylmethionine synthetase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:ATP binding; P:one-carbon metabolic process; F:methionine adenosyltransferase activity; F:magnesium ion binding; P:S-adenosylmethionine biosynthetic process; P:methanogenesis	EC:2.5.1.6	-	-	Yes	-	-
gi 322823214	hypothetical protein TCSYLVIO_4743 [Trypanosoma cruzi]	F:transferase activity, transferring glycosyl groups; C:flagellum		-	-	-	yes	yes
gi 322823230	valyl-tRNA synthetase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; P:valyl-tRNA aminoacylation; F:ATP binding; F:valine-tRNA ligase activity; F:aminoacyl-tRNA editing activity	EC:6.1.1.9	-	-	-	-	-
gi 322823311	hypothetical protein TCSYLVIO_4663 [Trypanosoma cruzi]	F:protein binding		-	-	-	-	yes
gi 322823509	pyridoxal kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:phosphorylation; F:pyridoxal kinase activity; P:pyridoxal 5'-phosphate salvage	EC:2.7.1.35	-	-	Yes	-	-
gi 322823550	p22 protein precursor, putative [Trypanosoma cruzi]	C:mitochondrial matrix		-	-	Yes	-	-
gi 322823578	hypothetical protein TCSYLVIO_4448 [Trypanosoma cruzi]	-		-	-	yes	-	-
gi 322823696	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322823704	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes
gi 322823716	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes
gi 322823951	calreticulin, putative [Trypanosoma cruzi]	F:glucosidase activity; ; P:protein folding; F:transferase activity, transferring glycosyl groups; F:calcium ion binding; F:unfolded protein binding; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum		-	-	yes	-	-
gi 322824039	serine/threonine-protein kinase A, putative [Trypanosoma cruzi]	F:ATP binding; P:protein phosphorylation; F:protein serine/threonine kinase activity; F:protein binding; F:phospholipid binding	EC:2.7.11.0	-	-	Yes	-	-
gi 322824150	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	yes	yes

gi 322824152	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	-
gi 322824155	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322824269	trichohyalin, putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	Yes	-	-
gi 322824312	proteasome regulatory non-ATPase subunit 2, putative [Trypanosoma cruzi]	P:proteasomal ubiquitin-dependent protein catabolic process; F:binding; F:endorpeptidase activity; C:proteasome regulatory particle; F:enzyme regulator activity; P:regulation of protein catabolic process; P:regulation of catalytic activity	-	-	-	-	-	-
gi 322824377	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding P:protein folding; C:endoplasmic reticulum lumen; F:peptide binding; P:protein peptidyl-prolyl isomerization; F:peptidyl- prolyl cis-trans isomerase activity	EC:3.4.24.0	yes	-	-	yes	-
gi 322824549	cyclophilin, putative [Trypanosoma cruzi] hypothetical protein TCSYLVIO_3789	-	EC:5.2.1.8	-	yes	-	-	-
gi 322824552	[Trypanosoma cruzi]	F:protein binding	-	-	-	-	yes	yes
gi 322824569	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322824582	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	-	-	yes	yes
gi 322824678	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	-	yes
gi 322824774	10 kDa heat shock protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; P:response to stress; C:mitochondrial matrix; F:unfolded protein binding C:cytoplasmic membrane-bounded vesicle; F:electron carrier activity; P:cell redox homeostasis; P:glycerol ether metabolic process; F:isomerase activity; F:protein disulfide oxidoreductase activity;	-	-	-	-	-	yes
gi 322824776	protein disulfide isomerase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:endoplasmic reticulum C:cytoplasm; F:aminoacyl-tRNA ligase activity; P:asparagine biosynthetic process; F:ATP binding; P:tRNA aminoacylation for protein translation; F:aspartate-ammonia ligase activity	-	-	yes	-	-	-
gi 322824808	asparagine synthetase A, putative [Trypanosoma cruzi]	-	EC:6.3.1.1	-	-	-	-	-
gi 322824810	glutathione peroxidase- like protein, putative [Trypanosoma cruzi]	F:glutathione peroxidase activity; P:response to oxidative stress; P:oxidation- reduction process	EC:1.11.1.9	-	-	-	yes	yes
gi 322824812	glutathione peroxidase- like protein, putative	F:glutathione peroxidase activity; P:response to oxidative stress; P:oxidation-	EC:1.11.1.9	yes	-	-	yes	yes

	[Trypanosoma cruzi]	reduction process							
gi 322824838	protein kinase C substrate protein, heavy chain, putative [Trypanosoma cruzi]	P:response to stimulus; F:protein kinase C binding; P:protein folding; C:endoplasmic reticulum lumen; P:phosphorylation; F:kinase activity; P:cellular protein modification process	-	-	yes	-	-	-	-
gi 322824871	heat shock protein 70 (HSP70), putative [Trypanosoma cruzi]	F:ATP binding; P:response to stress	-	-	-	-	-	-	-
gi 322824975	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	yes
gi 322825003	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-	-
gi 322825031	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	-	-	-	-	yes	yes	yes
gi 322825118	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	Yes	yes	yes	yes
gi 322825269	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes	yes
gi 322825315	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	-	-	yes	-	-	-	-
gi 322825361	methylthioadenosine phosphorylase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:S-methyl-5-thioadenosine phosphorylase activity; P:nucleoside metabolic process; F:phosphorylase activity	EC:2.4.2.28	yes	-	-	-	-	-
gi 322825616	hypothetical protein TCSYLVIO_3190 [Trypanosoma cruzi]	F:protein binding	-	-	-	Yes	-	-	-
gi 322825689	seryl-tRNA synthetase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:ATP binding; P:seryl-tRNA aminoacylation; F:serine-tRNA ligase activity	EC:6.1.1.11	-	-	-	-	-	-
gi 322825731	14-3-3 protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:DNA damage checkpoint; F:protein domain specific binding; F:protein phosphorylated amino acid binding; P:regulation of mitosis; C:nucleus	-	-	-	-	-	-	-
gi 322825777	aminopeptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; P:proteolysis; F:manganese ion binding; F:metalloexopeptidase activity; F:aminopeptidase activity	EC:3.4.11.0	-	-	-	-	-	-
gi 322825814	hypothetical protein TCSYLVIO_3044 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	yes	yes	yes
gi 322825927	fumarate hydratase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:fumarate hydratase activity; P:generation of precursor metabolites and energy; P:fumarate metabolic process	EC:4.2.1.2	-	-	Yes	-	-	-
gi 322825992	malic enzyme, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; F:NAD binding; P:malate metabolic process; C:mitochondrion; P:oxidation-reduction process; F:malate dehydrogenase	EC:1.1.1.0	-	-	-	-	-	-

		(oxaloacetate-decarboxylating) activity						
		F:metal ion binding; F:NAD binding; P:malate metabolic process; C:mitochondrion; P:oxidation-reduction process; F:malate dehydrogenase (oxaloacetate-decarboxylating) activity	EC:1.1.1.0	-	-	-	-	-
gi 322825994	malic enzyme, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826055	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	IgE-dependent histamine-releasing factor, putative [Trypanosoma cruzi]						
gi 322826089	hypothetical protein TCSYLVIO_2835 [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm F:calcium ion binding; P:proteolysis; F:calcium-dependent cysteine-type endopeptidase activity; C:intracellular F:flavin adenine dinucleotide binding; P:electron transport chain; P:tricarboxylic acid cycle; F:succinate dehydrogenase activity; F:electron carrier activity		-	-	-	Yes	-
gi 322826102	hypothetical protein TCSYLVIO_2801 [Trypanosoma cruzi]			-	-	-	Yes	-
gi 322826109	succinate dehydrogenase flavoprotein, putative [Trypanosoma cruzi]		EC:1.3.99.1	-	-	-	-	-
gi 322826156	hypothetical protein TCSYLVIO_2779 [Trypanosoma cruzi]			-	yes	-	-	-
gi 322826188	hypothetical protein TCSYLVIO_2779 [Trypanosoma cruzi]	C:flagellum F:ligase activity; F:pyridoxal phosphate binding; P:threonine catabolic process; P:biosynthetic process; F:transferase activity, transferring nitrogenous groups; F:glycine C-acetyltransferase activity	EC:2.3.1.29	-	-	-	yes	yes
gi 322826211	2-amino-3-ketobutyrate coenzyme A ligase, putative [Trypanosoma cruzi]							
gi 322826288	eukaryotic translation initiation factor 1A, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; P:translational initiation; F:translation initiation factor activity F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis		-	-	-	Yes	-
gi 322826333	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322826340	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826342	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; F:N-acetyltransferase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826360	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826362	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826367	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:transferase activity; P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-

gi 322826375	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:transferase activity; P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826563	thimet oligopeptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytosol; F:metalloendopeptidase activity; C:mitochondrion; P:proteolysis	EC:3.4.24.0	-	-	Yes	-	-
gi 322826564	thimet oligopeptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metalloendopeptidase activity; P:peptide metabolic process; P:intracellular protein kinase cascade; P:proteolysis	EC:3.4.24.0	-	-	Yes	-	-
gi 322826596	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826622	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322826825	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-	-
gi 322826866	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	-	yes
gi 322826874	heat shock protein DnaJ, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:metal ion binding; F:heat shock protein binding; P:response to unfolded protein; F:ATP binding; F:unfolded protein binding; P:protein refolding; P:response to heat	-	-	-	-	yes	yes
gi 322826961	glycosomal phosphoenolpyruvate carboxykinase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; F:microtubule binding; P:gluconeogenesis; F:kinase activity; P:phosphorylation; F:phosphoenolpyruvate carboxykinase (ATP) activity; C:vesicle membrane; F:ATP binding	EC:4.1.1.49	-	-	-	-	-
gi 322827257	3-ketoacyl-CoA thiolase, putative [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; C:mitochondrion; F:acetyl-CoA C-acyltransferase activity	EC:2.3.1.16	-	-	-	-	-
gi 322827284	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322827324	aldose 1-epimerase-like protein, putative [Trypanosoma cruzi]	F:carbohydrate binding; P:hexose metabolic process; F:isomerase activity	-	-	-	yes	yes	yes
gi 322827371	hypothetical protein TCSYLVIO_2103 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	-	-
gi 322827466	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-	-
gi 322827554	iron superoxide dismutase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; P:superoxide metabolic process; F:superoxide dismutase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.15.1.1	-	-	-	-	yes
gi 322827645	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 322827714	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes

gi 322827748	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322827860	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 322827864	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 322827866	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 322827869	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322827878	fructose-bisphosphate aldolase, glycosomal, putative [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; P:glycolysis; F:fructose- bisphosphate aldolase activity	EC:4.1.2.13	-	-	yes	yes	yes
gi 322827884	fructose-bisphosphate aldolase, glycosomal, putative [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; P:glycolysis; F:fructose- bisphosphate aldolase activity	EC:4.1.2.13	-	-	-	-	-
gi 322827986	ubiquitin-like protein, putative [Trypanosoma cruzi]	P:cellular process; F:protein binding C:cytoplasm; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:proteasome core complex, beta-subunit complex; C:nucleus;	-	-	-	-	yes	yes
gi 322828019	proteasome beta 2 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	F:threonine-type endopeptidase activity F:translation elongation factor activity;	EC:3.4.25.0	-	-	-	yes	-
gi 322828024	elongation factor 2, putative [Trypanosoma cruzi]	P:translational elongation; P:GTP catabolic process; F:GTPase activity; F:GTP binding C:nucleosome; F:DNA binding;	-	-	-	-	-	-
gi 322828079	histone H4, putative [Trypanosoma cruzi]	P:nucleosome assembly; C:nucleus; F:protein heterodimerization activity F:DNA binding; F:protein serine/threonine phosphatase activity; P:histone modification; P:DNA-dependent transcription, initiation; P:protein dephosphorylation; C:nucleus	-	-	-	-	-	-
gi 322828093	phosphoprotein phosphatase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:GTP binding; P:small GTPase mediated signal transduction; F:GTPase activity;	-	-	-	-	-	-
gi 322828281	small GTP-binding protein Rab1, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein transport	-	-	-	-	-	yes
gi 322828338	peptide methionine sulfoxide reductase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:peptide-methionine-(S)-S-oxide reductase activity; P:oxidation-reduction process; P:cellular protein modification process	EC:1.8.4.11	-	-	-	-	-
gi 322828353	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	yes	yes
gi 322828368	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes

