



Universidade de Brasília  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular

**Análise proteômica da fração nuclear de formas  
epimastigotas de *Trypanosoma cruzi***

Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior

Brasília  
2014

Universidade de Brasília  
Faculdade de Medicina  
Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular

**Análise proteômica da fração nuclear de formas  
epimastigotas de *Trypanosoma cruzi***

Agenor de Castro Moreira dos Santos Júnior

Orientador: Prof. Dr. Carlos André Ornelas Ricart  
Coorientadora: Profa. Dra. Beatriz Dolabela de Lima

Dissertação apresentada ao  
programa de pós-graduação em  
Patologia Molecular da  
Universidade de Brasília como  
requisito parcial à obtenção do grau  
de mestre em Patologia Molecular.

Brasília  
2014

## ***Agradecimentos***

Depois de muito trabalho e muitas alegrias eu gostaria de prestar meus mais sinceros agradecimentos aos queridos amigos que tanto contribuíram para minha formação intelectual durante estes dois anos de trabalho.

Ao querido professor Carlos André que com muita paciência e serenidade me orientou. Sempre compreensivo, me incentivando e apoiando nas dificuldades diárias. Um verdadeiro amigo.

Agradeço a minha coorientadora professora Beatriz Dolabela que abriu as portas de seu laboratório. Pela confiança, paciência e incentivo. Sinto-me privilegiado pela oportunidade de ser seu aluno.

Agradeço ao professor Dário Kalume pela imensa ajuda prestada.

Agradeço a todos os professores que participaram da construção desta dissertação e da minha formação durante o mestrado. De maneira especial ao professor Marcelo Valle, Sebastien, Cecília Favale, Bergmann, José Raimundo Correa e Consuelo.

Agradeço a professora Fabiane e a amiga Marina Firmino que me acompanham desde a graduação e foram responsáveis por minha vinda para a UnB.

Agradeço ao Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular e a CAPES que me ofereceram uma bolsa de pós-graduação.

Ao meu irmão de ciência e de coração Ricardo Camargo, pelo apoio, pelas conversas, pelas ideias, pelas caronas, mas, sobretudo pela amizade.

A Dra Diana que com seu jeito doce e carinhoso sempre estava disponível para me ajudar.

Aos amigos da LBQP Adelson, Aline, Anne, Arthur, Carol, Hialy, Jaques, Marina, Micaella, Nicholas, Nuno, Rayner, Samuel, Simone,... e de forma especial ao grande amigo Agnelo.

Aos amigos do LABIOGENE, Fabiana, Marinez, Aurea, Anderson, Daniel, Stenia.

Aos amigos da FHB que foram sempre muito compreensivos me apoiando em todos os momentos.

Aos meus pais Cecília e Agenor, grandes exemplos da minha vida. Este trabalho é dedicado a vocês.

Aos meus irmãos Marina e Moisés, e de forma especial a Jordana que me encorajou a seguir este meu sonho e possibilitou realizá-lo.

À Deus.

## Sumário

|   |    |
|---|----|
| Lista de Figuras .....  | 7  |
| Listas de Siglas e Abreviaturas .....   | 8  |
| Resumo .....  | 9  |
| Abstract .....  | 10 |
| 1. INTRODUÇÃO .....   | 11 |
| 1.1. Doença de Chagas .....   | 11 |
| 1.2. O <i>Trypanosoma cruzi</i> .....   | 14 |
| 1.3. O núcleo do <i>T. cruzi</i> .....  | 16 |
| 1.4. Proteoma e Proteômica .....  | 17 |
| 1.5. Proteômica em <i>T. cruzi</i> .....  | 19 |
| 1.6. Isolamento de frações nucleares de tripanossomatídeos .....                  | 20 |
| 2. OBJETIVO .....   | 21 |
| 2.1. Objetivos Geral .....  | 21 |
| 2.2. Objetivos Específicos .....  | 21 |
| 3. JUSTIFICATIVA .....  | 22 |
| 4. MATERIAIS E MÉTODOS .....  | 23 |
| 4.1. Materiais .....  | 23 |
| 4.1.1. Linhagem do <i>T. cruzi</i> .....  | 23 |
| 4.1.2. Soluções e Meios de Cultura .....  | 23 |
| 4.2. Métodos .....  | 25 |
| 4.2.1. Delineamento Experimental .....  | 25 |
| 4.2.2. Cultura das formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> CL-Brener. ....        | 26 |
| 4.2.3. Lise Celular .....   | 26 |
| 4.2.4. Separação de organelas de alta densidade .....                             | 26 |
| 4.2.5. Purificação Nuclear .....  | 27 |
| 4.2.6. Identificação das frações da ultracentrifugação por microscopia .....      | 29 |
| 4.2.7. SDS – PAGE .....   | 29 |
| 4.2.8. Eletroforese Bidimensional de Proteínas (2-DE) .....                       | 30 |
| 4.2.9. Identificação de proteínas .....   | 32 |
| 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....   | 35 |
| 5.1. Fracionamento Celular de Formas Epimastigotas de <i>T. cruzi</i> .....       | 35 |
| 5.2. Identificação das frações celulares por microscopia .....                    | 36 |
| 5.3. Análise do isolamento nuclear por meio de SDS-PAGE .....                     | 41 |
| 5.4. Análise da fração nuclear por meio de eletroforese bidimensional (2DE) ..... | 42 |

|   |    |
|---|----|
| 5.5. Identificação das proteínas da fração nuclear por LC-MS/MS ..... | 44 |
| 6. CONCLUSÕES E PESPECTIVAS.....                                      | 65 |
| 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....                                    | 66 |
| Apêndice.....   | 73 |

## Lista de Figuras

|   |    |
|---|----|
| <b>Figura 1:</b> Sintomatologia da doença de Chagas .....   | 12 |
| <b>Figura 2:</b> Mapa de distribuição dos casos de doença de Chagas no mundo: separação por diferentes tipos de transmissão. ....   | 13 |
| <b>Figura 3:</b> Ciclo de vida do <i>Trypanosoma cruzi</i> . ....   | 15 |
| <b>Figura 4:</b> Dinâmica dos cromossomos recém sintetizados durante o ciclo celular do <i>T. cruzi</i> . ....  | 17 |
| <b>Figura 5:</b> Representação da montagem do gradiente descontínuo de sacarose para separação da fração nuclear de <i>T. cruzi</i> . ....  | 27 |
| <b>Figura 6:</b> Metodologia do fracionamento celular de celular para obtenção de núcleos de <i>T. cruzi</i> isolados. ....   | 28 |
| <b>Figura 7:</b> Fracionamento subcelular de extrato de formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> por ultracentrifugação em gradiente de sacarose. ....   | 35 |
| <b>Figura 8:</b> Microscopia da fração nuclear. ....  | 37 |
| <b>Figura 9:</b> Microscopia da fração enriquecida de cinetoplastos .....   | 38 |
| <b>Figura 10:</b> Fracionamento celular de formas epimastigotas de <i>T. cruzi</i> . ....   | 39 |
| <b>Figura 11:</b> Comparação das frações de núcleos e cinetoplastos marcados com DAPI por microscopia. ....   | 39 |
| <b>Figura 12:</b> SDS-PAGE de amostras provenientes do fracionamento celular. ....  | 41 |
| <b>Figura 13:</b> Eletroforese Bidimensional (2DE) da fração nuclear de <i>T. cruzi</i> :.....  | 43 |
| <b>Figura 14:</b> Gráfico da distribuição celular das proteínas com localização celular única segundo por análise de Bioinformática (programa Blast2Go). ....                                   | 52 |
| <b>Figura 15:</b> Gráfico das distribuição (em porcentagem) de proteínas identificadas por grupos de função GO, confeccionadas através de ferramentas de bioinformática (Blast2GO).....         | 61 |
| <b>Figura 16:</b> Gráfico da distribuição (em porcentagem) de proteínas identificadas por participação em processos biológicos GO, obtidos através de análise de bioinformática (Blast2GO)..... | 63 |

## Listas de Siglas e Abreviaturas

|                 |   |
|-----------------|---|
| <b>2-DE</b>     | Eletroforese Bidimensional  |
| <b>BLAST</b>    | <i>Basic Local Alignment Search Tool</i> (Ferramenta Básica de Busca por Alinhamento Local)   |
| <b>BSA</b>      | <i>Bovine Serum Albumin</i> (Soro Albumina Bovina)  |
| <b>DAPI</b>     | 4,6-diamidino-2-phenylindole  |
| <b>DTT</b>      | Ditiotreitol  |
| <b>EDTA</b>     | <i>Ethylenediaminetetraacetic acid</i> (Ácido Etileno-diamino-tetraacético)   |
| <b>FDR</b>      | <i>False Discovery rate</i> (Taxa de Identificações Falsas)   |
| <b>IAA</b>      | Iodoacetamida   |
| <b>IPG</b>      | <i>Immobilized pH gradient</i> (Gradiente Imobilizado de pH)  |
| <b>LC-MS/MS</b> | <i>Liquid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry</i> (Cromatografia Líquida Acoplada a Espectrometria de Massa em Tandem)             |
| <b>LIT</b>      | <i>Liver Infusion Tryptose</i> (Meio de cultura para formas epimastigotas de <i>Trypanosoma cruzi</i> )   |
| <b>MALDI</b>    | <i>Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization</i> (Ionização por Dessorção a Laser Assitida por Matriz)  |
| <b>MO</b>       | Microscopia Óptica  |
| <b>MS</b>       | <i>Mass Spectrometry</i> (Espectrometria de Massa)  |
| <b>PBS</b>      | <i>Phosphate Buffer Saline</i> (Tampão Salino Fosfato)  |
| <b>SDS</b>      | <i>Sodium dodecyl sulphate</i> (Dodecil Sulfato de Sódio)   |
| <b>SDS-PAGE</b> | <i>Sodium Dodecil Sulphate – Polyacrylamide Gel Eletroforesis</i> (Eletroforese em Gel de Poliacrilamida em presença de Dodecil Sulfato de Sódio) |
| <b>TFA</b>      | Ácido Trifluoroacético  |
| <b>TOF</b>      | <i>Time of Flight</i> (Tempo de Voo)  |



## Resumo

O *Trypanosoma cruzi* é o protozoário causador da doença de Chagas, uma parasitose de grande relevância na América Latina. A divisão celular do *T. cruzi* possui características incomuns à maioria dos eucariotos, dado que durante o processo não ocorre o desaparecimento da membrana nuclear e condensação de seus cromossomos. O objetivo deste trabalho foi o estudo do conjunto de proteínas (proteoma) presentes no núcleo da forma epimastigota do *T. cruzi*. Para tanto, lisados celulares do parasito foram submetidos a um fracionamento celular por ultracentrifugação em gradiente de sacarose. O enriquecimento nuclear foi validado por microscopia de fluorescência com marcação para DNA e as imagens comparadas com a microscopia de campo claro, mostrando que a fração nuclear foi obtida com alto grau de pureza. A análise por SDS-PAGE mostrou diferenças evidentes de perfil proteico entre o extrato nuclear e extratos das demais frações obtidas durante o fracionamento. As proteínas do subproteoma nuclear foram posteriormente analisadas por eletroforese bidimensional (2-DE) e por digestão trípica seguida de cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas (LC-MS/MS). Usando esta última abordagem foi identificadas mais de 800 proteínas sendo quase 30% hipotéticas. Dentre os principais processos biológicos encontrados para as proteínas identificadas estão processos catabólicos, biossintéticos, geração de metabólitos e energia, processo metabólicos nucleares e tradução. As proteínas encontradas poderão ser alvos de futuros estudos para a elucidação de processos como divisão celular, transcrição gênica e formação de cromossomos, que hoje ainda não são bem elucidados.

## Abstract

The *Trypanosoma cruzi* is a protozoan that causes Chagas' disease, a disease of great relevance in Latin America. The replication process of the *T. cruzi* possesses unusual features, when compared to other eukaryotes; given that during this process, the nuclear membrane does not disappear and there is not chromosome condensation. The goal of this project was to study the set of proteins (proteome) that are present in the nucleus of the *T. cruzi* epimastigote life form. To this end, the parasite cell lysates were subjected to cell fractionation by sucrose gradient ultracentrifugation. As a way to validate these purity of the isolated cell fractions, we used optical microscopy methods including bright field analysis and fluorescence microscopy after DNA labeling. The images demonstrated that the nuclear fractions were obtained with high purity. Furthermore, SDS-PAGE analysis showed differences in protein profiles between the nuclear extracts and extracts of other fractions obtained during the fractionation. The proteins of the nuclear subproteome were subsequently analyzed by two-dimensional electrophoresis (2-DE) and liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Using the latter approach, we identified more than 800 proteins with almost 30 % being hypothetical. Among these proteins many are involved in important biological processes such as catabolic and biosynthetic pathway, metabolites and energy generation, nuclear metabolites and translation. Hence, the proteins describe in this work may be use in future studies to elucidate processes such as cell division, transcription and chromosomes packaging, which are not fully well understood.

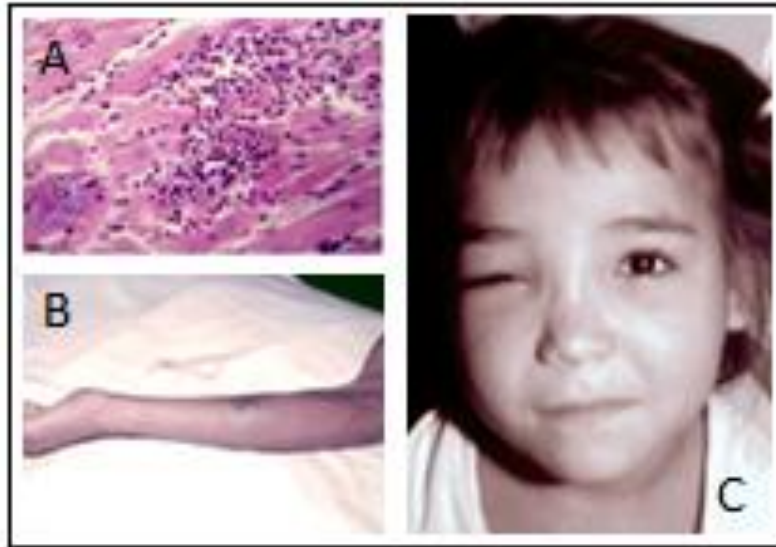
# 1. INTRODUÇÃO

## 1.1. Doença de Chagas

A tripanossomíase americana, também conhecida como a doença de Chagas, tem como agente etiológico o parasita flagelado *Trypanosoma cruzi* e afeta 10 milhões de pessoas pelo mundo. Inicialmente, essa doença era encontrada exclusivamente na América Latina, porém hoje já se propagou a outros continentes. Cerca de 30% dos enfermos crônicos da doença de Chagas apresentam alterações cardíacas enquanto que 10% apresentam alterações digestivas e neurológicas (WHO, 2013).

A doença de Chagas foi descoberta pelo médico sanitariano Carlos Chagas em 1909. Com o desequilíbrio ecológico provocado pela ocupação e pelas atividades antrópicas em áreas silvestres e rurais, a doença disseminou-se, tornando-se endêmica em muitas regiões. Normalmente, as pessoas mais expostas possuem uma baixa condição sociocultural e econômica o que agrava ainda mais os efeitos da doença sobre a sociedade (CUNHA NETO, 2009).

A doença de Chagas pode se apresentar nas fases aguda ou crônica, que dependem tanto do tempo de infecção quanto da resposta do hospedeiro. As características da fase aguda variam quanto a sua clínica e a sua gravidade. Normalmente o diagnóstico nesta fase é feito pela detecção do parasito no sangue periférico, usando métodos diretos ou indiretos e/ou pela presença de anticorpos no soro do paciente. Importantes sintomas clínicos da fase aguda, que dependem da porta de entrada do parasito (ocular ou cutâneo), são o Sinal de Romaña (Figura 1c), um edema bipalpebral, e o chamado Chagoma de inoculação cutâneo (Figura 1b). Na fase crônica da doença predomina a baixa parasitemia tornando os testes parasitológicos pouco eficientes. Como o título de anticorpos é alto na fase crônica o diagnóstico nesta fase é essencialmente sorológico. Na fase crônica o paciente pode apresentar-se sem sintomas aparentes (fase indeterminada) ou desenvolver a forma cardíaca (Figura 1a) ou digestiva da doença (FIOCRUZ, 2014)

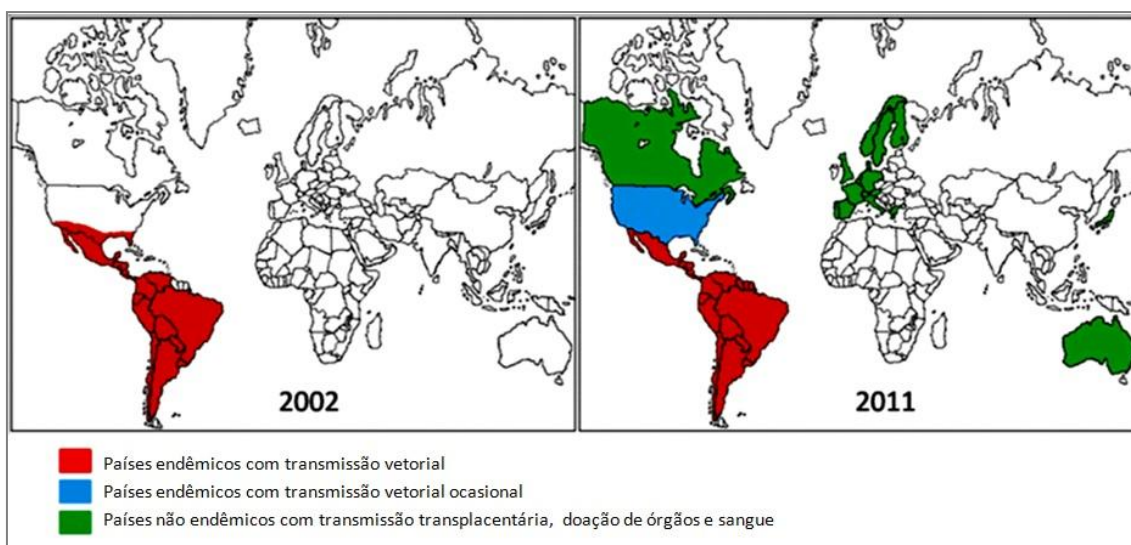


**Figura 1:** Sintomatologia da doença de Chagas: A – Células musculares cardíacas com presença da forma amastigota, B – Chagoma cutâneo, C – Sinal de Romaña. Adaptado de: (FIOCRUZ, 2014)

O *T. cruzi* tem como vetores, insetos triatomíneos hematófagos (Hemiptera) conhecidos como barbeiros. Existem 142 espécies de triatomíneos catalogadas no continente americano sendo que 62 encontradas no Brasil (SILVA *et al.*, 2012). Estes triatomíneos infectam também uma grande variedade de hospedeiros mamíferos domésticos como cão, gato, porco e rato ou silvestres como macacos, tatu, gambá e morcego, dentre outros (SILVEIRA, 2000).

Podemos citar também as formas alternativas de transmissão como: transfusão de sangue e transplante de tecidos contaminados, transmissão vertical ou congênita, transmissão por alimentos contaminados e acidentes laboratoriais (WHO, 2013).

A doença de Chagas é endêmica na América Latina, porém está se tornando uma doença de relevância mundial. Dados recentes da Organização Mundial da saúde mostram um aumento da área afetada pela doença, que atinge agora a região de fronteira entre Estados Unidos e México (WHO, 2013). Houve também um aumento na transmissão por transfusão sanguínea e doação de órgãos em regiões não endêmicas como Canadá, Austrália e países da Europa (Figura 2).



**Figura 2:** Mapa de distribuição dos casos de doença de Chagas no mundo: separação por diferentes tipos de transmissão (adaptado de WHO, 2013).

Países latino-americanos intensificaram o combate ao vetor e a triagem sorológica em bancos de sangue, com o intuito de diminuir a transmissão da doença. Apesar dessas políticas de controle da infecção no Brasil, na primeira década do milênio foram registrados 945 novos casos e somando-se estes aos 2 milhões de portadores da doença de Chagas já existentes, colocam o país como zona endêmica da infecção (SVS/MS, 2010).

Para o tratamento da doença de Chagas estão disponíveis apenas duas drogas, o composto derivado do nitrofurano, o Nifurtinox (NFX) (Lampit – Bayer) e o composto derivado do nitroimidazol, o Benzonidazol (BZ) (Rochagan – Roche), sendo o último o único liberado para uso no Brasil. Ambas as drogas reduzem a severidade da doença quando usadas nas fases iniciais da infecção (WHO, 2013). Quanto mais cedo o paciente é diagnosticado como portador da doença de Chagas maiores as chances do tratamento ser efetivo (MS, 2005).

O uso de drogas em imunodeprimidos ou na fase crônica da doença apresenta eficácia baixa além de efeitos colaterais importantes (URBINA *et al.*, 1999).

O desenvolvimento de novos tratamentos, assim como a produção de uma vacina eficaz não obteve muitos avanços, sendo ainda hoje considerada a melhor estratégia para o controle da doença a prevenção da transmissão do parasito.

## 1.2. O *Trypanosoma cruzi*

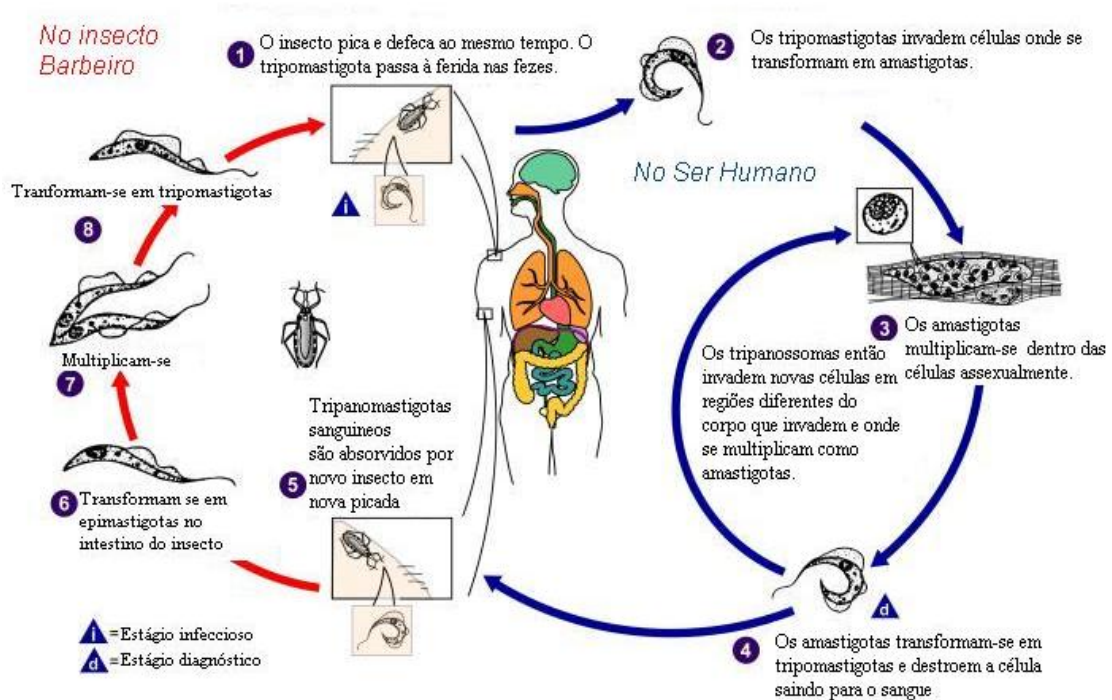
O *Trypanosoma cruzi* pertence ao reino Protista, filo Protozoa, classe Kinetoplastidae, ordem Trypanomastida e família Trypanosomatidae (LEVINE *et al.*, 1980) e vem de uma família que diverge evolutivamente dos demais eucariotos. Esse parasita apresenta características como a presença de organelas delimitadas por membranas, entre elas: retículo endoplasmático, membrana nuclear e glicossomos. Possui apenas uma grande mitocôndria responsável pela produção energética da célula e onde o DNA mitocondrial (kDNA) está compartimentado em uma estrutura chamado de cinetoplasto (SILVEIRA *et al.*, 2000).

O *T. cruzi* possui ciclo de vida digenético apresentando diferentes formas de vida ora no inseto vetor, ora no hospedeiro vertebrado. Assume quatro formas principais durante seu ciclo de vida: epimastigota, tripomastigota metacíclico, tripomastigota e amastigota. A forma tripomastigota é alongada, apresenta seu cinetoplasto posterior ao núcleo e seu flagelo emerge da bolsa flagelar localizada na extremidade posterior do parasito. A forma amastigota é arredondada e apresenta um flagelo curto que praticamente não se exterioriza da bolsa flagelar, seu cinetoplasto tem forma de bastão e é anterior ao núcleo. A forma epimastigota apresenta o cinetoplasto anterior ao núcleo e o flagelo emerge de uma abertura lateral e percorre parte do corpo do parasita tornando-se livre na porção anterior (SOUSA, 1999) (Figura 3).

Durante o ciclo de vida do *T. cruzi* os tripomastigotas metacíclicos são liberados por meio das fezes e urina do barbeiro e entram na corrente sanguínea do hospedeiro vertebrado por uma escoriação na pele ou por meio das mucosas. Posteriormente são internalizados por células fagocitárias e alguns destes parasitos conseguem sobreviver aos mecanismos de defesa do hospedeiro, escapando do fagossomo para o citoplasma celular (TEIXEIRA, *et. al.*, 2006). No citoplasma, os tripomastigotas se diferenciam na forma replicativa amastigota, que duplica sua população em 15 horas, e possui um ciclo intracelular que dura 4 dias (ENGEL *et al*, 2008). A forma amastigota pode permanecer nas células musculares do hospedeiro por décadas, sem causar danos significativos a estes tecidos (TEIXEIRA, *et. al.*, 2006). Eventualmente, os amastigotas diferenciam-se

em formas tripomastigotas (chamadas sanguíneas) que ao romperem a célula hospedeira, chegam ao sistema circulatório, podendo infectar diferentes tipos celulares (GARCIA, DE ALAMBUJA; 2000).

Após o vetor hematófago ingerir sangue de um hospedeiro contendo formas tripomastigotas, estas migram para o intestino do inseto e diferenciam-se para formas epimastigotas que se multiplicarão. Após a replicação das formas epimastigotas, estas sofrem uma nova diferenciação, tornando-se tripomastigotas metacíclicas, que poderão infectar outro hospedeiro vertebrado, fechando o ciclo deste parasito (Figura 3) (GARCIA, DE ALAMBUJA; 2000).



**Figura 3:** Ciclo de vida do *Trypanosoma cruzi* (DPDx, 2014).

### **1.3. O núcleo do *T. cruzi***

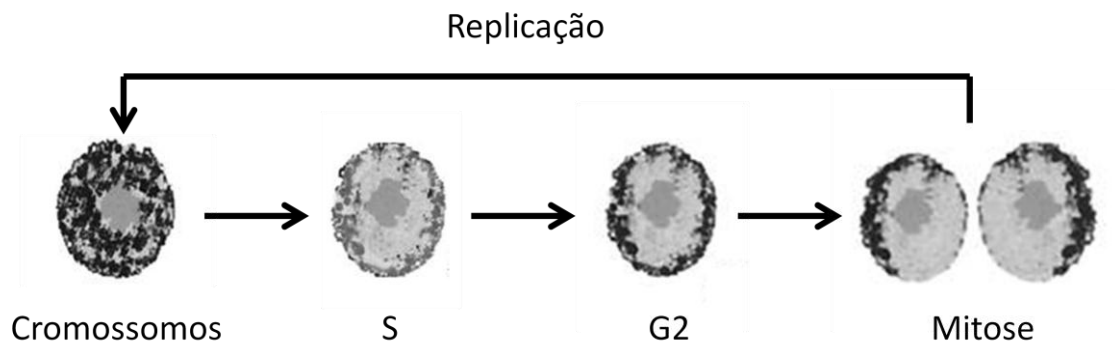
O núcleo é uma organela presente nos eucariotos que abriga inúmeros processos celulares, principalmente aqueles que envolvem o DNA, como a replicação e a transcrição. O núcleo é compartimentalizado e sua organização determina regiões onde ocorrem processos biológicos específicos durante o ciclo celular. (LAMOND; SPECTOR, 2003; MISTELI 2005).

Os tripanossomatídeos possuem características peculiares em certos processos nucleares como a transcrição e a compactação do DNA, tendo assim uma organização nuclear distinta dos demais eucariotos.

Em *T. cruzi*, o DNA é compactado para formar a cromatina por processo semelhante ao dos demais eucariotos com a participação do octâmero formado por duplas de histonas H2A, H2B, H3 e H4 (ALSFORD; HORN, 2004). Pouco se sabe a respeito da formação e distribuição dos cromossomos no núcleo, até mesmo pela dificuldade de determinar o número de cromossomos presentes nesse organismo uma vez que durante a mitose os cromossomos não se condensam totalmente (SOLARI, 1980).

Foi também demonstrado que a membrana nuclear permanece intacta durante todo o processo de divisão (mitose fechada) (SOLARI, 1995). Na fase G1 do ciclo celular do *T. cruzi* os cromossomos estão dispersos pelo núcleo e migram para a periferia nuclear, onde posteriormente ocorrerá a replicação do DNA (fase S) e permanecem na periferia nuclear até o fim da mitose (Figura 4) (ELIAS *et al.*, 2002).





**Figura 4:** Dinâmica dos cromossomos recém sintetizados durante o ciclo celular do *T. cruzi*. Em G1, os cromossomos se encontram dispersos no núcleo. Durante a fase S, os cromossomos são mantidos na periferia nuclear, permanecendo nesse local durante a mitose e se dispersando ao seu final. Os nucléolos podem ser vistos no centro das estruturas (modificada de ELIAS *et al.*, 2002).

Em *T. cruzi*, diferentes genes são transcritos em uma mesma fita de RNA por um processo chamado transcrição policistrônica. O RNA policistrônico sofre posteriormente um processo chamado *trans-splicing*, onde uma sequência líder é adicionada na porção 5' e uma cauda poli-A na porção 3', individualizando os RNAs policistrônicos, para a formação do RNA maduro.

#### 1.4. Proteoma e Proteômica

Proteoma é o conjunto de proteínas expressas em uma amostra biológica em um dado momento, independente se sua origem é celular, tecidual ou fluídica (AEBERSOLD *et al.*, 2001). Diferentemente do genoma, que é praticamente estático e pode ser bem definido em um determinado organismo, o proteoma está continuamente em mudança devido a respostas a fatores internos e externos (GUERCIO, 2009).

O estudos dos proteomas (proteômica) pode ser realizado de forma qualitativa ou quantitativa. O proteoma pode abranger amostras de proteínas de frações celulares como é o caso dos subproteomas, bem como amostras mais complexas como o estudo das proteínas que compõem um ecossistema (VALLEDOR; JORRIN, 2011).

Várias estratégias podem ser usadas para o estudo da expressão proteica de um organismo. Hoje estão entre as estratégias que mais se destacam estão: 1)

a separação das proteínas do proteoma por eletroforese bidimensional em gel de poliacrilamida (2-DE), seguido da digestão proteolítica dos *spots* proteicos e identificação por espectrometria de massas (MS); 2) digestão proteolítica em solução das proteínas totais do proteoma e posterior identificação das proteínas pela análise dos peptídeos por cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massas (LC-MS/MS) (ASTROZ, *et al*, 2012).

A eletroforese bidimensional (2-DE) vem sendo utilizada como técnica qualitativa desde que foi descrita, em 1975 (KLOSE, 1975; O' FARRELL, 1975). Esta técnica tem um poder de resolução que permite separar milhares de polipeptídios de acordo com seus pontos isoeletricos na primeira dimensão e suas massas moleculares aparentes na segunda dimensão. Por outro lado, cada vez mais avançados, os espectrômetros de massas têm melhorado seu poder de resolução, facilidade de aquisição e limite de detecção, se tornando indispensáveis na pesquisa proteômica (ISSAQ; VEENSTRA, 2008).

