**CARACTERIZAÇÃO DAS MIOSINAS DE *Trypanosoma cruzi***

Yasmin Carla Ribeiro (FPP e ICC-FIOCRUZ/PR)

Dra. Daniela Parada Pavoni (ICC-FIOCRUZ/PR)

**Resumo:** *Trypanosoma cruzi* é o agente causal da doença de Chagas que constitui um grave problema de saúde pública na América Latina. Os quimioterápicos hoje utilizados não são satisfatórios. Além de causarem vários efeitos colaterais desagradáveis, a probabilidade de cura diminui à medida que a doença vai adquirindo a forma crônica. O melhor entendimento da biologia de seu agente causal, o que pode levar ao desenvolvimento de fármacos mais específicos e eficazes, é sumamente importante para que o impacto desta doença seja reduzido. Com o sequenciamento do genoma do *T. cruzi*, nove genes codificadores para miosinas foram identificados. Um deles está presente apenas na família Trypanosomatidae e 7 genes são exclusivos de *T. cruzi*. O fato deste parasita possuir 7 miosinas exclusivas, sendo que o esqueleto de actina nos organismos desta família parece ser ou muito escasso ou transiente, é bastante intrigante. Tendo em vista o exposto, o objetivo deste trabalho é o aprofundamento da caracterização destas proteínas e, como consequência, contribuir para elucidação do tráfico intracelular de moléculas e/ou organelas neste organismo. A presença de miosinas exclusivas de *T. cruzi* é um estímulo a mais para o estudo visto que podem se constituir em candidatos a alvos para o desenvolvimento de novos quimioterápicos. Neste trabalho foi realizado a expressão em *T. cruzi* das miosinas recombinadas com etiquetas (FLAG ou HA) para realização ensaios de imunolocalização e imunoprecipitação. Para isso, primeiramente utilizou-se o sistema de clonagem Gateway (Invitrogen) para recombinação dos genes das miosinas com os vetores escolhidos para expressão. Os vetores apresentam a sequência codificadora para as etiquetas tanto na porção amino-terminal, quanto na porção carbóxi-terminal, e possuem intergênicas para expressão em *T. cruzi*. Todos os vetores recombinados e transfectados em *T. cruzi*, cepa Dm28c. As recombinações foram confirmadas por sequenciamento. Os parasitas transfectados foram selecionados a partir de antibióticos e seguiram para os ensaios de localização celular. Complementando esta estratégia de localização celular através da identificação das etiquetas, outra estratégia a ser adotada para a localização das proteínas será a utilização de anticorpos policlonais que serão produzidos para cada uma das miosinas a partir da inoculação em camundongo de uma sequência sintética de peptídeos correspondente a uma porção da proteína.

**Palavras-chave:** Miosinas, citoesqueleto, tripanossomatídeos, localização celular.