gi 322828370	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	-	-	-	yes	yes
gi 322828393	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322828411	mucin-associated surface protein (MASP), putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-
gi 322828425	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322828520	S-adenosylhomocysteine hydrolase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; P:S-adenosylmethionine cycle; F:[methionine synthase] reductase activity; F:adenosylhomocysteinase activity; P:one-carbon metabolic process; P:oxidation-reduction process; F:nucleotide binding	EC:1.16.1.8; EC:3.3.1.1	-	-	-	-
gi 322828527	14-3-3 protein, putative [Trypanosoma cruzi]	F:DNA binding; F:protein domain specific binding; P:Ras protein signal transduction; F:protein phosphorylated amino acid binding	-	-	-	-	-
gi 322828528	phosphoenolpyruvate mutase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:phosphoenolpyruvate mutase activity; F:metal ion binding; P:metabolic process	EC:5.4.2.9	-	-	yes	-
gi 322828563	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322828923	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	yes	-	-
gi 322828937	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322828975	40S ribosomal protein SA, putative [Trypanosoma cruzi]	F:receptor activity; C:organellar small ribosomal subunit; F:structural constituent of ribosome; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:translation	-	-	-	yes	-
gi 322829135	hypothetical protein TCSYLVIO_983 [Trypanosoma cruzi]	F:calcium ion binding	-	-	-	yes	-
gi 322829184	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322829186	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322829205	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes
gi 322829207	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	-	-	-	yes
gi 322829257	GTP-binding nuclear protein rtb2, putative [Trypanosoma cruzi]	P:small GTPase mediated signal transduction; P:nucleocytoplasmic transport; P:GTP catabolic process; F:GTPase activity; P:intracellular protein	-	-	-	yes	yes

		transport; C:nucleus; F:GTP binding; C:membrane							
gi 322829343	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	
gi 322829372	hypothetical protein TCSYLVIO_865 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	yes		yes	yes	
gi 322829389	proteasome alpha 7 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	C:proteasome core complex, alpha-subunit complex; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; F:threonine- type endopeptidase activity	EC:3.4.25.0	-	-	-	-	-	
gi 322829463	aminopeptidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:metallopeptidase activity; P:proteolysis; F:zinc ion binding; F:aminopeptidase activity	EC:3.4.11.0	-	-	-	-	-	
gi 322829466	40S ribosomal protein S4, putative [Trypanosoma cruzi]	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; P:translation C:cytoplasm; F:adenylosuccinate synthase activity; P:purine nucleotide biosynthetic process; F:GTP binding; F:magnesium ion binding	-	-	-	yes	-	-	
gi 322829472	adenylosuccinate synthetase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:nucleic acid binding C:microtubule cytoskeleton; F:calcium ion binding; F:structural constituent of cytoskeleton	EC:6.3.4.4	-	-	-	yes	yes	
gi 322829583	hypothetical protein TCSYLVIO_718 [Trypanosoma cruzi]	F:calcium ion binding; P:cell cycle; C:microtubule basal body	-	-	-	yes	-	-	
gi 322829681	I/6 autoantigen, putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	-	yes	
gi 322829685	centrin, putative [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	yes	-	-	
gi 322829704	hypothetical protein TCSYLVIO_634 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	-	-	-	
gi 322829788	hypothetical protein TCSYLVIO_577 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	yes	-	-	
gi 322829932	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes	
gi 322829987	hypothetical protein TCSYLVIO_459 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	yes	-	-	-	
gi 322830007	nucleoside phosphorylase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:purine-nucleoside phosphorylase activity; P:nucleoside metabolic process	EC:2.4.2.1	-	-	-	yes	-	
gi 322830056	hypothetical protein TCSYLVIO_415 [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	yes	yes	yes	
gi 322830189	hypothetical protein TCSYLVIO_337 [Trypanosoma cruzi]	F:protein binding	-	-	-	yes	yes	yes	

	[Trypanosoma cruzi]								
	hypothetical protein TCSYLVIO_320	F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component; F:nucleic acid binding							
gi 322830215	[Trypanosoma cruzi] calpain-like cysteine peptidase, putative	F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component				yes		-	yes
gi 322830271	[Trypanosoma cruzi] hypothetical protein TCSYLVIO_233	P:cell redox homeostasis; F:oxidoreductase activity; P:oxidation-reduction process; F:antioxidant activity						yes	yes
gi 322830328	[Trypanosoma cruzi] adenosine 5'-monophosphoramidase, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytosol; F:adenosine 5'-monophosphoramidase activity; P:metabolic process; C:nucleus; C:cytosolic ribosome; C:vacuole; C:proteasome core complex, alpha-subunit complex; P:response to cadmium ion; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; F:threonine-type endopeptidase activity; C:mitochondrion							
gi 322830340		F:RNA binding; F:pseudouridylyl synthase activity; P:rRNA modification; C:nucleolus; F:telomerase activity; C:telomerase holoenzyme complex; P:telomere maintenance via telomerase; P:pseudouridine synthesis; F:pseudouridine synthase activity; F:snoRNP binding; C:nucleoplasm; P:tRNA modification	EC:3.4.25.0	-	-	-			
gi 322830351	proteasome alpha 3 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	C:proteasome core complex, alpha-subunit complex; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; C:cytosol; F:threonine-type endopeptidase activity	EC:3.4.25.0	-	-	-			
gi 322830409	centromere/microtubule binding protein cbf5, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; C:proteasome core complex, alpha-subunit complex; P:ubiquitin-dependent protein catabolic process; C:nucleus; F:threonine-type endopeptidase activity	EC:4.2.1.70; EC:5.4.99.12	-	-	-			
gi 322830416	proteasome alpha 5 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:adenylate kinase activity; P:nucleotide biosynthetic process; F:ATP binding; P:nucleotide phosphorylation	EC:3.4.25.0	-	-	-			
gi 322830427	proteasome alpha 2 subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:2.7.4.3	-	-	-			
gi 322830507	adenylate kinase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0	-		yes			
gi 322830515	surface protease GP63, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-		yes			
gi 322830543	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]								

gi 322830546	trans-sialidase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 322830558	t-complex protein 1, delta subunit, putative [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; C:chaperonin-containing T-complex; P:regulation of cell cycle; F:ATP binding; F:unfolded protein binding	-	yes	-	-	-	-
gi 322830560	40S ribosomal protein S23, putative [Trypanosoma cruzi]	F:structural constituent of ribosome; F:RNA binding; C:cytosolic small ribosomal subunit; P:translation	-	-	-	yes	yes	yes
gi 323099908	trans-sialidase [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 32401136	unknown [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	-	yes	yes
gi 32401139	unknown [Trypanosoma cruzi]	C:anchored to membrane; P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; C:plasma membrane; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 33867787	21 kDa cyclophilin [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; P:protein peptidyl-prolyl isomerization; F:peptidyl-prolyl cis-trans isomerase activity	EC:5.2.1.8	-	-	yes	-	yes
gi 340366507	hypothetical protein [Trypanosoma cruzi]	-	-	-	-	yes	yes	yes
gi 34539505	c71 surface protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	-	yes	yes	yes
gi 34539511	unknown [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	-	-	yes	yes
gi 348658698	3-hydroxy-3- methylglutaryl-CoA reductase [Trypanosoma cruzi]	F:NADP binding; P:isoprenoid biosynthetic process; C:integral to membrane; P:coenzyme A metabolic process; F:hydroxymethylglutaryl-CoA reductase (NADPH) activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.1.1.34	-	-	yes	-	-
gi 34922663	RecName: Full=Kinetoplastid membrane protein 11; Short=KMP-11 mucin-associated surface protein, partial	C:cytoplasm; P:entry into host cell; C:flagellum; C:cilium; P:positive regulation of cell proliferation; P:defense response; P:ciliary or flagellar motility; P:T cell proliferation; P:cytoskeleton organization; C:microtubule	-	-	-	yes	-	yes
gi 351735226	[Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-	-
gi 351735228	mucin-associated surface protein, partial [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-	-
gi 35181448	serine carboxypeptidase precursor [Trypanosoma cruzi]	F:serine-type carboxypeptidase activity; P:proteolysis	EC:3.4.16.0	-	yes	-	-	-
gi 356493849	leucine aminopeptidase, partial	C:cytoplasm; P:proteolysis; F:manganese ion binding; F:metalloexopeptidase activity; F:aminopeptidase activity	EC:3.4.11.0	-	-	-	-	-

gi 356494093	superoxide dismutase, partial surface glycoprotein	F:metal ion binding; P:superoxide metabolic process; F:superoxide dismutase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.15.1.1	-	-	yes	yes	yes
gi 3599495	Tc85-11 [Trypanosoma cruzi]	P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 3661541	poly-zinc finger protein 1 [Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:zinc ion binding; F:nucleic acid binding	-	-	-	yes	yes	yes
gi 37730606	Tc85-45 [Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 37778147	Tc-85/11 [Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 37778153	Tc-85/16 [Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 37778163	Tc-85/32 [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 378940545	actin TeSTII [Trypanosoma cruzi]	P:cytoskeleton organization; C:cytoplasm; F:ATP binding; C:actin cytoskeleton; F:structural constituent of cytoskeleton	-	-	-	-	-	-
gi 4038461	surface glycoprotein	F:protein binding	-	-	-	-	-	-
gi 409262	[Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 409264	[Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 409266	[Trypanosoma cruzi] surface glycoprotein	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 4234959	ToIT3 [Trypanosoma cruzi]	-	-	yes	yes	-	-	-
gi 432485	trans-sialidase [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 4388655	peroxiredoxin [Trypanosoma cruzi]	C:IkappaB kinase complex; P:response to lipopolysaccharide; P:hydrogen peroxide catabolic process; P:negative regulation of cysteine-type endopeptidase activity involved in apoptotic process; F:protein C-terminus binding; F:peroxiredoxin activity; F:protein kinase binding; P:negative regulation of kinase activity; F:cysteine-type endopeptidase inhibitor activity involved in apoptotic process; P:negative regulation of neuron apoptotic process; F:peroxidase activity; P:cell redox homeostasis; P:positive regulation of cell	EC:1.11.1.15; EC:1.11.1.7; EC:1.8.1.12	-	-	yes	-	-

gi 4539689	calreticulin [Trypanosoma cruzi] RecName: Full=Elongation factor 1-gamma; Short=EF-1-gamma; AltName: Full=eEF-1B gamma	proliferation; P:maternal placenta development; F:identical protein binding; P:regulation of mitochondrial membrane potential; P:myeloid cell differentiation; C:early endosome; P:mitochondrion organization; P:oxidation-reduction process; P:positive regulation of NF-kappaB transcription factor activity; F:trypanothione-disulfide reductase activity; C:mitochondrion F:glucosidase activity; ; P:protein folding; F:transferase activity, transferring glycosyl groups; F:calcium ion binding; F:unfolded protein binding; C:integral to membrane; C:endoplasmic reticulum	-	-	yes	-	-	-
gi 461995	85 kDa surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:translation elongation factor activity; C:eukaryotic translation elongation factor 1 complex; P:translational elongation; F:protein binding	-	-	-	yes	-	-
gi 46949035	85 kDa surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 46949037	85 kDa surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 46949059	85 kDa surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; C:mitochondrion; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 46949061	metallicarboxypeptidase [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 47076074	[Trypanosoma cruzi]	P:proteolysis; F:metallocarboxypeptidase activity	EC:3.4.17.0	-	-	-	-	-
gi 47559179	elongation factor 2 [Trypanosoma cruzi]	F:translation elongation factor activity; P:translational elongation; P:GTP catabolic process; F:GTPase activity; F:GTP binding	-	-	-	-	-	-
gi 50659756	heat shock protein 70 [Trypanosoma cruzi]	P:protein folding; P:response to stress; P:SRP-dependent cotranslational protein targeting to membrane; F:ATP binding; C:endoplasmic reticulum	-	-	yes	-	-	-
gi 508813	surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 508815	surface glycoprotein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	yes	yes	yes
gi 531496	Flagellum-Associated Protein [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-

gi 54288743	putative aspartate aminotransferase [Trypanosoma cruzi]	C:cytoplasm; F:pyridoxal phosphate binding; P:L-methionine salvage from methylthioadenosine; F:L-aspartate:2-oxoglutarate aminotransferase activity	EC:2.6.1.1	-	-	-	-	-
gi 54288745	putative aspartate-ammonia ligase [Trypanosoma cruzi]	C:anchored to membrane; F:exo-alpha-sialidase activity; C:plasma membrane;	EC:6.3.1.1	-	-	yes	-	-
gi 544414	RecName: Full=85 kDa surface antigen; Flags: Precursor	C:cytoplasm; F:aminoacyl-tRNA ligase activity; P:asparagine biosynthetic process; F:ATP binding; P:tRNA aminoacylation for protein translation; F:aspartate-ammonia ligase activity	EC:3.2.1.18	yes	yes	-	-	-
gi 55741314	cyclic nucleotide phosphodiesterase [Trypanosoma cruzi]	P:pathogenesis	EC:3.1.4.17	-	-	yes	-	-
gi 5762307	microtubule-associated protein homolog [Trypanosoma cruzi]	F:metal ion binding; P:metabolic process; C:cytoplasm; P:signal transduction; F:3',5'-cyclic-nucleotide phosphodiesterase activity; P:cell proliferation; F:protein binding		-	-	yes	yes	yes
gi 57648429	heavy chain clathrin [Trypanosoma cruzi]	C:clathrin coat of coated pit; P:transferrin transport; F:structural molecule activity; F:protein binding; C:clathrin coat of trans-Golgi network vesicle; P:epidermal growth factor receptor signaling pathway; P:intracellular protein transport; C:spindle; P:receptor internalization; P:mitosis; P:post-Golgi vesicle-mediated transport	-	-	-	-	-	-
gi 60729667	single-stranded nucleic acid binding protein Tc38	P:mRNA stabilization; F:RNA binding; C:mitochondrion	-	-	-	-	yes	yes
gi 6166121	RecName: Full=Dihydrolipoyl dehydrogenase; AltName: Full=Dihydrolipoamide dehydrogenase	C:cytoplasm; F:flavin adenine dinucleotide binding; F:disulfide oxidoreductase activity; P:cell redox homeostasis; P:glycolysis; F:dihydrolipoyl dehydrogenase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.8.1.4	yes	-	-	-	-
gi 642915	trans-sialidase [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	-	-	yes	yes
gi 68053474	RecName: Full=Chagasin	F:cysteine-type endopeptidase inhibitor activity; P:negative regulation of peptidase activity; C:cell surface; C:cytoplasmic membrane-bounded vesicle; C:flagellar pocket	-	-	-	-	yes	yes
gi 70863537	alpha tubulin, putative	C:microtubule; P:protein polymerization; P:microtubule cytoskeleton organization; P:GTP catabolic process; P:microtubule-based movement; P:cellular component movement; F:GTPase activity; F:structural	-	-	-	yes	-	-