Normalmente as proteínas separadas por 2-DE são identificadas usando-se espectrometria de massas do tipo MALDI-TOF. De um modo geral, as amostras introduzidas em um espectrômetro do tipo MALDI-TOF são ionizadas juntamente com uma matriz, gerando íons que serão separados de acordo com sua relação massa/carga ( $m/z$ ) em um tubo de vácuo. Estes íons serão detectados por um detector, que gera sinais elétricos que são processados, e enfim, transformados em um espectro de massas.

Mais recentemente, a introdução de espectrômetros de massa associados a cromatógrafos líquidos de alta eficiência (LC/MS-MS) possibilitou o desenvolvimento de técnicas como o “*shotgun*”, que propicia uma análise rápida e direta de um conjunto complexo de proteínas presentes em uma amostra. A estratégia LC-MS/MS permite que amostras complexas sejam analisadas com maior rapidez e eficiência, exigindo menor quantidade de material a ser analisado. A espectrometria de massas associada à cromatografia líquida possibilitou também o desenvolvimento de técnicas de análise quantitativa de proteínas, permitindo que se compare a expressão de uma dada proteína em amostras diferentes (WU; MACCOSS, 2002).

### 1.5. Proteômica em *T. cruzi*

A proteômica é uma ferramenta bastante apropriada para o estudo da expressão de proteínas em tripanossomatídeos, principalmente devido ao fato de que estes protozoários parecem não utilizar o início da transcrição como uma etapa regulatória do controle da expressão gênica (VANHAME, 1995)

Em 2004, nosso grupo de pesquisa publicou um dos primeiros estudos de análise proteômica entre as formas do *T. cruzi* usando eletroforese bidimensional, espectrometria de massa e análise computacional, onde parte das proteínas identificadas apresentou-se diferencialmente expressa entre as formas amastigota, epimastigota e tripomastigota (PABA *et al.*, 2004).

Entre outros trabalhos que utilizaram ferramentas proteômicas na pesquisa em *T. cruzi* estão: o estudo da metaciclologênese (PARODI-TALICE *et al.*, 2007), estudo do proteoma da fração proteica alcalina (MAGALHÃES *et al.*, 2008), estudo da resistência a quimioterápicos (ANDRADE, *et al.*, 2008; SILVEIRA *et al.*, 2000) e o estudo proteômico do processo de amastigogênese (QUEIROZ, 2013).

Outro estudo proteômico de *T. cruzi* identificou 2.864 proteínas, 1.861 proteínas para a forma epimastigota onde 732 são exclusivas deste estágio de vida (ATWOOD III, 2005).

A análise de uma fração específica de um proteoma – subproteoma – permite concentrar em uma amostra, proteínas que estariam sub-representadas em um estudo proteômico de uma amostra biológica completa (por exemplo uma célula ou tecido) (TAYLOR *et al.*, 2003).

O fracionamento celular reduz a complexidade da amostra concentrando as proteínas presentes em uma determinada estrutura subcelular. Exemplos de análise subproteômica de *T. cruzi* foram a análise dos reservossomas (SANT'ANNA *et al.*, 2009), o subproteoma da superfície celular das formas de estágios de vida presentes no homem (QUEIROZ, 2013), o estudo quantitativo do fosfoproteoma durante o processo de amastigogênese e do secretoma das formas epimastigotas em pH fisiológico (QUEIROZ, 2013) e o estudo do subproteoma de organelas de alta densidade (GUERCIO, 2009).

Com o surgimento da metodologia que capaz de obter fração nuclear de *T. brucei* (ROUT *et al.*, 2001) foi possível a adaptação dessa técnica para o isolamento nuclear de *T. cruzi* com o intuito de realizar um novo estudo subproteômico.

#### **1.6. Isolamento de frações nucleares de tripanossomatídeos.**

Organelas, compartimentos celulares e membranas fornecem subconjuntos proteicos de grande utilidade, principalmente para o estudo de subproteomas. (TAYLOR, *et al.*, 2003).

Muitos trabalhos discutem métodos de fracionamento nuclear em diversos organismos (HYMER, *et al.*, 1963; PETERSEN, 1985; ROUT *et al.*, 2001; DEGRASSE, *et. al*, 2008). Um fracionamento celular bem sucedido é aquele capaz de concentrar a estrutura desejada evitando-se a contaminação com as outras frações celulares, permitindo assim a obtenção de uma amostra do subproteoma livre de contaminantes. A estratégia mais usada para obtenção de frações celulares utiliza características como as diferentes densidades e tamanhos das estruturas para separá-las.

Alguns trabalhos já se propuseram a separar frações celulares de tripanossomas (ROUT *et al.*, 2001; GUERCIO, 2009). Quando se trata especificamente do isolamento nuclear em *T. cruzi*, já foram propostas metodologias como a de Nagakura e colaboradores (1986) que usa um gradiente descontínuo com tampão alcalino, que contem sacarose e magnésio, e que foi capaz de isolar a maior parte dos núcleos, mitocôndrias e microsomos das formas epimastigotas de *T. cruzi* contidos na amostra.

Entre as metodologias mais promissoras para obter a amostra para o estudo proteômico de núcleos destes parasitas foi demonstrado em *T. bucei*, usando gradiente de sacarose descontínuo e ultracentrifugação (ROUT *et al*, 2001).

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivos Geral**

Esse presente trabalho teve como objetivo realizar a análise subproteômica da fração nuclear da forma epimastigota do *T. cruzi* a fim de identificar as proteínas que compõem a referida organela.

### **2.2. Objetivos Específicos**

- Isolar fração nuclear da forma epimastigota do *T. cruzi* baseado no método desenvolvido por Rout e colaboradores (2001) para *T. brucei*.
- Validar a fração purificada por meio de métodos de microscopia.
- Caracterizar o subproteoma nuclear usando estratégia do tipo LC-MS/MS.

### 3. JUSTIFICATIVA

Como explicado anteriormente, devido à regulação gênica em *T. cruzi* ocorrer em nível pós-transcricional, as estratégias proteômicas tornam-se particularmente adequadas para o estudo da expressão gênica deste parasito. Deve-se ressaltar que o recente sequenciamento do genoma do *T. cruzi* (EL-SAYED *et al.*, 2005) mostrou que praticamente a metade do proteoma predito do parasito possui função desconhecida, resultando em proteínas anotadas como "hipotéticas". Os estudos proteômicos podem, portanto, contribuir para a verificação da expressão e determinação da função de tais proteínas hipotéticas, assim como identificar potenciais marcadores moleculares de estágios e possíveis alvos de drogas e vacinas.

O fracionamento do proteoma total de uma amostra biológica (no caso o *T. cruzi*) em subproteomas permite a diminuição da complexidade protéica, o enriquecimento de proteínas pouco abundantes e a geração de informações sobre a localização subcelular das proteínas identificadas. Seguindo essa estratégia, em 2009 nosso grupo de pesquisa se propôs a trabalhar com subproteoma nuclear de *T. cruzi*. O trabalho de caracterização proteômica do núcleo de *T. cruzi* torna-se ainda mais interessante quando se observa que durante a mitose o parasito, ao contrário da maior parte dos eucariotos, mantém seu núcleo íntegro e não condensa completamente seus cromossomos.

Por fim, espera-se que o trabalho aqui realizado com as formas epimastigotas de *T. cruzi*, contribua para futuras pesquisas envolvendo aspectos da biologia do parasito, incluindo o estudo da divisão e diferenciação celular de suas formas de vida.

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais

#### 4.1.1. Linhagem do *T. cruzi*

Em todo o desenvolvimento do trabalho, a cepa de *T. cruzi* utilizada foi a CL – Brener (BRENER; CHIARI; 1963).

#### 4.1.2. Soluções e Meios de Cultura

##### 4.1.2.1. Meio de cultura LIT (Liver Infusion Tryptose)

Composição: NaCl 0,4% (m/v); KCl 0,4% (m/v); Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,8% (m/v); Glicose 0,2% (m/v); Tryptose 0,5%(m/v); Infusão de fígado 0,5%(m/v); Hemina 0,0025 %(v/v); Soro Fetal Bovino 10 %(v/v).

O extrato de fígado foi previamente dissolvido em água destilada, aquecido a 60 °C em placa aquecedora sob agitação durante 1 h e filtrado em papel Whatman número 1. O pH foi ajustado para 7,2 com HCl concentrado e o meio foi filtrado utilizando membrana de com poro de 0,22 µm (Millipore). Após esterilização, o meio foi suplementado para uso com soro fetal bovino 10 % (Gibco – BRL), hemina a uma concentração final de 2 mg/mL e ampicilina (100 µg/mL)/estreptomicina (30 µg/mL) esterilizados por filtração em filtro 0,22 µm (Millipore) (CAMARGO, 1964).

##### 4.1.2.2. Solução de Antibióticos

A solução de antibióticos continha uma solução de mistura de ampicilina (100 µg/mL) e estreptomicina (30 µg/mL). A solução foi esterilizada por filtração

através de filtro 0,22 µm (Millipore), distribuída assepticamente em alíquotas de 0,5 mL e armazenadas a -20 °C.

#### 4.1.2.3. Soluções para géis SDS-PAGE

Gel Separador 13%

Tris HCl (pH 8,8) 0,375 M; SDS 0,1% (m/v); Acrilamida/Bisacrilamida (39:1 p/p) 13 % (v/v); APS 1,0% (m/v); TEMED 0,1 % (m/v).

Gel Concentrador 4%

Tris HCl (pH 6,8) 0,125 M; SDS 0,1 % (m/v); Acrilamida/Bisacrilamida (39:1 p/p) 4 % (v/v); APS; 1 % (m/v); TEMED 0,1 % (v/v).

Tampão de Corrida Tris-Glicina (5X)

Tris Base 0,125 M; Glicina 1,25 M; SDS 0,5 % (m/v).

Tampão de Amostra (2X)

Tris HCl (pH 6,8) 0,16 M; Sacarose 24 % (m/v); SDS 4 % (m/v); β-Mercaptoetanol 4 % (v/v); Azul de Bromofenol 0,05 %. (m/v)

#### 4.1.2.4. Soluções para Focalização Isoelétrica

Tampão Ureia Tiureia

Uréia 7 M, Tiuréia 2 M

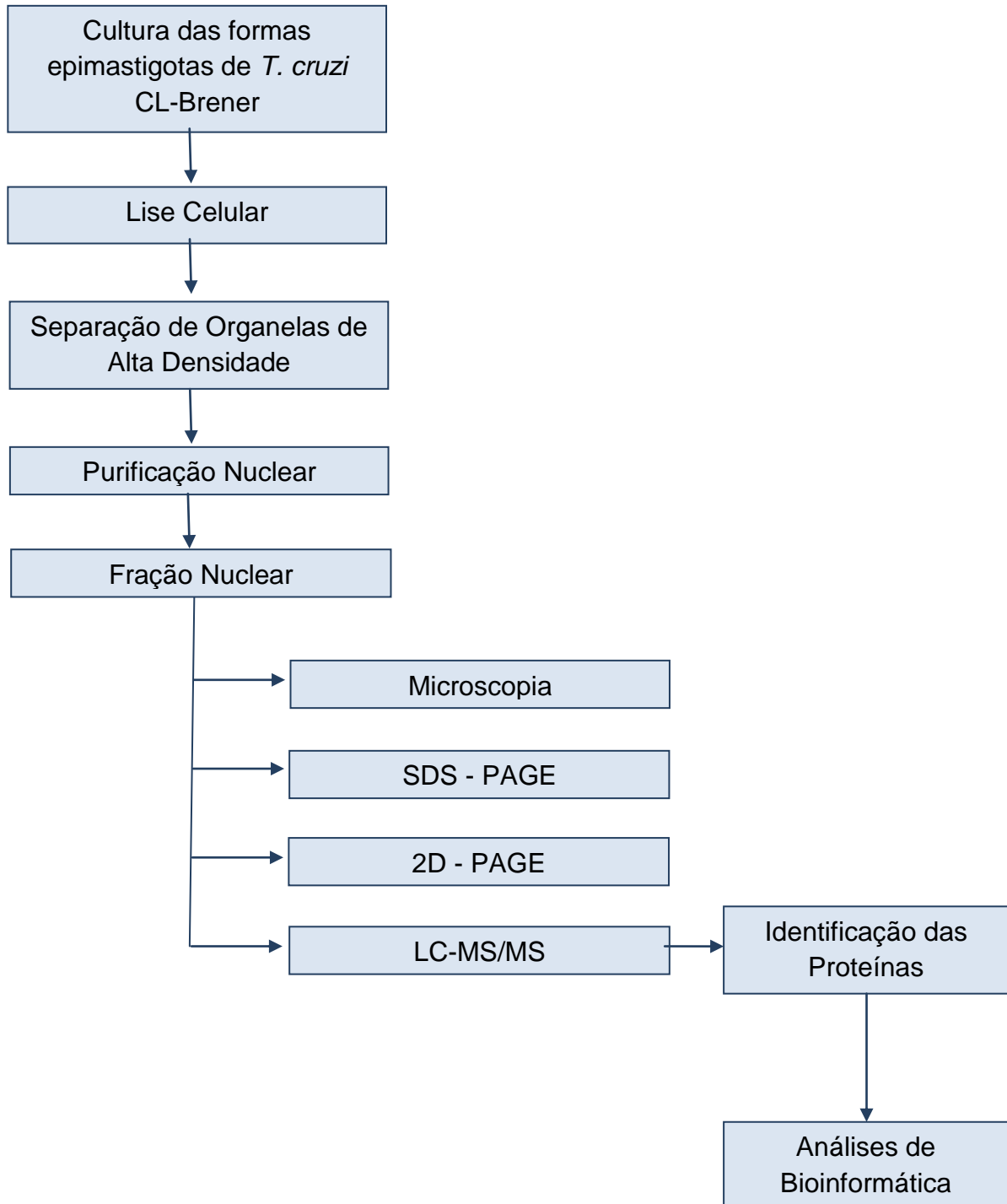
Tampão de Equilíbrio

Tris 50 mM pH 8,0, Ureia 6 M, Glicerol 30 % (v/v) SDS 2 % (m/v)



## 4.2. Métodos

### 4.2.1. Delineamento Experimental



#### 4.2.2. *Cultura das formas epimastigotas de T. cruzi CL-Brener.*

As formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, foram cultivadas em meio LIT, 28 °C, em estufa, de modo que o volume do meio de cultura não ultrapassasse 25% do volume do frasco. As culturas foram crescidas por 2 a 3 dias, até alcançar densidade celular  $10^7$  parasitas/mL, e posteriormente repicadas até alcançar a quantidade total de  $10^{10}$  parasitas. A viabilidade celular foi acompanhada por microscopia ótica.

#### 4.2.3. *Lise Celular*

Culturas contendo cerca de  $10^{10}$  células foram centrifugadas a 5000 g por 10 min a 4 °C e os parasitos sedimentados foram lavados por três vezes com PBS 1X (NaCl 137 mM;  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  7 mM; KCL 2,7 mM;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,5 mM). O sedimento final foi ressuspensão em TENM2 1X (TRIS-HCl pH 7,4, NaCl 10 mM,  $\text{MgCl}_2$  1 mM,  $\text{MnCl}_2$  1 mM,  $\beta$  – mercaptanol 5 mM) – tampão hipotônico – para um volume oito vezes maior que o volume do sedimento e incubado em gelo por 5 min. Após análise da turgidez das células por microscopia ótica (M. O.), foram adicionados Nonidet P40 0,5% (v/v) e um coquetel de Inibidores de Proteases EDTA free (Roche). No banho de gelo e com auxílio de um homogenizador de vidro do tipo *dounce* procedeu-se a lise mecânica das células (aproximadamente 15 movimentos), que foi confirmada na M.O. Adicionou-se então 1/7 do volume de solução sacarose 2 M para reestabelecer a molaridade da solução.

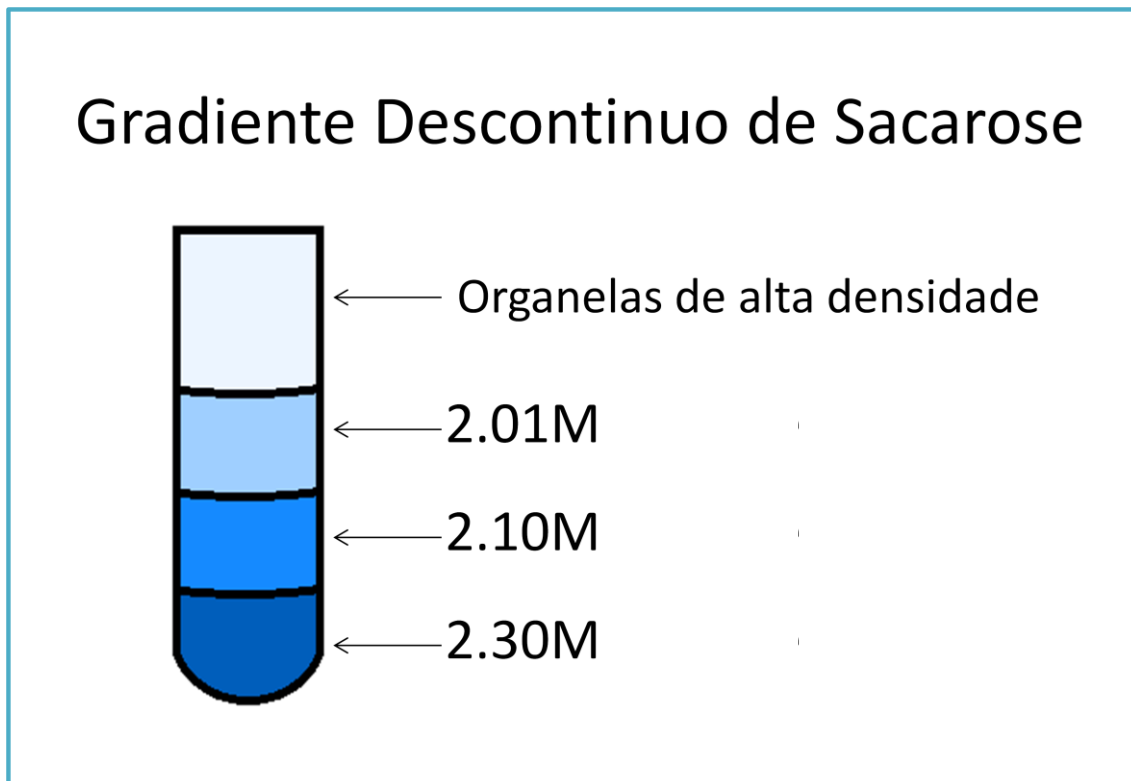
#### 4.2.4. *Separação de organelas de alta densidade*

O protocolo de separação de organelas de alta densidade foi adaptado do trabalho de Batista e colaboradores, 1994. Em um tubo de fundo cônico de 50 mL adicionou-se um colchão de 5 mL de sacarose 2 M e sobre este delicadamente foi colocado o lisado das células de *T. cruzi*. O material foi centrifugado a 2000 g por 10 min a 4 °C. O sedimento, uma fração de organelas de alta densidade,

posteriormente usado na preparação da fração nuclear, foi resuspensa com 16 mL de Sacarose 1,9 M em TENM2 1X em banho de gelo.

#### 4.2.5. Purificação Nuclear

A separação nuclear foi adaptada do trabalho de Rout e colaboradores (2001). Em tubo de plástico para ultracentrifuga (Beckman Coulterb Optima L 90K, rotor SW28) foi montado delicadamente um gradiente descontínuo de sacarose onde no nível inferior adicionou-se 8 mL de Sacarose 2,3 M em TENM 1X, no nível intermediário 8 mL de Sacarose 2,1 M em TENM 1X e no nível superior 8 mL de Sacarose 2,01 M em TENM2 1X. Sobre o gradiente descontínuo foram adicionados delicadamente 8 mL da amostra contendo as organelas de alta densidade. Se necessário o volume do tubo era completado com solução TENM2 1X, a mesma solução também foi usada para os ajustes dos pesos entre os tubos de para a centrifugação (Figura 5).

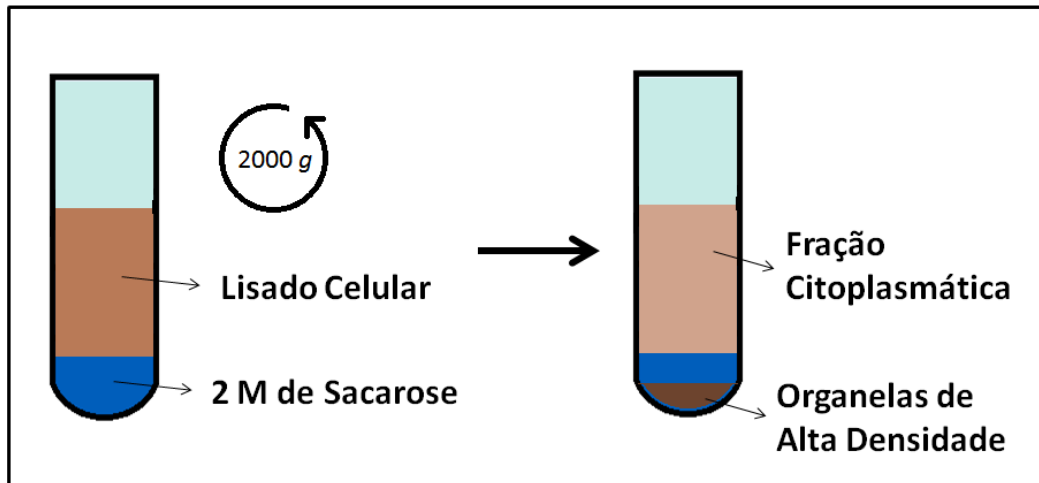


**Figura 5:** Representação da montagem do gradiente descontínuo de sacarose para separação da fração nuclear de *T. cruzi*.

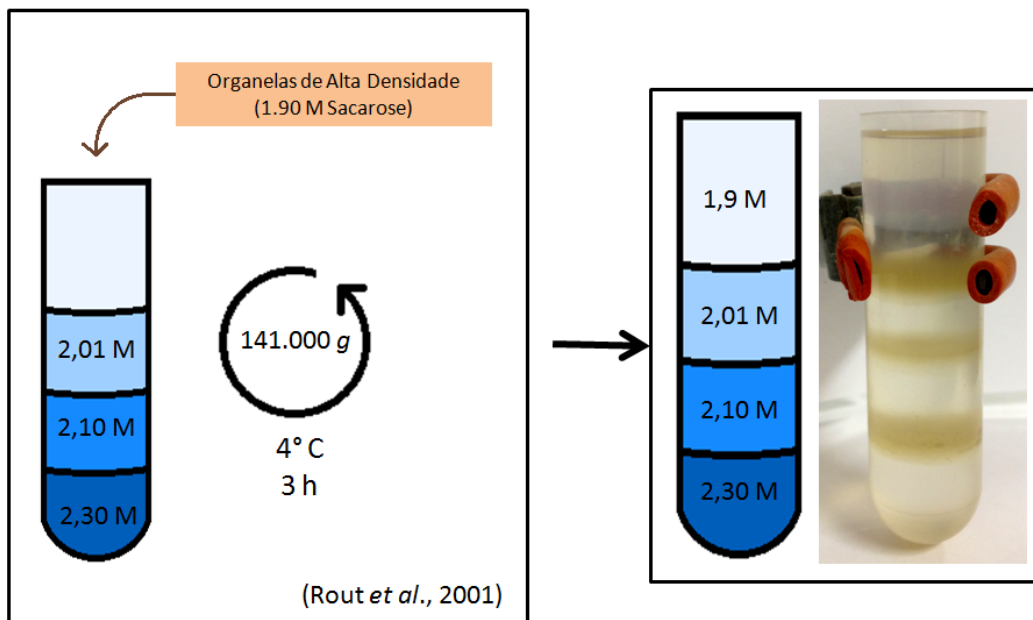
Os tubos foram centrifugados a 141.000 g, 4° C, no vácuo, 3 h.

Após a centrifugação, o material retido nos halos e o sedimentado foram recolhidos e congelados -80° C para análises posteriores (Figura 6).

### 1ª Etapa Organelas de Alta Densidade



### 2ª Etapa Ultracentrifugação



**Figura 6:** Metodologia do fracionamento celular de celular para obtenção de núcleos de *T. cruzi* isolados.

#### 4.2.6. Identificação das frações da ultracentrifugação por microscopia

##### 4.2.6.1. Microscopia Óptica

Alíquotas das frações da ultracentrifugação foram espalhadas em uma lâmina de microscopia e deixadas para secar a temperatura ambiente. Após secas elas foram fixadas com metanol e coradas com azul de metileno por 1 min. O excesso de corante foi retirado com água corrente. As lâminas foram levadas para microscópio óptico, observadas no aumento de 1.000x e fotografadas.

##### 4.2.6.2. Microscopia de Fluorescência

Alíquotas de 10 µL das frações da ultracentrifugação foram misturadas a 5 µL de Prolong® DAPI (Invitrogen). A mistura foi aplicada no centro da lâmina de microscopia que posteriormente recebeu uma lamínula. A lâmina ficou incubada no escuro por 36 h e posteriormente foram observadas ao microscópio confocal (Leica Microsystems) e fotografadas. Com o objetivo de confirmar a presença de DNA dupla fita nas estruturas analisadas.

##### 4.2.7. SDS – PAGE

A eletroforese desnaturante em gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) seguiu o protocolo original de Laemmli (1970). O gel de poliacrilamida foi polimerizado a 13% para o gel separador e 4% para o gel concentrador ambos com uma malha 30:1 (acrilamida:bisacrilamida). As eletroforeses foram realizadas com uma corrente constante de 25 mA à temperatura ambiente.

#### 4.2.8. Eletroforese Bidimensional de Proteínas (2-DE)

##### 4.2.8.1. Lise Nuclear

O volume de 200  $\mu$ L da fração enriquecida de núcleos retirada foi diluída em PBS 1X em proporção 1:5 (v/v) e centrifugada à 15.000 g por 20 min. O sedimento foi resuspendido com 100  $\mu$ L do tampão ureia 7 M, tioureia 2 M. O tubo foi mantido em banho de gelo e agitado vigorosamente de 5 em 5 min durante 1 h. A lise dos núcleos foi confirmada através de microscopia óptica. As proteínas foram quantificadas com auxílio do Plus One 2D Quant Kit® (GE Healthcare).

##### 4.2.8.2. Primeira Dimensão: Focalização Isoelétrica

Foram usados géis de gradiente imobilizado de pH, Immobiline™ Dry Strip 18 cm com faixa de pH 3-10 Linear (GE Healthcare ou GE Lifesciences). As amostras foram preparadas em uma solução de concentração final composta por DTT 85 mM, Triton X-100 2,5 % (m/v), IPG buffer pH 3-10 GE® 0,5% (m/v) em ureia 7 M, tioureia 2 M e isopropanol 10 % (v/v). A amostra foi aplicada por *reidratação in gel* durante 6 horas à 20°C. A focalização isoeletrica foi realizada no aparelho Ettan IPGphor III GE®, à 20°C usando corrente constante da 50  $\mu$ A/strip com um total de 33680 Vh, usando as seguintes etapas: 6 h – 30 V, 1 h – 500 V, 1 h – 1000 V, 4 h – 8000 V. Após a focalização, os *strips* foram reduzidos em solução de equilíbrio suplementada com 125 mM de DTT, incubado durante 40 min, e posteriormente alquilados na mesma solução de equilíbrio adicionada com acrilamida 300 mM (MINEKI *et al.*, 2002; SANCHEZ *et al.*, 1997).

##### 4.2.8.3. Segunda dimensão: SDS – PAGE

As *strips* equilibradas foram transferidas para um gel de SDS – PAGE, 13% para gel separador e 4% para o gel concentrador ambos com proporção. Foi usado um sistema 20x20 cm (Bio Rad), as corridas eletroforéticas foram

realizadas com uma corrente constante de 25 mA, em banho de resfriamento a 4° C.

#### 4.2.8.4. Coloração

##### 4.2.8.4.1. Coomassie blue

A coloração do gel foi feita com a solução de Coomassie Blue R-250 (0,1% (m/v) Coomassie Blue R-250, 50% (v/v) Metanol, 10% (v/v) Ácido Acético Glacial), incubando-o sob agitação à temperatura ambiente por 2 horas e descorado com solução descorante (50% (v/v) Metanol; 10% (v/v) Ácido Acético Glacial) em seguida para visualização das bandas.

##### 4.2.8.4.2. Coloração com Prata

Após a eletroforese, os géis foram corados com nitrato de prata (Blum,1987). Os géis foram fixados com etanol 50% (v/v), ácido acético 12% (v/v), formaldeído 0,05% (v/v) por 20 min, incubados com álcool etílico 50% (v/v) por 20 min e sensibilizados em tiosulfato de sódio 0,02% (p/v) por 1 min seguido de 3 lavagens de 20 segundos com água Milli Q. Posteriormente os géis foram impregnados por 20 min. em nitrato de prata 0,2% (p/v) e formaldeído 0,075% (v/v), lavados por 20 segundos com água por duas vezes e revelados com carbonato de sódio 6% (p/v), formaldeído 0,05% (v/v). A reação foi parada com etanol 50% (v/v), ácido acético 12% (v/v). Os géis foram guardados em ácido acético 1% (v/v)

#### 4.2.9. Identificação de proteínas

##### 4.2.9.1. Digestão trípica em solução

Alíquotas das proteínas foram reuzidas em solução de 10 mM de DTT em 100 mM pH 8,3 de bicarbonato de amônio durante 1h a 30° C. Posteriormente as cisteínas foram bloqueadas usando solução de iodocetamida (IAA) 40 mM durante 30 min no escuro e à temperatura ambiente. A fração nuclear reduzidas e alquiladas foram resuspensos com tampão de digestão (175 µL de água MilliQ® e 20 µL de tripsina (0,1 µg/µL) (Promega™) para cada 100 µg de proteínas). As amostras foram finalmente incubadas a 39 °C durante 18 h. Os peptídeos tríplicos foram acidificados adicionando-se 1 µL de TCA 0,1 %, dessalinizados usando Ultra-Micro SpinColumns C-18 (Harvard Apparatus) e secas em *Speed Vac*.

##### 4.2.9.2. Análise por Espectrometria de Massa (LC-MS/MS)

Antes da análise 2D-LCMS/MS, as amostras (duplicata técnica), uma com 80 µg e outra com 50 µg de proteína foram ressuspendidas em 40 µL e 25 µL, respectivamente, em um tampão de troca iônica (5 mM bicarbonato de amônia, 5% acetonitrila pH 3.2) para obter uma concentração final de 2 µg/ µL. A mistura de peptídeos foi analisada usando o equipamento SYNAPT™ G1 HDMS™ System (Waters, Manchester, UK), e os espectros de massa foram adquiridos no modo positivo no analisador TOF V. O analisador TOF foi calibrado com fragmentos iônicos MS/MS do [Glu1]-fibrinopeptídeo B (GFP) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) (Solução estoque de GFP, 100 fmol/uL em 50:50:1, metanol:água:ácido acético) para a faixa entre 50 a 2000 m/z. O íon precursor duplamente carregado de GFP de 785,8426 m/z foi usado para correção da precisão durante a aquisição dos espectros. Durante o processamento do LC-MS/MS, o padrão GFP foi injetado a cada 30 segundos e aquisições foram efetuadas durante 1 segundo.



Para o nanoLCMS<sup>E</sup>, o espectro de massa foi adquirido alternadamente com altas e baixas energias de colisão de modo que o tempo de aquisição foi de 0,8s com 0,02s de atraso entre as varreduras. Para o modo MS de baixa energia foi registrado uma energia constante de 4 eV, enquanto no modo de alta energia foi realizado uma rampagem de 15 a 55 eV. A capilaridade e a voltagem do cone foram predeterminados em 3000 e 35 V, respectivamente.