gi 70869897	tryparedoxin peroxidase, putative universal minicircle sequence binding protein (UMSBP)	constituent of cytoskeleton; C:cytoplasm; F:GTP binding F:trypanothione-disulfide reductase activity; P:cell redox homeostasis; F:peroxiredoxin activity; C:cytoplasm; F:peroxidase activity; P:oxidation-reduction process	EC:1.8.1.12; EC:1.11.1.15; EC:1.11.1.7	-	-	-	yes	-	-
gi 70874566	histone H2A, putative nascent polypeptide associated complex subunit, putative	F:zinc ion binding; F:nucleic acid binding; C:nucleosome; F:DNA binding; P:nucleosome assembly; C:nucleus; F:protein heterodimerization activity; C:nascent polypeptide-associated complex; F:transcription coactivator activity; P:translation; P:'de novo' cotranslational protein folding		-	-	-	yes	yes	yes
gi 70874603	hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase, putative	F:purine ribonucleoside salvage; C:cytoplasm; F:guanine phosphoribosyltransferase activity; F:hypoxanthine phosphoribosyltransferase activity	EC:2.4.2.8	-	-	-	yes	-	-
gi 70877067	UDP-galactose 4-epimerase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:coenzyme binding; F:UDP-glucose 4-epimerase activity; P:galactose metabolic process; F:nucleotide binding	EC:5.1.3.2	-	-	-	yes	-	-
gi 70882745	RNA-binding protein, putative	F:nucleic acid binding; C:nuclear speck; P:RNA processing		-	-	-	-	-	-
gi 70884392	lysosomal alpha-mannosidase precursor, putative	F:alpha-mannosidase activity; F:carbohydrate binding; C:lysosome; P:mannose metabolic process; C:cell wall; F:zinc ion binding	EC:3.2.1.24	-	-	yes	-	-	-
gi 70886658	60S ribosomal protein L7a, putative	C:ribosome; F:structural constituent of ribosome; P:translation		-	-	-	-	-	yes
gi 70887329	alanine aminotransferase, putative [Trypanosoma cruzi]	F:pyridoxal phosphate binding; P:1-aminocyclopropane-1-carboxylate biosynthetic process; F:L-alanine:2-oxoglutarate aminotransferase activity; F:1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase activity	EC:2.6.1.2; EC:4.4.1.14	-	-	-	-	-	-
gi 70887360	glucose-6-phosphate isomerase, glycosomal, putative [Trypanosoma cruzi]	C:glycosome; P:gluconeogenesis; F:glucose-6-phosphate isomerase activity; P:glycolysis	EC:5.3.1.9	-	-	-	-	-	-
gi 77167273	Tc24 protein [Trypanosoma cruzi]	C:cilium; C:mitochondrion; F:calcium ion binding; C:flagellum		-	-	-	-	-	-
gi 840708	trans-sialidase [Trypanosoma cruzi]	C:anchored to membrane; P:metabolic process; F:exo-alpha-sialidase activity;	EC:3.2.1.18	yes	-	Yes	-	-	-

		C:plasma membrane; P:pathogenesis							
gi 840710	trans-sialidase homolog [Trypanosoma cruzi]	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18	-	Yes	-	-	-	-
gi 89888596	antigenic lectin-2 [Trypanosoma cruzi]	C:integral to membrane; F:mannose binding; P:protein secretion		-	Yes	-	-	-	-
gi 986995	ORF repeat unit; putative [Trypanosoma cruzi]	F:microtubule binding		-	-	-	-	yes	yes

5.2 - Proteínas enriquecidas com glicopeptídeos

Sabe-se que, de modo geral, grande parte das proteínas secretadas são glicosiladas. A fim de verificar este tipo de proteína, realizou-se um estudo preliminar onde houve enriquecimento da amostra com glicopeptídeos, deste enriquecimento identificou-se 93 proteínas, após isso foi feita uma confirmação das que realmente poderia afirmar como sendo glicosiladas e tem-se 24 proteínas, as quais denominou-se proteínas glicosiladas (Tabela 4).

Nesta fração das identificações, observamos a presença de 14 trans-sialidases.

Tabela 4 - Proteínas glicosiladas analisadas por meio do Blas2Go e confirmadas

Seq. Name	Seq. Description	Seq. Length	#Hits	mean Similarity	#GOs	Gos	Enzyme Codes
11161	trans-sialidase	960	20	83.75%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
129279126	trans-	722	20	82.15%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
151558856	fl-160-crp protein	518	20	89.3%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
152212387	trypanosoma cruzi p21	154	5	95.0%	0	-	
193299649	trans-sialidase	642	20	97.7%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
2981059	trans-	789	20	81.25%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322813438	trans-sialidase	363	20	77.3%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322813906	surface protease	410	20	95.8%	5	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0
322814678	trans-	587	20	75.85%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322814755	trans-sialidase	415	20	78.65%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322814928	trans-sialidase	370	20	80.2%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322815049	trans-	717	20	81.1%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322816699	hypothetical protein TCSYLVIO_006800 [T. cruzi]	931	9	71.0%	0	-	
322819688	trans-	102	20	91.5%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322820850	hypothetical protein TCSYLVIO_004685 [T. cruzi]	307	11	69.72%	2	F:DNA binding; F:protein binding	-
322821621	lipophosphoglycan biosynthetic protein	762	20	77.25%	5	P:protein folding; C:cytoplasm; F:unfolded protein binding; F:ATP binding; P:response to stress	-
322823994	udp-gal or udp- c-dependent	74	20	92.25%	3	C:membrane; F:galactosyltransferase activity; P:protein glycosylation	-
322824377	surface protease	283	20	70.9%	5	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0
322828563	trans-sialidase	522	20	81.85%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
322829207	surface protease	351	20	85.7%	5	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0
323099908	trans-sialidase	818	20	91.7%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
409262	trans-	824	20	90.35%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
409264	trans-	826	20	90.25%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
46949061	85 kda surface glycoprotein	550	20	79.1%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18

5.3 - Proteínas enriquecidas com fosfopeptídeos

As proteínas sofrem regulação por fosforilação e desfosforilação no interior das células e por este ser um mecanismo fundamental, fez-se um estudo preliminar para verificar as proteínas fosforiladas da nossa amostra, através do enriquecimento de fosfopeptídeos. Encontramos 196 proteínas na fração enriquecida, e ao fazer a confirmação das realmente fosforiladas, tem-se 40 proteínas (Tabela 5).

Tabela 5 – Proteínas fosforiladas analisadas por meio do Blast2Go e confirmadas

Seq. Name	Seq. Description	Seq. Length	#Hits	mean Similarity	#GOs	Gos	Enzyme Codes
151558840	complement regulatory protein	546	20	87.85%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
152212387	trypanosoma cruzi p21	154	5	95.0%	0	-	
22209012	trans-sialidase	796	20	89.95%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis	EC:3.2.1.18
308517184	mucin-like glycoprotein	265	20	82.45%	0	-	
322813966	surface protease	241	20	83.0%	5	C:membrane; F:metalloendopeptidase activity; P:cell adhesion; P:proteolysis; F:zinc ion binding	EC:3.4.24.0
322815834	hypothetical protein [Trypanosoma cruzi strain CL Brener]	579	4	92.25%	0	-	
322816486	hypothetical protein [Trypanosoma cruzi strain CL Brener]	1420	15	73.53%	3	F:molecular_function; P:biological_process; C:cellular_component	
322817874	subunit of the ccr4not complex	610	20	73.53%	2	C:nucleus; F:transcription regulator activity	-
322818019	wd repeat-containing protein 60	803	20	73.53%	1	F:protein binding	
322818207	rna-binding protein	422	20	73.53%	2	F:nucleic acid binding; F:nucleotide binding	-
322818341	hypothetical protein TCSYLVIO_006077 [Trypanosoma cruzi]	129	4	73.53%	5	C:clathrin coat of trans-Golgi network vesicle; P:vesicle-mediated transport; P:intracellular protein transport; F:structural molecule activity; C:clathrin coat of coated pit	-
322818659	hypothetical protein TCSYLVIO_005055 [Trypanosoma cruzi]	1183	20	73.53%	4	F:metal ion binding; F:glutathione gamma-glutamylcysteinyltransferase activity; P:phytochelatin biosynthetic process; P:response to metal ion	
322818688	Kinesin eukaryotic initiation factor 4a-iii (eukaryotic translation initiation factor 4a isoform 3) (atp-dependent rna helicase eif4a-3) (atp-dependent rna helicase ddx48) (dead box protein 48) (eukaryotic initiation factor 4a-like nuk-34) (378	20	73.53%	5	P:microtubule-based movement; C:microtubule associated complex; F:ATP binding; F:microtubule motor activity; C:microtubule	-
322819380	hypothetical protein TCSYLVIO_005125 [Trypanosoma cruzi]	517	20	73.53%	4	F:nucleic acid binding; F:ATP binding; F:helicase activity; F:zinc ion binding	-
322820249	dipeptidyl-peptidase 8-like serine peptidase	237	8	73.53%	0	-	
322820393	dipeptidyl-peptidase 8-like serine peptidase	839	20	73.53%	3	C:membrane; P:proteolysis; F:serine-type peptidase activity	-
322821474	73 kda paraflagellar rod protein	130	20	73.53%	4	F:calmodulin binding; P:forward locomotion; C:microtubule-based flagellum; P:cellular component movement	-
322821560	hypothetical protein TCSYLVIO_004274 [Trypanosoma cruzi]	949	12	73.53%	0	-	
322822155	air9 protein	914	20	73.53%	1	F:protein binding	

322822467	p25-alpha domain-containing protein hypothetical protein TCSYLVIO_003850 [Trypanosoma cruzi]	152	20	73.53%	1	F:calcium ion binding	-
322822573	microtubule-associated protein gb4	934	12	73.53%	1	F:protein binding	-
322822925	mitotubule-associated protein gb4	381	5	73.53%	0	-	-
322822962	intraflagellar transport protein 46 homolog	715	20	73.53%	2	C:nucleolus; P:G2/M transition of mitotic cell cycle	-
322823447	neurofilament triplet 1	459	20	73.53%	2	C:cell part; P:intraflagellar transport P:chromatin silencing; F:NAD+ binding; F:hydrolase activity, acting on carbon-nitrogen (but not peptide) bonds, in linear amides; F:zinc ion binding; P:protein deacetylation	-
322824604	dc2-related axonemal dynein intermediate chain 4	360	20	73.53%	5	-	-
322824605	mucin-associated surface protein hypothetical protein TCSYLVIO_001948 [Trypanosoma cruzi]	274	16	73.53%	0	-	-
322825264	flagellar protein	447	20	73.53%	0	-	-
322825412	phosphoprotein phosphatase	702	15	73.53%	1	C:membrane	-
322826188	mucin-associated surface protein	266	15	73.53%	1	C:flagellum F:DNA binding; F:protein serine/threonine phosphatase activity; P:histone modification; P:DNA-dependent transcription, initiation;	-
322828093	phosphoenolpyruvate phosphomutase hypothetical protein TCSYLVIO_003547 [Trypanosoma cruzi]	589	20	73.53%	6	P:protein dephosphorylation; C:nucleus	-
322828411	phosphoenolpyruvate phosphomutase hypothetical protein TCSYLVIO_003547 [Trypanosoma cruzi]	451	20	73.53%	0	-	-
322828528	i 6 autoantigen	287	20	73.53%	3	F:phosphoenolpyruvate mutase activity; F:metal ion binding; P:metabolic process	EC:5.4.2.9
322829372	hypothetical protein [Trypanosoma cruzi strain CL Brener] hypothetical protein TCSYLVIO_010631 [Trypanosoma cruzi]	581	11	73.53%	0	-	-
322829681	zgc:136346 protein	214	17	73.53%	3	C:microtubule cytoskeleton; F:calcium ion binding; F:structural constituent of cytoskeleton	-
322829788	hypothetical protein, partial [Trypanosoma cruzi]	194	9	73.53%	0	-	-
322830189	trans-sialidase	956	13	73.53%	1	F:protein binding F:molecular_function; P:biological_process;	-
322830215	flagellar calcium-binding	363	20	73.53%	4	C:cellular_component; F:nucleic acid binding	-
340366471	flagellar calcium-binding	236	19	73.53%	0	-	-
531496	flagellar calcium-binding	1003	20	73.53%	2	F:exo-alpha-sialidase activity; P:pathogenesis C:cilium; C:mitochondrion; F:calcium ion binding; C:flagellum	EC:3.2.1.18
77167273		167	20	73.53%	4		-

5.3 - Proteínas secretadas apresentadas a partir do Gene Ontology

Como não há na biologia uma terminologia padrão universal, para melhor explicar os resultados encontrados, utilizaremos o Gene Ontology (GO), pois este fornece uma ontologia de termos definidos que representam melhor as propriedades dos produtos de genes. O GO abrange três domínios:

1 – Componente celular: as partes de uma célula ou do seu ambiente extracelular.

2 – Função celular: as atividades elementares de um produto de gene, a nível molecular.

3 – Processo biológico: processos operações ou conjuntos de eventos celulares com um começo e fim definidos, pertinentes ao funcionamento das unidades vivas integradas (células, tecidos, órgão e organismos).

A partir dos resultados obtidos do blast2GO, extraímos os dados referentes aos GOs de cada tabela (proteínas totais, fração glicosilada e fosforilada).

Para grande parte das proteína totais, não existe uma predição de que tipo de componentes celulares elas são (Gráfico 3). Os que realmente foram identificados como mais abundantes fazem parte do citoplasma.

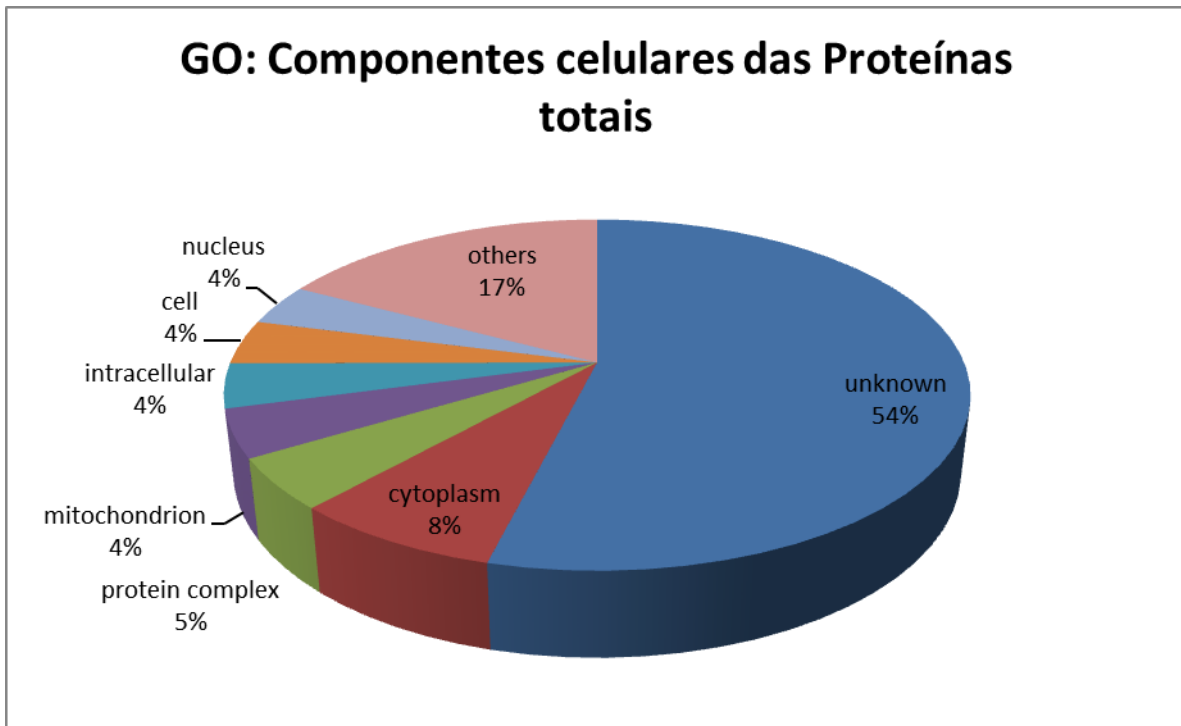


Gráfico 3 - As proteínas secretadas totais correspondem a diversos componentes celulares preditos de acordo com o gene ontology.

Ao observarmos o padrão de componentes celulares para as proteínas glicosiladas (Gráfico 4) e fosforiladas (Gráfico 5) identificadas, percebe-se que em ambas, a maioria são do compartimento célula.

GO: Componentes celulares das proteínas Glicosiladas

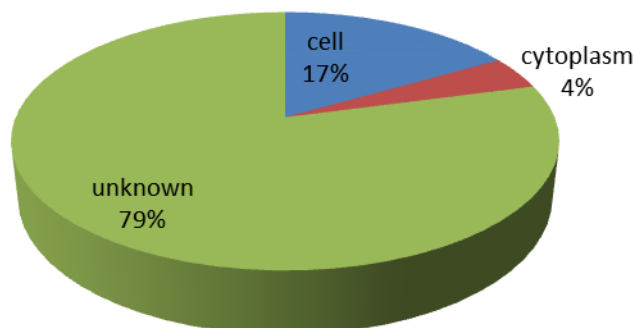


Gráfico 4 - As proteínas secretadas glicosiladas correspondem a diversos componentes celulares preditos de acordo com o gene ontology.

GO: Componentes celulares das Proteínas fosforiladas

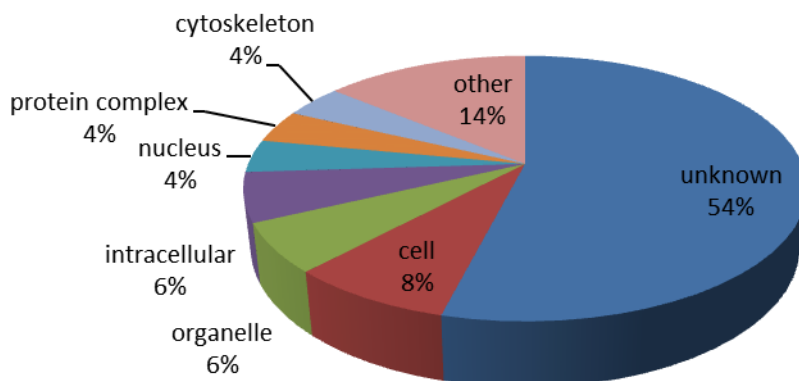


Gráfico 5 - As proteínas secretadas fosforiladas correspondem a diversos componentes celulares preditos de acordo com o gene ontology.

Em relação a função celular, nas proteínas totais identificadas nessa pesquisa, a mais abundante foi a atividade hidrolásica (Gráfico 6).

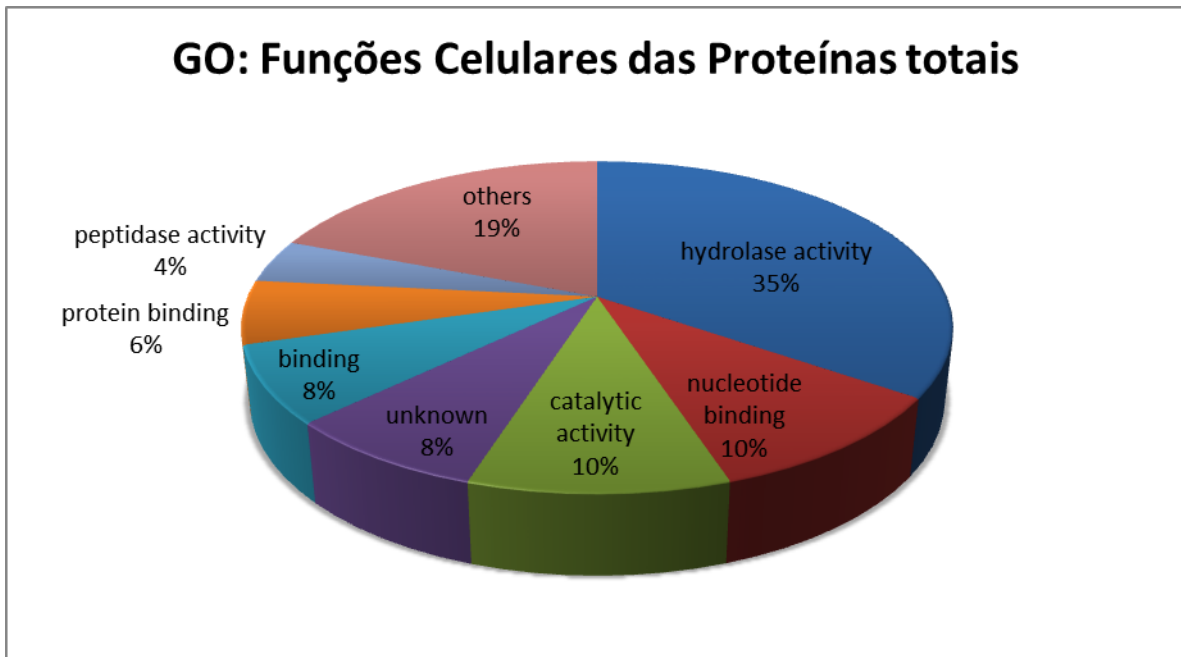


Gráfico 6 - Função das proteínas totais secretadas de acordo com o Gene Ontology.

Considerando as proteínas glicosiladas (Gráfico 7) e as fosforiladas (Gráfico 8), as primeiras seguem o mesmo padrão das proteínas totais, já as fosforiladas tem como função celular mais abundante a ligação a proteínas.

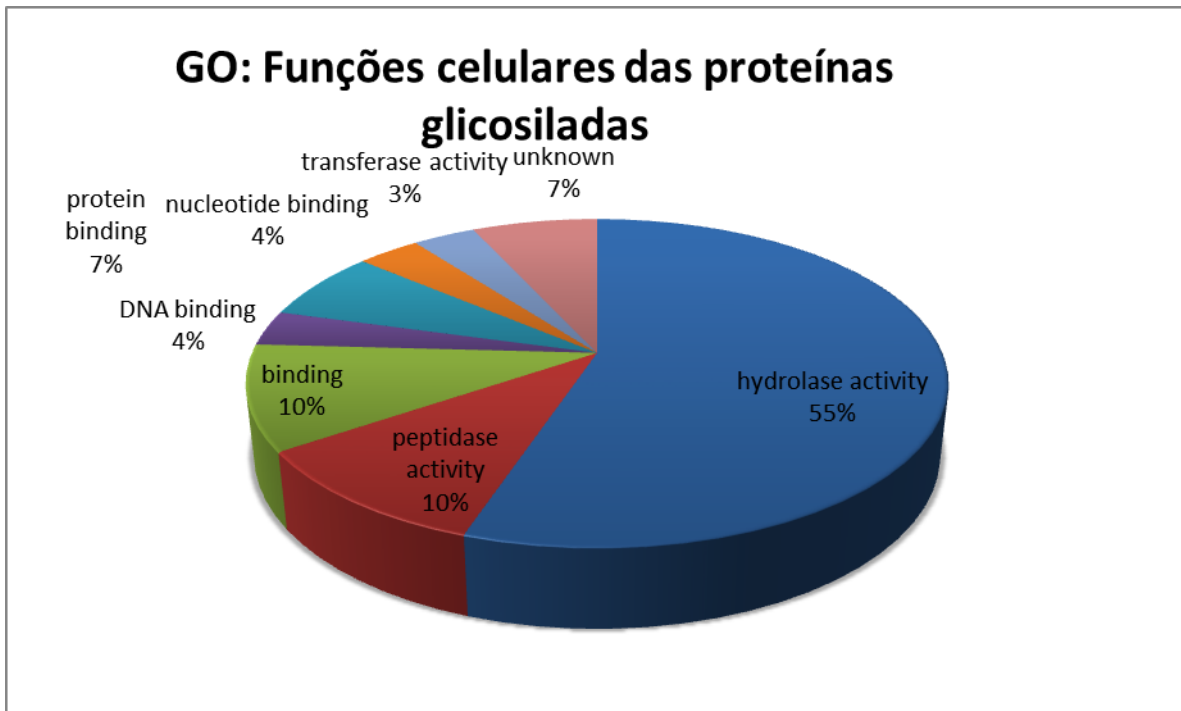


Gráfico 7 - Funções celulares das proteínas glicosiladas de acordo com o gene ontology.