A mistura de péptides digeridos de ambas as amostras foram carregadas em um sistema *Waters nanoACQUITY UPLC* acoplado ao SYNAPT<sup>TM</sup> G1 HDMS<sup>TM</sup>. A cromatografia foi baseada nos métodos descritos por Liu e colaboradores (2006) com modificações. Brevemente uma cromatografia líquida bidimensional (2D), que inclui uma coluna SCX (*strong cation-exchange*) (180 µm × 20 mm) pré-empacotada (nanoACQUITY UPLC SCX TRAP Column) (Waters, Milford, MA, USA) usada na primeira dimensão, e uma coluna analítica de fase reversa (nanoACQUITY BEH130 C18 1.7 µm, 75µm x 150mm) (Waters, Milford, MA, USA) na segunda dimensão. A coluna SCX foi equilibrada com 9 µL das soluções que continham bicarbonato de amônia e acetonitrila em concentrações variadas. Nove frações foram preparados a partir de uma solução estoque de bicarbonato de amônia 1 M, pH 3,20 e acetonitrila de acordo com o seguinte: três tampões de sal (50, 100 e 150 mM de bicarbonato de amônia) contendo 5% de acetonitrila, quatro de tampões de bicarbonato de amônia 200 mM com 5, 10, 20 e 30% de acetonitrila, um tampão de bicarbonato de amônia 350 mM com 30% de acetonitrila e uma solução FLUSH (350 mM de formato de amônia, 50% de acetonitrila).

Após a injeção dos tampões (fluxo de 5µL/min durante 10 minutos), os peptídeos eluidos provenientes da coluna SCX foram transferidos à coluna preparativa C18, que por sua vez, foram separados na coluna analítica de fase reversa, utilizando um gradiente linear de 0,1% de ácido fórmico em água (fase móvel A) e 0,1% de ácido fórmico em acetonitrila (fase móvel B) para 80 minutos. Imediatamente após o gradiente iniciado (condição inicial a 95% A e 5% B), aumentou-se de forma linear entre 5 e 50% para B e fluxo de 300 nL /min.

#### 4.2.9.3. Aquisição e Análise dos Dados

O espectros de massas foram analisados pelo programa Protein LynxGlobal Server (Waters, Manchester, UK), para gerar as listas de identificação de peptídeos em formato *.pkl* com base no banco de dados de *T. cruzi* (CL Brener) acessado dia 16 de novembro de 2013. O número de proteínas, grupo de proteínas e número de peptídeos foram filtrados com uma taxa de detecção de falsos positivos (FDR) de até 1%.

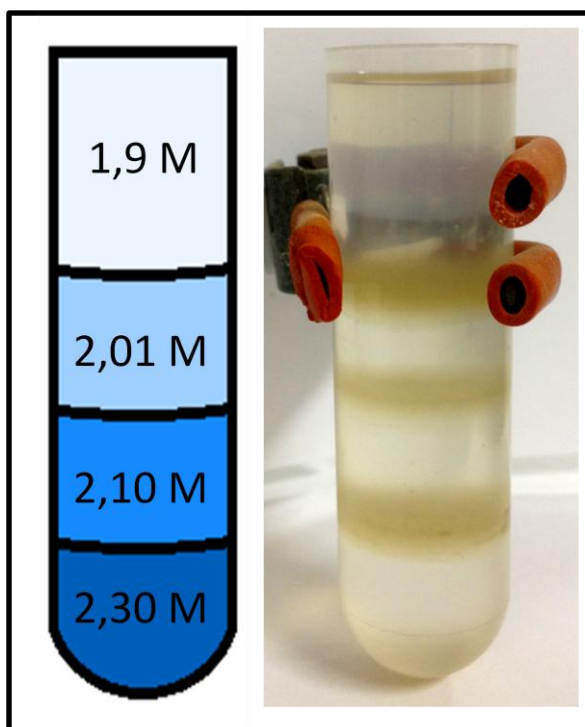
Anotação de proteínas de *T. cruzi* foi adquirida também usando o software *Blast2GO* (<http://www.blast2go.com/b2ghome>) (CONESA *et al.*, 2005) com os parâmetros básicos.

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Fracionamento Celular de Formas Epimastigotas de *T. cruzi*

Com o intuito de obter frações enriquecidas de núcleos, realizamos um fracionamento celular usando um gradiente descontínuo de sacarose para separar as estruturas celulares de acordo com suas densidades.

Frações diferentes ficaram retidas entre a interface das diferentes concentrações de sacarose e no *pellet* (Figura 7).



**Figura 7:** Fracionamento subcelular de extrato de formas epimastigotas de *T. cruzi* por ultracentrifugação em gradiente de sacarose. À esquerda é apresentada uma representação das concentrações de sacarose usadas no processo. À direita o tubo contendo a amostra após a ultracentrifugação.

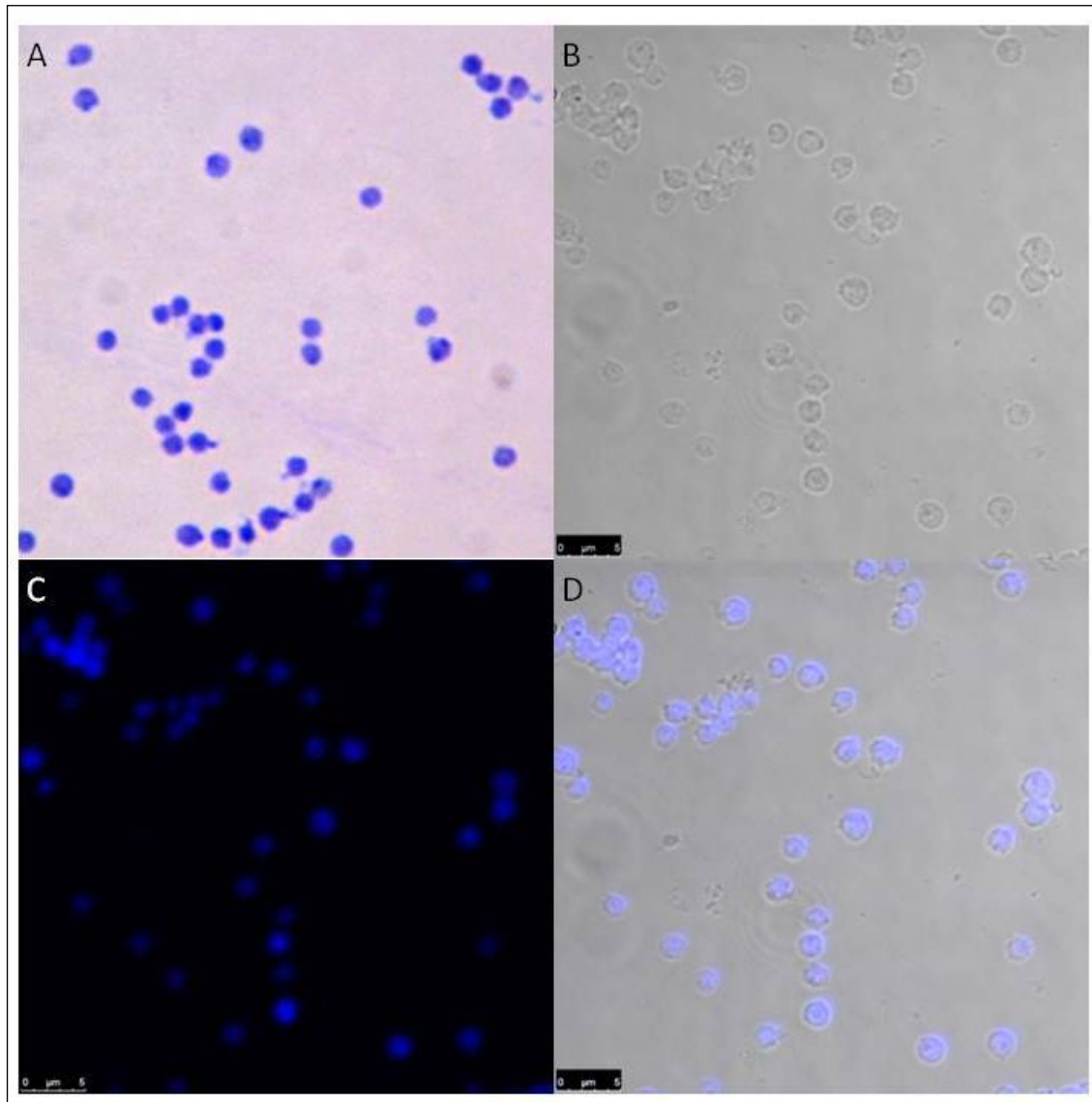
As frações ficaram retidas entre os *steps* de diferentes concentrações de sacarose. Estruturas celulares foram separadas de acordo com suas densidades. As mais densas se localizaram em regiões do gradiente onde a concentração de sacarose é maior. Enquanto as menos densas não conseguem descer pelo gradiente sendo separadas das mais densas.

Uma fração celular foi densa o suficiente para atravessar a concentração de 2,30 M de sacarose. Esta fração ficou retida no fundo do tubo (*pellet*).

As frações celulares foram retiradas das interfaces das soluções de sacarose do gradiente e do *pellet*. Posteriormente todas as frações foram analisadas por técnicas de microscopia.

## **5.2. Identificação das frações celulares por microscopia.**

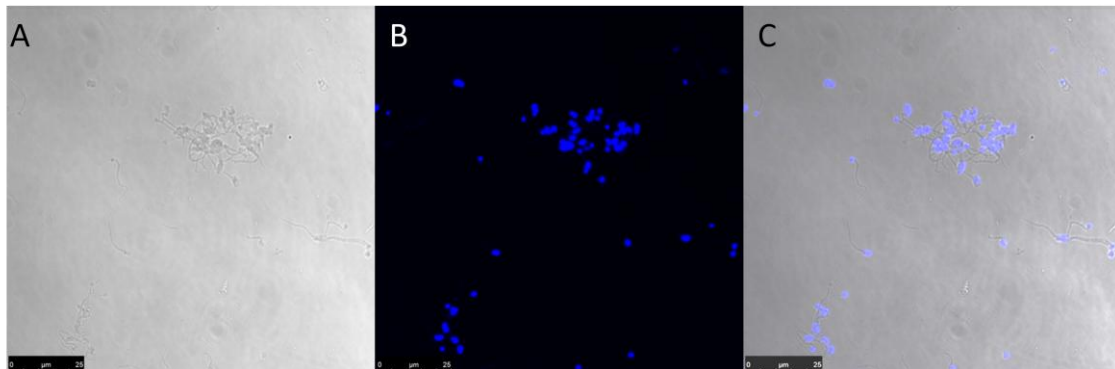
As microscopias de campo claro, coradas com azul de metileno e marcadas com DAPI – marcador que se liga a dupla fita de DNA produzindo fluorescência – mostraram que as estruturas encontradas no sedimento do tubo de ultracentrifugação possuem morfologia e tamanho compatíveis com os núcleos das formas epimastigotas de *T. cruzi* e são estruturas que contém DNA dupla fita em seu interior. Foi também possível mostrar através das microscopias que a fração nuclear é pura e está concentrada. (Figura 8).



**Figura 8:** Microscopia da fração nuclear: A – Núcleos corados com azul de metileno visualizados em microscopia de campo claro em aumento de 1000 x. B – Núcleos em microscopia de campo claro. C – DNA nuclear marcados com DAPI em microscopia de fluorescência. D – Sobreposição da microscopia de campo claro e marcado com DAPI

O núcleo do *T. cruzi* e de outros tripanossomatídeos apresenta uma organização estrutural similar ao de outras células eucarióticas. É relativamente pequeno, medindo cerca de 2,5 μm . Em epimastigotas e amastigotas o núcleo é ligeiramente esférico. Em tripomastigotas ele é alongado e localizado no centro da célula (FIOCRUZ, 2014).

A fração de cinetoplastos também foi analisada por microscopia de campo claro e marcação com DAPI, onde apresentaram ser estruturas bem distintas dos núcleos, tanto em tamanho quanto morfologia (Figura 9).



**Figura 9:** Microscopia da fração enriquecida de cinetoplastos: A – Cinetoplastos ligados a flagelos em microscopia de campo claro. B – kDNA marcados com DAPI em microscopia de fluorescência. C – Sobreposição da microscopia de campo claro e marcação com DAPI.

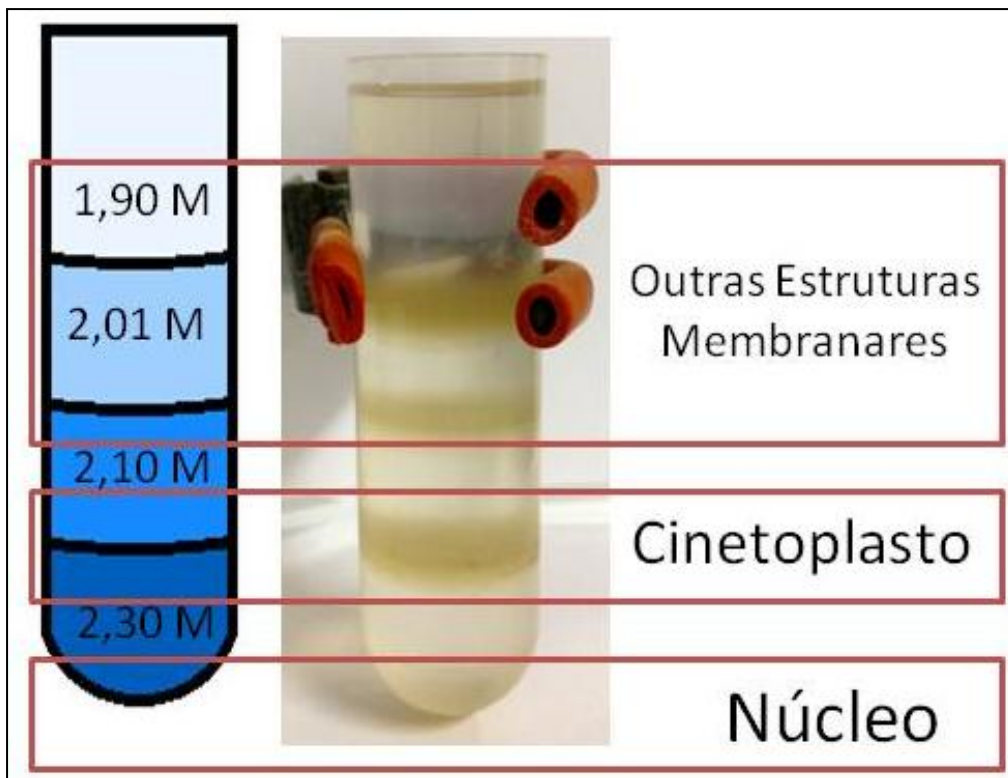
Quando comparamos as microscopias do cinetoplastos e dos núcleos podemos listar diferenças como tamanho, forma, e intensidade de fluorescência.

A fração de cinetoplastos está concentrada, porém não foi obtida de forma pura. Filamentos delgados presos aos cinetoplastos foram observados nas microscopias. Estas estruturas associadas ao cinetoplastos possivelmente são flagelos uma vez que estas duas estruturas se encontram firmemente associados nestes parasitos (FIOCRUZ, 2014).

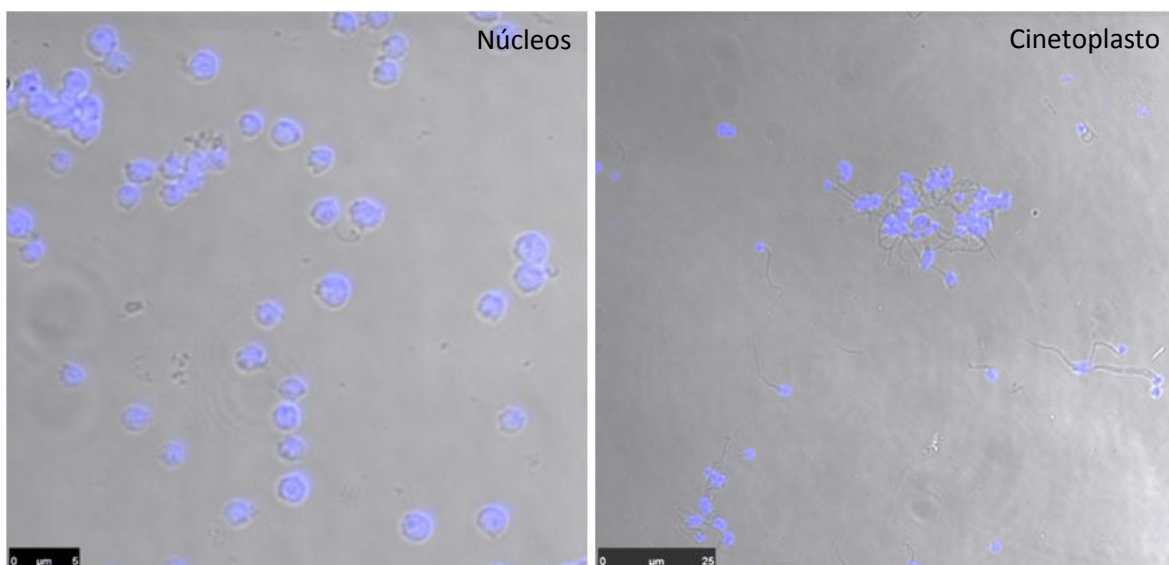
As microscopias das frações menos densas mostraram o enriquecimento de estruturas membranosas diversas cuja origem celular não foi possível ser determinada.

As microscopias foram importantes para mostrar que as frações de cinetoplasto e núcleo não estão misturadas, já que se tratam das duas estruturas mais densas encontradas no fracionamento celular.

As frações de membranas foram encontradas entre as concentrações de sacarose 1,90 M e 2,01 M e também entre 2,01 M e 2,10 M, os cinetoplastos entre 2,10M e 2,30 M e os núcleos ultrapassaram a porção 2,30 M de sacarose se localizando no fundo do tubo (Figura 10). As microscopias dos núcleos e dos cinetoplastos foram comparadas e mostram que não existe uma contaminação cruzada de ambas as frações, além de evidenciar as diferenças morfológicas destas estruturas que foram localizadas nas frações mais densas obtidas no fracionamento celular (Figura 11).



**Figura 10:** Fracionamento celular de formas epimastigotas de *T. cruzi*. O extrato de formas epimastigotas foi submetido à ultracentrifugação em gradiente de sacarose conforme explicado no item 3.2.5. Após a centrifugação verificou-se o aparecimento de três interfaces e um pellet que por posteriores microscopias confirmaram se tratar de frações enriquecidas de membranas, cinetoplastos e núcleos.



**Figura 11:** Comparação das frações de núcleos e cinetoplastos marcados com DAPI por microscopia.

Muitas metodologias desenvolvidas para enriquecimento de núcleos de *T. cruzi* já foram apresentadas (BATISTA; *et al* 2004; FERRELA *et. al*, 2008; GUERCIO, 2009). Porém, para obtenção de frações nucleares com uma qualidade suficiente para estudos proteômicos, torna-se necessário o uso de um fracionamento celular mais refinado do que os usados anteriormente. Por este fato, o presente trabalho foi baseado na metodologia de isolamento e enriquecimento de frações nucleares para *Trypanosomas* proposto por Rout e colaboradores (2001) que apresentou excelentes resultados.

Esta metodologia foi desenvolvida utilizando-se formas tripomastigotas pró-cíclicas de *T. brucei*, o agente causador da tripanosomíase africana doença do sono. Essas formas estão presentes no intestino do vetor (Tsé-Tsé) do gênero *Glossina*. O procedimento, baseado em ultracentrifugação em gradiente de sacarose, é de execução relativamente simples, podendo ser realizado em 1 dia, e possibilita a obtenção de núcleos altamente concentrados, puros e intactos.

Contudo, os núcleos de *T. cruzi*, quando purificados, localizaram-se em uma região mais densa do que era esperado e descrito para *T. brucei* (ROUT *et al.*, 2001). Tal fato indica que há diferenças estruturais entre os núcleos das duas espécies, e tais diferenças são suficientes para tornar o núcleo da forma epimastigota do *T. cruzi* mais denso que o núcleo da forma tripomastigota pró-cíclica de *T. brucei*.

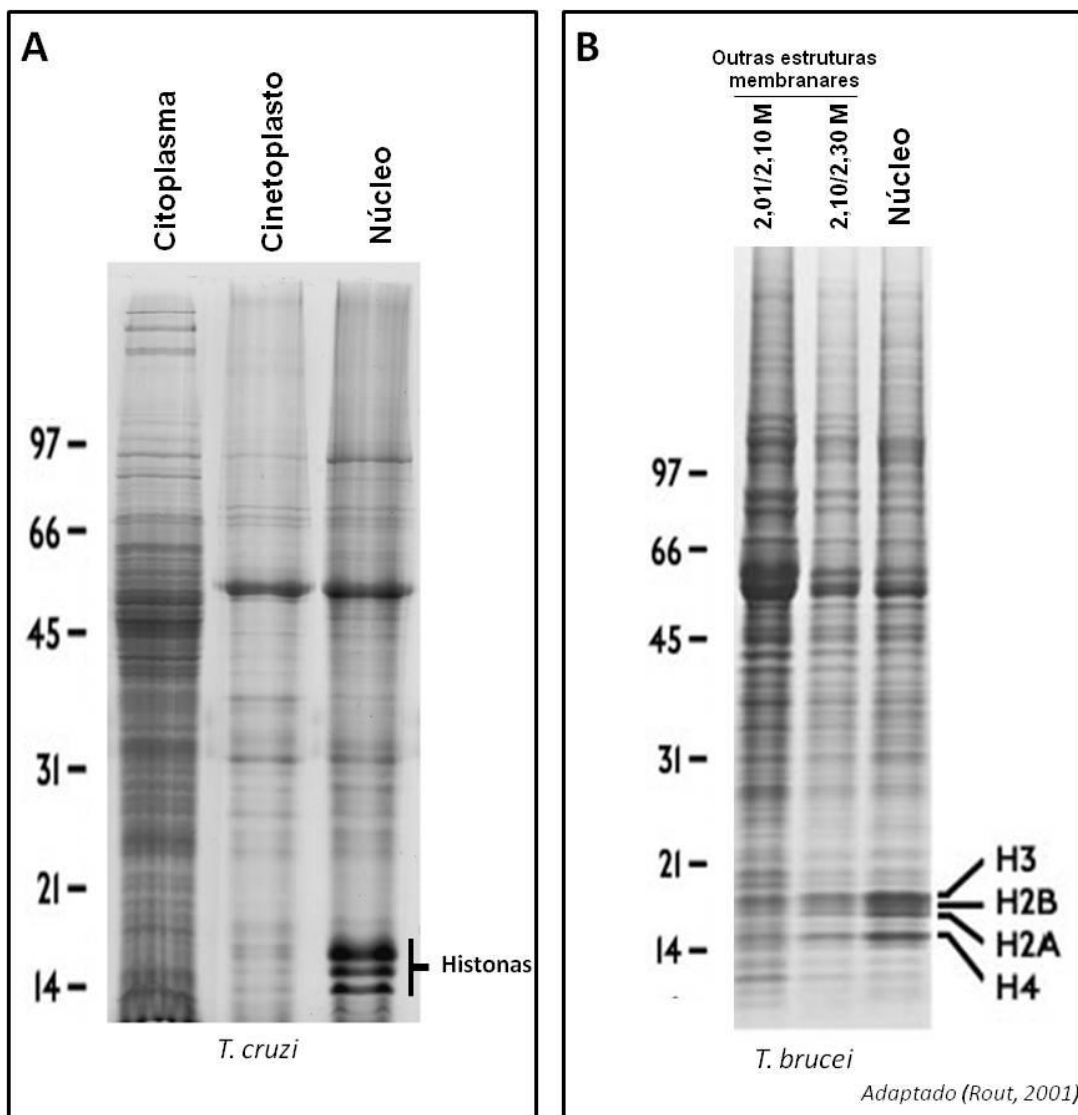
Uma vez que existem diferenças morfológicas entre os núcleos das formas de vida de uma mesma espécie e entre espécies diferentes, o uso da técnica de purificação nuclear em outros tripanosomas ou formas não contempladas neste trabalho, precisa ser otimizado.

Em epimastigotas de *T. cruzi* foi possível além da obtenção da fração celular, a obtenção de fração enriquecida de cinetoplastos que futuramente serão também usadas para estudos proteômicos. A fração enriquecida de cinetoplastos não foi obtida para as formas tripomastigotas de *T. brucei* (ROUT *et al.*, 2001).



### 5.3. Análise do isolamento nuclear por meio de SDS-PAGE.

A análise de SDS-PAGE da fração nuclear mostrou a concentração de determinadas bandas proteicas de baixa massa molecular, que podem corresponder as histonas (Figura 12a) identificadas em SDS-PAGE para *T. brucei* (ROUT *et al.*, 2001) (Figura 12b).



**Figura 12:** SDS-PAGE de amostras provenientes do fracionamento celular: A – Perfil proteico das frações: citoplasmática, de cinetoplasto e de núcleo de *T. cruzi*. B – Frações membranares e de núcleo de *T. brucei*.

O perfil de separação das proteínas nucleares e do cinetoplasto é distinto. E como esperado não são encontradas bandas intensas referentes a histonas em frações não nucleares, o que remete ao grau de pureza das amostras analisadas.

O perfil de separação das proteínas citoplasmáticas (sobrenadante obtido imediatamente após a lise celular) se distingue muito da fração nuclear e de cinetoplastos, o que indica que a lise e o fracionamento celular foram eficientes.

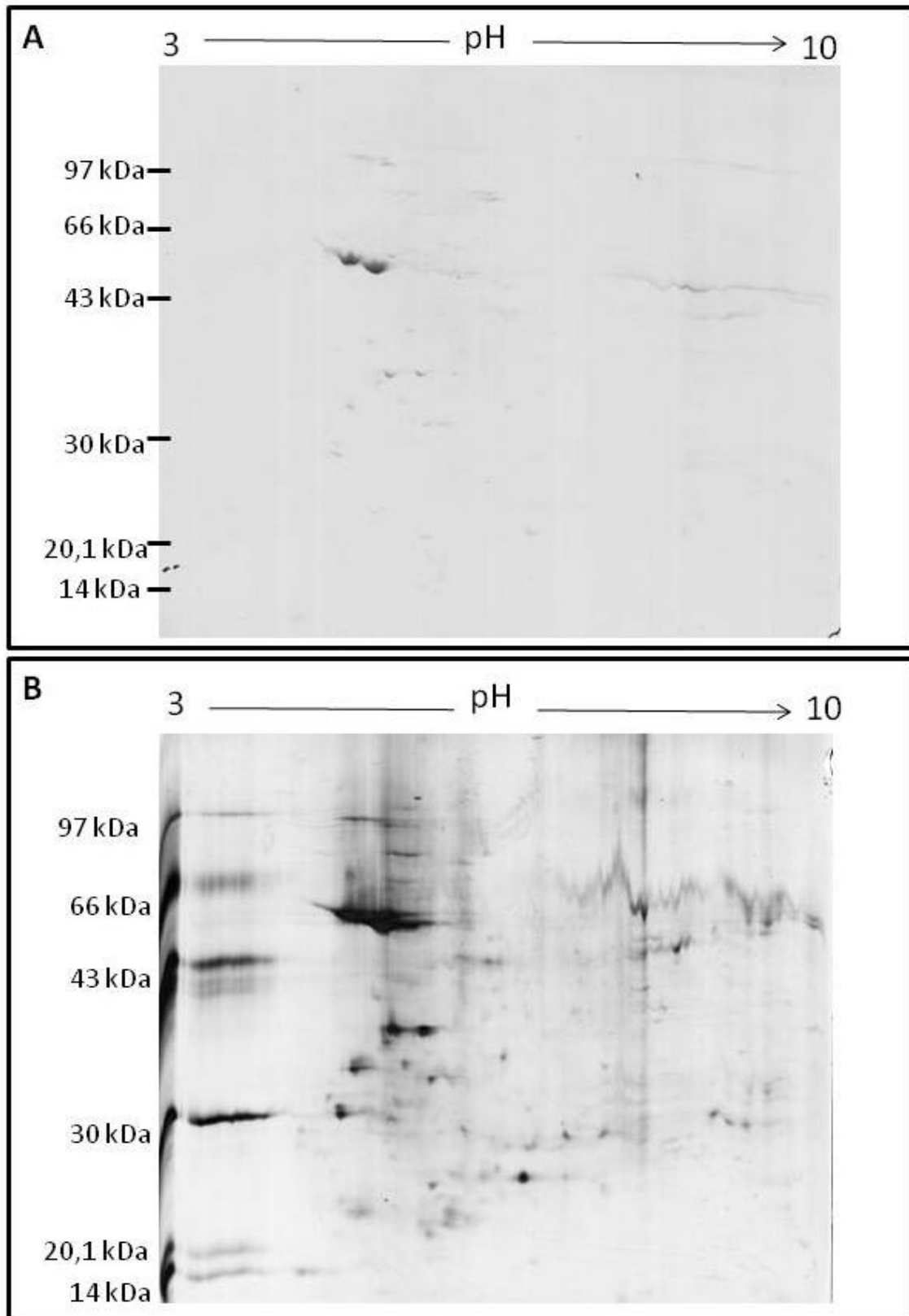
#### **5.4. Análise da fração nuclear por meio de eletroforese bidimensional (2DE).**

A fração nuclear foi submetida a 2-DE, usando um gradiente de pH amplo (3 – 10), para obtenção de um perfil bidimensional (Figura 13).

Apesar do uso de uma quantidade relativamente alta de amostra de extrato (200 µg de proteínas) e dois métodos alternativos de coloração, o Coomassie blue (Figura 13a) e nitrato de prata (Figura 13b), poucos *spots* foram detectados, mesmo no gel corado com prata.

Os géis 2-DE se mostraram reprodutíveis, e os *spots* ficaram concentrados em região central, onde são esperadas proteínas com ponto isoelétrico em pH abaixo de 7. Algumas faixas horizontais, foram encontradas na porção alcalina do gel 2-DE. Tais faixas podem ser devidas a fenômenos como a depleção do DTT em regiões alcalinas, precipitação de proteínas nessa faixa e fluxo eletroosmótico reverso (MAGALHÃES, 2008). Ferrel e colaboradores (2008), que trabalharam com frações enriquecidas de várias organelas celulares das formas epimastigotas de *T. cruzi*, enfrentaram problemas semelhantes nos seus géis bidimensionais, optando por não analisar os *spots* proteicos onde estas faixas se encontravam.

Ajustes na técnica de 2DE podem melhorar a resolução do gel, aumentando o número de *spots* visualizados. Dentre essas modificações estão o tratamento das amostras com DNase ( para amostras ricas em ácidos nucléicos) e o uso de faixas mais estreitas de pH durante a focalização isoelétrica (GUERCIO, 2009)



**Figura 13:** Eletroforese Bidimensional (2DE) da fração nuclear de *T. cruzi*: A - Gel corado com Coomassie Blue 250, B - Gel corado com Prata.

Proteínas com ponto isoelétrico alcalino foram pouco evidenciadas no gel e como esperado, um número significativo de *spots* foram revelados somente quando os géis foram corados com prata.

O fato de poucos *spots* terem sido evidenciados na coloração com *Coomassie blue* indica que as futuras identificações por espectrometria de massa (MALDI-TOF) seriam prejudicadas por quantidade limitada de proteínas para a digestão “*in gel*”.

A fim de obter um maior número de identificações, optamos por usar a estratégia LC-MS/MS como alternativa à metodologia baseada em géis bidimensionais. Contudo, os *spots* obtidos nos géis corados com *Coomassie blue* e com prata foram numerados e preservados para posterior identificação.

### **5.5. Identificação das proteínas da fração nuclear por LC-MS/MS**

As proteínas da fração nuclear das formas epimastigotas de *T. cruzi* foram analisadas em duplicata técnica por LC-MS/MS gerando duas listas de identificação que foram somadas excluindo-se as identificações redundantes.

Ao todo, foram identificadas 882 proteínas, sendo destas 272 (32%) descritas como hipotéticas (putativas não caracterizadas) e 610 com identidade de proteínas já conhecidas (Tabela 1). A listagem completa das proteínas elucidadas neste trabalho encontra-se no apêndice.