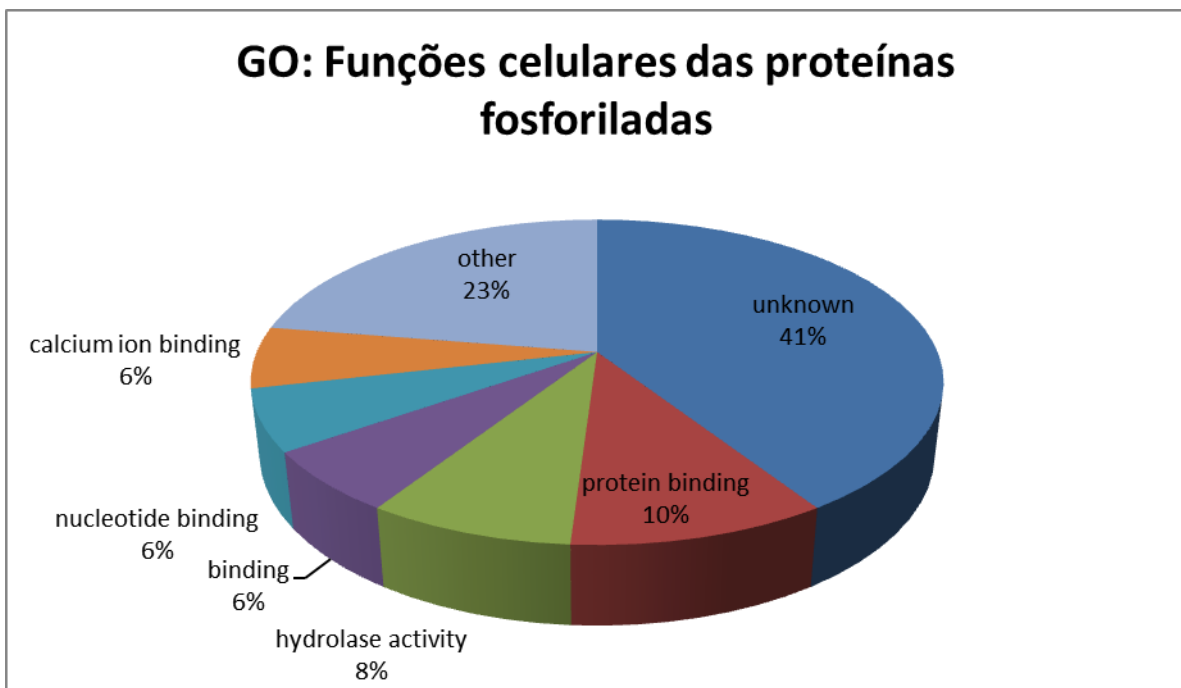


Gráfico 8 - Funções celulares das proteínas fosforiladas de acordo com o gene ontology.

Os processos biológicos mais encontrados dentre as proteínas identificadas é a simbiose, seguida de processos metabólicos e catabólicos (Gráfico 9).

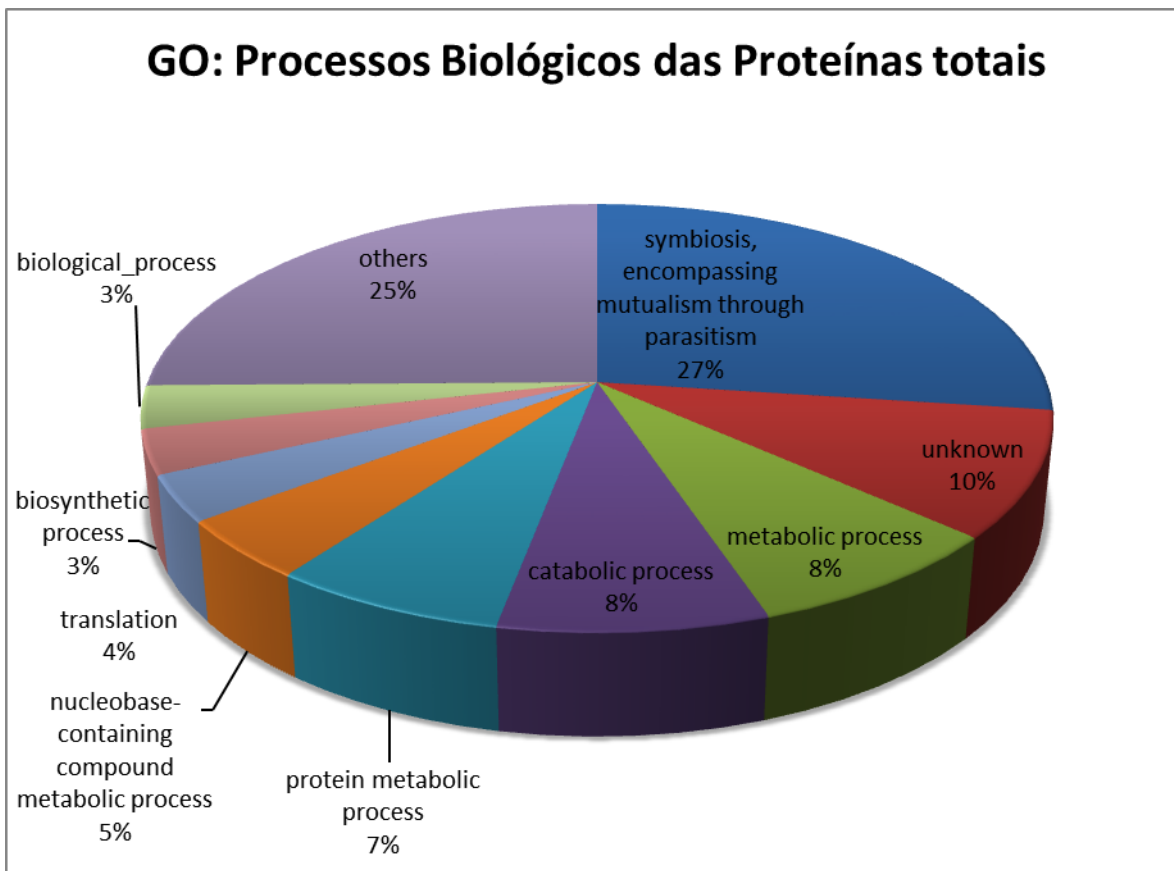


Gráfico 9 - Processos biológicos das proteínas totais de acordo com o gene ontology.

O padrão de processos biológicos das proteínas glicosiladas (Gráfico 10) e fosforiladas (Gráfico 11), também apresentam como processo biológico identificado e mais abundante a simbiose.

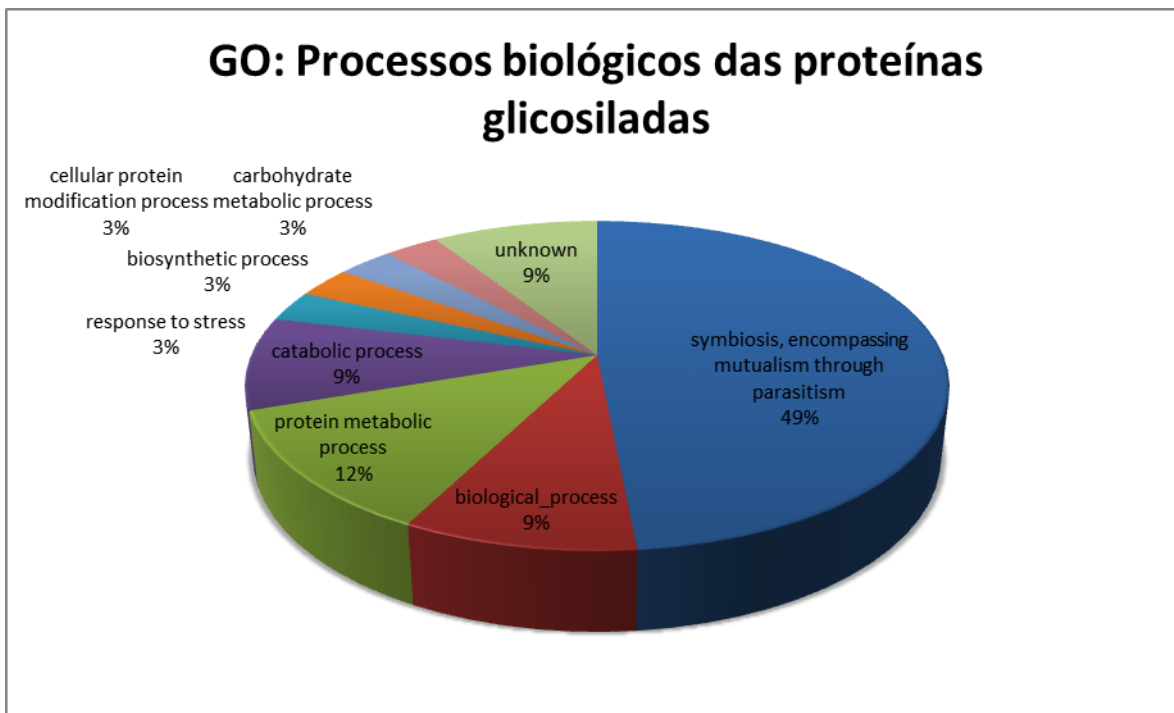


Gráfico 10 - Processos biológicos das proteínas glicosiladas de acordo com o gene ontology.

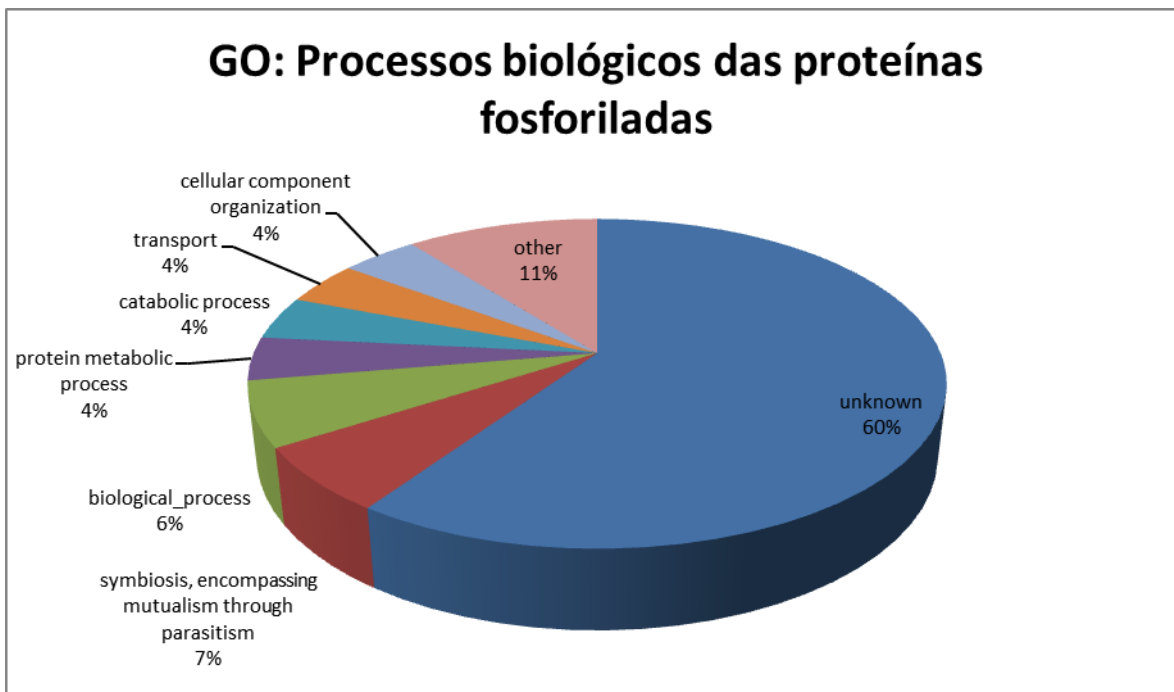


Gráfico 11 - Processos biológicos das proteínas fosforiladas de acordo com o gene ontology.

5.5 - Via metabólica que as proteínas identificadas interferem

Utilizando o recurso KEGG (Kyoto encyclopedia of genes e genomas), pode-se observar em quais vias metabólicas as proteínas interferem (Tabela 6). Dentre as mais abundantes apresentou-se: Ciclo do citrato e Glicólise/Gliconeogênese, ambas as vias essenciais para prover energia celular.

Tabela 6 – Vias metabólicas que as proteínas identificadas interferem

Via Metabólica	Ocorrência
Ciclo do citrato (ciclo TCA)	12
Glicólise / Gliconeogênese	11
Fixação de carbono em organismos fotossintéticos	10
Metabolismo das purinas	10
Vias de fixação de carbono em procariontas	7
Alanina, aspartato e glutamato metabolismo	6
Metabolismo da metionina e cisteína	6
Metabolismo do piruvato	6
Metabolismo de arginina e prolina	5
Metabolismo metano	5
Metabolismo da glutatona	4
Via das pentoses fosfato	4
Metabolismo frutose e manose	4
Metabolismo pirimidina	4
Metabolismo do açúcar nucleótido	4
Metabolismo do propanoato	3
Degradação da valina, leucina e isoleucina	3
Metabolismo glioxilato e dicarboxilato	3
Metabolismo do nitrogênio	3
Metabolismo butanoato	3
Biossíntese Aminoacil-RNA ^t	3
Metabolismo da fenilalanina	3
Metabolismo de ácidos graxos	3
Fosforilação oxidativa	2
Alongamento de ácidos graxos	2
Metabolismo do triptofano	2
Degradação glicana outro	2
A biossíntese de ácidos gordos insaturados	2

Degradação geraniol	2
Metabolismo da galactose	2
Metabolismo de amido e sacarose	2
Metabolismo do ácido alfa linolênico	2
Degradação de benzoato	2
Metabolismo de Glicina, serina e treonina	2
Degradação de limoneno e pineno	1
Biossíntese backbone terpenóides	1
Degradação etilbenzeno	1
Degradação caprolactama	1
Biossíntese tetrahydro, piperidina e piridina da	1
Metabolismo da tirosina	1
A biossíntese de ácidos graxos	1
Metabolismo beta-alanina	1
Metabolismo Fosfonato e fosfinato	1
Metabolismo de nicotinato e nicotinamida	1
Metabolismo Esfingolipídeos	1
Metabolismo de drogas,	1
Biossíntese isoquinolina alcalóide	1
Degradação de lisina	1
Metabolismo do ácido dibásico C5-Branched	1
Metabolismo do fosfato de inositol	1
Metabolismo do ácido araquidônico	1
Biossíntese novobiocina	1
Biossíntese, fenilalanina-tirosina e triptofano	1
Metabolismo de vitamina B6 metabolismo	1
Metabolismo taurina e hypotaurine	1
Metabolismo do ácido cianoamino	1
Degradação aminobenzoato	1
Degradação tolueno	1
Biossíntese de fenilpropanóides	1

6 – DISCUSSÃO

O ciclo de vida dos *Trypanosoma spp* é complexo e exige a expressão de proteínas especializadas para o desenvolvimento do parasito e para driblar a resposta imune do hospedeiro (Atyame Nten, Sommerer *et al.*, 2010). Para uma infecção bem sucedida, o *T. cruzi* necessita adaptar-se ao seu novo ambiente e desenvolver novas armas, ou escolher entre as que possui, para lutar contra um novo tipo de defesa do hospedeiro.

Em hospedeiros vertebrados, formas sanguíneas do *T. brucei* são protegidas pela variante da glicoproteína superficial, que impede o seu reconhecimento pelo sistema imunológico do hospedeiro. Quando os parasitos são absorvidos pelo inseto durante o repasto sanguíneo, estes devem enfrentar o sistema imunológico do hospedeiro intermediário, composto principalmente por proteases intestinais (Atyame Nten, Sommerer *et al.*, 2010).

O objetivo do presente estudo foi identificar as proteínas excretadas/secretadas pelo tripomastigota de *T. cruzi*, a forma infectiva do protozoário. Encontrou-se um grande número de proteínas liberadas no meio por esse parasito (535 proteínas), uma quantidade bem superior a encontrada por Bayer-Santos e colaboradores (2013), 367 proteínas em secreção de tripomastigota metacíclicos de *T. cruzi*. Vale ressaltar que no nosso estudo o tempo de incubação dos parasitos foi de três horas, enquanto no estudo citado, foi de seis horas, o que reforça a eficácia deste experimento, o qual obteve uma quantidade maior de proteínas em um tempo de incubação consideravelmente menor, não expondo assim, os parasitos a um grande estresse. Isso foi possível devido à técnica de espectrometria de massa utilizada para realizar as identificações deste estudo e o aparelho mais moderno utilizado a partir das proteínas recolhidas do meio de cultura.

Os programas SignalP e o SecretomeP foram utilizados para prever se as proteínas identificadas foram secretadas por uma via clássica (com peptídeo sinal) ou por uma via não clássica. Essas análises revelaram que a maior parte, cerca de 65% das proteínas, foram secretadas pela via não clássica e uma pequena parte (15%), pela via clássica. Estes resultados estão de acordo com os

apresentados por Cuervo e colaboradores (2009), onde eles caracterizam o perfil das proteínas secretadas por promastigotas de *Leishmania (Viannia) braziliensis* e demonstra mais de 60% das proteínas preditas como secretadas, com a grande maioria (cerca de 57%) com predição pela via não clássica. Com o Estudo de Bayer-Santos (2013), onde 57% das proteínas foram identificadas como secretadas, também com sua maioria pela via não clássica (48%). Isto indica que a exportação nos eucariotos primitivos poderia proceder, principalmente, pelas vias não convencionais, o que sugere que tal caminho desempenha um papel importante na liberação extracelular de proteínas secretadas pelo *T. cruzi*.

Observado estes números citados, percebe-se que o presente estudo confirma novamente sua importância, quando comparado com os demais citados, já que sua porcentagem de proteínas identificadas como secretadas, foi expressivamente maior.

Dentre as proteínas encontradas, grande parte já havia sido observado como liberadas em estudos anteriores.

A calreticulina, identificada nesse estudo como secretada pela via clássica, foi anteriormente relatada também por outros autores, como Dupuis e colaboradores (1993), Rokeach e colaboradores (1994) e Tarleton e colaboradores (2007). Esta faz parte do grupo de proteínas envolvidas na sinalização e desempenha um importante papel fisiopatológico. Os auto-anticorpos contra essa proteína são encontrados no soro de hospedeiros humanos em algumas doenças parasitárias (Rokeach, Zimmerman *et al.*, 1994) e foi sugerido que a calreticulina derivada dos parasitos pode desencadear uma resposta imunitária inapropriada contra auto-antígenos através do mimetismo molecular (Dupuis, Schaerer *et al.*, 1993).

Outra proteína apresentada como secretada pela via não clássica é a superóxido dismutase (SOD). Esta enzima foi sugerida como envolvida nos mecanismos de defesa do parasito e o estabelecimento da interação parasito-hospedeiro (Villagran, Marin *et al.*, 2005) (Kabiri e Steverding, 2001).

Por outro lado, pôde-se observar nos resultados que 20% das proteínas identificadas, quando testadas com o SigalP e SecretomeP não foram preditas

como secretadas. Entre essas, encontra-se a enolase. Esta proteína já foi descrita em vários estudos anteriores como sendo secretada por diversos microrganismos.

Nas bactérias *Streptococcus pyogenes* (Walker, McArthur *et al.*, 2005), *S. mutans* (Jones e Holt, 2007), e *Lactobacillus crispatus* (Hurmalainen, Edelman *et al.*, 2007) e em parasitas do género *Leishmania*, a enolase foi encontrada como uma parte do secretoma (de exossomo) de *L. donovani* (Silverman, Chan *et al.*, 2008); (Silverman, Clos *et al.*, 2010), *L. major* (Silverman, Clos *et al.*, 2010), e *L. braziliensis* (Cuervo, De Jesus *et al.*, 2009). Também foi encontrada no secretoma de *T. brucei* (Atyame Nten, Sommerer *et al.*, 2010); (Geiger, Hirtz *et al.*, 2010), e como uma proteína segregada por outros parasitos: *Eimeria tenella* (Labbe, Peroval *et al.*, 2006), Fasciola hepática (Bernal, De La Rubia *et al.*, 2004), *Echinostoma caproni* (Marcilla, Perez-Garcia *et al.*, 2007), *Giardia lamblia* (Ringqvist, Palm *et al.*, 2008), e *Schistosoma japonicum* (Liu, Cui *et al.*, 2009).

A enolase não contém um sinal de secreção detectável ou região de âncora de membrana, mas, mesmo assim, foi descrita por diversos autores como secretada, propõe-se assim que as demais proteínas que também não foram preditas como secretadas, podem enquadrar-se também nesta exceção. Temos que considerar que o SecretomeP é um programa que utiliza configurações limitadas, que analisa as sequências com base em bactérias gram-positivas, gram-negativas e mamíferos, por tanto não faz uma análise específica para eucariotos, o que pode dificultar uma análise mais fidedigna.

Além disto, o *T. cruzi* possui uma forma de excreção diferenciada, na qual liberam compostos através de lisossomos e exossomos (pequenas vesículas a partir da bolsa flagelar), e ectosoma (vesículas maiores brotadas da membrana plasmática). (Bayer-Santos, Aguilar-Bonavides *et al.*, 2013) e estas formas de excreção certamente não são bem interpretadas pelos algoritmos SignalP e SecretomeP que foram utilizados para analisar as amostras.

Os exossomos possuem uma composição proteica conhecida (ARTIGO XXX), que é apresentada no esquema abaixo (Figura 3 – modificada do artigo xxxx). Dentre estas proteínas comumente secretadas por exossomos, o presente estudo identificou 15, as quais estão marcadas na figura a seguir.

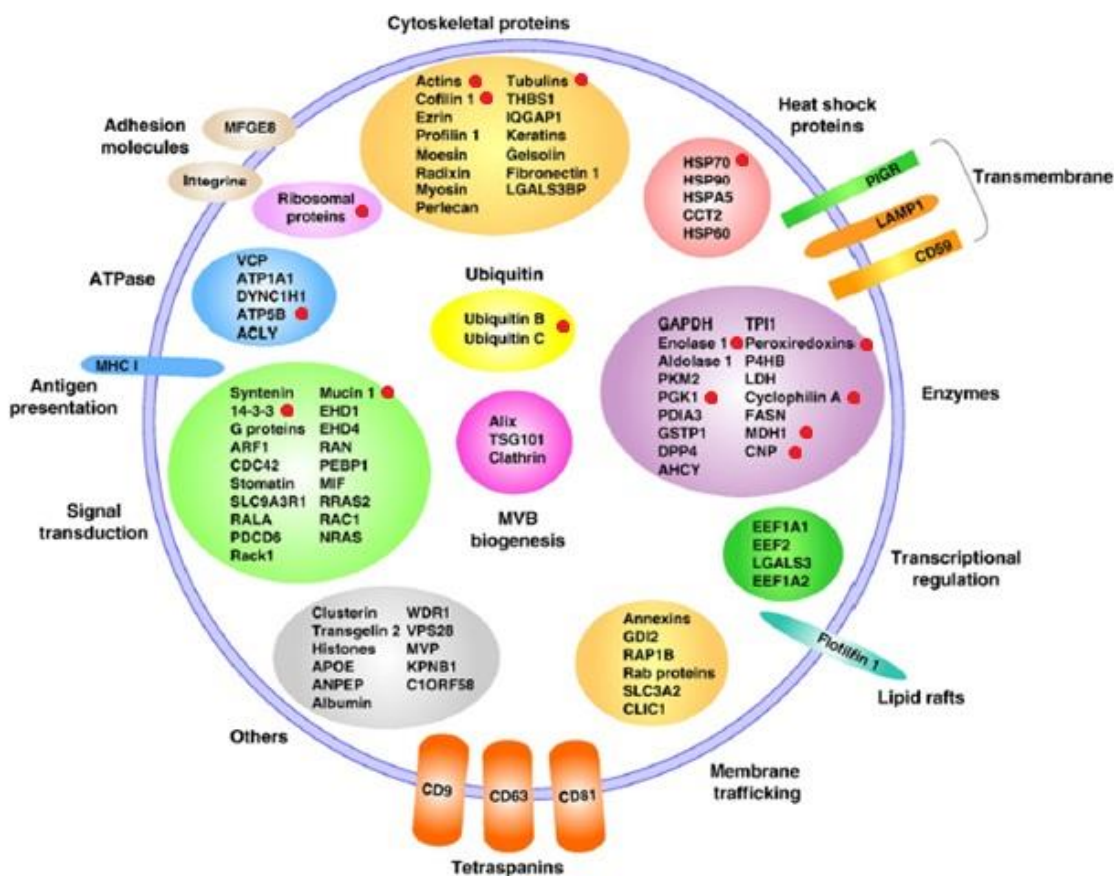


Figura 2: Composição de proteínas secretadas por exossomos. As que estão marcadas com sinais vermelho, foram encontradas no presente estudo.

Em relação às análises realizadas pelo GO, a maior parte das proteínas secretadas encontram-se originalmente componentes celulares não identificados (desconhecidos 54%), seguidos pelos encontrados no citoplasma.

A função celular mais encontrada é a atividade de hidrolase, o que se justifica quando analisamos as tabelas das enzimas presentes no secretado, pois 72,4% (260/359) são hidrolases, destes as mais abundantes (220/260) são as sialidases. Esta enzima catalisa a hidrólise de ácido siálico. Em micro-organismos patogênicos, está associada à virulência do patógeno. Já em mamíferos ela pode modular a distribuição de ácido siálico na superfície celular gerando efeitos no sistema imune, na meia vida da célula e até na apoptose celular. O que sugere que a adesão e a penetração do *T. cruzi* na célula hospedeira são moduladas pela

atividade desta enzima. A primeira evidência de que as unidades de ácido siálico na superfície do parasito poderiam participar desse processo foi demonstrada por Piras e colaboradores (1987).