**Tabela 1:** Proteínas encontradas na fração nuclear e discutidas no texto.

| Código de Acesso | Proteína  | Massa (Da) | Score    | Cobertura (%) |
|------------------|---|------------|----------|---------------|
| <b>Q4CWA4</b>    | ABC transporter putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507241 39 4 1    | 32116,68   | 1208,448 | 8,62          |
| <b>Q4CX07</b>    | ABC transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506249 70 4 1             | 75305,71   | 702,859  | 5,865         |
| <b>Q4DAY6</b>    | ABC transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506579 10 3 1             | 78822,51   | 2132,744 | 28,29         |
| <b>Q4DW56</b>    | ABC transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508231 190 4 1            | 75347,72   | 401,7231 | 7,07          |
| <b>Q4CLA1</b>    | Alpha tubulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053411235 9 3 1                | 50426,71   | 7994,573 | 33,563747     |
| <b>Q4DQP2</b>    | Beta tubulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506563<br>40 3 1                | 50384,46   | 11592,74 | 26,651001     |
| <b>Q4E591</b>    | Centrin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506559 380<br>4 1                    | 21008,7    | 659,6833 | 11,05         |
| <b>Q4DQ49</b>    | Centrin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508323 60 4<br>1                     | 16523,71   | 2249,412 | 21,14         |
| <b>Q4E4D5</b>    | Developmentally regulated GTP binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i><br>strain CL Brener Tc00 10 | 41836,32   | 217,437  | 7,065         |
| <b>Q4CXI2</b>    | Elongation factor 1 alpha Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510119 9 3 1    | 43177,35   | 9894,045 | 26,33556      |
| <b>Q4CXI1</b>    | Elongation factor 1 alpha <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510119 20 3 1            | 49571,02   | 11734    | 26,011111     |
| <b>Q4CPV7</b>    | Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i><br>strain CL Brener Tc | 53149,95   | 691,8865 | 17,4          |
| <b>Q4CP51</b>    | GTP binding nuclear protein rtb2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1047053503539 3 | 32240,09   | 1413,458 | 11,07         |

|               |  |          |          |           |
|---------------|--|----------|----------|-----------|
| <b>Q4DIB9</b> | GTP binding nuclear protein rtb2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509455 8 | 24740,09 | 1689,503 | 14,285    |
| <b>Q4CVL7</b> | Heat shock 70 kDa protein mitochondrial putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener T    | 30915,52 | 683,6193 | 15,320001 |
| <b>Q4CVR9</b> | Heat shock 70 kDa protein mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053  | 71503,63 | 847,8344 | 11,91     |
| <b>Q4CU95</b> | Heat shock 70 kDa protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535104   | 41027,51 | 878,1054 | 20,05     |
| <b>Q4E663</b> | Heat shock protein 20 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508153 270 3 1      | 15955,22 | 1102,423 | 11,97     |
| <b>G3XCP0</b> | Heat shock protein 20 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510323 40 3 1       | 15982,25 | 1451,691 | 18,31     |
| <b>Q4CK86</b> | Heat shock protein 70 HSP70 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053     | 15433,74 | 1886,424 | 36,666668 |
| <b>Q4DTM9</b> | Heat shock protein 70 HSP70 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511211 160    | 71159,5  | 1193,683 | 14,83     |
| <b>Q4DTM8</b> | Heat shock protein 70 HSP70 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511211 170    | 73583,38 | 933,0418 | 14,33     |
| <b>Q4DBM7</b> | Heat shock protein 85 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509105 140 3 1      | 81197,95 | 631,6899 | 9,23      |
| <b>Q4D832</b> | Heat shock protein DnaJ putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511627 110 3 1    | 44888,49 | 1528,647 | 22,18     |
| <b>Q4D4G9</b> | Heat shock protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508443 20 | 36178    | 295,4858 | 14,89     |
| <b>Q4DTD8</b> | Heat shock protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509157 80 | 35985,8  | 1072,434 | 11,6      |
| <b>Q4CYH8</b> | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508321 21 3 1                          | 14394,06 | 2937,471 | 10,184999 |
| <b>Q4DYB0</b> | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509207 11 3 1                          | 14346,96 | 2876,038 | 10,184999 |

|               |   |          |          |           |
|---------------|---|----------|----------|-----------|
| <b>Q4D6V9</b> | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510525 100 3 1                            | 14353,95 | 2583,508 | 7,04      |
| <b>Q4D6W0</b> | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510525 110 3 1                            | 14335,91 | 1913,823 | 7,04      |
| <b>Q4DYB1</b> | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511817 151 3 1                            | 14347,9  | 2991,835 | 10,184999 |
| <b>Q4DYA8</b> | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511817 180 3 1                            | 14360,98 | 2957,862 | 10,184999 |
| <b>Q4CTD8</b> | Histone H2B <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511635 10 3 1                             | 12360,38 | 2469,723 | 19,005716 |
| <b>Q4CTD7</b> | Histone H2B <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511635 20 3 1                             | 12346,31 | 2850,175 | 19,005716 |
| <b>Q4D0J9</b> | Histone H3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505931<br>40 4 1                  | 21600,93 | 10610,19 | 16,532501 |
| <b>Q4CWE9</b> | Histone H3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505931<br>50 4 1                  | 14876,13 | 9085,771 | 23,4975   |
| <b>Q4CZH3</b> | Histone H3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509471<br>59 4 1                  | 22567,08 | 12267,22 | 15,782499 |
| <b>Q4CXR1</b> | Histone H4 Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507943<br>5 3 1                   | 6894,002 | 9701,848 | 53,428745 |
| <b>Q4DDL6</b> | Histone H4 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507601 150 3 1                             | 11184,12 | 13493,89 | 33,125    |
| <b>Q4DEL1</b> | Histone H4 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507941 150 3 1                             | 11170,1  | 8631,767 | 31,75     |
| <b>Q4CMF1</b> | Histone H4 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508739 60 3 1                              | 11287,27 | 6245,897 | 20,375    |
| <b>Q4D3A5</b> | Kinetoplastid membrane protein KMP 11 Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener Tc00 104705350  | 9181,404 | 2123,128 | 11,84     |
| <b>Q4D7Y4</b> | Kinetoplastid membrane protein KMP 11 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener Tc00 1047053510 | 11011,48 | 4650,438 | 9,78      |

|               |   |          |          |       |
|---------------|---|----------|----------|-------|
| <b>Q4D3A7</b> | Kinetoplastid membrane protein KMP 11 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508413 68 4 1 | 10883,3  | 3112,339 | 9,89  |
| <b>Q4DQE1</b> | Mitochondrial RNA binding protein 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350662  | 23288,23 | 223,6541 | 10,63 |
| <b>Q4D0R4</b> | Mitochondrial RNA binding protein 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350983  | 23274,2  | 1343,025 | 22,71 |
| <b>Q4CRD8</b> | Mucin associated surface protein MASP putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc      | 12584,31 | 332,98   | 22,76 |
| <b>Q4D9A1</b> | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535    | 43709,76 | 95,1137  | 9,2   |
| <b>Q4E3X9</b> | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535    | 40511,79 | 648,8073 | 15,37 |
| <b>Q4CSJ9</b> | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535    | 44438,02 | 141,5626 | 12,91 |
| <b>Q4DDU8</b> | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535    | 45566,29 | 442,1064 | 7,05  |
| <b>Q4CNZ7</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053463955 10 4 1                | 26414,51 | 900,5459 | 21,57 |
| <b>Q4DR13</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507953 180 4 1               | 19290,42 | 966,1022 | 17,74 |
| <b>Q4DAF4</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508125 130 4 1               | 23265,5  | 377,8785 | 35,11 |
| <b>Q4DGH1</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509493 80 4 1                | 29411,83 | 431,2959 | 16,84 |
| <b>Q4E2F4</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509525 350 4 1               | 26290,35 | 886,8078 | 21,57 |
| <b>Q4CVG1</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509869 30 4 1                | 21076,77 | 656,1762 | 20,29 |
| <b>Q4D496</b> | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510207 10 4 1                | 23261,51 | 544,8092 | 35,11 |



|               |  |          |          |           |
|---------------|--|----------|----------|-----------|
| <b>Q4D2Z8</b> | Nucleosome assembly protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 50559,35 | 638,0314 | 4,11      |
| <b>Q4CVR4</b> | Nucleosome assembly protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 50998,91 | 815,4813 | 4,065     |
| <b>Q4DSA7</b> | Nucleosome assembly protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507031 29 3 1 | 41192,9  | 634,1529 | 11,49     |
| <b>Q4D5X8</b> | Nucleosome assembly protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507963 79 3 1 | 41171,95 | 474,45   | 8,2175    |
| <b>Q4E4V0</b> | Poly A binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508461 140 4 1     | 61695,73 | 2389,501 | 20,592499 |
| <b>Q4E0K2</b> | Proteasome regulatory ATPase subunit 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 44981,41 | 1867,098 | 31,76     |
| <b>Q4DW08</b> | Proteasome regulatory ATPase subunit 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 44983,45 | 1086,682 | 23,57     |
| <b>Q4E4G8</b> | Proteasome subunit alpha type <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506885 350 3 1       | 27898,71 | 1068,775 | 17,2      |
| <b>Q4DWX8</b> | Proteasome subunit alpha type <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510729 70 3 1        | 27923,72 | 640,7825 | 17,2      |
| <b>Q4E134</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506247 210 4 1    | 28683,71 | 1052,256 | 17,646666 |
| <b>Q4DF25</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507001 34 4 1     | 10401,55 | 3977,05  | 54,74     |
| <b>Q4DTR0</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509695 90 4 1     | 198712,2 | 126,1641 | 4,41      |

O *T. cruzi* (isolado CL Brener) já teve seu genoma e proteoma anteriormente estudados. São descritos para o genoma diplóide cerca de 22.570 genes codificadores de proteínas, dos quais 12.570 representam pares alélicos, possui mais de 50% do genoma repetitivo como retrotransposons, e genes para famílias de proteínas de superfície como as trans-sialidases e mucinas (EL-SAYED *et al.*, 2005).

Uma análise proteômica em larga escala realizada anteriormente para *T. cruzi* (CL Brener) permitiu a identificação de 2.784 proteínas diferentes para as quatro principais formas de vida (epimastigota, amastigota, tripomastigota metacíclico e tripomastigota sanguíneo) sendo que 1.573 proteínas foram encontradas na forma epimastigota e 838 (30% do total) foram comuns a todas as formas (ATWOOD *et al.*, 2005)

Assim observa-se uma grande distância entre o número de proteínas elucidadas através dos estudos proteômicos e o número total de genes previstos que codificam proteínas em *T. cruzi*.

A cada dia novas estratégias vêm sendo usadas para aumentar a capacidade de identificação de proteínas em amostras complexas e dentre elas destaca-se o fracionamento celular. Frações celulares reduzem a complexidade da amostra permitindo que proteínas que são sub-representadas no proteoma total sejam identificadas nos sub-proteomas (TAYLOR *et al.*, 2003).

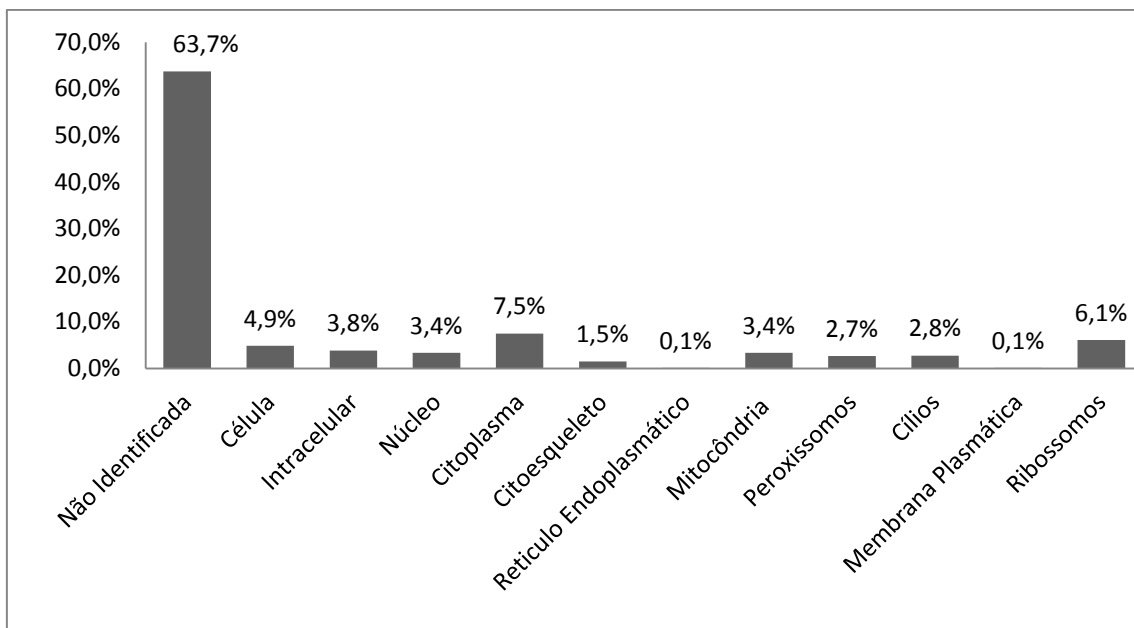
Ao analisar o sub-proteoma nuclear da forma epimastigota foi possível encontrar cerca de 10% de proteínas que não foram descritas na análise proteômica das quatro formas de vida de *T. cruzi* CL Brener feito por Atwood e colaboradores (2001). Assim, comparamos as descrições (identidade da proteína) das proteínas obtidas na fração nuclear do presente trabalho com as proteínas identificadas previamente. Ressaltamos que esse número de proteínas exclusivamente mostradas aqui pode ser ainda maior já que proteínas com sequências diferentes podem receber a mesma descrição.

Entre as proteínas citadas acima, destacam-se a cadeia épsilon da ATP sintase putativa (Q4DX76), a proteína componente do corpo basal (Q4CRB6; Q4DI03), a proteína putativa de associação a microtúbulos (Q4D5A7; Q4CMT2), mucinas putativas (Q4CNZ7; Q4DR13; Q4DAF4; Q4DGH1; Q4E2F4; Q4CVG1; Q4D496), e a nitrato redutase putativa (Q4DA56).

Um total de 11 trans-sialidases foram identificadas na amostra (Q4CKP5; Q4DCQ1; Q4DRK4; Q4DKM3; Q4DD87; Q4DF31; Q4DJE0; Q4D649; Q4E1H0; Q4DN58; Q4E443). Trans-sialidases são proteínas de membrana que estão envolvidas no processo de escape ao sistema imunológico do hospedeiro. Apesar de já haver sido descrita uma família de trans-sialidases expressas em formas epimastigotas (TSe) (FRASCH, 2000), representantes desta família não foram observadas no proteoma das formas epimastigotas no trabalho de ATWOOD *et al.*, 2005.

Além de permitir a concentração de proteínas pouco representadas em proteomas totais, estudo de subproteomas de frações celulares pode contribuir na determinação da possível citolocalização das proteínas identificadas. Tal informação é importante sobretudo para aquelas proteínas não caracterizadas (hipotéticas) ou as que não possuam um compartimento celular proposto nas análises de bioinformática.

Do total das proteínas identificadas somente 314 (36,3%) foram assinaladas em um único compartimento celular baseado no *gene ontology* (GO) utilizando a ferramenta Blast2GO. As proteínas que receberam uma localização na célula foram agrupadas em 9 diferentes compartimentos celulares: núcleo, citoplasma, citoesqueleto, retículo endoplasmático, mitocôndria, peroxissomos, cílios, membrana plasmática e ribossomos. Quase 9% das proteínas classificadas foram colocadas nos grupos nomeados como célula ou intracelular, e podem ser consideradas como proteínas sem local definido ou proteínas que estejam presentes em muitas regiões celulares (Figura 14).



**Figura 14** Gráfico da distribuição celular das proteínas com localização celular única segundo análise por Bioinformática (programa Blast2Go).

Dentre as proteínas preditas como nucleares por análises com ferramentas de bioinformática encontram-se proteínas associadas ao envelope nuclear (como a proteína de ligação ao RNA mitocondrial 1 putativa Q4D0R4; Q4DQE1), ao nucléolo (como a proteína ribossomal S6 putativa Q4CQQ9), e ditas somente nucleares (como é o caso das proteínas: proteína serina treonina fosfatase (Q4CM60), proteínas nucleares rtb2 de ligação ao GTP (Q4CP51, Q4DIB9), proteínas de montagem do nucleossomo putativas (Q4D2Z8, Q4CVR4, Q4DSA7, Q4D5X8) bem como uma proteína hipotética (Q4CSQ1).

Todas as proteínas descritas acima já haviam sido encontradas anteriormente no proteoma de *T. cruzi* (ATWOOD *et al.*, 2005), porém não foi evidenciado nas frações enriquecidas de organelas de alta densidade. (GUERCIO, 2009).

As histonas H2A (Q4CYH8, Q4CYH9, Q4D6V9, Q4D6W0), H2B (Q4CTD7, Q4CTD8), H3 (Q4CWE9, Q4CZH3, Q4D0J9) e H4 (Q4CMF1, Q4CXR1, Q4DDL6, Q4DEL1) foram descritas como pertencentes aos cromossomos e por isso também foram consideradas proteínas nucleares.

As histonas e a proteína de montagem do nucleossomo estão intimamente envolvidas nos processos de condensação da cromatina. Em *T. cruzi*, a formação

dos cromossomos é diferente dos eucariotos superiores, não havendo nesses indivíduos uma completa compactação da cromátide e portanto não tornando possível visualizar a formação dos cromossomos durante a divisão celular (DE SOUZA, 2002; DE SOUZA; OSMANI, 2007).

Muitas proteínas envolvidas em processos que ocorrem no núcleo não foram classificadas em um determinado compartimento celular ou foram classificadas pelo software em outros compartimentos que não o núcleo. Enquadram-se nesta situação as proteínas da família dos retrotransposons *hot spot* (74 proteínas identificadas) de função desconhecida que já foram identificadas em núcleos de *T. brucei* e na fração de organelas de alta densidade de *T. cruzi* (BRINGAUD *et al.*, 2002; GUERCIO, 2009; ARAÚJO *et al.*, 2011).

Foram identificadas neste trabalho uma série de HSPs (Heat Shock Proteins) ou proteínas de choque térmico. As HSPs, que junto com as actinas, tubulinas e histonas fazem parte do grupo de proteínas constitutivas, têm sido observadas por vários autores em trabalhos de proteômica de *T. cruzi* (PABA *et al.*, 2004a; ATWOOD *et al.*, 2005; PARODI-TALICE *et al.*, 2007; SODRÉ *et al.*, 2009, GUERCIO, 2009). A resposta ao choque térmico é um mecanismo homeostático que protege as células dos efeitos deletérios do estresse ambiental, tal como calor (FOLGUEIRA & REQUENA, 2007).

Muitas das HSP identificadas (Q4CVL7, Q4CVR9, Q4CU95, Q4CK86, Q4DTM9, Q4DTM8) pertencem à família das proteínas de choque térmico HSP 70. Nas células, as HSP 70 são encontradas no citoplasma, núcleo, mitocôndria e retículo endoplasmático e são uma classe de proteínas conhecidas como chaperonas, essenciais para funções celulares tais como translocação de proteínas através das membranas das organelas, enovelamento e empacotamento de proteínas, bem como para proteger as células do calor e do estresse químico (SANDERS *et al.*, 1992; TIBBETTS *et al.*, 1994; GUERCIO, 2009). Uma HSP foi recentemente descrita como proteína participante do ciclo celular das formas epimastigotas de *T. cruzi*, porém esta proteína de choque térmico específica não foi identificada neste trabalho (PERES-MORALES, *et al.* 2012).

A alfa tubulina putativa (Q4CLA1) e a beta tubulina putativa (Q4DQP2), proteínas estruturais que compõem os microtúbulos, foram encontradas neste

trabalho. Apesar de terem sido classificadas como proteínas citoplasmáticas, podem estar presentes no núcleo onde participam do processo de divisão celular – mitose fechada em *T. cruzi* - por compor o fuso mitótico (ARAÚJO *et al.*, 2011).

Neste trabalho foram identificadas proteínas pertencentes a diversos compartimentos celulares, entre eles o citoplasma, citoesqueleto, reticulo endoplasmático, mitocôndria, peroxissomos, cílios, membrana plasmática e ribossomos, mesmo trabalhando com uma fração nuclear purificada. Este fenômeno já foi descrito em outros estudos sub-proteômicos, como no caso do estudo do proteoma de reservossomos de *T. cruzi*, onde foram demonstradas proteínas citoplasmáticas, mitocondriais, flagelares e de reticulo endoplasmático (SANT'ANNA *et al.*, 2009)

É importante ressaltar que a técnica de fracionamento celular empregada neste trabalho se fundamenta na separação das estruturas por diferenças de densidades, sendo assim, estruturas mais densas atravessam as camadas do gradiente de sacarose sendo separadas das menos densas. Proteínas solúveis, proteínas citoplasmáticas ou aquelas que não se ligam a alguma estrutura de alta densidade, provavelmente não conseguiriam chegar à região onde se depositaram os núcleos, o que nos leva a pensar que as proteínas que se enquadram na situação descrita acima e que estão presentes na lista de proteínas identificadas possam realmente estar associadas a alguma função no núcleo.

Muitas proteínas ribossomais foram encontradas neste estudo sub-proteômico. Sabendo que o conteúdo nuclear é espacialmente separado do citoplasma por um conjunto de membranas altamente especializadas, conhecidas por envelope nuclear (MAUL, 1977) e a membrana mais externa deste envelope, está intimamente associada ao retículo endoplasmático que por sua vez é frequentemente revestida com ribossomos, a presença de proteínas desta estrutura é justificada.

Muitas outras proteínas importantes foram identificadas na análise sub-proteômica de núcleos do *T. cruzi* entre elas destacamos as mucinas (Q4CRD8, Q4D9A1, Q4E3X9, Q4CSJ9, Q4DDU8), centrinas putativas (Q4E591, Q4DQ49), a proteína de membrana KMP11 (*Kinetoplastid membrane protein*) (Q4D3A5, Q4D7Y4, Q4D3A7), a subunidade regulatória 3 ATPase putativa do proteassoma

(Q4E0K2, Q4DW08), a subunidade alfa do proteassoma (Q4E4G8, Q4DWX8), proteína de ligação a cauda poli(A) (Q4E4V0) e as proteínas transportadoras ABC putativas (Q4CWA4, Q4CX07, Q4DAY6, Q4DW56).

As mucinas são proteínas de superfície que possuem a função de interação entre células e de proteção da membrana celular, e sua expressão em formas epimastigotas também já foi verificada (FRASCH, 2000).

As proteínas de transporte ABC são muito estudadas em *T. cruzi* por seu envolvimento nos mecanismos de resistência a drogas. Estes transportadores são proteínas transmembranas de uma superfamília que apresentam sítios de ligação ao ATP, sendo por isso denominadas ABC (*ATP binding cassette*) (ARAÚJO, 2011).

As KPM11, que são proteínas de função ainda não elucidada, vêm sendo usadas com bons resultados em pesquisas que envolvem o desenvolvimento de vacinas em murinos (DIEZ *et al.*, 2008). Li e colaboradores (2008) silenciaram a expressão proteica do KPM11 em *T. brucei*, o que resultou em uma inibição da segregação do corpo basal e da citocinese. Houve também a formação de novos núcleos de tamanhos diferentes que se acumularam dentro de uma mesma célula, mostrando que os parasitos silenciados possuem uma divisão nuclear defeituosa e a sua divisão celular bloqueada.

Centrinas foram estudadas em outros protozoários que possuem divisão fechada, mostraram estar envolvidas na divisão e diferenciação celular, bem como na manutenção da morfologia normal do núcleo durante a interfase (MANA-CAPELI, 2009).

Neste trabalho foram identificadas quatro proteínas que compõem o proteassoma. Proteassoma é um complexo proteico de atividade proteásica envolvido em diversas funções celulares como controle do ciclo celular, apresentação de antígenos gerando peptídeos antigênicos, regulação da transcrição e tradução, apoptose e está presente tanto em células eucarióticas quanto procarióticas sendo o responsável pela degradação proteolítica da maioria das proteínas celulares. Em *T. cruzi* o proteassoma está envolvido na diferenciação celular e replicação (CARDOSO *et al.*, 2008; GUERCIO, 2009).

A proteína de ligação a cauda poli(A) também foi identificada. Esta proteína atua na estabilização, transporte e na tradução dos mRNAs e já foi caracterizada em *T. cruzi* (BATISTA *et al.*, 1994; JACOBSON *et al.*, 1996).

Apesar deste trabalho utilizar frações enriquecidas de núcleos das formas epimastigotas de *T. cruzi*, deve-se ter cautela a inferir uma localização celular para as proteínas descritas. Apesar de existir uma grande probabilidade de serem proteínas localizadas no núcleo ou perinucleares, o uso de outras técnicas ortogonais corroborariam as informações de citolocalização destas proteínas, e por isso são altamente recomendadas.

Através de análises de bioinformática (GO) foi possível identificar a função de algumas proteínas hipotéticas (Tabela 2). Dentre estas cinco possuíam domínios de ligação a ácidos nucleicos (Q4CW22, Q4CW23, Q4DE55, Q4DPV6, Q4DPV7), e por isso são proteínas que possivelmente podem estar relacionadas a processos nucleares.



Tabela 2: Proteínas hipotéticas com função determinadas por GO (Blast2GO)

| <b>Código de Acesso</b> | <b>Proteína</b>  | <b>Massa (Da)</b> | <b>Score</b> | <b>Cobertura (%)</b> | <b>Função GO</b>           |
|-------------------------|--|-------------------|--------------|----------------------|----------------------------|
| <b>Q4D345</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506887 20 4 1   | 35465,6439        | 1052,017     | 3,13                 | Ligação                    |
| <b>Q4D7Q2</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510731 20 4 1   | 35248,4329        | 719,6546     | 3,13                 | Ligação                    |
| <b>Q4E1B7</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511807 280 4 1  | 61485,5803        | 672,7919     | 16,01                | Ligação                    |
| <b>Q4CKK5</b>           | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053404073 | 14351,1805        | 2477,766     | 56,56                | Ligação Ions Cálcio        |
| <b>Q4CS80</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503791 30 4 1   | 26274,3909        | 2148,8645    | 14,731667            | Atividade Catalítica       |
| <b>Q4CX49</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504203 40 4 1   | 26240,3738        | 1857,0548    | 14,731667            | Atividade Catalítica       |
| <b>Q4DJD0</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508851 50 4 1   | 69317,3104        | 1367,1976    | 14,830001            | Atividade Catalítica       |
| <b>Q4DZZ3</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509805 140 4 1  | 148651,9948       | 127,3195     | 6,55                 | Atividade Catalítica       |
| <b>Q4D5L9</b>           | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505989 | 29141,8118        | 1275,1954    | 32,875               | Atividade Hidrolase        |
| <b>Q4DTV8</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508693 50 4 1   | 43592,5421        | 986,82324    | 15,255               | Atividade Hidrolase        |
| <b>Q4E3M8</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101 330 4 1  | 48793,7025        | 1000,354     | 19,44                | Atividade Hidrolase        |
| <b>Q4CW22</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504001 20 4 1   | 13015,783         | 5291,305     | 23,93                | Ligação a Ácidos Nucleicos |
| <b>Q4CW23</b>           | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504001 10 4 1   | 13464,4066        | 2647,095     | 27,87                | Ligação a Ácidos Nucleicos |

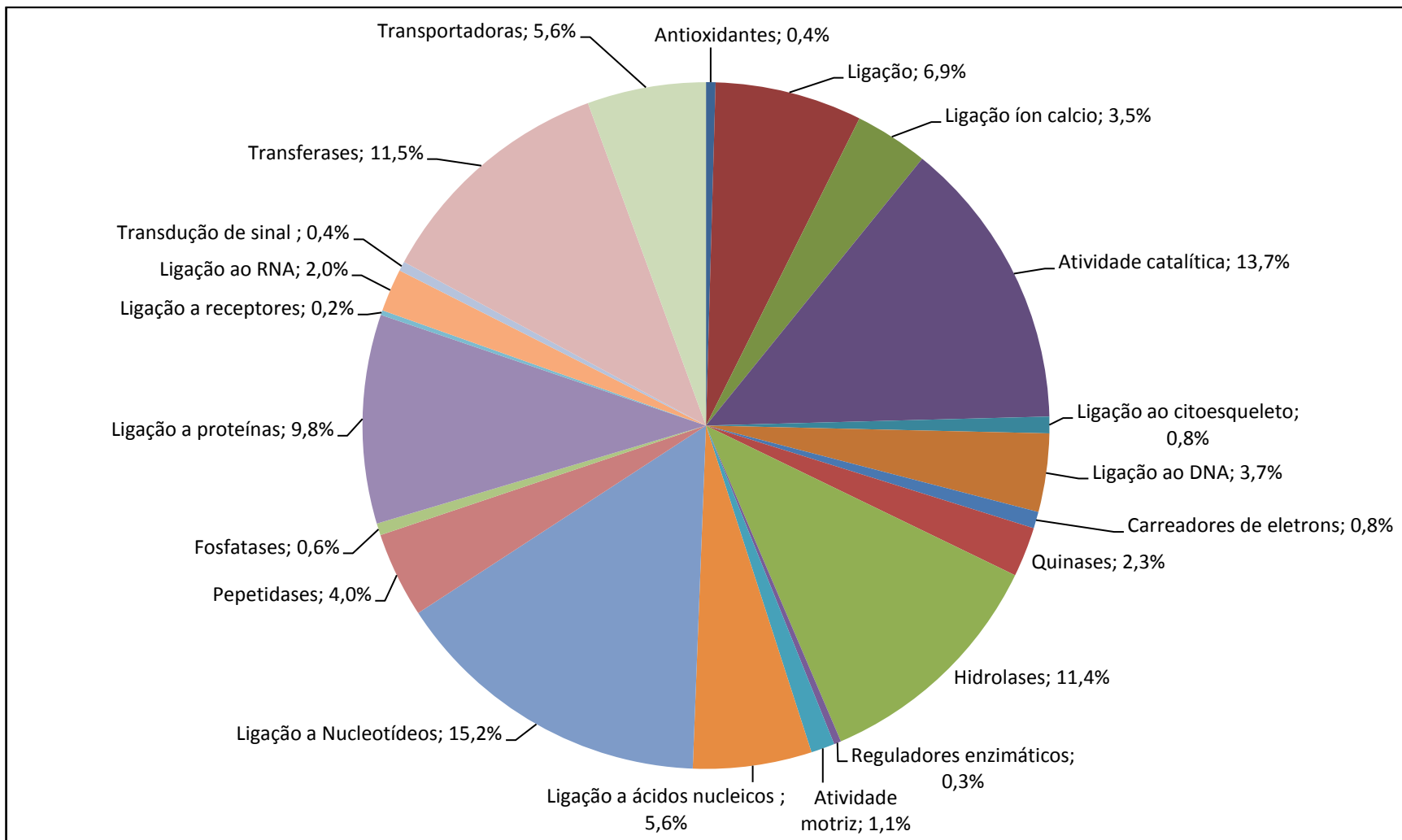
|               |   |             |           |           |                            |
|---------------|---|-------------|-----------|-----------|----------------------------|
| <b>Q4DE55</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504089 60 4 1   | 13496,4726  | 1475,205  | 27,87     | Ligação a Ácidos Nucleicos |
| <b>Q4DPV6</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510877 40 4 1   | 24453,8792  | 4037,0518 | 21,46     | Ligação a Ácidos Nucleicos |
| <b>Q4DPV7</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510877 30 4 1   | 25108,6736  | 5632,0923 | 24,636667 | Ligação a Ácidos Nucleicos |
| <b>Q4DQZ3</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510089 190 4 1  | 114361,3624 | 627,6407  | 9,76      | Atividade peptidase        |
| <b>Q4CSI2</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506441 20 4 1   | 124199,4816 | 1155,277  | 7,95      | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4CY57</b> | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510317 | 142775,8322 | 859,497   | 9,224999  | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4D011</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511355 20 4 1   | 55986,3577  | 706,2653  | 11,66     | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4D0N9</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508961 40 4 1   | 57448,9098  | 2077,154  | 21,78     | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4D1M3</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504215 30 4 1   | 103876,801  | 60,0242   | 6,8       | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4D5L4</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508839 20 4 1   | 48546,6     | 3599,422  | 27,29     | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4D5Y6</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507963 10 4 1   | 58530,6369  | 555,2388  | 5,69      | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4D770</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508265 100 4 1  | 134047,7697 | 797,29114 | 8,1050005 | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4DQZ3</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510089 190 4 1  | 114361,3624 | 627,6407  | 9,76      | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4DRF1</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508547 160 4 1  | 90844,3313  | 965,7406  | 8,9       | Ligação a Proteínas        |
| <b>Q4DS99</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507031 100 4 1  | 58347,3648  | 1401,47   | 14,9      | Ligação a Proteínas        |

|               |  |             |           |           |                     |
|---------------|--|-------------|-----------|-----------|---------------------|
| <b>Q4E644</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508153 460 4 1 | 177480,3103 | 16,4547   | 2,33      | Ligação a Proteínas |
| <b>Q4CS80</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503791 30 4 1  | 26274,3909  | 2148,8645 | 14,731667 | Transporte          |
| <b>Q4CX49</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504203 40 4 1  | 26240,3738  | 1857,0548 | 14,731667 | Transporte          |
| <b>Q4E134</b> | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506247 210 4 1 | 28683,7137  | 1052,256  | 17,646666 | Transporte          |

De acordo com anotações GO (Blast2GO), as proteínas foram separadas em diferentes grupos de funções.