Outra categoria funcional bem representada são as proteínas ligadoras de nucleotídeos e ácido nucleico (DNA e RNA). A liberação de proteínas do controle de expressão gênica no meio externo pode sugerir um possível papel na comunicação celular e na troca de material genético entre os parasitos e com as células hospedeiras como proposto por Bayer-Santos e colaboradores (2013) e Hecht e colaboradores (2010)

Nas anotações de processos biológicos, 7% correspondem a processos metabólicos de proteínas. Entre esse grupo, encontra-se a HSP70, são proteínas altamente conservadas, que são expressas constitutivamente ou condicionalmente em células eucarióticas (Denzer, Kleijmeer *et al.*, 2000). Estas proteínas estão envolvidas em processos celulares importantes, tais como a regulação de dobramento e montagem de proteína, a eliminação de proteínas deformadas, e estabilização de proteínas recentemente sintetizadas. (Mackenzie, Wilson *et al.*, 2001). Foi relatado que a HSP70 é secretada durante a invasão da célula hospedeira por taquizoítos de *Toxoplasma gondii* e desempenha papéis distintos na regulação da produção de óxido nítrico, imunomodulação, e de acolhimento regulação de sinalização celular (Dobbin, Smith *et al.*, 2002). Em *Leishmania sp.*, durante a infecção, tal proteína parece ser um potente imunógeno (Carrillo, Crusat *et al.*, 2008). Secreção HSP70 sem peptídeo sinal seria possível através de uma via dependente de exossomo (Lancaster e Febbraio, 2005), como observado por algumas HSP70 identificadas nesse estudo. Proteínas envolvidas na resposta ao estresse oxidativo, renovelamento de proteínas como as HSP e chaperones, são esperadas intracelulares, mas poderiam também ter um papel de proteção contra os radicais livres produzidos pelas células hospedeiras.

Os medicamentos utilizados hoje para tratamento da doença de Chagas foram desenvolvidos nas décadas de 60 e 70, os mesmos podem provocar reações colaterais e não são eficazes na fase crônica da doença, isso justifica a importância de investigar a possibilidade do desenvolvimento de novas drogas,

buscando alvos biológicos, no caso, enzimas ou proteínas, e investigando substâncias que possam ter efeitos nesses alvos, agindo de modo a inibir o agente patogênico.

Dentre as vias metabólicas que podem sofrer interferência das proteínas secretadas pelo *T. cruzi* (Tabela 5), está a glicólise/gliconeogênese, já que necessita de muita energia para sobreviver e percorrer caminhos para atingir o seu alvo, por exemplo. Pode também supor, que o parasita poderia influenciar na geração de energia da célula hospedeira. Assim como no metabolismo de vários aminoácidos que são sintetizados pelo organismo humano e fundamentais na fabricação de diversas proteínas, pois também interferem em várias vias de metabolismos.

Muitas proteínas foram preditas como proteínas ancoradas por Glicosilfosfatidilinositol (GPI) (97 proteínas). Elas revestem externamente a membrana plasmática e estão envolvidas em muitos aspectos da interação parasito-hospedeiro, tais como aderência e invasão de células hospedeiras, e patogênese. Apesar de estarem associadas à membrana plasmática por âncoras GPI, elas poderiam ser liberadas através da ação de uma fosfatidilinositol fosfolipase C que atua sobre essas âncoras, tal como encontrado em TSs. Também não podemos descartar que algumas proteínas ancoradas têm isoformas que são secretadas por GPIs, por meio de vesículas exportadoras.

Por fim, muitas proteínas aqui identificadas não foram caracterizadas e ainda não tem conhecimento das suas funções biológicas, mas essas moléculas liberadas no meio pelo parasito e depois endocitadas pela célula hospedeira devem ter um papel na interação intercelular e na invasão para modular o metabolismo da célula hospedeira para otimizar o seu meio ambiente.

7 – CONCLUSÃO

- As técnicas proteômicas são ferramentas importantes para a produção de dados sobre as proteínas secretadas pelo *T. cruzi*.
- Diversas proteínas do secretoma de *T. cruzi* foram identificadas, a fim de melhorar o conhecimento das interações do parasito com o hospedeiro, o que contribui para a sua caracterização.
- Apesar dos grandes esforços para caracterização das proteínas secretadas pelo *T. cruzi*, seus mecanismos de secreção ainda permanecem indeterminados.
- As limitações dos softwares para analisar os dados referentes a protozoários dificultam uma análise, nos deixando propor que não conseguem detectar todas as vias de secreção possíveis pelo *T. cruzi*.
- Em sua maioria, as proteínas secretadas pelo *T. cruzi*, utiliza-se de vias não convencionais para sua secreção.

8 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALTSCHUL, S. F. et al. Basic local alignment search tool. **J Mol Biol**, v. 215, n. 3, p. 403-10, Oct 5 1990. ISSN 0022-2836 (Print)

0022-2836 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2231712> >.

ANTELMANN, H. et al. A proteomic view on genome-based signal peptide predictions. **Genome Res**, v. 11, n. 9, p. 1484-502, Sep 2001. ISSN 1088-9051 (Print)

1088-9051 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11544192> >.

ASHBURNER, M. et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. **Nat Genet**, v. 25, n. 1, p. 25-9, May 2000. ISSN 1061-4036 (Print)

1061-4036 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10802651> >.

ATWOOD, J. A., 3RD et al. The Trypanosoma cruzi proteome. **Science**, v. 309, n. 5733, p. 473-6, Jul 15 2005. ISSN 1095-9203 (Electronic). Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=16020736 >.

ATYAME NTEN, C. M. et al. Excreted/secreted proteins from trypanosome procyclic strains. **J Biomed Biotechnol**, v. 2010, p. 212817, 2010. ISSN 1110-7251 (Electronic)

1110-7243 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20011064> >.

BAIDA, R. C. et al. Molecular characterization of serine-, alanine-, and proline-rich proteins of Trypanosoma cruzi and their possible role in host cell infection. **Infect Immun**, v. 74, n. 3, p. 1537-46, Mar 2006. ISSN 0019-9567 (Print)

0019-9567 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16495524> >.

BASTOS, I. M. et al. Molecular, functional and structural properties of the prolyl oligopeptidase of *Trypanosoma cruzi* (POP Tc80), which is required for parasite entry into mammalian cells. **Biochem J**, v. 388, n. Pt 1, p. 29-38, May 15 2005. ISSN 1470-8728 (Electronic)

0264-6021 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15581422> >.

BAYER-SANTOS, E. et al. Proteomic analysis of *Trypanosoma cruzi* secretome: characterization of two populations of extracellular vesicles and soluble proteins. **J Proteome Res**, v. 12, n. 2, p. 883-97, Feb 1 2013. ISSN 1535-3907 (Electronic)

1535-3893 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23214914> >.

BERNAL, D. et al. Identification of enolase as a plasminogen-binding protein in excretory-secretory products of *Fasciola hepatica*. **FEBS Lett**, v. 563, n. 1-3, p. 203-6, Apr 9 2004. ISSN 0014-5793 (Print)

0014-5793 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15063749> >.

BURLEIGH, B. A.; ANDREWS, N. W. Signaling and host cell invasion by *Trypanosoma cruzi*. **Curr Opin Microbiol**, v. 1, n. 4, p. 461-5, Aug 1998. ISSN 1369-5274 (Print)

1369-5274 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10066513> >.

BUSCAGLIA, C. A. et al. *Trypanosoma cruzi* surface mucins: host-dependent coat diversity. **Nat Rev Microbiol**, v. 4, n. 3, p. 229-36, Mar 2006. ISSN 1740-1526 (Print)

1740-1526 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16489349> >.

CARRILLO, E. et al. Immunogenicity of HSP-70, KMP-11 and PFR-2 leishmanial antigens in the experimental model of canine visceral leishmaniasis. **Vaccine**, v. 26, n. 15, p. 1902-11, Mar 28 2008. ISSN 0264-410X (Print)

0264-410X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18321614> >.

CHEVALLET, M. et al. Toward a better analysis of secreted proteins: the example of the myeloid cells secretome. **Proteomics**, v. 7, n. 11, p. 1757-70, Jun 2007. ISSN 1615-9853 (Print)

1615-9853 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17464941> >.

CORRALES, R. M.; SERENO, D.; MATHIEU-DAUDE, F. Deciphering the Leishmania exoproteome: what we know and what we can learn. **FEMS Immunol Med Microbiol**, v. 58, n. 1, p. 27-38, Feb 2010. ISSN 1574-695X (Electronic)

0928-8244 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19807787> >.

CUERVO, P. et al. Proteomic characterization of the released/secreted proteins of Leishmania (Viannia) braziliensis promastigotes. **J Proteomics**, v. 73, n. 1, p. 79-92, Nov 2 2009. ISSN 1876-7737 (Electronic). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19703603> >.

DE PABLOS, L. M. et al. Differential expression and characterization of a member of the mucin-associated surface protein family secreted by Trypanosoma cruzi. **Infect Immun**, v. 79, n. 10, p. 3993-4001, Oct 2011. ISSN 1098-5522 (Electronic)

0019-9567 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21788387> >.

DE SOUZA, W. Cell biology of Trypanosoma cruzi. **Int Rev Cytol**, v. 86, p. 197-283, 1984. Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=6368447 >.

DENZER, K. et al. Exosome: from internal vesicle of the multivesicular body to intercellular signaling device. **J Cell Sci**, v. 113 Pt 19, p. 3365-74, Oct 2000. ISSN 0021-9533 (Print)

0021-9533 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10984428> >.

DI NOIA, J. M. et al. High diversity in mucin genes and mucin molecules in Trypanosoma cruzi. **J Biol Chem**, v. 271, n. 50, p. 32078-83, Dec 13 1996. ISSN 0021-9258 (Print)

0021-9258 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8943259> >.

DOBBIN, C. A.; SMITH, N. C.; JOHNSON, A. M. Heat shock protein 70 is a potential virulence factor in murine toxoplasma infection via immunomodulation of host NF-kappa B and nitric oxide. **J Immunol**, v. 169, n. 2, p. 958-65, Jul 15 2002. ISSN 0022-1767 (Print)

0022-1767 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097402> >.

DUPUIS, M. et al. The calcium-binding protein calreticulin is a major constituent of lytic granules in cytolytic T lymphocytes. **J Exp Med**, v. 177, n. 1, p. 1-7, Jan 1 1993. ISSN 0022-1007 (Print)

0022-1007 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8418194> >.

FERREIRA, D. et al. Actin cytoskeleton-dependent and -independent host cell invasion by *Trypanosoma cruzi* is mediated by distinct parasite surface molecules. **Infect Immun**, v. 74, n. 10, p. 5522-8, Oct 2006. ISSN 0019-9567 (Print)

0019-9567 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16988227> >.

FIELD, M. C. et al. Intracellular trafficking in the trypanosomatids. **Traffic**, v. 8, n. 6, p. 629-39, Jun 2007. ISSN 1398-9219 (Print)

1398-9219 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17461800> >.

GARCIA-SALCEDO, J. A. et al. A differential role for actin during the life cycle of *Trypanosoma brucei*. **EMBO J**, v. 23, n. 4, p. 780-9, Feb 25 2004. ISSN 0261-4189 (Print)

0261-4189 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14963487> >.

GEIGER, A. et al. Exocytosis and protein secretion in *Trypanosoma*. **BMC Microbiol**, v. 10, p. 20, ISSN 1471-2180 (Electronic)

1471-2180 (Linking). Disponível em: <
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=20102621 >.

_____. Exocytosis and protein secretion in *Trypanosoma*. **BMC Microbiol**, v. 10, p. 20, 2010. ISSN 1471-2180 (Electronic)

1471-2180 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20102621> >.

GONCALVES, M. F. et al. *Trypanosoma cruzi*: shedding of surface antigens as membrane vesicles. **Exp Parasitol**, v. 72, n. 1, p. 43-53, Jan 1991. ISSN 0014-4894 (Print)

0014-4894 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1993464> >.

GREBAUT, P. et al. Identification of total and differentially expressed excreted-secreted proteins from *Trypanosoma congolense* strains exhibiting different virulence and pathogenicity. **Int J Parasitol**, v. 39, n. 10, p. 1137-50, Aug 2009. ISSN 1879-0135 (Electronic)

0020-7519 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19285981> >.

GRELLIER, P. et al. *Trypanosoma cruzi* prolyl oligopeptidase Tc80 is involved in nonphagocytic mammalian cell invasion by trypomastigotes. **J Biol Chem**, v. 276, n. 50, p. 47078-86, Dec 14 2001. ISSN 0021-9258 (Print)

0021-9258 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11598112> >.

GRIMMOND, S. M. et al. The mouse secretome: functional classification of the proteins secreted into the extracellular environment. **Genome Res**, v. 13, n. 6B, p. 1350-9, Jun 2003. ISSN 1088-9051 (Print)

1088-9051 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12819133> >.

GULL, K. Host-parasite interactions and trypanosome morphogenesis: a flagellar pocketful of goodies. **Curr Opin Microbiol**, v. 6, n. 4, p. 365-70, Aug 2003. ISSN 1369-5274 (Print)

1369-5274 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12941406> >.

HECHT, M. M. et al. Inheritance of DNA transferred from American trypanosomes to human hosts. **PLoS One**, v. 5, n. 2, p. e9181, 2010. ISSN 1932-6203 (Electronic)

1932-6203 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20169193> >.

HOLZMULLER, P. et al. Virulence and pathogenicity patterns of *Trypanosoma brucei gambiense* field isolates in experimentally infected mouse: differences in host immune response modulation by secretome and proteomics. **Microbes Infect**, v. 10, n. 1, p. 79-86, Jan 2008. ISSN 1286-4579 (Print)

1286-4579 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18068387> >.

HURMALAINEN, V. et al. Extracellular proteins of *Lactobacillus crispatus* enhance activation of human plasminogen. **Microbiology**, v. 153, n. Pt 4, p. 1112-22, Apr 2007. ISSN 1350-0872 (Print)

1350-0872 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17379720> >.