A determinação de função por GO é possível através da correlação entre a homologia das sequências gênicas ou protéicas pesquisadas com outras sequências já depositadas em bancos gênicos ou proteômicos com funções conhecidas experimentalmente.

Foi possível determinar a função de 526 proteínas, sendo que destas cerca de 370 foram atribuídas a duas ou mais funções. No total foram obtidos 21 grupos funcionais diferentes. Entre as funções que apresentam um maior número de representantes encontram-se as proteínas de ligação a nucleotídeos, de atividade catalítica, as transferases e as hidrolases (Figura 15).



**Figura 15:** Gráfico das distribuição (em porcentagem) de proteínas identificadas por grupos de função GO, confeccionadas através de ferramentas de bioinformática (Blast2GO).

Se somadas às proteínas que estão ligadas a ácidos nucleicos (incluindo grupos de proteínas nomeadas ligantes ao DNA e ao RNA) elas perfazem um total de 11,3% das funções atribuídas.

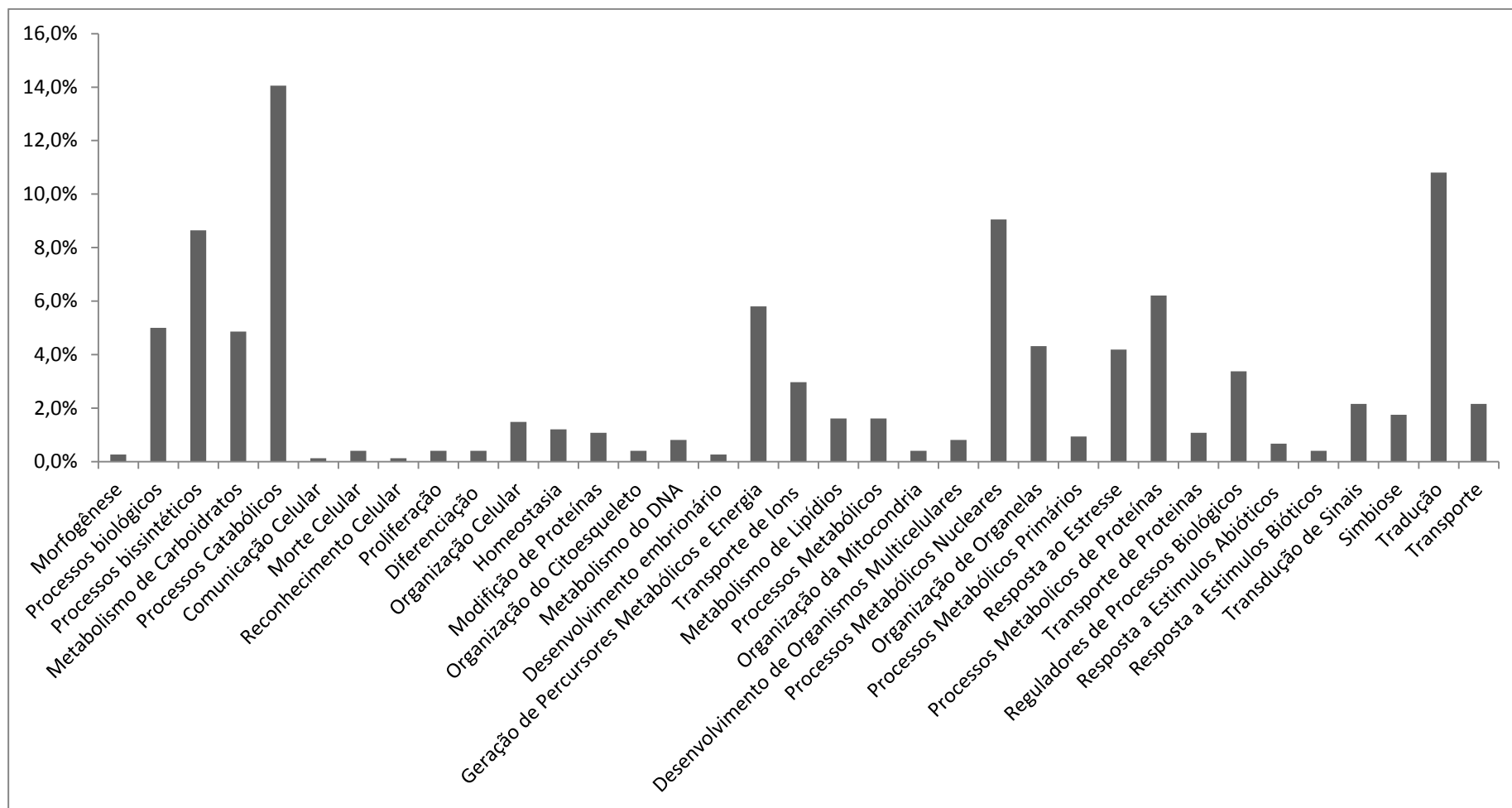
Negreiros (2013) aplicou a mesma abordagem de bioinformática ao estudo proteômico das formas epimastigotas de *T. cruzi* cepa G, onde obteve cerca de 2,95% de ligantes ao RNA, 2,65% de ligantes a ácidos nucleicos e 2,49% de ligantes a DNA, totalizando 8,09% das funções atribuídas.

O fato de se encontrar mais proteínas de ligação a ácidos nucleicos em uma fração enriquecida de núcleos do que em um proteoma total é esperado e mostra que proteínas nucleares foram concentradas durante o fracionamento celular.

Em alguns casos, representantes distintos de uma mesma família de proteínas foram classificados em funções distintas, em outros casos a mesma proteína foi atribuída mais de uma função. As histonas H2A (Q4DYB0, Q4DYB1) foram colocadas no grupo de ligantes proteicos enquanto a histona H2A (Q4CYH9) foi classificada como ligante de DNA, já a histona H2A (Q4DYA8) foi classificada com ambas as funções.

A proteína nucleolar (Q4CU04) e a proteína de ligação a cauda poli(A) (Q4E4V0) foram classificadas como ligantes de RNA e ligantes a proteínas. Proteínas da família *heat shock* que foram classificadas em diversos grupos funcionais, dentre eles de proteínas de ligação a nucleotídeos, de atividade peptidase, de ligação a proteínas e no grupo de proteínas de ligação.

De acordo com anotações GO (Blast2GO), as proteínas foram também classificadas por sua participação em diferentes processos biológicos. Das 882 proteínas identificadas somente foi atribuído uma provável participação em processos biológicos para 419. A muitas destas foi atribuído mais de um processo biológico, assim obtivemos 843 relações entre proteínas e processos biológicos e um total de 34 processos biológicos foram propostos (Figura 16).



**Figura 16:** Gráfico da distribuição (em porcentagem) de proteínas identificadas por participação em processos biológicos GO, obtidos através de análise de bioinformática (Blast2GO).

Dentre os processos biológicos mais representativos para as proteínas identificadas no subproteoma nuclear estão, processos catabólicos (12,35%), tradução (9,5%), processos metabólicos de ácidos nucleicos (7,9%) e processos biossintéticos (7,4%). Estão inclusos dentro da função metabolismo de ácidos nucleicos as reações metabólicas que envolvem bases nitrogenadas, nucleosídeos, nucleotídeos e ácidos nucleicos.

Algumas proteínas foram classificadas em grupos que parecem não se enquadrar muito a uma análise feita para um protozoário unicelular como é o caso das proteínas classificadas no grupo de participantes do desenvolvimento de organismos multicelulares (Q4DF25, Q4DG38, Q4DTR0, Q4E4D5, Q4E4N7, Q4CLA1). Vale ressaltar que a ferramenta de bioinformática usada neste trabalho leva em conta a homologia das proteínas analisadas com proteínas que possuem papéis mais bem esclarecidos em outros organismos. As proteínas acima listadas podem ter as mais diversas funções biológicas em *T. cruzi* e novos estudos são necessários para elucidar as suas participações em determinados processos.

Inúmeras proteínas foram classificadas como participantes de processos metabólicos que envolvem os ácidos nucleicos. Destacam-se entre elas proteínas da família das transportadoras ABC (Q4CWA4), fatores de alongamento (Q4CXI1, Q4CXI2), fatores de iniciação da transcrição em eucariotos (Q4CPV7) e uma proteína hipotética classificada anteriormente com função de transporte (vide Tabela 2) (Q4E134).

Representantes das proteínas descritas como nucleares anteriormente foram também encontrados nos grupos que participam de processos metabólicos: morte celular, regulação de processos biológicos, organização de organelas, transporte de proteínas e processos catabólicos.



## 6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

A adaptação da metodologia proposta por Rout e colaboradores, 2001 para a purificação de fração nuclear de *T. brucei* permitiu o fracionamento subcelular do extrato de formas epimastigotas de *T. cruzi* gerando frações enriquecidas em cinetoplastos e núcleos, conforme validado por técnicas de microscopia. A fração nuclear apresentou qualidade suficiente para análise proteômica. As demais frações poderão ser objeto de futuros estudos subproteômicos.

A separação das proteínas nucleares por técnicas de 2-DE logrou a produção de mapa bidimensional de boa resolução. Contudo a baixa quantidade de amostras dos spots não permitiu a identificação de proteínas por meio de espectrometria de massas do tipo MALDI-TOF/TOF. Por outro lado a estratégia proteômica baseada em LC-MS/MS gerou um alto número de identificações proteicas, incluindo uma alta quantidade de proteínas ainda não identificadas em trabalhos anteriores de proteômica de *T. cruzi*.

A metodologia de purificação de fração nuclear de formas epimastigotas pode no futuro ser aplicada às outras formas de vida do parasito ou mesmo a outros tripanossomatídeos.

Análises de bioinformática das proteínas identificadas mostraram inúmeras proteínas possivelmente envolvidas com processos de divisão, transcrição e tradução entre outros processos biológicos nestes indivíduos. Os resultados sugerem que proteínas identificadas e que ainda não possuem compartimentalização celular proposta possam se encontrar em regiões nucleares ou perinucleares. Por outro lado, algumas proteínas identificadas na fração nuclear não são consideradas como sendo nucleares. Estudos utilizando técnicas ortogonais serão necessários para validar essas observações;

Espera-se que este trabalho sirva como referência para a seleção de alvos para novas pesquisas. Uma atenção especial deve ser dada principalmente às proteínas hipotéticas que foram classificadas quanto à função, por ferramentas de bioinformática.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBERSOLD, R; GOODLETT, D. R., Mass spectrometry in proteomics, *Chem rev* v. 101, n.2, p. 269-295, 2001.
- ALAFORD, S.; HORN, D. Trypanosomatid histones. *Mol Microbiol* v. 53, n. 2, p. 365-372, 2004.
- ANDRADE, H. M., *et al.*, Proteomic analysis of *Trypanosoma cruzi* resistance to Benznidazole. *J proteome Res* v. 7, n. 6, p. 2357-2367, 2008.
- ARAÚJO, P. R. *et al.*, Regulatory elements involved in the post-transcriptional control of stage-specific gene expression in *Trypanosoma cruzi* - A Review, *Mem Inst Oswaldo Cruz* v. 106, n. 3, p. 257-266, 2011.
- ARAÚJO, R. G. A., *Transportadores ABC e resistência a benznidazol em Trypanosoma cruzi*, Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- ASTROZ, C. Y., *et al.*, C. Métodos proteómicos aplicados al estudio de la malaria: Plasmodium falciparum. *Acta Biol Colomb* v.17, n.3, p. 463-484. 2012.
- ATWOOD III, J. A., *et al.* The *Trypanosoma cruzi* proteome. *Science* v.309 n. 5733, p. 473-476, 2005.
- BATISTA, J. A., *et al.* Characterization of a *Trypanosoma cruzi* poly(A)-binding protein and its genes. *Mol Biochem parasitol* v. 67, n.2, p.301-312, 1994.
- BRENER, Z. & CHIARI, E. - Variações morfológicas observadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop* n. 5 p. 220-224, 1963.
- BRINGAUD, F. *et al.*, A new, expressed multigene family containing a hot spot for insertion of retroelements is associated with polymorphic subtelomeric regions of *Trypanosoma brucei*. *Eukaryot Cell*, v. 1, n. 1, p. 137-151, 2002.
- CAMARGO, E. P. Grow and differentiation in *Trypanosoma cruzi*. I. Origin of metacyclic trypanosome in liquid media. *Rev Inst Med Trop* n. 6, p. 93-100, 1964.

CARDOSO, J., M. et al., "Inhibition of proteasome activity blocks *Trypanosoma cruzi* growth and metacyclogenesis." *Parasitol Res* v.103, n.4, p.941-951, 2008.

CONESA, A. et al. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*, v. 21, n. 18, p. 3674-3676, 2005.

CUNHA NETO, E., Novos conhecimentos na patogênese da Doença de Chagas, *Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento*, 2009.

DE SOUZA, C. P. C.; OSMANI, A. S. Mitosis, not just open or closed. *Eucar Cell* n. 6, p. 1521-1527, 2007.

DE SOUZA, W. Special organelles of some pathogenic protozoa. *Parasitol Res* n.12, p. 1013-1025, 2002.

DEGRASSE, J. A., et al. High-yield isolation and subcellular proteomic characterization of nuclear and subnuclear structures from trupanosomes. *Methods Mol Biol.*, n. 463, p. 77-92, 2008.

DIEZ, H., et al. Cellular location of KMP-11 protein in *Trypanosoma rangeli*. *Vector Borne Zoonotic Dis* v.8, n.1 p.93-96, 2008.

Division of Parasitic Diseases (DPDx), Center of disease control and prevation American Tripanosomiasis. (CDC) Disponível em <<<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/trypanosomiasisameirican.htm>>> Acesso em 28/01/2014.

ELIAS, M. C., et al. Chomosome localization changes in the *Trypanosoma cruzi* nucleus. *Eukaryot Cell* n. 6, p. 944-953, 2002.

EL-SAYED, N. M., et al. The genome sequence of *Trypanosoma cruzi*, etiologic agent of Chagas disease. *Science* v.309, n.5733, p.409-415, 2005.

ENGEL, J. C., et al. *Trypanosoma cruzi*: biological characterization of clones derived from chronic chagasic patients: Quantitative analysis of the intracellular cycle. *J Protozool* v. 120, n. 3, p. 261-268, 2008.

FERELLA, M., *et al.* Proteomics in *Trypanosoma cruzi* localization of novel proteins to various organelles. *Proteomics* v.8, n.13, p. 2735-2749.

FIOCRUZ (FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ). Disponível em: <<<http://www.fiocruz.br/chagas/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=26>>> Acesso em: 28/01/2014.

FOLGUEIRA, C.; REQUENA, J. M., A postgenomic view of the heat shock proteins in kinetoplastids. *FEMS Microbiol Rev* v. 31, n. 4, p. 359-377, 2007.

FRASCH, A. C., Functional diversity in the trans-sialidase and mucin families in *Trypanosoma cruzi*. *Parasitol Today* v.16, n.7, p.282-286, 2000.

GARCIA, E. S., DE AZAMBUJA, P. Fisiologia de triatomíneos: Desenvolvimento, reprodução e interação com o *Trypanosoma cruzi*. In: Brener Z. *et. al.*, *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan. p. 41-46, 2000.

GUERCIO, R. A P., Subproteômica de *Trypanosoma cruzi*: proteínas ácidas e fração enriquecida em organelas de alta densidade, Instituto de Biologia, Universidade de Brasília, 2009.

HYMER, W. C., Isolation of nuclei from mammalian tissues through the use of triton x-100, *J. Histochem Cytochem* n. 12, p. 359-363, 1964.

ISSAQ, J. H., VEENSTRA, T. D., Two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis (2D-PAGE): avances and perspectives. *Bio Techniques* n. 44, p. 697-700, 2008.

JACOBSON, A. Poli(A) metabolism and translation: The closed-loop model. In: CAMARGO, R., *Investigação das interações moleculares da Proteína Citoplasmática Ligante à cauda Poli(A): associação PABPC-PABPC*, Departamento de Biologia Celular, Universidade de Brasília, Brasília, 2010; New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press p. 451-480, 1996.

KLOSE, J. Protein mapping by combined isoelectric focusing na electrophoresis of mouse tissues. A novel approach to testing for induced point mutations in mammals. *Humangenetik* v26, n.3, p. 231-243, 1975.

LAEMMLI, U.K., Cleavage of structure proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* n.227, p.680–685. 1970.

LAMOND, A. I., SPECTOR, D. L., Nuclear speckles: a model for nuclear organelles. *Nat Rev Mol Cell Biol* v. 4, p. 605-612, 2003.

LEVINE, N.D., CORLISS, J.O., COX, F.E, *et al.* A newly revised classification of the protozoa. *J.Protozool*, v. 27, n. 1, p. 37-58, 1980.

LI, Z., *et al.*, KMP-11, a Basal Body and Flagellar Protein, Is Required for Cell Division in *Trypanosoma brucei*. *Eukaryotic Cell*, v. 7, n. 11, p. 1941-1950, 2008.

LIU, H. *et al.*, Development of an online two-dimensional nano-scale liquid chromatography/mass spectrometry method for improved chromatographic performance and hydrophobic peptide recovery. *J Chromatogr* v.1135, p.43-51, 2006.

MAGALHÃES, A. D. *Análise Proteômica de Trypanosoma cruzi: construção de mapas bidimensionais em pH alcalino*. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2006.

MAGALHÃES, A. D., *et al.*, *Trypanosoma cruzi* alkaline 2-DE: Optimization and application to comparative proteome analysis of flagellate life stages. *Proteomic Sci* n. 6, v24, 2008.

MANA-CAPELI, S., *et al.*, Dictyostelium discoideum CenB Is a Bona Fide Centrin Essential for Nuclear Architecture and Centrosome Stability. *Eukariotic Cell* v. 8, n. 8, p. 1109-1117, 2009.

MAUL, G. G., The nuclear and the cytoplasmic pore complex: structure, dynamics, distribution, and evolution. *Int Rev Cytol* n.6, p. 175-786.

MINEKI, R. et al., In: Situ alkylation with acrylamide for identification of cysteinyl residues in proteins during one end two dimensional sodium dodecil sulphate polyacrylamide gel electroforesis, *Proteomics*, v. 2, n.12, p. 1672-1681, 2002.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL (MS), Consenso brasileiro em doença de Chagas. *Rev Soc Bras Med Trop* n. 38 , p. 7-29, 2005.

MISTELI, T. Concepts in nuclear architecture. *Bioessay* v. 27, p. 477–487, 2005.

NAGAKURA, K., et al., Subcellular fractionation of *Trypanosoma cruzi* isolation and characterization of plasma membrane from epimastigota. *Tokai J Exp Clin Med*, v.11, n.1, p.23-29, 1986.

NEGREIROS, R. S., *Análise proteômica de epimastigotas da cepa G de Trypanosoma cruzi isolada de um gambá da Amazônia*. Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, 2013.

O'FARRELL, P. H., High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins. *J Biol Chem* v. 250, n. 10, p. 4007-4027, 1975.

PABA, J. C., et al. Proteomic analysis of *Trypanosoma cruzi* developmental stages using isotope-coded affinity tag reagents. *Proteomics* v.4, n.4, p. 1052-1059, 2004.

PARODI-TALICE, A., et al. Proteomic analysis of metacyclic trypomastigotes undergoing *Trypanosoma cruzi* metacyclogenesis. *J Mass Spectrom* v. 42, n. 11, p. 1422-1432, 2007.

PEREZ-MORALES, D., et al., Proteomic Analysis of *Trypanosoma cruzi* Epimastigotes Subjected to Heat Shock. *J Biom Biotech*, 2012.

PETERSEN, S. E., Flow Cytometry of Human Colorectal Tumors: Nuclear Isolation by Detergent Technique, *Cytometry* n. 6, p. 452-460, 1985.

QUEIROZ, R. M. L., *Proteômica de Trypanosoma cruzi: variações em subproteomas durante a amastigogênese*. Faculdade de Medicina, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

ROUT, M. P., *et al.*, Isolation and Characterization of Subnuclear Compartments from *Trypanosoma brucei*. *J Biol Chem* v. 276, n. 41, p. 38261-38271, 2001.

SANCHEZ, J. *et al.*, Improved and simplified in gel sample application using rewelling of dry immobilized pH gradients, *Electroforesis*, v.18, p. 324-327, 1997.

SANDERS, S., L. *et al.* Sec61p and BiP directly facilitate polypeptide translocation into the ER. *Cell* v.69, n.2, p.353-365, 1992.

SANT'ANNA, C. *et al.*, Subcellular proteomics of *Trypanosoma cruzi* reservosomes. *Proteomics* v. 9, n. 7, p. 1782-1794, 2009.

SECRETARIA DE VIGILANCIA EM SAÚDE (MINISTÉRIO DA SAÚDE), Doenças Infecciosas e Parasitárias: Guia de Bolso, 8 ed., Brasília, 2010.

SILVEIRA, J. F. Biologia Molecular do *Trypanosoma cruzi*. "In: BRENER, Z, *et al.*, *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas, 2ª ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, p. 127-152, 2000.

SODRE, C. L. *et al.*, Proteomic map of *Trypanosoma cruzi* CL Brener: the reference strain of the genome project, *Arch Microbiol* v. 362, N. 2, P. 177-184, 2009.

SOLARI, A. J., Mitosis and genome partition in trypanosomes. *Biocell* v.19, n. 2, p. 65-84, 1995.

SOLARI, A. J., The 3-dimensional fine structure of the mitotic spindle in *Trypanosoma cruzi*. *Chromosoma* n. 78, p. 239-255, 1980.

SOUZA, W. A. Short Review on the Morphology of *Trypanosoma cruzi*: from 1909 to 1999. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. v. 94, p. 17-36, 1999.

TAYLOR, S, W., E. FAHY, *et al.* Global organelar proteomics. *Trends Biotechnol* v.21, p. 82-88, 2003.

TEIXEIRA, P. C., *et al.*, Proteomic inventory of myocardial proteins from patients with chronic Chagas' cardiomyopathy. *Braz J Med Biol Res* v. 39, n. 12, p. 1549-1562, 2006.

TIBBETTS, R. S., *et al.*, Molecular cloning and characterization of the 78-kilodalton glucose-regulated protein of *Trypanosoma cruzi*. *Infect Immun* v. 62, n. 6, p. 2499-2507, 1994.

URBINA, J. A., Parasitological cure of Chagas disease: is it possible? Is it relevant? *Mem Inst Oswaldo Cruz* suppl. 1, p. 349-355, 1999.

VALLENOR, L.; JORRIN, J., Back to the basic: maximizing the information obtained by quantitative two dimensional gel eletroforesis analyses design na statistical analyses. *J. Proteomics*, 2011.

VANHAME, L., *et al.*, Control of gene expression in trypanosome. *Microbiology Rev* n. 59, p. 223-240

WHO. Disponível em: <<<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs340/en/>>>  
Acesso em: 27/11/2013.

WU; C. C.; MACCOSS, M. J. Shotgun proteomics: tools for the analysis of complex biological systems. *Curr Opin Mol Ther* v. 4, n. 3, p. 242-250, 2002.



## **Apêndice**

**Lista de proteínas identificadas na análise proteômica da fração nuclear das formas epimastigotas de *T. cruzi* CL Brener.**

| Código de Acesso | Proteína   | Massa (Da) | Score     | Cobertura (%) |
|------------------|--|------------|-----------|---------------|
| Q4D1R9           | 2 oxoglutarate dehydrogenase E2 component dihydrolipoamide succinyltransferase putative Trypanoso        | 44259,9019 | 319,1211  | 8,17          |
| Q4CNP4           | 2 oxoglutarate dehydrogenase E2 component dihydrolipoamide succinyltransferase putative Trypanoso        | 42874,4211 | 170,3384  | 8,42          |
| Q4DG86           | 25 kDa translation elongation factor 1 beta putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047 | 24408,8532 | 1169,5032 | 18,616667     |
| Q4DHH6           | 26S protease regulatory subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510265 20 | 44642,3039 | 967,6359  | 8,79          |
| Q4DTF6           | 26S protease regulatory subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510311 70 | 44682,4121 | 929,3393  | 8,79          |
| Q4DWU3           | 26S proteasome regulatory non ATPase subunit putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brene  | 31630,1468 | 658,1599  | 10,64         |
| Q4CRI1           | 3 2 trans enoyl CoA isomerase mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104  | 39792,52   | 1114,6365 | 14,296666     |
| Q4CTQ3           | 3 2 trans enoyl CoA isomerase mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104  | 45424,2536 | 1253,0603 | 14,575001     |
| Q4D4C9           | 3 hydroxy 3 methylglutaryl CoA reductase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 46740,6539 | 664,4461  | 10,57         |
| Q4DQR5           | 3 hydroxy 3 methylglutaryl CoA reductase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 48694,9964 | 1004,78   | 13,05         |
| Q4CM68           | 3 oxo 5 alpha steroid 4 dehydrogenase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00   | 29889,7122 | 214,0013  | 7,98          |
| Q4DNV7           | 3 phosphoglycerate kinase glycosomal <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505999 100 3  | 55187,6441 | 830,9042  | 13,12         |
| Q4E088           | 40S ribosomal protein S10 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506679 140 4 1  | 18306,7083 | 2377,546  | 36,02         |
| Q4D4L4           | 40S ribosomal protein S11 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507837 50 3 1   | 20514,7173 | 2326,938  | 14,2          |
| Q4D0U7           | 40S ribosomal protein S11 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508319 70 3 1   | 20201,2963 | 1873,356  | 14,45         |
| Q4CRH9           | 40S ribosomal protein S11 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511139 20 3 1   | 20185,2969 | 1873,356  | 14,45         |
| Q4DW69           | 40S ribosomal protein S12 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508231 20 3 1            | 16192,2619 | 1865,812  | 7,75          |

|        |  |            |           |           |
|--------|--|------------|-----------|-----------|
| Q4CQG0 | 40S ribosomal protein S12 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508551 20 3 1            | 16125,2149 | 3016,174  | 26,06     |
| Q4D6I5 | 40S ribosomal protein S14 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053409117 20 3 1   | 15739,0597 | 2265,551  | 33,33     |
| Q4DGZ5 | 40S ribosomal protein S15 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511809 130 3 1  | 17517,3961 | 20720,85  | 10,53     |
| Q4E0N6 | 40S ribosomal protein S15a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506297 330 3 1 | 14888,3799 | 971,2144  | 9,615     |
| Q4CXX2 | 40S ribosomal protein S15a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508041 30 3 1  | 16427,212  | 716,4236  | 9,66      |
| Q4CP93 | 40S ribosomal protein S15a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509381 20 3 1  | 17740,9513 | 716,4236  | 8,97      |
| Q4DIZ9 | 40S ribosomal protein S2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503833 40 3 1    | 28703,0296 | 1075,6589 | 23,005001 |
| Q4DFU6 | 40S ribosomal protein S21 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507765 60 4 1   | 25419,7168 | 1342,544  | 6,55      |
| Q4DFU5 | 40S ribosomal protein S21 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507765 70 4 1   | 26629,0479 | 1235,527  | 6,3       |
| Q4E3M0 | 40S ribosomal protein S21 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101 420 4 1  | 26154,5064 | 1235,527  | 6,36      |
| Q4E3L9 | 40S ribosomal protein S21 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101 430 4 1  | 27916,388  | 1235,527  | 5,98      |
| Q4DTQ1 | 40S ribosomal protein S23 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504181 20 3 1   | 16039,6563 | 1006,869  | 13,99     |
| Q4DMK9 | 40S ribosomal protein S3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504021 109 3 1   | 24314,4655 | 228,5962  | 6,07      |
| Q4D5P4 | 40S ribosomal protein S4 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509683 117 4 1   | 30989,4723 | 3846,124  | 14,65     |
| Q4E0Q3 | 40S ribosomal protein S5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506297 150 3 1   | 21366,7153 | 2426,858  | 25,26     |
| Q4E3P1 | 40S ribosomal protein S5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101 170 3 1   | 21394,7691 | 1986,915  | 25,26     |
| Q4CQU0 | 40S ribosomal protein SA putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503719 20 3 1    | 28104,3326 | 498,4188  | 23,67     |
| Q4E657 | 6 phospho 1 fructokinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508153 340 4 1   | 54021,8844 | 866,9316  | 9,795     |
| Q4E3A4 | 60S acidic ribosomal protein P0 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508355 250 3 1     | 35243,1156 | 407,2441  | 10,22     |

|        |   |            |           |        |
|--------|---|------------|-----------|--------|
| Q4E3A3 | 60S acidic ribosomal protein P0 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508355<br>260 3 1     | 35216,093  | 354,8011  | 10,22  |
| Q4CVQ4 | 60S acidic ribosomal protein P2 beta H6 4 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047   | 10628,7951 | 2343,3    | 18,69  |
| Q4CPY1 | 60S acidic ribosomal protein P2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503505 10 | 11525,9816 | 10325,42  | 35,65  |
| Q4CSS8 | 60S acidic ribosomal protein P2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053505977 26 | 10982,3168 | 917,4978  | 71,43  |
| Q4DWU6 | 60S acidic ribosomal protein P2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510643 14 | 10568,7425 | 1044,035  | 18,69  |
| Q4D991 | 60S acidic ribosomal protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510823 70 4  | 10811,1905 | 2001,111  | 23,85  |
| Q4DD50 | 60S ribosomal protein L10 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510241<br>50 4 1   | 25102,4163 | 1726,087  | 10,33  |
| Q4CQ81 | 60S ribosomal protein L12 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504037<br>30 3 1   | 17833,9497 | 1416,701  | 14,02  |
| Q4D3B0 | 60S ribosomal protein L12 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508413<br>44 3 1   | 17805,9363 | 1809,289  | 14,02  |
| Q4D7Y0 | 60S ribosomal protein L12 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510755<br>129 3 1  | 21852,7285 | 1416,701  | 11,62  |
| Q4DHZ9 | 60S ribosomal protein L12 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511071<br>171 3 1  | 17804,9919 | 1416,701  | 14,02  |
| Q4CQW1 | 60S ribosomal protein L14 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470535041   | 21730,9692 | 1853,0903 | 14,825 |
| Q4DKZ4 | 60S ribosomal protein L18a <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506957 90 3 1              | 20949,31   | 1369,435  | 23,46  |
| Q4DZ31 | 60S ribosomal protein L18a <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511001 120 3 1             | 20921,2562 | 1059,779  | 23,46  |
| Q4D8K4 | 60S ribosomal protein L30 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503453<br>30 4 1   | 11817,643  | 273,7496  | 18,1   |
| Q4D8K3 | 60S ribosomal protein L30 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503453<br>40 4 1   | 11791,6082 | 283,9617  | 18,1   |
| Q4DIC9 | 60S ribosomal protein L30 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506959<br>120 4 1  | 11851,6601 | 312,8994  | 18,1   |
| Q4DB26 | 60S ribosomal protein L34 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506963<br>20 4 1   | 19666,3332 | 729,8864  | 16,96  |
| Q4DN72 | 60S ribosomal protein L34 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511233<br>20 4 1   | 19537,2177 | 740,3784  | 17,06  |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4DL18 | 60S ribosomal protein L34 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511261<br>140 4 1  | 19665,3485 | 740,3784  | 16,96     |
| Q4CY07 | 60S ribosomal protein L4 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350364   | 17659,301  | 1506,4573 | 10,43     |
| Q4CQW2 | 60S ribosomal protein L4 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504121<br>30 4 1    | 41427,4459 | 2568,591  | 13,37     |
| Q4CU61 | 60S ribosomal protein L5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509671<br>80 3 1    | 34909,3555 | 986,1848  | 10,03     |
| Q4CU60 | 60S ribosomal protein L5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510765<br>70 3 1    | 29465,9811 | 1184,3805 | 11,925    |
| Q4CRI7 | 60S ribosomal protein L9 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504181<br>10 4 1    | 22010,5183 | 1251,632  | 7,41      |
| Q4DGQ2 | 60S ribosomal protein L9 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506835<br>30 4 1    | 21980,492  | 1251,632  | 7,41      |
| Q4CVX9 | 60S ribosomal protein L9 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509695<br>170 4 1   | 21966,4651 | 1847,029  | 14,81     |
| Q4D0N7 | 69 kDa paraflagellar rod protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047   | 42783,4945 | 962,1572  | 11,209999 |
| Q4DIF6 | 69 kDa paraflagellar rod protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511215 1 | 70018,5838 | 1231,9603 | 14,951429 |
| Q4CWA4 | ABC transporter putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507241<br>39 4 1    | 32116,6751 | 1208,448  | 8,62      |
| Q4CX07 | ABC transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506249 70 4 1                | 75305,7066 | 702,859   | 5,865     |
| Q4DAY6 | ABC transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506579 10 3 1                | 78822,5146 | 2132,744  | 28,29     |
| Q4DW56 | ABC transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508231 190 4 1               | 75347,7183 | 401,7231  | 7,07      |
| Q4D7V2 | Acetylornithine deacetylase like putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508971 4 | 44006,5615 | 976,97107 | 7,2149997 |
| Q4CR10 | Acetylornithine deacetylase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351   | 35152,7496 | 1996,5074 | 20,010002 |
| Q4DD76 | Actin like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509747 70 3 1             | 42463,8449 | 1393,641  | 28,87     |
| Q4D7A6 | Actin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510127 79 3 1                 | 38324,8017 | 2033,1318 | 20,97     |
| Q4CYQ7 | Actin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510571 39 3 1                 | 12698,3442 | 1152,309  | 29,82     |
| Q4CLA9 | Actin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510573 10 3 1                 | 32579,3385 | 1526,0983 | 15,625    |
| Q4CYQ8 | Actin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510571 30 3 1                          | 42253,2746 | 1688,5338 | 16,89     |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4DTN2 | Activated protein kinase C receptor putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351121 | 35544,6557 | 1225,1421 | 19,735    |
| Q4DK44 | Acyl CoA dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508827<br>40 3 1      | 69411,2764 | 382,8703  | 12,094999 |
| Q4D6Z4 | Adenylate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503479 30 3 1               | 29455,623  | 2424,736  | 18,464    |
| Q4E1S6 | Adenylate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506855 180 3 1              | 29506,7171 | 2250,6882 | 15,386    |
| Q4DD13 | ADP ATP carrier protein 1 mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053  | 35256,3548 | 1654,99   | 23,25     |
| Q4DYK2 | ADP ATP carrier protein 1 mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053  | 35240,2448 | 1006,491  | 23,25     |
| Q4CLA1 | Alpha tubulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053411235 9 3 1                   | 50426,7098 | 7994,573  | 33,563747 |
| Q4CKT7 | Amastin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511497 19 4 1               | 10677,9801 | 4234,063  | 11,46     |
| Q4DAV2 | Amino acid transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504069 120<br>4 1     | 53403,9331 | 1237,889  | 3,15      |
| Q4DCW3 | Amino acid transporter putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504229 110<br>4 1     | 61470,4507 | 959,6278  | 2,79      |
| Q4DYJ8 | Aminopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506211 200 4 1                | 42900,8494 | 925,0934  | 12,3      |
| Q4DD17 | Aminopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511289 30 4 1                 | 42843,8842 | 966,4834  | 15,49     |
| Q4CNM5 | ATP dependent Clp protease subunit heat shock protein 100 HSP100 putative Fragment<br><i>Trypanosoma</i>    | 67819,7247 | 921,59906 | 8,349999  |
| Q4CQI1 | ATP dependent Clp protease subunit heat shock protein 100 HSP100 putative Fragment<br><i>Trypanosoma</i>    | 20608,4691 | 1498,224  | 11,7      |
| Q4CLP1 | ATP dependent Clp protease subunit heat shock protein 100 putative Fragment <i>Trypanosoma<br/>cruzi s</i>  | 28818,9154 | 1455,615  | 18,75     |
| Q4DTH5 | ATP dependent Clp protease subunit heat shock protein 78 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain<br>CL Bre | 90516,4196 | 133,6119  | 4,24      |
| Q4CM53 | ATP dependent DEAD H RNA helicase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 104   | 23444,9059 | 900,3334  | 19,62     |
| Q4CUR6 | ATP dependent DEAD H RNA helicase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 104   | 19948,8267 | 610,3288  | 18,64     |
| Q4D4P7 | ATP dependent DEAD H RNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506229  | 71838,0084 | 513,4587  | 11,16     |
| Q4D8X3 | ATP dependent DEAD H RNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506587  | 45307,223  | 707,2468  | 21,52     |
| Q4DIE1 | ATP dependent DEAD H RNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                   | 47093,9174 | 3039,5898 | 18,965    |

| 1047053506959 |   |             |           |           |  |
|---------------|---|-------------|-----------|-----------|--|
| Q4DC19        | ATP dependent RNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506213 120 3 1 | 69101,975   | 979,6901  | 11,57     |  |
| Q4DH96        | ATP dependent RNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511285 120 3 1 | 68992,9365  | 1167,589  | 15,71     |  |
| Q4DEY4        | ATP dependent zinc metallopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350622 | 76146,8441  | 571,9476  | 4,54      |  |
| Q4E5H7        | ATP dependent zinc metallopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351127 | 62082,9535  | 2566,867  | 14,01     |  |
| Q4DJU4        | ATP dependent zinc metallopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351171 | 75995,7308  | 590,6828  | 4,55      |  |
| Q4CNR6        | ATP synthase alpha chain mitochondrial putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener T     | 25913,9566  | 1425,4127 | 15,25     |  |
| Q4DX76        | ATP synthase epsilon chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506945 240 3   | 20417,2302  | 972,57764 | 22,949999 |  |
| Q4DAV6        | ATP synthase F1 subunit gamma protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504 | 34740,5797  | 1206,9999 | 16,015    |  |
| Q4D1H0        | ATP synthase F1 subunit gamma protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511 | 34726,5528  | 2193,0298 | 16,886665 |  |
| Q4DTX7        | ATP synthase subunit beta <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509233 180 3 1              | 55959,2181  | 4975,6885 | 24,155    |  |
| Q4CXB4        | ATPase alpha subunit putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503617 40   | 24493,5485  | 1822,0568 | 12,789999 |  |
| Q4CQJ3        | ATPase beta subunit putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053467287 30    | 21261,1958  | 2325,278  | 16,060001 |  |
| Q4CY81        | Axoneme central apparatus protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 104   | 34328,2661  | 3191,515  | 48,56     |  |
| Q4CZ83        | Axoneme central apparatus protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510955  | 56803,1124  | 3168,343  | 29,63     |  |
| Q4CRB6        | Basal body component putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511901 10   | 28301,6635  | 191,8432  | 16,67     |  |
| Q4DI03        | Basal body component putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511071 130<br>4 1       | 166409,5786 | 227,5739  | 3,52      |  |
| Q4D103        | Basic transcription factor 3a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504017 10 4 | 15213,4032  | 1337,6545 | 22,135    |  |
| Q4CYN3        | Basic transcription factor 3a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511231 80 4 | 11523,0406  | 1108,6484 | 28,710001 |  |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4DQP2 | Beta tubulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506563 40 3 1                | 50384,4617  | 11592,74  | 26,651001 |
| Q4D1Q2 | Calcium binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509391 10 4 1     | 23949,8891  | 1499,0476 | 14,695    |
| Q4D2S5 | Calmodulin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506389 79 4 1         | 9498,3797   | 10037,58  | 36,47     |
| Q4CVY2 | Calmodulin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511729 9 4 1          | 31218,0847  | 863,2326  | 26,28     |
| Q4DGP9 | Calmodulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506835 60 4 1                  | 73447,61    | 1270,1426 | 13,075    |
| Q4D139 | Calmodulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507483 30 4 1                  | 23627,1699  | 2628,6208 | 18,84     |
| Q4CWP2 | Calmodulin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509353 60 4 1                  | 17881,1902  | 1254,7992 | 17,199999 |
| Q4CSZ2 | Calmodulin <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506391 10 4 1                           | 16824,6536  | 1859,478  | 24,386667 |
| Q4D137 | Calmodulin <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507483 50 4 1                           | 16834,6921  | 1735,016  | 24,386667 |
| Q4CPQ6 | Calpain cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505   | 201085,9672 | 1609,3759 | 13,035    |
| Q4CS87 | Calpain cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511   | 146312,6564 | 669,8398  | 8,13      |
| Q4CLF8 | Calpain like cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470   | 72146,1788  | 144,8077  | 1,9       |
| Q4CW02 | Calpain like cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470   | 156033,6887 | 631,8871  | 8,885     |
| Q4DIZ1 | Calpain like cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470   | 134061,3307 | 1349,651  | 18,2      |
| Q4CS86 | Calpain like cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470   | 19293,6631  | 726,3696  | 8,07      |
| Q4CMV9 | Calpain like cysteine peptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470   | 66040,4446  | 726,3696  | 7,12      |
| Q4CZ45 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503987 20 | 32256,0996  | 449,6035  | 4,24      |
| Q4DQN5 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506563 21 | 79140,2865  | 574,5594  | 14,74     |
| Q4D6J0 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506721 30 | 522484,9367 | 920,54675 | 6,8025    |
| Q4CYU3 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506983 39 | 12961,6336  | 879,9333  | 27,19     |
| Q4D066 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508675 29 | 12920,581   | 370,9378  | 17,54     |



|        |   |             |           |           |
|--------|---|-------------|-----------|-----------|
| Q4E0D7 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508999 20 | 78954,9797  | 560,8947  | 10,69     |
| Q4CV42 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509001 40 | 16849,6684  | 1782,331  | 20,41     |
| Q4CW64 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509003 30 | 15044,0033  | 1545,0264 | 17,175    |
| Q4CW63 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509003 40 | 15688,624   | 1233,0659 | 9,775     |
| Q4D5S6 | Calpain like cysteine peptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511711 10 | 32314,0928  | 927,4167  | 4,24      |
| Q4CQ08 | CAMP specific phosphodiesterase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503541 5  | 23824,0706  | 1517,323  | 34,43     |
| Q4E0Y6 | CAMP specific phosphodiesterase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508277 10 | 103483,8026 | 1963,44   | 17,65     |
| Q4E591 | Centrin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506559 380 4 1                       | 21008,7027  | 659,6833  | 11,05     |
| Q4DQ49 | Centrin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508323 60 4 1                        | 16523,7129  | 2249,412  | 21,14     |
| Q4DWG6 | Chaperonin containing T complex protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470535 | 60041,4842  | 1021,252  | 9,29      |
| Q4DYP4 | Chaperonin HSP60 mitochondrial Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507641 3   | 27243,0203  | 786,4909  | 21,2      |
| Q4E496 | Chaperonin HSP60 mitochondrial putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705   | 30820,4585  | 266,6905  | 9,09      |
| Q4DYP6 | Chaperonin HSP60 mitochondrial <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507641<br>280 3 1      | 59901,8461  | 1122,4779 | 15,593333 |
| Q4DYP5 | Chaperonin HSP60 mitochondrial <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507641<br>290 3 1      | 59394,0065  | 1110,291  | 18,244999 |
| Q4D1L5 | Chaperonin T complex protein 1 gamma subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 104 | 61296,4447  | 538,2762  | 14,05     |
| Q4CVU1 | Choline dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506851 20<br>4 1       | 59483,8416  | 562,2674  | 13,07     |
| Q4CRL8 | Choline dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511141 20<br>4 1       | 59513,7976  | 731,675   | 13,07     |
| Q4CVJ5 | Citrate synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509801 30 3 1                        | 52892,9214  | 604,2738  | 11,44     |
| Q4E514 | Citrate synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511277 110 3 1                       | 53003,0803  | 580,9006  | 11,44     |
| Q4D5X2 | Clathrin heavy chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506167 50 4 1           | 194371,5836 | 562,605   | 7,34      |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4D172 | Cystathionine beta synthase Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509149 9 4 1  | 33624,3102 | 2691,027  | 23,1      |
| Q4DF36 | Cystathionine beta synthase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508177 129 4  | 30774,9852 | 1904,1804 | 28,91     |
| Q4DG20 | Cysteine synthase Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508241 149 3<br>1          | 10895,3962 | 2814,8188 | 24,24     |
| Q4CRX0 | Cysteine synthase Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511691 10 3 1              | 44132,3287 | 5462,163  | 29,42     |
| Q4CXR9 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506905 50 3 1                       | 42691,6529 | 4697,3774 | 29,82     |
| Q4E2W1 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508175 360 3 1                      | 44658,0723 | 4437,729  | 26,310001 |
| Q4DF38 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508177 110 3 1                      | 42718,722  | 2434,8662 | 19,27     |
| Q4DF37 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508177 120 3 1                      | 42709,692  | 4457,9424 | 30,86     |
| Q4DG21 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508241 140 3 1                      | 42677,6664 | 4224,354  | 29,945    |
| Q4CYV4 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510381 10 3 1                       | 47750,5796 | 4437,729  | 24,71     |
| Q4CRW9 | Cysteine synthase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511691 20 3 1                       | 47829,7788 | 4499,3877 | 26,935    |
| Q4CZ54 | Cytochrome b domain protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503653 60 3 1 | 35961,1786 | 1657,363  | 14,65     |
| Q4DJQ7 | Cytochrome b domain protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509395 100 3  | 32440,3931 | 1278,576  | 11,5      |
| Q4CM35 | Cytochrome c oxidase subunit 10 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053455721 9  | 13963,9432 | 1402,7555 | 13,91     |
| Q4CLQ9 | Cytochrome c oxidase subunit 10 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508651 20 | 13922,8906 | 2491,52   | 13,91     |
| Q4CZ48 | Cytochrome c oxidase subunit 10 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510783 49 | 13964,8845 | 1402,7555 | 13,91     |
| Q4E5P5 | Cytochrome C oxidase subunit IV putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506529 36 | 39119,7662 | 4490,754  | 31,536667 |
| Q4E2P2 | Cytochrome C oxidase subunit IV putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510889 50 | 39079,7014 | 4369,5176 | 29,99     |
| Q4E3G4 | Cytochrome c oxidase subunit IX putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507611 28 | 13823,7218 | 4982,5894 | 15,86     |
| Q4DQJ6 | Cytochrome c oxidase subunit IX putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507723 10 | 13833,7603 | 4282,128  | 15,86     |
| Q4D214 | Cytochrome c oxidase subunit V putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508503 20  | 22422,6091 | 7392,4756 | 27,039999 |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4DAW5 | Cytochrome C oxidase subunit VI putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504069 20 | 19214,9101 | 3315,9216 | 22,38286  |
| Q4D1H9 | Cytochrome C oxidase subunit VI putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511145 10 | 19214,8667 | 2149,7188 | 17,378572 |
| Q4CXC3 | Cytochrome c oxidase VII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503769<br>40 4 1    | 19046,8774 | 12246,249 | 41,515    |
| Q4DTY0 | Cytochrome c oxidase VII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509233<br>150 4 1   | 19064,9165 | 10510,29  | 41,515    |
| Q4CSY1 | Cytochrome c oxidase VIII COX VIII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470534074   | 18656,5653 | 5446,402  | 9,55      |
| Q4DU59 | Cytochrome c1 heme protein mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470   | 30179,0962 | 2884,017  | 25,58     |
| Q4CP00 | Cytoskeleton associated protein CAP5 5 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener Tc0   | 81807,177  | 492,03784 | 10,694285 |
| Q4DJS7 | Cytoskeleton associated protein CAP5 5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350 | 89750,5101 | 449,99854 | 11,345714 |
| Q4D609 | Cytoskeleton associated protein CAP5 5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350 | 90891,6552 | 640,5589  | 10,898334 |
| Q4D4Y0 | Cytosolic leucyl aminopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509859 40 | 62502,3922 | 928,4583  | 18,49     |
| Q4DEX4 | Cytosolic leucyl aminopeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510515 60 | 62440,331  | 1287,787  | 13,36     |
| Q4CU52 | D isomer specific 2 hydroxyacid dehydrogenase protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i><br>strain  | 28648,6807 | 326,674   | 14,23     |
| Q4DAE1 | D isomer specific 2 hydroxyacid dehydrogenase protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener | 38795,2145 | 281,2209  | 12,35     |
| Q4CU50 | D isomer specific 2 hydroxyacid dehydrogenase protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener | 39664,2014 | 2433,065  | 19,08     |
| Q4CU51 | D isomer specific 2 hydroxyacid dehydrogenase protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Brener | 22356,3892 | 1950,769  | 21,21     |
| Q4E4D5 | Developmentally regulated GTP binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 10 | 41836,3152 | 217,43704 | 7,065     |
| Q4DMG9 | Dihydrolipoamide acetyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509717 | 49944,6844 | 685,291   | 15,783333 |
| Q4DZT8 | Dihydrolipoamide acetyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510105 | 49974,7304 | 339,0019  | 21,44     |
| Q4DYI5 | Dihydrolipoamide acetyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                  | 28322,1754 | 299,19073 | 8,735001  |

| 1047053511367 |   |             |            |           |
|---------------|---|-------------|------------|-----------|
| Q4DWL8        | Dihydrolipoyl dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507089 270 3<br>1       | 51196,7218  | 967,9361   | 12,370001 |
| Q4DD33        | Dihydrolipoyl dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511025 110 3<br>1       | 51272,7762  | 1007,51624 | 10,9      |
| Q4DJK2        | Dispersed gene family protein 1 DGF 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470535 | 367470,0997 | 61,8602    | 2,87      |
| Q4CPW0        | Dynamin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503671 39 3 1             | 31162,857   | 872,462    | 25,89     |
| Q4E689        | Dynamin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508153 20 3 1                      | 73133,2746  | 1102,68    | 20,37     |
| Q4DTQ6        | Dynein arm light chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509695 130<br>4 1   | 32148,9174  | 982,794    | 4,63      |
| Q4DLN1        | Dynein arm light chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509967 170<br>4 1   | 32049,8281  | 1522,094   | 4,64      |
| Q4DG38        | Dynein associated protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510761<br>73 4 1 | 11242,8563  | 2997,802   | 21,43     |
| Q4CX46        | Dynein heavy chain putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509585 10 4 | 427662,1749 | 424,407    | 7,02      |
| Q4D3Z5        | Dynein heavy chain putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511865 90 4 | 43543,3002  | 513,17883  | 18,945    |
| Q4CKS7        | Dynein heavy chain putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511869 9 4  | 56605,3084  | 733,9526   | 4,88      |
| Q4D126        | Dynein heavy chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510437 10 4 1           | 41284,7624  | 615,0034   | 24,53     |
| Q4DRW6        | Dynein intermediate chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507669<br>70 4 1 | 75617,6198  | 1349,673   | 6,3       |
| Q4D4E6        | Dynein intermediate chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507857<br>60 4 1 | 75708,7384  | 992,1407   | 6,3       |
| Q4DN14        | Dynein light chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506203 20 4 1           | 29617,3405  | 3356,588   | 36,86     |
| Q4E4N7        | Dynein light chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506925 104 4 1          | 10443,9797  | 5109,9385  | 34,445    |
| Q4CZW3        | Dynein light chain putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508645 30 4 1           | 29603,3136  | 3135,522   | 36,86     |
| Q4DWH2        | Dynein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511725 180 4 1                      | 69090,3893  | 2014,676   | 21,06     |
| Q4CRF5        | Elongation factor 1 alpha EF 1 alpha putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0   | 31020,7447  | 8427,012   | 24,075554 |
| Q4CU73        | Elongation factor 1 alpha EF 1 alpha putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0   | 19653,511   | 2040,9095  | 21,236666 |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4CRF8 | Elongation factor 1 alpha EF 1 alpha putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0      | 16349,8661 | 2029,1693 | 22,708334 |
| Q4CXI2 | Elongation factor 1 alpha Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510119 9 3 1     | 43177,3541 | 9894,045  | 26,33556  |
| Q4CXI1 | Elongation factor 1 alpha <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510119 20 3 1             | 49571,015  | 11733,996 | 26,01111  |
| Q4DYF9 | Elongation factor 1 alpha <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511367 360 3 1            | 49585,0419 | 11602,784 | 26,01111  |
| Q4CRF6 | Elongation factor 1 alpha <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511367 370 3 1            | 49613,0957 | 10198,022 | 25,441109 |
| Q4CRF7 | Elongation factor 1 alpha <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511369 10 3 1             | 48803,1074 | 10361,222 | 25,842222 |
| Q4CXW2 | Elongation factor 1 gamma EF 1 gamma putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705351    | 46984,0084 | 145,1788  | 8,03      |
| Q4D5X1 | Elongation factor 2 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508169 9 4    | 22692,9009 | 308,22873 | 12,579999 |
| Q4D5X0 | Elongation factor 2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508169 20 4 1          | 95159,9267 | 276,3722  | 4,49      |
| Q4D3T1 | Elongation factor 2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510963 90 4 1          | 95158,942  | 440,3341  | 4,49      |
| Q4DY24 | Elongation factor TU putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506357 40 4 1         | 52348,2959 | 1127,5765 | 12,44     |
| Q4E5I8 | Elongation factor TU putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511277 70 4 1         | 52355,3742 | 889,79785 | 14,395    |
| Q4E620 | Elongation initiation factor 2 alpha subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104  | 48200,598  | 263,8629  | 7,66      |
| Q4CKX1 | Enoyl CoA hydratase mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508185   | 29045,6397 | 182,8711  | 4,87      |
| Q4E0F6 | Eukaryotic initiation factor 4a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510155 18  | 49973,1494 | 947,30286 | 14,2      |
| Q4E4N4 | Eukaryotic initiation factor 5a putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506925 12  | 18129,2923 | 1745,977  | 31,74     |
| Q4DP89 | Eukaryotic peptide chain release factor subunit 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0  | 51185,0182 | 753,8163  | 5,97      |
| Q4CPV7 | Eukaryotic translation initiation factor 2 subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc  | 53149,9488 | 691,8865  | 17,4      |
| Q4DHE0 | Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit 7 like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strai | 57793,2424 | 844,8746  | 4,18      |
| Q4DCN0 | Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit 7 like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strai | 57869,3615 | 834,8195  | 4,18      |
| Q4CUG4 | Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit G <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470 | 31628,3717 | 1036,765  | 10,62     |
| Q4DZB0 | Eukaryotic translation initiation factor 5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00        | 43395,0616 | 847,25793 | 15,83     |

| 10470  |   |            |           |           |  |
|--------|---|------------|-----------|-----------|--|
| Q4CSE1 | Eukaryotic translation initiation factor 5 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470 | 43509,2023 | 562,69006 | 12,924999 |  |
| Q4E097 | Eukaryotic translation initiation factor 6 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener EIF6 3 2               | 27417,8008 | 2049,9233 | 17,14     |  |
| Q4CTW9 | Flagellar calcium binding protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104   | 8520,3778  | 2137,327  | 26,58     |  |
| Q4CS04 | Flagellar calcium binding protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104   | 11994,3201 | 1493,6366 | 25,925    |  |
| Q4DRI4 | Flagellar calcium binding protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104   | 20921,6529 | 5544,303  | 4,97      |  |
| Q4CS05 | Flagellar calcium binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506749  | 24047,0523 | 849,9462  | 14,69     |  |
| Q4DRI5 | Flagellar calcium binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507491  | 23955,8524 | 1560,8628 | 14,695    |  |
| Q4CTX1 | Flagellar calcium binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507891  | 24069,9966 | 1782,3162 | 14,695    |  |
| Q4CTX0 | Flagellar calcium binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507891  | 24041,9428 | 1499,0476 | 14,695    |  |
| Q4CTX2 | Flagellar calcium binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507891  | 24123,1067 | 5614,602  | 10,9      |  |
| Q4CUF2 | Flagellar protofilament ribbon protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350 | 46320,9582 | 898,41907 | 16,665    |  |
| Q4CV35 | Flagellar protofilament ribbon protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350 | 46320,9148 | 609,8737  | 26,04     |  |
| Q4CW25 | Flagellar radial spoke component putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047   | 32740,1511 | 2690,135  | 24,395    |  |
| Q4DE57 | Flagellar radial spoke component putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504089 5 | 67938,8366 | 3205,136  | 14,68     |  |
| Q4DW99 | Flagellar radial spoke protein like putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350698 | 60629,182  | 998,5345  | 14,785    |  |
| Q4DHQ3 | Flagellar radial spoke protein like putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351014 | 66147,5278 | 708,4355  | 9,54      |  |
| Q4CUP1 | Fructose 1 6 bisphosphatase cytosolic putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350  | 38127,5697 | 1172,05   | 18,31     |  |
| Q4DE31 | Fructose 1 6 bisphosphatase cytosolic putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350  | 38163,5404 | 875,0798  | 21,22     |  |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4D0Q1 | Fructose bisphosphate aldolase Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510301 10  | 23455,7342 | 1967,0033 | 28,818335 |
| Q4D4S0 | Fructose bisphosphate aldolase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504163 40<br>3 1       | 41233,0763 | 2130,425  | 25,6375   |
| Q4D4R9 | Fructose bisphosphate aldolase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504163 50<br>3 1       | 41205,0629 | 1525,9125 | 21,20125  |
| Q4D0Q0 | Fructose bisphosphate aldolase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510301 20<br>3 1       | 41207,0415 | 2023,2257 | 25,7375   |
| Q4CR45 | Gim5A protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510669<br>49 4 1      | 18087,1016 | 355,593   | 6,21      |
| Q4DC12 | Gim5A protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507009 10 4 1                  | 25038,2237 | 854,76105 | 10,251666 |
| Q4E4Q2 | Gim5A protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508461 570 4 1                 | 27175,5783 | 1190,6406 | 10,890001 |
| Q4CR48 | Gim5A protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510669 20 4 1                  | 27145,552  | 1090,338  | 10,362859 |
| Q4E4E1 | Glucokinase 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510187 100 1 1                 | 42038,4459 | 804,5718  | 6,12      |
| Q4D0F2 | Glucosamine 6 phosphate isomerase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511531  | 31613,158  | 213,5264  | 5,73      |
| Q4D620 | Glucose regulated protein 78 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506585 40 3  | 71430,0266 | 1646,1034 | 16,32     |
| Q4CZY4 | Glutamamyl carboxypeptidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350   | 28930,3262 | 981,3535  | 9,46      |
| Q4CPW6 | Glutamamyl carboxypeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507657 10 4 1 | 44121,7934 | 2091,5972 | 17,595001 |
| Q4CPW5 | Glutamamyl carboxypeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507657 20 4 1 | 44239,9958 | 1883,894  | 15,995    |
| Q4CZY6 | Glutamamyl carboxypeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507689 30 4 1 | 44249,8889 | 1806,7672 | 15,236667 |
| Q4CZY5 | Glutamamyl carboxypeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507689 40 4 1 | 44117,9061 | 2072,0537 | 17,468332 |
| Q4CR09 | Glutamamyl carboxypeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510837 20 4 1 | 44218,9647 | 1847,5724 | 15,866666 |
| Q4DU62 | Glutamamyl carboxypeptidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511391 120 4  | 44390,8057 | 1310,6597 | 11,294999 |
| Q4CVH4 | Glutamate dehydrogenase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053505843   | 24292,6464 | 375,1812  | 17,54     |
| Q4DWV8 | Glutamate dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507875 20 3 1                 | 45621,1089 | 311,7469  | 14,42     |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4D5C2 | Glutamate dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508111 30 3 1              | 45455,8491  | 937,0606  | 22,115    |
| Q4CSV9 | Glutamine dependent carbamoyl phosphate synthase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL B  | 143434,6045 | 161,0606  | 2,79      |
| Q4DBC3 | Glutamine dependent carbamoyl phosphate synthetase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL  | 74001,0047  | 185,23169 | 5,535     |
| Q4D776 | Glutathione S transferase glutaredoxin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 35490,8053  | 5712,85   | 29,325    |
| Q4DMF2 | Glutathione S transferase glutaredoxin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 35453,7902  | 4111,955  | 15,059999 |
| Q4DCN9 | Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 39260,7231  | 1033,784  | 11,98     |
| Q4DHF0 | Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 39245,7085  | 934,6896  | 11,98     |
| Q4DG35 | Glycerol 3 phosphate dehydrogenase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10   | 25078,6179  | 4287,314  | 37,1      |
| Q4DC80 | Glycerol 3 phosphate dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511151 | 67811,3043  | 989,1394  | 10,7      |
| Q4DRD8 | Glycosomal malate dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506503 69 | 34296,0747  | 1076,901  | 22,29     |
| Q4DDK8 | Glycosomal malate dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511293 69 | 34313,1455  | 1213,2277 | 24,765    |
| Q4D8V7 | Glycosomal phosphoenolpyruvate carboxykinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104 | 59329,9253  | 2649,9167 | 20,9025   |
| Q4DB81 | Glycosomal phosphoenolpyruvate carboxykinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104 | 59320,9179  | 2368,4236 | 18,19     |
| Q4CP51 | GTP binding nuclear protein rtb2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503539 3 | 32240,0944  | 1413,4575 | 11,07     |
| Q4DIB9 | GTP binding nuclear protein rtb2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509455 8 | 24740,0862  | 1689,5029 | 14,285    |
| Q4DUQ2 | GTP binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504149 110 4 1        | 25160,6807  | 941,3022  | 11,95     |
| Q4CVL7 | Heat shock 70 kDa protein mitochondrial putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener T    | 30915,5183  | 683,61926 | 15,320001 |
| Q4CVR9 | Heat shock 70 kDa protein mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053  | 71503,6337  | 847,8344  | 11,91     |
| Q4CU95 | Heat shock 70 kDa protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535104   | 41027,5138  | 878,1054  | 20,05     |