JAZIN, E. E. et al. Shift of excretory-secretory immunogens of *Trypanosoma cruzi* during human Chagas' disease. **Infect Immun**, v. 59, n. 6, p. 2189-91, Jun 1991. ISSN 0019-9567 (Print)

0019-9567 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1903775> >.

JONES, M. N.; HOLT, R. G. Cloning and characterization of an alpha-enolase of the oral pathogen *Streptococcus mutans* that binds human plasminogen. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 364, n. 4, p. 924-9, Dec 28 2007. ISSN 1090-2104 (Electronic)

0006-291X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17964283> >.

KABIRI, M.; STEVERDING, D. Identification of a developmentally regulated iron superoxide dismutase of *Trypanosoma brucei*. **Biochem J**, v. 360, n. Pt 1, p. 173-7, Nov 15 2001. ISSN 0264-6021 (Print)

0264-6021 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11696005> >.

KANEHISA, M.; GOTO, S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. **Nucleic Acids Res**, v. 28, n. 1, p. 27-30, Jan 1 2000. ISSN 0305-1048 (Print)

0305-1048 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10592173> >.

KELLER, S. et al. Exosomes: from biogenesis and secretion to biological function. **Immunol Lett**, v. 107, n. 2, p. 102-8, Nov 15 2006. ISSN 0165-2478 (Print)

0165-2478 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17067686> >.

KLEE, E. W. The zebrafish secretome. **Zebrafish**, v. 5, n. 2, p. 131-8, Summer 2008. ISSN 1557-8542 (Electronic)

1545-8547 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18554177> >.

LABBE, M. et al. Eimeria tenella enolase and pyruvate kinase: a likely role in glycolysis and in others functions. **Int J Parasitol**, v. 36, n. 14, p. 1443-52, Dec 2006. ISSN 0020-7519 (Print)

0020-7519 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17030033> >.

LANCASTER, G. I.; FEBBRAIO, M. A. Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins. **J Biol Chem**, v. 280, n. 24, p. 23349-55, Jun 17 2005. ISSN 0021-9258 (Print)

0021-9258 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15826944> >.

LEE, M. C. et al. Bi-directional protein transport between the ER and Golgi. **Annu Rev Cell Dev Biol**, v. 20, p. 87-123, 2004. ISSN 1081-0706 (Print)

1081-0706 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15473836> >.

LEE, S. A. et al. An analysis of the *Candida albicans* genome database for soluble secreted proteins using computer-based prediction algorithms. **Yeast**, v. 20, n. 7, p. 595-610, May 2003. ISSN 0749-503X (Print)

0749-503X (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12734798> >.

LINDOSO, J. A.; LINDOSO, A. A. Neglected tropical diseases in Brazil. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**, v. 51, n. 5, p. 247-53, Sep-Oct 2009. ISSN 1678-9946 (Electronic)

0036-4665 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19893976> >.

LIU, F. et al. Excretory/secretory proteome of the adult developmental stage of human blood fluke, *Schistosoma japonicum*. **Mol Cell Proteomics**, v. 8, n. 6, p. 1236-51, Jun 2009. ISSN 1535-9484 (Electronic)

1535-9476 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19299421> >.

MACKENZIE, A. et al. Rapid secretion of interleukin-1beta by microvesicle shedding. **Immunity**, v. 15, n. 5, p. 825-35, Nov 2001. ISSN 1074-7613 (Print)

1074-7613 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11728343> >.

MARCILLA, A. et al. *Echinostoma caproni*: identification of enolase in excretory/secretory products, molecular cloning, and functional expression. **Exp Parasitol**, v. 117, n. 1, p. 57-64, Sep 2007. ISSN 0014-4894 (Print)

0014-4894 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17462631> >.

MCNULTY, D. E.; ANNAN, R. S. Hydrophilic interaction chromatography reduces the complexity of the phosphoproteome and improves global phosphopeptide isolation and detection. **Mol Cell Proteomics**, v. 7, n. 5, p. 971-80, May 2008. ISSN 1535-9484 (Electronic)

1535-9476 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18212344> >.

MYSLING, S. et al. Utilizing ion-pairing hydrophilic interaction chromatography solid phase extraction for efficient glycopeptide enrichment in glycoproteomics. **Anal Chem**, v. 82, n. 13, p. 5598-609, Jul 1 2010. ISSN 1520-6882 (Electronic)

0003-2700 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20536156> >.

NICKEL, W. Unconventional secretory routes: direct protein export across the plasma membrane of mammalian cells. **Traffic**, v. 6, n. 8, p. 607-14, Aug 2005. ISSN 1398-9219 (Print)

1398-9219 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15998317> >.

NICKEL, W.; RABOUILLE, C. Mechanisms of regulated unconventional protein secretion. **Nat Rev Mol Cell Biol**, v. 10, n. 2, p. 148-55, Feb 2009. ISSN 1471-0080 (Electronic)

1471-0072 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19122676> >.

OSUNA, A. et al. Trypanosoma cruzi: calcium ion movement during internalization in host HeLa cells. **Int J Parasitol**, v. 20, n. 5, p. 673-6, Aug 1990. ISSN 0020-7519 (Print)

0020-7519 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2228428> >.

OSUNA, A. et al. Inhibition of lysosomal fusion by *Trypanosoma cruzi* in peritoneal macrophages. **Int J Parasitol**, v. 16, n. 6, p. 629-32, Dec 1986. ISSN 0020-7519 (Print)

0020-7519 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3542866> >.

PETERSEN, T. N. et al. SignalP 4.0: discriminating signal peptides from transmembrane regions. **Nat Methods**, v. 8, n. 10, p. 785-6, 2011. ISSN 1548-7105 (Electronic)

1548-7091 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21959131> >.

PIRAS, M. M.; HENRIQUEZ, D.; PIRAS, R. The effect of fetuin and other sialoglycoproteins on the in vitro penetration of *Trypanosoma cruzi* trypomastigotes into fibroblastic cells. **Mol Biochem Parasitol**, v. 22, n. 2-3, p. 135-43, Jan 15 1987. ISSN 0166-6851 (Print)

0166-6851 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2437449> >.

POLLEVICK, G. D. et al. *Trypanosoma cruzi* surface mucins with exposed variant epitopes. **J Biol Chem**, v. 275, n. 36, p. 27671-80, Sep 8 2000. ISSN 0021-9258 (Print)

0021-9258 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10843987> >.

PRATA, A. Clinical and epidemiological aspects of Chagas disease. **Lancet Infect Dis**, v. 1, n. 2, p. 92-100, Sep 2001. ISSN 1473-3099 (Print)

1473-3099 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11871482> >.

PRUDOVSKY, I. et al. The non-classical export routes: FGF1 and IL-1alpha point the way. **J Cell Sci**, v. 116, n. Pt 24, p. 4871-81, Dec 15 2003. ISSN 0021-9533 (Print)

0021-9533 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14625381> >.

RINGQVIST, E. et al. Release of metabolic enzymes by Giardia in response to interaction with intestinal epithelial cells. **Mol Biochem Parasitol**, v. 159, n. 2, p. 85-91, Jun 2008. ISSN 0166-6851 (Print)

0166-6851 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18359106> >.

RODRIGUEZ, A. et al. Host cell invasion by trypanosomes requires lysosomes and microtubule/kinesin-mediated transport. **J Cell Biol**, v. 134, n. 2, p. 349-62, Jul 1996. ISSN 0021-9525 (Print)

0021-9525 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8707821> >.

ROKEACH, L. A.; ZIMMERMAN, P. A.; UNNASCH, T. R. Epitopes of the Onchocerca volvulus RAL1 antigen, a member of the calreticulin family of proteins, recognized by sera from patients with onchocerciasis. **Infect Immun**, v. 62, n. 9, p. 3696-704, Sep 1994. ISSN 0019-9567 (Print)

0019-9567 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7520419> >.

SANTANA, J. M. et al. A Trypanosoma cruzi-secreted 80 kDa proteinase with specificity for human collagen types I and IV. **Biochem J**, v. 325 (Pt 1), p. 129-37, Jul 1 1997. ISSN 0264-6021 (Print)

0264-6021 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9224638> >.

SCHATZ, G.; DOBBERSTEIN, B. Common principles of protein translocation across membranes. **Science**, v. 271, n. 5255, p. 1519-26, Mar 15 1996. ISSN 0036-8075 (Print)

0036-8075 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8599107> >.

SILVERMAN, J. M. et al. Proteomic analysis of the secretome of *Leishmania donovani*. **Genome Biol**, v. 9, n. 2, p. R35, 2008. ISSN 1465-6914 (Electronic)

1465-6906 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18282296> >.

SILVERMAN, J. M. et al. An exosome-based secretion pathway is responsible for protein export from *Leishmania* and communication with macrophages. **J Cell Sci**, v. 123, n. Pt 6, p. 842-52, Mar 15 2010. ISSN 1477-9137 (Electronic)

0021-9533 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20159964> >.

SIMPSON, J. C.; MATEOS, A.; PEPPERKOK, R. Maturation of the mammalian secretome. **Genome Biol**, v. 8, n. 4, p. 211, 2007. ISSN 1465-6914 (Electronic)

1465-6906 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17472737> >.

STEGMAYER, C. et al. Direct transport across the plasma membrane of mammalian cells of *Leishmania* HASPB as revealed by a CHO export mutant. **J Cell Sci**, v. 118, n. Pt 3, p. 517-27, Feb 1 2005. ISSN 0021-9533 (Print)

0021-9533 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15657075> >.

TANOWITZ, H. B. et al. Chagas' disease. **Clin Microbiol Rev**, v. 5, n. 4, p. 400-19, Oct 1992. ISSN 0893-8512 (Print)

0893-8512 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1423218> >.

TARDIEUX, I.; NATHANSON, M. H.; ANDREWS, N. W. Role in host cell invasion of *Trypanosoma cruzi*-induced cytosolic-free Ca²⁺ transients. **J Exp Med**, v. 179, n. 3, p. 1017-22, Mar 1 1994. ISSN 0022-1007 (Print)

0022-1007 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8113670> >.

TARLETON, R. L. et al. The challenges of Chagas Disease-- grim outlook or glimmer of hope. **PLoS Med**, v. 4, n. 12, p. e332, Dec 2007. ISSN 1549-1676 (Electronic)

1549-1277 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18162039> >.

TEIXEIRA, A. R.; NASCIMENTO, R. J.; STURM, N. R. Evolution and pathology in chagas disease--a review. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 5, p. 463-91, Aug 2006. ISSN 0074-0276 (Print)

0074-0276 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17072450> >.

TJALSMA, H. et al. Signal peptide-dependent protein transport in *Bacillus subtilis*: a genome-based survey of the secretome. **Microbiol Mol Biol Rev**, v. 64, n. 3, p. 515-47, Sep 2000. ISSN 1092-2172 (Print)

1092-2172 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10974125> >.

VALLEJO, M. C. et al. Vesicle and vesicle-free extracellular proteome of *Paracoccidioides brasiliensis*: comparative analysis with other pathogenic fungi. **J Proteome Res**, v. 11, n. 3, p. 1676-85, Mar 2 2012. ISSN 1535-3907 (Electronic)

1535-3893 (Linking). Disponible em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22288420> >.

VILLAGRAN, M. E. et al. Use of an iron superoxide dismutase excreted by *Trypanosoma cruzi* in the diagnosis of Chagas disease: seroprevalence in rural zones of the state of Queretaro, Mexico. **Am J Trop Med Hyg**, v. 73, n. 3, p. 510-6, Sep 2005. ISSN 0002-9637 (Print)

0002-9637 (Linking). Disponible em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16172473> >.

VILLALTA, F. et al. A ligand that *Trypanosoma cruzi* uses to bind to mammalian cells to initiate infection. **FEBS Lett**, v. 505, n. 3, p. 383-8, Sep 21 2001. ISSN 0014-5793 (Print)

0014-5793 (Linking). Disponible em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11576533> >.

WALKER, M. J. et al. Is plasminogen deployed as a *Streptococcus pyogenes* virulence factor? **Trends Microbiol**, v. 13, n. 7, p. 308-13, Jul 2005. ISSN 0966-842X (Print)

0966-842X (Linking). Disponible em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15936195> >.

YOSHIDA, N.; CORTEZ, M. *Trypanosoma cruzi*: parasite and host cell signaling during the invasion process. **Subcell Biochem**, v. 47, p. 82-91, 2008. ISSN 0306-0225 (Print)

0306-0225 (Linking). Disponible em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18512343> >.

ZDOBNOV, E. M.; APWEILER, R. InterProScan--an integration platform for the signature-recognition methods in InterPro. **Bioinformatics**, v. 17, n. 9, p. 847-8, Sep 2001. ISSN 1367-4803 (Print)

1367-4803 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11590104> >.

ZWICKL, H. et al. A novel technique to specifically analyze the secretome of cells and tissues. **Electrophoresis**, v. 26, n. 14, p. 2779-85, Jul 2005. ISSN 0173-0835 (Print)

0173-0835 (Linking). Disponível em: <
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15966010> >.