|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4E663 | Heat shock protein 20 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508153 270<br>3 1      | 15955,2214 | 1102,423  | 11,97     |
| G3XCP0 | Heat shock protein 20 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510323 40 3<br>1       | 15982,2471 | 1451,691  | 18,31     |
| Q4CK86 | Heat shock protein 70 HSP70 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053     | 15433,7377 | 1886,4237 | 36,666668 |
| Q4DTM9 | Heat shock protein 70 HSP70 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511211 160    | 71159,4966 | 1193,683  | 14,83     |
| Q4DTM8 | Heat shock protein 70 HSP70 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511211 170    | 73583,3792 | 933,0418  | 14,33     |
| Q4DBM7 | Heat shock protein 85 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509105 140<br>3 1      | 81197,9544 | 631,6899  | 9,23      |
| Q4D832 | Heat shock protein DnaJ putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511627<br>110 3 1    | 44888,4898 | 1528,6465 | 22,18     |
| Q4D4G9 | Heat shock protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508443 20 | 36177,9989 | 295,48578 | 14,89     |
| Q4DTD8 | Heat shock protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509157 80 | 35985,7977 | 1072,4343 | 11,6      |
| Q4DGN8 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H F putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1047 | 50522,8944 | 1580,356  | 14,89     |
| Q4DFM4 | Heterogeneous nuclear ribonucleoprotein H F putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1047 | 50182,5118 | 972,38    | 15,18     |
| Q4D3P5 | Hexokinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508951 20 3 1                     | 52657,7508 | 936,4168  | 17,625    |
| Q4DQ27 | Hexokinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510121 20 3 1                     | 52709,7857 | 3450,3098 | 20,736666 |
| Q4D714 | High mobility group protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504431<br>64 4 1 | 30713,1946 | 462,17798 | 10,493333 |
| Q4DUS7 | High mobility group protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507951<br>114 4  | 30542,0418 | 699,89764 | 11,726666 |
| Q4E133 | Histidine ammonia lyase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506247 220 3 1                | 58595,4291 | 1786,092  | 7,87      |
| Q4CYH9 | Histone H2A Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508321 11 3 1                    | 11463,5378 | 2876,0376 | 12,852501 |
| Q4CYH8 | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508321 21 3 1                             | 14394,0566 | 2937,4712 | 10,184999 |
| Q4DYB0 | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509207 11 3 1                             | 14346,9564 | 2876,0376 | 10,184999 |
| Q4D6V9 | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510525 100 3 1                            | 14353,9484 | 2583,5076 | 7,04      |
| Q4D6W0 | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510525 110 3 1                            | 14335,9093 | 1913,8229 | 7,04      |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4DYB1 | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511817 151 3 1                         | 14347,8977  | 2991,8354 | 10,184999 |
| Q4DYA8 | Histone H2A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511817 180 3 1                         | 14360,9833  | 2957,8623 | 10,184999 |
| Q4CTD8 | Histone H2B <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511635 10 3 1                          | 12360,3798  | 2469,7231 | 19,005716 |
| Q4CTD7 | Histone H2B <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511635 20 3 1                          | 12346,3095  | 2850,1753 | 19,005716 |
| Q4D0J9 | Histone H3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505931 40 4 1                  | 21600,9331  | 10610,193 | 16,532501 |
| Q4CWE9 | Histone H3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505931 50 4 1                  | 14876,133   | 9085,7705 | 23,4975   |
| Q4CZH3 | Histone H3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509471 59 4 1                  | 22567,0822  | 12267,215 | 15,782499 |
| Q4CXR1 | Histone H4 Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507943 5 3 1                   | 6894,002    | 9701,848  | 53,428745 |
| Q4DDL6 | Histone H4 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507601 150 3 1                          | 11184,1228  | 13493,888 | 33,125    |
| Q4DEL1 | Histone H4 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507941 150 3 1                          | 11170,0959  | 8631,767  | 31,75     |
| Q4CMF1 | Histone H4 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508739 60 3 1                           | 11287,2677  | 6245,8965 | 20,375    |
| Q4DRC3 | Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1 | 26016,1169  | 1608,9467 | 27,024288 |
| Q4DGA2 | Hypoxanthine guanine phosphoribosyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1 | 26016,0735  | 1901,7948 | 27,024288 |
| Q4DFL2 | I 6 autoantigen putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508323 100 4 1            | 23453,4205  | 1276,7988 | 18,14     |
| Q4DQ44 | I 6 autoantigen putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511825 80 4 1             | 23347,3392  | 973,9222  | 14,792002 |
| Q4E0V0 | Importin subunit alpha <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509965 110 3 1              | 58609,7067  | 792,2161  | 5,07      |
| Q4CQ93 | Inosine 5 monophosphate dehydrogenase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0    | 22423,9254  | 1335,135  | 40,3      |
| Q4CUG6 | Inosine 5 monophosphate dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507211 40 3  | 56172,3878  | 2534,649  | 34,96     |
| Q4DM82 | Inosine 5 monophosphate dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511301 110 3 | 56153,3884  | 1391,822  | 26,76     |
| Q4DYL4 | Intraflagellar transport protein component putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470 | 72402,9554  | 722,5829  | 7,08      |
| Q4DCC4 | Intraflagellar transport protein component putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470 | 72421,9175  | 627,4638  | 7,08      |
| Q4E4L7 | Isocitrate dehydrogenase NADP <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506925 319 3 1       | 47144,0282  | 700,3194  | 10,17     |
| Q4CWN9 | Kinesin like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511253 31   | 159557,8246 | 669,4562  | 19,46     |

|        |  |             |          |           |
|--------|--|-------------|----------|-----------|
| Q4CXB6 | Kinetoplast DNA associated protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503617  | 218949,8069 | 937,824  | 26,21     |
| Q4DNI4 | Kinetoplast DNA associated protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509791  | 21302,2245  | 606,307  | 16,76     |
| Q4CXF1 | Kinetoplast DNA associated protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511039  | 21339,2887  | 791,2922 | 16,76     |
| Q4D3A5 | Kinetoplastid membrane protein KMP 11 Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350   | 9181,4037   | 2123,128 | 11,84     |
| Q4D7Y4 | Kinetoplastid membrane protein KMP 11 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510  | 11011,4779  | 4650,438 | 9,78      |
| Q4D3A7 | Kinetoplastid membrane protein KMP 11 <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508413 68 4 1 | 10883,3037  | 3112,339 | 9,89      |
| Q4CU39 | L threonine 3 dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507923 10 4 1  | 37246,8628  | 636,959  | 14,46     |
| Q4DYI6 | LA RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511367 60<br>4 1       | 37562,9759  | 1974,904 | 13,21     |
| Q4CU35 | Leucine rich repeat protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351    | 25723,5014  | 1622,332 | 20,27     |
| Q4CLM9 | Leucine rich repeat protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053422189<br>20 4 1  | 26942,8885  | 1601,284 | 24,57     |
| Q4D4Q1 | Leucine rich repeat protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506229<br>40 4 1  | 26900,8482  | 2160,71  | 19,4      |
| Q4D4A0 | Malate dehydrogenase Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507883<br>109 3 1        | 31856,5013  | 738,4294 | 17,28     |
| Q4CTR7 | Malate dehydrogenase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506937 10 3 1                     | 36103,0658  | 796,4049 | 6,93      |
| Q4DGA5 | Methionine aminopeptidase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506457 10 3 1                | 53295,8985  | 464,4763 | 6,11      |
| Q4DRC6 | Methionine aminopeptidase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509693 50 3 1                | 53427,0299  | 650,4374 | 13,24     |
| Q4D5A7 | Microtubule associated protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705    | 125967,171  | 6606,44  | 31,16     |
| Q4CMT2 | Microtubule associated protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705    | 85214,5007  | 678,6418 | 6,23      |
| Q4DH94 | Mitochondrial DNA polymerase beta putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503955   | 45738,5086  | 729,2112 | 15,88     |
| Q4E024 | Mitochondrial DNA polymerase beta putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507063   | 45741,5183  | 806,6142 | 19,6      |
| Q4DB63 | Mitochondrial processing peptidase alpha subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener          | 61819,2311  | 582,5261 | 12,743333 |

| Tc00   |  |            |           |           |  |  |
|--------|--|------------|-----------|-----------|--|--|
| Q4DI18 | Mitochondrial processing peptidase alpha subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 57074,6378 | 424,9549  | 11,625999 |  |  |
| Q4DYG2 | Mitochondrial processing peptidase alpha subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 53356,7288 | 842,5001  | 21,17     |  |  |
| Q4CNA4 | Mitochondrial processing peptidase beta subunit putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL B   | 31249,1081 | 1690,5874 | 22,705    |  |  |
| Q4CWV6 | Mitochondrial processing peptidase beta subunit putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL B   | 15510,6556 | 1147,8156 | 13,795    |  |  |
| Q4DPR3 | Mitochondrial processing peptidase beta subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00  | 54923,6633 | 2635,7317 | 22,186666 |  |  |
| Q4DQE1 | Mitochondrial RNA binding protein 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350662 | 23288,2257 | 223,6541  | 10,63     |  |  |
| Q4D0R4 | Mitochondrial RNA binding protein 1 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350983 | 23274,1988 | 1343,025  | 22,71     |  |  |
| Q4DWJ0 | Mitochondrial RNA binding protein 2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350675 | 25566,8507 | 1033,336  | 11,06     |  |  |
| Q4E544 | Mitochondrial RNA binding protein 2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705351035 | 25410,6661 | 613,2916  | 11,11     |  |  |
| Q4CRD8 | Mucin associated surface protein MASP putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc     | 12584,3094 | 332,98    | 22,76     |  |  |
| Q4D9A1 | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535   | 43709,7568 | 95,1137   | 9,2       |  |  |
| Q4E3X9 | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535   | 40511,7886 | 648,8073  | 15,37     |  |  |
| Q4CSJ9 | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535   | 44438,023  | 141,5626  | 12,91     |  |  |
| Q4DDU8 | Mucin associated surface protein MASP putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535   | 45566,2863 | 442,1064  | 7,05      |  |  |
| Q4CNZ7 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053463955 10 4 1               | 26414,5119 | 900,5459  | 21,57     |  |  |
| Q4DR13 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507953 180 4 1              | 19290,4246 | 966,1022  | 17,74     |  |  |
| Q4DAF4 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508125 130 4 1              | 23265,4996 | 377,8785  | 35,11     |  |  |
| Q4DGH1 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509493 80 4 1               | 29411,8268 | 431,2959  | 16,84     |  |  |
| Q4E2F4 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509525 350 4 1              | 26290,3488 | 886,8078  | 21,57     |  |  |
| Q4CVG1 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509869 30 4 1               | 21076,7741 | 656,1762  | 20,29     |  |  |

|        |  |             |           |        |
|--------|--|-------------|-----------|--------|
| Q4D496 | Mucin TcMUCII putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510207 10 4 1               | 23261,5052  | 544,8092  | 35,11  |
| Q4CNB2 | Myosin heavy chain putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506439 9 4    | 44692,2474  | 124,0451  | 8,56   |
| Q4D1D3 | Myosin heavy chain putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506491 20 4   | 399888,7343 | 74,8934   | 44,59  |
| Q4CZT5 | N acetylglucosamine 6 phosphate deacetylase like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> str  | 40741,7218  | 2105,887  | 25,55  |
| Q4CYW6 | N acetylglucosamine 6 phosphate deacetylase like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> str  | 30842,5883  | 1500,922  | 25     |
| Q4DEP6 | NADH cytochrome b5 reductase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 10470535   | 21492,7963  | 1425,799  | 12,885 |
| Q4D0C0 | NADH cytochrome B5 reductase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511047 40 4  | 34805,45    | 413,1552  | 12,42  |
| Q4DYC3 | NADH cytochrome B5 reductase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511817 40 4  | 32381,4171  | 332,19156 | 21,005 |
| Q4DLP7 | NADH cytochrome B5 reductase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511859 170 4 | 34860,5204  | 439,8646  | 12,42  |
| Q4DD49 | Nascent polypeptide associated complex subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1 | 19576,0649  | 1069,888  | 8,29   |
| Q4DA56 | Nitrate reductase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507019 20 4 1           | 52643,2426  | 613,9933  | 14,88  |
| Q4CUL1 | NLI interacting factor putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053430605 20 4 1      | 39979,057   | 712,1933  | 14,33  |
| Q4CWP4 | NLI interacting factor putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509353 40 4 1      | 39993,1143  | 699,4881  | 4,39   |
| Q4CU04 | Nucleolar protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503773 50 4    | 23723,5325  | 371,4744  | 14,29  |
| Q4CNK1 | Nucleolar protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506189 10 4    | 31885,7388  | 388,3192  | 13,43  |
| Q4CU30 | Nucleolar protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511573 58 4    | 43245,8609  | 2270,042  | 14,99  |
| Q4DHV9 | Nucleolar RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507649 80 4 | 41113,6929  | 1620,3658 | 8,84   |
| Q4E0X3 | Nucleolar RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508277 230  | 55420,4993  | 675,8331  | 16,53  |
| Q4D2Z8 | Nucleosome assembly protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053 | 50559,3499  | 638,0314  | 4,11   |

|        |   |            |           |            |
|--------|---|------------|-----------|------------|
| Q4CVR4 | Nucleosome assembly protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053   | 50998,9118 | 815,4813  | 4,065      |
| Q4DSA7 | Nucleosome assembly protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507031 29 3 1   | 41192,898  | 634,1529  | 11,49      |
| Q4D5X8 | Nucleosome assembly protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507963 79 3 1   | 41171,9492 | 474,45    | 8,2175     |
| Q4CSV7 | Orotidine 5 phosphate decarboxylase Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508     | 29083,4477 | 1075,8906 | 17,67      |
| Q4DBZ4 | Orotidine 5 phosphate decarboxylase orotate phosphoribosyltransferase putative Fragment<br>Trypanoso          | 39612,8278 | 615,3687  | 13,226666  |
| Q4DBC5 | Orotidine 5 phosphate decarboxylase orotate phosphoribosyltransferase putative <i>Trypanosoma<br/>cruzi s</i> | 50087,8345 | 459,7551  | 12,01      |
| Q4CQ52 | P type H ATPase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053505763 19 3 1      | 71604,8775 | 211,4156  | 14,55      |
| Q4CRY5 | P type H ATPase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509809 39 4 1      | 28259,1232 | 1609,2892 | 13,203332  |
| Q4DL30 | P type H ATPase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511261 4 4 1       | 27787,5255 | 1558,7997 | 15,298333  |
| Q4DG13 | P22 protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509053 70 4 1                      | 26130,6496 | 148,8968  | 12         |
| Q4E0T1 | P22 protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509965 290 4 1                     | 26104,5213 | 289,598   | 12,445     |
| Q4CUM0 | Paraflagellar rod component Par4 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510353 3   | 68455,61   | 472,78485 | 11,8949995 |
| Q4DWL5 | Paraflagellar rod component putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506755 20 4 1   | 68786,5532 | 1958,6287 | 13,09      |
| Q4E568 | Paraflagellar rod component putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510359 20 4 1   | 68938,7029 | 1663,6049 | 13,3862505 |
| Q4D634 | Paraflagellar rod protein 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509617<br>20 4 1   | 69119,3304 | 618,03064 | 11,94      |
| Q4CLP9 | Paraxonemal rod protein PAR2 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470534     | 31583,8107 | 776,4383  | 14,393333  |
| Q4DGP8 | PAS domain containing phosphoglycerate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 10   | 58444,712  | 264,2143  | 15,37      |
| Q4DX96 | PAS domain containing phosphoglycerate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 10   | 58458,7389 | 148,1772  | 11,2       |
| Q4DBK5 | Peptidase M20 M25 M40 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510257<br>80 4 1         | 51427,7923 | 605,9911  | 11,6       |

|        |  |            |           |           |
|--------|--|------------|-----------|-----------|
| Q4DNV8 | Phosphoglycerate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505999<br>90 3 1      | 44886,8157 | 806,7163  | 15,75     |
| Q4D193 | Phosphoglycerate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511419<br>40 3 1      | 44811,749  | 786,6711  | 9,79      |
| Q4D192 | Phosphoglycerate kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511419<br>50 3 1      | 64912,3601 | 795,9798  | 6,97      |
| Q4CNY1 | Plasma membrane proton efflux P type ATPase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1047  | 53984,4114 | 1391,1875 | 10,503334 |
| Q4E4V0 | Poly A binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508461 140<br>4 1      | 61695,7255 | 2389,5005 | 20,592499 |
| Q4E162 | Probable eukaryotic initiation factor 4A <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511585 190 | 45617,9355 | 767,6527  | 14,801999 |
| Q4DEQ3 | Prohibitin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506295 130 4 1                     | 33290,3243 | 1280,085  | 21,243334 |
| Q4DUF7 | Prohibitin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508837 120 4 1                     | 31009,237  | 660,30365 | 15,255    |
| Q4D8I7 | Prohibitin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511383 50 4 1                      | 31027,3825 | 390,079   | 9,375     |
| Q4DCI5 | Prohibitin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511469 70 4 1                      | 33122,0585 | 1136,2721 | 22,225    |
| Q4E0K2 | Proteasome regulatory ATPase subunit 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350  | 44981,4128 | 1867,098  | 31,76     |
| Q4DW08 | Proteasome regulatory ATPase subunit 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705350  | 44983,4525 | 1086,682  | 23,57     |
| Q4E4G8 | Proteasome subunit alpha type <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506885 350<br>3 1        | 27898,7058 | 1068,775  | 17,2      |
| Q4DWX8 | Proteasome subunit alpha type <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510729 70<br>3 1         | 27923,7156 | 640,7825  | 17,2      |
| Q4DFA6 | Protein disulfide isomerase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508209<br>140 3   | 42029,9902 | 907,31647 | 13,3      |
| Q4E3W7 | Protein phosphatase 1 regulatory subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705   | 46056,5742 | 343,0687  | 13,68     |
| Q4DCD6 | Protein phosphatase 1 regulatory subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705   | 46106,7454 | 311,5902  | 11,94     |
| Q4CTD5 | Protein tyrosine phosphatase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511635 40 4   | 26800,8241 | 875,5603  | 5,56      |
| Q4CP01 | Proton motive ATPase 1 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507627     | 25364,9218 | 1079,672  | 4,11      |
| Q4CKK5 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053404073    | 14351,1805 | 2477,766  | 56,56     |

|        |   |             |           |           |
|--------|---|-------------|-----------|-----------|
| Q4CKU2 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053443971 | 55311,8517  | 1366,4305 | 33,1      |
| Q4CKT9 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053452283 | 8843,2087   | 867,4217  | 16,67     |
| Q4CL46 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053453917 | 39132,2484  | 2024,7646 | 15,88     |
| Q4CLS1 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053458241 | 50366,086   | 629,335   | 7,73      |
| Q4CUE0 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053503413 | 109439,8915 | 696,595   | 9,31      |
| Q4CT56 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504019 | 205949,3379 | 30,064    | 1,43      |
| Q4CP22 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504227 | 50906,9844  | 508,2972  | 41,28     |
| Q4CXV9 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504703 | 285024,9499 | 1880,564  | 10,23     |
| Q4CPD3 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504817 | 32293,2878  | 614,5828  | 11,68     |
| Q4DNF1 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504827 | 167275,3955 | 2465,628  | 11,39     |
| Q4D5L9 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053505989 | 29141,8118  | 1275,1954 | 32,875    |
| Q4DG71 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506201 | 97450,0549  | 4862,044  | 25,3      |
| Q4D6C5 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506673 | 153612,0754 | 2048,945  | 11,67     |
| Q4CYX2 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506833 | 23262,0218  | 773,6835  | 6,47      |
| Q4CP88 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506927 | 28136,0374  | 455,1313  | 10,89     |
| Q4DX97 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506945 | 36548,7859  | 1261,4302 | 11,764999 |
| Q4DBX7 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506977 | 32724,3522  | 583,7435  | 19,74     |
| Q4CTM9 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508137 | 45841,8953  | 646,1611  | 15,92     |
| Q4CUJ0 | Putative uncharacterized protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                  | 16331,9768  | 5327,972  | 30,07     |



| 1047053508263 |   |  |             |           |            |
|---------------|---|--|-------------|-----------|------------|
| Q4CLQ7        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 65398,5252  | 463,5813  | 5,15       |
|               |   | 1047053509107                                  |             |           |            |
| Q4CMR1        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 128098,9908 | 702,5256  | 7,41       |
|               |   | 1047053509577                                  |             |           |            |
| Q4CL51        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 64517,0668  | 2448,481  | 7,08       |
|               |   | 1047053509635                                  |             |           |            |
| Q4DNH8        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 23146,0857  | 2535,6096 | 20,42      |
|               |   | 1047053509791                                  |             |           |            |
| Q4CT11        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 115460,008  | 609,7306  | 5,39       |
|               |   | 1047053509913                                  |             |           |            |
| Q4CY57        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 142775,8322 | 859,497   | 9,224999   |
|               |   | 1047053510317                                  |             |           |            |
| Q4DEA1        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 62628,589   | 433,8908  | 6,39       |
|               |   | 1047053510519                                  |             |           |            |
| Q4CW26        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 6522,4192   | 5243,832  | 37,29      |
|               |   | 1047053510613                                  |             |           |            |
| Q4CS68        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 144903,7025 | 134,5545  | 3,12       |
|               |   | 1047053511033                                  |             |           |            |
| Q4DC45        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 30834,0891  | 554,9056  | 18,28      |
|               |   | 1047053511291                                  |             |           |            |
| Q4CP72        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 28581,7594  | 1675,9192 | 15,5199995 |
|               |   | 1047053511363                                  |             |           |            |
| Q4D4S4        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 27152,7042  | 7104,574  | 23,89      |
|               |   | 1047053511537                                  |             |           |            |
| Q4CLF0        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 29742,6573  | 1330,5215 | 22,266668  |
|               |   | 1047053511539                                  |             |           |            |
| Q4CLP5        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 27887,9486  | 972,475   | 17,13125   |
|               |   | 1047053511687                                  |             |           |            |
| Q4CRW7        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 37419,464   | 319,3273  | 8,85       |
|               |   | 1047053511691                                  |             |           |            |
| Q4CS67        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 27165,8036  | 298,062   | 16,03      |
|               |   | 1047053511707                                  |             |           |            |
| Q4DQS9        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 144340,7211 | 120,91499 | 7,915      |
|               |   | 1047053511821                                  |             |           |            |
| Q4CY01        | Putative uncharacterized protein Fragment | <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 132453,3134 | 923,3411  | 20,813334  |
|               |   | 1047053511823                                  |             |           |            |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4CP97 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053424123 20<br>4 1  | 14347,4456  | 6344,414  | 12,7      |
| Q4CPU7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053427789 20<br>4 1  | 38027,9959  | 817,1841  | 5,685     |
| Q4CM59 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053449247 10<br>4 1  | 16690,0226  | 1186,7928 | 30,92     |
| Q4CKD9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053483623 10<br>4 1  | 40032,7558  | 867,4217  | 7,8       |
| Q4CR70 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503557 14<br>4 1  | 10428,579   | 4553,316  | 54,74     |
| Q4DDG7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503579 20<br>4 1  | 48151,9304  | 921,1389  | 14,03     |
| Q4CS80 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503791 30<br>4 1  | 26274,3909  | 2148,8645 | 14,731667 |
| Q4DL38 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503893<br>100 4 1 | 12479,2958  | 682,8914  | 28,44     |
| Q4CY35 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503971 50<br>4 1  | 43098,7374  | 2055,149  | 14,67     |
| Q4DD65 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503975<br>100 4 1 | 201798,4002 | 678,52    | 4,94      |
| Q4CW23 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504001 10<br>4 1  | 13464,4066  | 2647,095  | 27,87     |
| Q4CW22 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504001 20<br>4 1  | 13015,783   | 5291,305  | 23,93     |
| Q4CY42 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504005 54<br>4 1  | 12423,1792  | 11837,86  | 19,63     |
| Q4DR74 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504033 80<br>4 1  | 23521,2253  | 964,4348  | 7,5       |
| Q4DSE6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504057 90<br>4 1  | 28963,335   | 853,7861  | 6,75      |
| Q4DE55 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504089 60<br>4 1  | 13496,4726  | 1475,205  | 27,87     |
| Q4E2R3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504153<br>200 4 1 | 34083,7661  | 1176,926  | 7,74      |
| Q4E2Q5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504153<br>280 4 1 | 46068,0382  | 591,3426  | 15,245001 |
| Q4E2S5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504153 30         | 30766,971   | 950,3756  | 14,495    |

|        |  |            |           |           |
|--------|--|------------|-----------|-----------|
|        | 4 1  |            |           |           |
| Q4E2Q0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504153<br>330 4 1 | 54914,3721 | 2246,382  | 13,61     |
| Q4CX49 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504203 40<br>4 1  | 26240,3738 | 1857,0548 | 14,731667 |
| Q4D1M3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504215 30<br>4 1  | 103876,801 | 60,0242   | 6,8       |
| Q4CYL3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504423 30<br>4 1  | 94179,067  | 624,97406 | 6,395     |
| Q4DQI2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053505807 60<br>4 1  | 25297,3803 | 122,3167  | 5,24      |
| Q4CYC9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506123 70<br>4 1  | 16771,0532 | 1842,4166 | 34,075996 |
| Q4CN66 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506125 20<br>4 1  | 30769,9717 | 828,0765  | 13,753333 |
| Q4D734 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506163 50<br>4 1  | 43190,1842 | 507,08875 | 14,775    |
| Q4DXK7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506195<br>190 4 1 | 89261,9171 | 232,1393  | 8,94      |
| Q4CR34 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506219 40<br>4 1  | 34376,0479 | 524,946   | 8,71      |
| Q4D8M9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506221 70<br>4 1  | 37986,9684 | 1074,0026 | 11,563333 |
| Q4E134 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506247<br>210 4 1 | 28683,7137 | 1052,256  | 17,646666 |
| Q4DVZ8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506289 40<br>4 1  | 38200,8342 | 635,995   | 7,015     |
| Q4DEQ6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506295<br>100 4 1 | 24481,0883 | 8087,917  | 33,66     |
| Q4DEQ1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506295<br>150 4 1 | 44682,9833 | 174,0957  | 5,81      |
| Q4E0P7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506297<br>220 4 1 | 27654,8706 | 556,6907  | 18,655    |
| Q4E0R0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506297 80<br>4 1  | 96573,887  | 863,2756  | 14,06     |
| Q4CVC6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506317 10<br>4 1  | 72440,8184 | 1377,85   | 25,2      |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4DYE0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506321<br>280 4 1 | 43252,5061  | 147,07126 | 7,435     |
| Q4D4H6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506399 30<br>4 1  | 69772,3991  | 138,5883  | 6,24      |
| Q4D4H2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506399 80<br>4 1  | 44561,033   | 2082,562  | 18,72     |
| Q4DCV5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506407 80<br>4 1  | 89256,0242  | 302,9032  | 8,94      |
| Q4CSI2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506441 20<br>4 1  | 124199,4816 | 1155,277  | 7,95      |
| Q4DRE2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506503 50<br>4 1  | 35323,3747  | 568,0783  | 4,58      |
| Q4DPJ3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506513 40<br>4 1  | 28060,6103  | 314,4253  | 29,27     |
| Q4E573 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506559<br>550 4 1 | 109262,5386 | 36,4753   | 4,07      |
| Q4D7U7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506591 30<br>4 1  | 31183,5303  | 1084,1372 | 11,11     |
| Q4DUX7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506605 40<br>4 1  | 92159,2952  | 955,6891  | 11,54     |
| Q4DAN2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506727 50<br>4 1  | 16525,0913  | 1617,6693 | 18,835    |
| Q4DLY4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506753 70<br>4 1  | 18547,8537  | 529,3399  | 15,153333 |
| Q4DZV6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506789<br>334 4 1 | 16916,4563  | 5327,972  | 29,05     |
| Q4DZV5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506789<br>340 4 1 | 16881,5817  | 5327,972  | 29,05     |
| Q4DCX1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506791 50<br>4 1  | 63881,0195  | 680,0914  | 21,76     |
| Q4DA87 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506795 20<br>4 1  | 92678,0251  | 923,6777  | 12,92     |
| Q4E1S4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506855<br>200 4 1 | 22132,6583  | 649,4362  | 36,15     |
| Q4DVF9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506859<br>170 4 1 | 60577,315   | 744,36127 | 19,213333 |
| Q4DVF8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506859            | 42927,6585  | 894,9798  | 18,776667 |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
|        | 180 4 1  |             |           |           |
| Q4CSQ1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506883 69<br>4 1  | 9709,9462   | 8590,088  | 54,760002 |
| Q4D345 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506887 20<br>4 1  | 35465,6439  | 1052,017  | 3,13      |
| Q4E4N6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506925<br>110 4 1 | 31608,8145  | 3394,881  | 21,9      |
| Q4DX68 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506945<br>320 4 1 | 52072,988   | 1735,3217 | 12,365001 |
| Q4DA30 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506947 10<br>4 1  | 67711,0008  | 463,5813  | 4,96      |
| Q4DW86 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506989<br>220 4 1 | 31120,3879  | 1122,8938 | 11,11     |
| Q4DW83 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506989<br>309 4 1 | 59966,4431  | 479,9809  | 14,02     |
| Q4DF25 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507001 34<br>4 1  | 10401,5533  | 3977,05   | 54,74     |
| Q4DS99 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507031<br>100 4 1 | 58347,3648  | 1401,47   | 14,9      |
| Q4DTJ0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507053<br>150 4 1 | 280046,064  | 21,4476   | 1,77      |
| Q4DGV5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507091 10<br>4 1  | 25345,9296  | 947,7209  | 15,67     |
| Q4E1M8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507093<br>300 4 1 | 30456,4532  | 1991,7312 | 21,980001 |
| Q4CST9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507165 30<br>4 1  | 12075,3666  | 467,94363 | 23,303335 |
| Q4D157 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507209 30<br>4 1  | 129712,8012 | 598,8278  | 5,33      |
| Q4D3V3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507221 70<br>4 1  | 93933,0601  | 676,9601  | 7,75      |
| Q4DJG8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507257 90<br>4 1  | 16890,4228  | 513,7613  | 28,19     |
| Q4D3H6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507511 40<br>4 1  | 71868,7555  | 709,0727  | 5,74      |
| Q4CTC8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507569 10<br>4 1  | 93549,5196  | 697,3118  | 7,0283337 |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4DF52 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507623<br>120 4 1 | 27922,9319  | 426,3493  | 32,41     |
| Q4DPE4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507625<br>120 4 1 | 17171,7317  | 2659,91   | 22,3      |
| Q4DPE1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507625<br>150 4 1 | 25077,8885  | 3048,7434 | 12,8275   |
| Q4DHW5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507649 10<br>4 1  | 38003,1918  | 261,4332  | 13,13     |
| Q4DZS6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507711 20<br>4 1  | 14329,4303  | 3918,653  | 12,7      |
| Q4CUW6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507777 20<br>4 1  | 11884,4732  | 262,8442  | 24,75     |
| Q4DHS5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507787 40<br>4 1  | 24950,7456  | 2477,2456 | 14,306667 |
| Q4DHS3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507787 80<br>4 1  | 17229,7653  | 1487,5726 | 17,785    |
| Q4CS95 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507793 40<br>4 1  | 12047,3128  | 565,79785 | 23,303335 |
| Q4DPL8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507801 60<br>4 1  | 55256,1323  | 390,9442  | 7,6       |
| Q4CY32 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507807 20<br>4 1  | 21143,8308  | 312,5521  | 14,05     |
| Q4DSS6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507809 60<br>4 1  | 25785,225   | 366,7864  | 7,05      |
| Q4D586 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507927 60<br>4 1  | 21488,9861  | 255,4366  | 6,06      |
| Q4D5Y6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507963 10<br>4 1  | 58530,6369  | 555,2388  | 5,69      |
| Q4DJE4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507991<br>130 4 1 | 30128,3602  | 5450,164  | 21,97     |
| Q4DIN6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508045<br>100 4 1 | 69045,1059  | 700,8322  | 3,69      |
| Q4CXY8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508059 50<br>4 1  | 27049,5712  | 5659,1567 | 24,5      |
| Q4D840 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508081 80<br>4 1  | 24517,8937  | 1192,747  | 23,98     |
| Q4E5Z1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508153            | 248202,1039 | 316,25735 | 3,29      |

| 1050 4 1 |  |             |           |           |  |  |
|----------|--|-------------|-----------|-----------|--|--|
| Q4E644   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508153<br>460 4 1 | 177480,3103 | 16,4547   | 2,33      |  |  |
| Q4DF40   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508177 90<br>4 1  | 43480,5791  | 428,31702 | 13,57     |  |  |
| Q4DW53   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508231<br>210 4 1 | 42585,4026  | 119,528   | 2,93      |  |  |
| Q4D770   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508265<br>100 4 1 | 134047,7697 | 797,29114 | 8,1050005 |  |  |
| Q4D6B1   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508269 40<br>4 1  | 43090,6952  | 735,0631  | 8,83      |  |  |
| Q4E0W6   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508277<br>320 4 1 | 34221,223   | 1525,265  | 14,86     |  |  |
| Q4D0V0   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508319 30<br>4 1  | 47365,7273  | 682,0559  | 7,09      |  |  |
| Q4CYH6   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508321 40<br>4 1  | 126465,6628 | 1799,797  | 19,01     |  |  |
| Q4CYH5   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508321 50<br>4 1  | 49979,4139  | 555,9232  | 12,31     |  |  |
| Q4DFM2   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508323 20<br>4 1  | 67738,4531  | 525,0096  | 7,39      |  |  |
| Q4D3V9   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508375 80<br>4 1  | 25363,9687  | 912,3113  | 15,67     |  |  |
| Q4DQ85   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508387<br>140 4 1 | 67237,1583  | 1371,48   | 18,03     |  |  |
| Q4D4G8   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508443 30<br>4 1  | 85656,9178  | 640,6274  | 5,04      |  |  |
| Q4D4I8   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508445 90<br>4 1  | 70290,5004  | 681,0176  | 18,75     |  |  |
| Q4E4S4   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508461<br>350 4 1 | 51162,7179  | 852,9977  | 16,314999 |  |  |
| Q4E4Q4   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508461<br>550 4 1 | 50900,724   | 3192,086  | 24,654999 |  |  |
| Q4E2J4   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508479<br>270 4 1 | 34442,469   | 2726,615  | 11,51     |  |  |
| Q4CZP6   | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508507 40<br>4 1  | 12495,2952  | 2217,623  | 21,1      |  |  |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4DRF1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508547<br>160 4 1 | 90844,3313  | 965,7406  | 8,9       |
| Q4DLI5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508637<br>120 4 1 | 33389,5792  | 1063,599  | 6,4       |
| Q4DV52 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508647<br>110 4 1 | 14003,0575  | 6717,463  | 36,36     |
| Q4DTV8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508693 50<br>4 1  | 43592,5421  | 986,82324 | 15,255    |
| Q4E246 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508707<br>310 4 1 | 102882,6172 | 2834,0527 | 13,165    |
| Q4D3F7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508719 70<br>4 1  | 44335,0824  | 2246,602  | 18,70125  |
| Q4DTG3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508737<br>210 4 1 | 30211,6644  | 1488,628  | 18,961428 |
| Q4E355 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508741<br>170 4 1 | 56912,7592  | 249,80725 | 7,43      |
| Q4E349 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508741<br>229 4 1 | 30149,5959  | 1880,859  | 15,579999 |
| Q4DS70 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508777 30<br>4 1  | 90853,1002  | 1230,481  | 16,29     |
| Q4CNH5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508785 10<br>4 1  | 39751,0471  | 1019,229  | 7,89      |
| Q4DMJ9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508815 50<br>4 1  | 48326,5061  | 2649,274  | 33,64     |
| Q4CXI6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508821 40<br>4 1  | 43269,3756  | 485,34656 | 19,065    |
| Q4D6I3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508823 70<br>4 1  | 28086,2233  | 1700,0957 | 17,15     |
| Q4D5L4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508839 20<br>4 1  | 48546,6     | 3599,422  | 27,29     |
| Q4DJD0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508851 50<br>4 1  | 69317,3104  | 1367,1976 | 14,830001 |
| Q4DMI1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508881 50<br>4 1  | 38101,6179  | 686,902   | 5,37      |
| Q4DMP7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508899 54<br>4 1  | 33913,933   | 1320,4994 | 16,254    |
| Q4CM92 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508955 20         | 26886,4476  | 3568,4941 | 22,65     |



|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
|        | 4 1  |             |           |           |
| Q4D0N9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508961 40<br>4 1  | 57448,9098  | 2077,154  | 21,78     |
| Q4DDX0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509011 60<br>4 1  | 66036,7006  | 1076,551  | 12,7      |
| Q4DRP5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509023 10<br>4 1  | 66657,8966  | 651,7506  | 12,03     |
| Q4DRN7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509023 90<br>4 1  | 33334,9474  | 585,7888  | 8,36      |
| Q4D9F7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509033 80<br>4 1  | 25327,4065  | 213,9455  | 5,24      |
| Q4D6D8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509047 40<br>4 1  | 21493,0082  | 275,1273  | 6,06      |
| Q4DG17 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509053 30<br>4 1  | 64371,6699  | 283,5231  | 10,14     |
| Q4CV58 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509103 10<br>4 1  | 54999,9172  | 344,7369  | 7,63      |
| Q4DQN2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509109 30<br>4 1  | 95398,0769  | 354,10645 | 7,87      |
| Q4CLT3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509129 10<br>4 1  | 30141,5299  | 1415,843  | 20,31375  |
| Q4CNI8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509139 10<br>4 1  | 57155,0835  | 191,09264 | 5,8433337 |
| Q4CSK6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509141 40<br>4 1  | 30153,544   | 1526,0164 | 19,30125  |
| Q4DTD1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509157<br>220 4 1 | 10559,5001  | 369,7877  | 50,98     |
| Q4DQR1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509167 60<br>4 1  | 52705,9333  | 950,309   | 11,01     |
| Q4CXT8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509177 59<br>4 1  | 8742,0229   | 4043,2808 | 17,81     |
| Q4DH64 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509207 40<br>4 1  | 125381,3701 | 1122,882  | 11,71     |
| Q4DH63 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509207 50<br>4 1  | 45901,3527  | 371,5048  | 7,36      |
| Q4DGY4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509213 40<br>4 1  | 84004,0072  | 531,3386  | 6,02      |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4D0S1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509231 39<br>4 1  | 14916,3523  | 2654,968  | 21,74     |
| Q4CVU6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509243 30<br>4 1  | 69793,3716  | 149,2739  | 8,21      |
| Q4D6H3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509247 30<br>4 1  | 265013,2825 | 1138,895  | 10,82     |
| Q4D487 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509317 80<br>4 1  | 16369,7546  | 1142,746  | 19,58     |
| Q4CMT5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509497 20<br>4 1  | 48873,2761  | 182,53885 | 9,93      |
| Q4DP70 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509599 60<br>4 1  | 64914,5747  | 836,311   | 16,19     |
| Q4DK70 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509601<br>150 4 1 | 59136,7186  | 1172,268  | 8,59      |
| Q4DK97 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509611 89<br>4 1  | 9413,7332   | 361,426   | 48,84     |
| Q4DSZ8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509631<br>140 4 1 | 182838,6207 | 28031     | 30,69     |
| Q4CM66 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509651 10<br>4 1  | 48472,8376  | 721,51874 | 15,223332 |
| Q4DTR0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509695 90<br>4 1  | 198712,2135 | 126,1641  | 4,41      |
| Q4CUG0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509713 10<br>4 1  | 59757,8468  | 918,7421  | 10,13     |
| Q4DWC8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509733 60<br>4 1  | 64927,5246  | 1141,042  | 14,19     |
| Q4DSB9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509767<br>150 4 1 | 59171,7179  | 1290,324  | 13,5      |
| Q4DSB7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509767<br>170 4 1 | 34249,0174  | 906,653   | 11,94     |
| Q4DKU9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509769 60<br>4 1  | 32516,9565  | 2057,075  | 17,375    |
| Q4DZZ3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509805<br>140 4 1 | 148651,9948 | 127,3195  | 6,55      |
| Q4CVB2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509837 10<br>4 1  | 47046,5479  | 569,9606  | 12,807501 |
| Q4D4Y3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509859 10         | 40656,9357  | 558,1456  | 23,08     |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
|        | 4 1  |             |           |           |
| Q4DSP8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509937<br>160 4 1 | 60159,2859  | 606,76245 | 8,89      |
| Q4DSQ9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509937 50<br>4 1  | 92731,159   | 687,2963  | 11,59     |
| Q4DSQ5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509937 90<br>4 1  | 38801,0789  | 190,75581 | 9,92      |
| Q4E0S8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509965<br>330 4 1 | 64291,5375  | 213,2776  | 5,42      |
| Q4CMS2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509995 20<br>4 1  | 41117,94    | 158,1699  | 12,53     |
| Q4DAZ9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510087 90<br>4 1  | 30965,7496  | 1868,2203 | 23,79     |
| Q4DQZ8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510089<br>110 4 1 | 73158,434   | 1492,224  | 1,82      |
| Q4DQZ3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510089<br>190 4 1 | 114361,3624 | 627,6407  | 9,76      |
| Q4E3N6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101<br>250 4 1 | 96680,9975  | 1005,838  | 16,92     |
| Q4E3M8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101<br>330 4 1 | 48793,7025  | 1000,354  | 19,44     |
| Q4E3P8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510101 90<br>4 1  | 27643,8535  | 863,3764  | 17,535    |
| Q4CXH8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510119 50<br>4 1  | 116169,3604 | 22,8686   | 2,97      |
| Q4D5I3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510131 30<br>4 1  | 28679,9673  | 1483,294  | 15,38     |
| Q4DA68 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510339 80<br>4 1  | 23509,1709  | 1739,574  | 7,5       |
| Q4DXG1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510355<br>230 4 1 | 18696,059   | 900,70483 | 25,154999 |
| Q4DVT6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510361 20<br>4 1  | 15723,6779  | 831,5853  | 30,87     |
| Q4D1P4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510397 10<br>4 1  | 22488,5591  | 1435,557  | 20,83     |
| Q4D7D9 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510407 80<br>4 1  | 60122,2705  | 974,6126  | 13,713333 |

|        |  |            |           |           |
|--------|--|------------|-----------|-----------|
| Q4D1T5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510409 50<br>4 1  | 38823,149  | 647,91907 | 11,756667 |
| Q4DXR8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510421<br>130 4 1 | 73224,5337 | 815,8735  | 1,82      |
| Q4DXZ0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510431 20<br>4 1  | 39974,7192 | 1087,398  | 7,8       |
| Q4DEX7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510515 30<br>4 1  | 40669,9534 | 353,9738  | 17,86     |
| Q4DLZ0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510603<br>160 4 1 | 95301,989  | 308,5285  | 7,025     |
| Q4CNQ7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510605 10<br>4 1  | 67722,0461 | 463,5813  | 4,96      |
| Q4CNB5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510615 4<br>4 1   | 16911,3727 | 5578,397  | 44,59     |
| Q4CYC6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510679 40<br>4 1  | 52677,7005 | 1655,2607 | 14,038751 |
| Q4CNI4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510683 20<br>4 1  | 65971,5852 | 860,0258  | 18,09     |
| Q4DXV0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510719 74<br>4 1  | 21681,7322 | 588,8575  | 11,11     |
| Q4D3L3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510725 40<br>4 1  | 10545,4732 | 429,6871  | 50,98     |
| Q4D7Q2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510731 20<br>4 1  | 35248,4329 | 719,6546  | 3,13      |
| Q4CYI1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510797 30<br>4 1  | 87616,4257 | 541,1224  | 6,46      |
| Q4DPH8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510861 30<br>4 1  | 38002,2071 | 232,5684  | 13,13     |
| Q4DPV8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510877 20<br>4 1  | 67800,1579 | 1232,109  | 16,67     |
| Q4DPV7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510877 30<br>4 1  | 25108,6736 | 5632,0923 | 24,636667 |
| Q4DPV6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510877 40<br>4 1  | 24453,8792 | 4037,0518 | 21,46     |
| Q4DJW4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510879<br>190 4 1 | 47469,1377 | 2171,71   | 27,08     |
| Q4CU92 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510947 30         | 48909,3739 | 204,1746  | 9,93      |

|        |   |            |             |           |           |
|--------|---|------------|-------------|-----------|-----------|
|        |   | 4 1        |             |           |           |
| Q4DAB3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511021 | 80<br>4 1  | 91841,2333  | 170,6555  | 7,21      |
| Q4CQP1 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511065 | 10<br>4 1  | 30217,044   | 803,6496  | 14,286667 |
| Q4E410 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511127 | 90<br>4 1  | 33394,1931  | 714,4249  | 8,36      |
| Q4CR32 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511143 | 12<br>4 1  | 66193,8338  | 379,6426  | 3,86      |
| Q4DJ42 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511239 | 30<br>4 1  | 92100,0379  | 762,7832  | 9,13      |
| Q4DUJ8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511245 | 230<br>4 1 | 56475,5888  | 611,9416  | 4,25      |
| Q4DHA3 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511285 | 30<br>4 1  | 48277,5974  | 1524,7246 | 21,86     |
| Q4DHA2 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511285 | 40<br>4 1  | 43299,7301  | 1172,221  | 20,9      |
| Q4D011 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511355 | 20<br>4 1  | 55986,3577  | 706,2653  | 11,66     |
| Q4DY17 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511367 | 50<br>4 1  | 103356,6215 | 541,3871  | 10,95     |
| Q4DAP5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511439 | 40<br>4 1  | 52540,4532  | 3075,9487 | 19,215715 |
| Q4DCI8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511469 | 40<br>4 1  | 24507,1231  | 6812,868  | 33,66     |
| Q4CQG8 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511479 | 39<br>4 1  | 12423,1792  | 6568,527  | 19,63     |
| Q4D4V5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511523 | 14<br>4 1  | 12233,1177  | 1440,208  | 27,36     |
| Q4D4V4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511523 | 20<br>4 1  | 13232,9189  | 1131,0864 | 25        |
| Q4DMX4 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511529 | 210<br>4 1 | 16554,046   | 4003,973  | 38,36     |
| Q4DT62 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511621 | 40<br>4 1  | 16313,6844  | 1038,796  | 19,58     |
| Q4CN47 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511639 | 20<br>4 1  | 67758,1004  | 639,0868  | 6,45      |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4CLP6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511687 10<br>4 1     | 30162,5544 | 1694,0165 | 18,703749 |
| Q4DG53 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511693 70<br>4 1     | 69070,772  | 522,1572  | 10,63     |
| Q4CVX7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511729 60<br>4 1     | 41145,361  | 165,8978  | 5,31      |
| Q4D6Q5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511733<br>100 4 1    | 12261,1311 | 1617,276  | 27,36     |
| Q4D6Q6 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511733 90<br>4 1     | 13169,9092 | 393,3861  | 35,34     |
| Q4D015 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511803 40<br>4 1     | 70398,6498 | 847,0424  | 11,33     |
| Q4E1B7 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511807<br>280 4 1    | 61485,5803 | 672,7919  | 16,01     |
| Q4DJ92 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511815<br>170 4 1    | 60685,4262 | 815,0352  | 12,405001 |
| Q4DJ91 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511815<br>180 4 1    | 42935,7428 | 537,61957 | 12,936667 |
| Q4DU76 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511903<br>190 4 1    | 30228,154  | 945,4063  | 17,29     |
| Q4D4X0 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511909 50<br>4 1     | 44196,6309 | 2267,719  | 11,94     |
| Q4D0H5 | Putative uncharacterized protein <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511925 20<br>4 1     | 25353,9302 | 912,3113  | 15,67     |
| Q4D9J8 | Pyrroline 5 carboxylate reductase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506857<br>20 3 1    | 29015,8176 | 831,1948  | 5,58      |
| Q4D112 | Pyrroline 5 carboxylate synthetase like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Br  | 49034,7758 | 332,8458  | 10,62     |
| Q4CM65 | Pyrroline 5 carboxylate synthetase like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL<br>Br  | 43138,0849 | 307,8811  | 12,06     |
| Q4DB91 | Pyruvate dehydrogenase E1 beta subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351 | 38323,9624 | 528,6267  | 10,778    |
| Q4DXQ0 | Pyruvate dehydrogenase E1 beta subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>104705351 | 38305,8574 | 327,2138  | 10,834    |
| Q4DL16 | Pyruvate dehydrogenase E1 component alpha subunit putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i><br>strain CL   | 22251,1706 | 616,0899  | 15,525    |
| Q4DI66 | Pyruvate dehydrogenase E1 component alpha subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL               | 43283,4063 | 711,7486  | 10,474    |

| Brener Tc0 |   |             |           |           |
|------------|---|-------------|-----------|-----------|
| Q4E0Q0     | Pyruvate phosphate dikinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506297 190 4  | 101687,7421 | 1581,4583 | 18,101818 |
| Q4E3P5     | Pyruvate phosphate dikinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053510101 140 4  | 101705,8216 | 2730,348  | 21,6      |
| Q4CRN7     | R27 2 protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510247 10 4 1                  | 181845,2997 | 1084,7262 | 10,49     |
| Q4D6J1     | Radial spoke protein 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506721 20<br>4 1      | 39619,1412  | 1037,6848 | 19,86     |
| Q4DIZ0     | Radial spoke protein 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511445 20<br>4 1      | 39674,1101  | 138,217   | 5,69      |
| Q4CPV1     | Receptor type adenylate cyclase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470   | 59048,9453  | 272,8051  | 8,3       |
| Q4DJX8     | Regulatory subunit of protein kinase a like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>T | 63029,3421  | 870,09204 | 9,41      |
| Q4DP34     | Reiske iron sulfur protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506999<br>90 4 1  | 34083,0013  | 393,6783  | 4,71      |
| Q4DS82     | Reiske iron sulfur protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510759<br>120 4 1 | 34129,027   | 274,6187  | 4,71      |
| Q4CNM6     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 12234,6687  | 1535,979  | 16,67     |
| Q4E0M5     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 100906,3755 | 1029,153  | 13,09     |
| Q4CRM5     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 70189,211   | 935,9309  | 17,69     |
| Q4DI33     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 58809,4882  | 701,2953  | 8,53      |
| Q4CNJ6     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 32478,046   | 683,9402  | 11,23     |
| Q4CT72     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 105984,3351 | 648,3818  | 2,63      |
| Q4CLI9     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 39959,099   | 525,6163  | 4,35      |
| Q4DZC9     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 79466,4732  | 454,0272  | 9,63      |
| Q4CN79     | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc0     | 86151,5094  | 407,9974  | 6,21      |

|        |  |             |          |           |
|--------|--|-------------|----------|-----------|
| Q4CTC0 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 76925,4363  | 362,877  | 3,7       |
| Q4CMA6 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 103826,2927 | 358,0543 | 5,57      |
| Q4CQP8 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 40170,7105  | 343,9803 | 9,69      |
| Q4CK88 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 29771,6418  | 335,2841 | 6,18      |
| Q4DCW7 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 52676,0095  | 295,2992 | 9,8       |
| Q4CMJ5 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 91086,1518  | 281,593  | 4,88      |
| Q4CKQ5 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 32697,2718  | 275,7769 | 9,09      |
| Q4CQ61 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 76352,0322  | 146,431  | 4,86      |
| Q4CYS6 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 58591,5887  | 142,7876 | 6,6       |
| Q4CZV4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 51595,8881  | 585,0811 | 6,07      |
| Q4D2F5 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 47971,1185  | 577,2166 | 6,62      |
| Q4CLU4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 44381,6812  | 699,4194 | 10,496667 |
| Q4CKU7 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 40891,9026  | 1407,06  | 3,43      |
| Q4CX54 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc0   | 43288,0811  | 141,2764 | 5,08      |
| Q4CS11 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705341 | 107055,9323 | 401,8502 | 4,37      |
| Q4CQ60 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705345 | 109553,0092 | 620,311  | 3,41      |
| Q4CU66 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705346 | 113034,1024 | 573,1439 | 6,38      |
| Q4CXQ1 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 139925,8819 | 4280,279 | 12,07     |
| Q4D5T6 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00           | 104976,2419 | 2340,78  | 10,78     |



|        |  | 104705350 |             |          |       |
|--------|--|-----------|-------------|----------|-------|
| Q4CX26 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 103990,9825 | 2059,107 | 16,21 |
| Q4DWB1 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 89156,4057  | 1614,513 | 5,58  |
| Q4DWB2 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 105758,0379 | 1544,255 | 11,26 |
| Q4DKM0 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 112008,2271 | 1332,327 | 13,35 |
| Q4DM59 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 109592,1448 | 921,9191 | 12,93 |
| Q4D8R0 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 113875,0454 | 725,1785 | 11,03 |
| Q4CYY4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 113549,7794 | 721,5997 | 9,32  |
| Q4E0I0 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 112744,4347 | 720,1837 | 7,96  |
| Q4DEK7 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 106363,5182 | 654,1558 | 6,88  |
| Q4D0U5 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 107144,3936 | 653,9052 | 2,69  |
| Q4CQB8 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 114417,4824 | 673,9889 | 9,33  |
| Q4D3Z2 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 94753,518   | 643,5073 | 1,58  |
| Q4DKR6 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 113264,8658 | 632,7613 | 10,11 |
| Q4CSQ9 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 67439,0466  | 414,7188 | 4,75  |
| Q4D8B1 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 109783,5245 | 397,1342 | 4,57  |
| Q4DBH8 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 109863,792  | 389,8725 | 5,57  |
| Q4DSI2 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 108296,3064 | 376,3308 | 4,97  |
| Q4DM58 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350 | 53139,7513  | 376,3411 | 7,07  |

|        |  |             |           |           |
|--------|--|-------------|-----------|-----------|
| Q4CRR5 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 174090,8392 | 326,266   | 3,93      |
| Q4CYR3 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 75707,3782  | 346,3402  | 3,48      |
| Q4DD64 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 90822,5662  | 220,2271  | 4,29      |
| Q4DKD3 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 90499,2249  | 211,9785  | 4,16      |
| Q4DYV8 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 68588,9398  | 227,7782  | 3,34      |
| Q4E3H4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 109163,5698 | 162,9519  | 10,04     |
| Q4DGG7 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 67270,1352  | 150,4236  | 2,38      |
| Q4DFJ2 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 104709,8445 | 140,0567  | 3,09      |
| Q4DGT4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 67511,0681  | 139,4713  | 1,18      |
| Q4DYW3 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 105987,4321 | 132,3702  | 3,47      |
| Q4E2H9 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 110985,5509 | 131,6233  | 0,73      |
| Q4DII2 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 106435,5877 | 122,7491  | 3,59      |
| Q4D0T5 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 88280,1311  | 122,0788  | 3,26      |
| Q4D147 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 115229,9839 | 109,9529  | 6,83      |
| Q4DR27 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 125893,9881 | 86,7443   | 4,74      |
| Q4DQ04 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 125274,985  | 955,5402  | 11,57     |
| Q4DPF1 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 160447,7079 | 935,1332  | 6,73      |
| Q4DKR7 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 104705350 | 114493,6402 | 560,5439  | 4,8       |
| Q4DYW4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00           | 108656,4827 | 761,71173 | 7,9100003 |

|        |  | 104705350             |             |           |           |
|--------|--|-----------------------|-------------|-----------|-----------|
| Q4CUP4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705350             | 70396,5451  | 1760,789  | 13,25     |
| Q4D1Y4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 109507,3581 | 745,4549  | 10,46     |
| Q4D923 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 122423,7345 | 693,0082  | 7,22      |
| Q4D9N3 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 94256,2029  | 279,9526  | 2,55      |
| Q4DC14 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 104863,5082 | 254,4302  | 7,17      |
| Q4CXF4 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 114922,7017 | 211,3836  | 3,29      |
| Q4DZ47 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 106167,3476 | 176,3308  | 4,03      |
| Q4DQ78 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 105982,5728 | 131,2741  | 3,58      |
| Q4CVW3 | Retrotransposon hot spot RHS protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 | 104705351             | 107228,1356 | 757,5557  | 9,84      |
| Q4CZG5 | Ribonucleoprotein p18 mitochondrial putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00  | 10470535108           | 27645,4243  | 999,602   | 14,689999 |
| Q4DBP9 | Ribose 5 phosphate isomerase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00         | 1047053508601 119 4   | 17555,9846  | 1556,539  | 25,16     |
| Q4CQE2 | Ribose 5 phosphate isomerase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                  | 1047053509199 24 1 1  | 17590,0696  | 1777,652  | 25,16     |
| Q4D6P8 | Ribosomal protein L13 putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00       | 1047053504013 1       | 25431,5324  | 607,8203  | 10,41     |
| Q4DED2 | Ribosomal protein L21E 60S putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00           | 1047053506405 149 4   | 18240,3215  | 1571,564  | 15,72     |
| Q4CQJ7 | Ribosomal protein L21E 60S putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00           | 1047053507251 20 4    | 18254,3484  | 2267,935  | 15,72     |
| Q4DJX1 | Ribosomal protein L3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                 | 1047053510879 110 3 1 | 48824,8902  | 606,7322  | 10,05     |
| Q4DTX6 | Ribosomal protein S25 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                | 1047053504105 94 4 1  | 12464,9536  | 1359,195  | 14,55     |
| Q4CQQ9 | Ribosomal protein S6 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00                 | 1047053508277 120 4 1 | 13556,8079  | 2377,6868 | 20,633999 |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4CXT3 | RNA binding protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508349 39    | 18828,2279 | 961,4265  | 25,45     |
| Q4DE30 | RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506649 80 4 1            | 36369,1718 | 557,8349  | 12,15     |
| Q4D488 | RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509317 60 4 1            | 50091,7657 | 423,55786 | 8,83      |
| Q4DT61 | RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511621 50 4 1            | 49206,8155 | 396,9543  | 11,14     |
| Q4DY32 | RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511727 270 4<br>1        | 27619,2026 | 2145,33   | 19,84     |
| Q4DY30 | RNA binding protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511727 290 4<br>1        | 26868,3062 | 2170,382  | 20,48     |
| Q4CRH7 | RNA helicase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511139 40<br>4 1       | 15365,4529 | 305,8559  | 7,63      |
| Q4D0U9 | RNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508319 40 4 1                   | 49805,0919 | 631,2003  | 6,42      |
| Q4DPV3 | RuvB like DNA helicase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510877 60<br>4 1      | 52929,4948 | 1717,324  | 5,91      |
| Q4CXX4 | S phase kinase associated protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506297  | 21456,343  | 2168,84   | 27,47     |
| Q4DDT6 | Serine threonine protein kinase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509607 70 | 34132,2403 | 262,0525  | 3,7       |
| Q4CM60 | Serine threonine protein phosphatase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00    | 20458,3832 | 2210,9866 | 8,43      |
| Q4DG83 | Serine threonine protein phosphatase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506201 70 3 1 | 34688,5351 | 1072,476  | 35,69     |
| Q4CV19 | Serine threonine protein phosphatase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506201 80 3 1 | 34413,3316 | 741,25586 | 20,574999 |
| Q4DDM9 | Serine threonine protein phosphatase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053507601 10 3 1 | 72062,1935 | 2182,6409 | 9,34      |
| Q4CV20 | Serine threonine protein phosphatase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053509633 50 3 1 | 34488,4886 | 1137,169  | 25,51     |
| Q4DZT0 | Short chain 3 hydroxyacyl coa dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1047 | 35792,4343 | 884,4312  | 5,94      |
| Q4D3C6 | Short chain dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508297 50 3 1   | 27755,5079 | 327,7909  | 6         |
| Q4D5D5 | Short chain dehydrogenase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508805 80 4 1   | 33642,3534 | 408,4179  | 12,08     |
| Q4CM63 | Sterol 24 c methyltransferase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053   | 35900,0277 | 303,4575  | 15,81     |

|        |   |             |           |       |
|--------|---|-------------|-----------|-------|
| Q4CMB6 | Sterol 24 c methyltransferase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053   | 18399,5458  | 303,4575  | 19,88 |
| Q4CMB7 | Sterol 24 c methyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053504191 10 4 | 40904,8678  | 303,4575  | 13,65 |
| Q4CLW8 | Sterol 24 c methyltransferase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053505683 10 4 | 41023,9785  | 404,8325  | 13,65 |
| Q4D4X1 | Succinate dehydrogenase flavoprotein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>10470535119 | 67816,4832  | 797,2673  | 12,64 |
| Q4E216 | Succinyl CoA synthetase alpha subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053508 | 32196,2053  | 258,9121  | 8,58  |
| Q4CSY6 | Thiolase protein like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053   | 23686,1097  | 418,0817  | 22,02 |
| Q4DIT6 | Thiolase protein like protein putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511389 150  | 48328,6736  | 1108,3857 | 22,93 |
| Q4CNS3 | Thioredoxin putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510227 29 4<br>1        | 43419,7543  | 182,3146  | 12,21 |
| Q4E5B1 | Thioredoxin putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506559 200 4 1                   | 48922,1407  | 160,9747  | 10,88 |
| Q4D0P0 | Trafficking protein particle complex subunit 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1 | 21307,3403  | 670,758   | 21,24 |
| Q4D5L3 | Trafficking protein particle complex subunit 3 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 1 | 21351,3935  | 651,6877  | 21,24 |
| Q4CKP5 | Trans sialidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053480561<br>10 4 1    | 14716,3969  | 1255,759  | 17,39 |
| Q4DCQ1 | Trans sialidase putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508047<br>11 4 1    | 19677,437   | 220,247   | 13,71 |
| Q4DRK4 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506279 60 4 1                | 99361,2337  | 171,5707  | 2,47  |
| Q4DKM3 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506471 120 4 1               | 102264,8834 | 558,213   | 8,42  |
| Q4DD87 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506703 90 4 1                | 101855,508  | 185,4391  | 3,48  |
| Q4DF31 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508121 150 4 1               | 95770,4158  | 187,9946  | 2,59  |
| Q4DJE0 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053508789 120 4 1               | 98136,2607  | 247,4943  | 7,91  |
| Q4D649 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053509755 10 4 1                | 83018,5131  | 223,0274  | 4,58  |
| Q4E1H0 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510483 60 4 1                | 98053,044   | 178,5196  | 1,84  |
| Q4DN58 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053510503 50 4 1                | 95998,8456  | 211,1501  | 4,45  |
| Q4E443 | Trans sialidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511173 80 4 1                | 99480,4767  | 188,7665  | 2,46  |

|        |   |            |           |           |
|--------|---|------------|-----------|-----------|
| Q4CWB6 | Trifunctional enzyme alpha subunit mitochondrial like protein Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i> strain      | 75861,3426 | 254,5974  | 3,04      |
| Q4CLW3 | Trifunctional enzyme alpha subunit mitochondrial like protein putative Fragment <i>Trypanosoma cruzi</i>    | 76143,7034 | 296,747   | 6,4       |
| Q4CVR5 | Tryparedoxin peroxidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053487507<br>10 4 1     | 22803,1196 | 2336,613  | 22,2375   |
| Q4D301 | Tryparedoxin peroxidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504839<br>28 4 1     | 22774,0346 | 2977,0562 | 24,982859 |
| Q4CM56 | Tryparedoxin peroxidase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053507259<br>10 4 1     | 22789,0927 | 2404,028  | 23,17875  |
| Q4D2Z9 | Tryparedoxin peroxidase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504839 44 4 1                 | 22790,034  | 2608,2354 | 23,17875  |
| Q4D3Y8 | Tyrosine aminotransferase <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511461 20 3 1               | 46700,2515 | 526,6875  | 16,83     |
| Q4CZX4 | V type ATPase A subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053503929<br>10 3 1     | 68442,2001 | 959,2728  | 16,72     |
| Q4DED4 | V type ATPase A subunit putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053506405<br>120 3 1    | 68356,0669 | 936,0431  | 16,72     |
| Q4DAV7 | Vacuolar ATP synthase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053504069 70<br>3 1       | 19980,3997 | 393,65    | 7,65      |
| Q4D1H1 | Vacuolar ATP synthase putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053511145 50<br>3 1       | 19952,3459 | 391,994   | 7,65      |
| Q4D1S0 | Vacuolar ATP synthase subunit B putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053506025 50 | 55896,1096 | 276,2311  | 12,9      |
| Q4CXR7 | Vacuolar ATP synthase subunit B putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00<br>1047053511209 10 | 55882,0827 | 310,7574  | 14,92     |
| Q4DKY7 | Vacuolar protein sorting associated protein like putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener<br>Tc00 | 39966,7786 | 531,9454  | 4,09      |
| Q4CLW6 | Zinc finger protein 2 putative <i>Trypanosoma cruzi</i> strain CL Brener Tc00 1047053401469 10 4 1          | 20237,4208 | 232,9407  | 36,67     |