

serão utilizados: 1) a inibição da agregação plaquetária induzida por ADP, colágeno e fibrinogênio; 2) atividade fibrinolítica em placa de fibrina; e 3) inibição da adesão celular em culturas de células normais e cancerosas.

165 Estrutura, metabolismo e efeitos biológicos de oligossacarídeos de xiloglucanos de leguminosas brasileiras

Marcos Silveira Buckeridge
Instituto de Botânica
Secretaria do Meio Ambiente
Processo 1995/09281-2
Vigência: 1/9/1996 a 30/9/1999

Xiloglucanos são polissacarídeos cuja principal função é a de coordenar a disposição das microfibrilas de celulose na parede celular vegetal. Eles são, portanto, de grande importância para os processos de crescimento e desenvolvimento dos vegetais, principalmente em dicotiledôneas, onde ocorrem com maior frequência. Os xiloglucanos também ocorrem como polissacarídeos de reserva em sementes de Leguminosae, as quais constituem um dos principais modelos para estudar a estrutura e funções dos xiloglucanos. Recentemente, na seção de fisiologia e bioquímica de plantas do Instituto de Botânica, estudos bioquímicos mostraram que as sementes de *Copaifera langsdorffii* (copaíba) e *Hymenaea courbaril* (jatobá) possuem xiloglucanos cujas estruturas são distintas dos demais xiloglucanos conhecidos (como o do *Tamarindus indica*). Com o presente projeto pretende-se aprofundar os estudos sobre a estrutura fina dos xiloglucanos de sementes de leguminosas brasileiras (*Copaifera langsdorffii* e *Hymenaea courbaril*), utilizando enzimas específicas obtidas de fontes comerciais, de glicosidases isoladas das próprias sementes das espécies em estudo e/ou de sementes de *Tropaeolum majus*. Um estudo inicial das variações nas atividades de B-galactosidase, endo-B-glucanase, a-xilosidase e a-fucosidase em cotilédones de jatobá em desenvolvimento será realizado e os dados serão utilizados para efetuar purificações das enzimas endo-B-glucosidase e a-fucosidase. As enzimas B-galactosidase e a-fucosidase serão obtidas de sementes de *Tropaeolum majus* por meio de uma combinação de cromatografias de troca iônica e filtração em gel. Oligossacarídeos de xiloglucano serão obtidos por meio de hidrólise enzimática com celulase comercial e endo-B-glucanase isolada de jatobá. Os oligossacarídeos serão purificados por separação em colunas de biogel (filtração em gel) e cromatografia de camada delgada (CCD). As demais enzimas serão utilizadas para estudar a estrutura dos oligossacarídeos isolados com a assistência de CCD, HPLC (High Performance Liquid Chromatography – Dionex) e Face (Fluorophore Assisted Carbohydrate Electroforesis). Os oligossacarí-

deos isolados, bem como misturas desses, serão estudados quanto à capacidade de influenciar o crescimento e o desenvolvimento, utilizando o bioensaio modelo para crescimento de epicótilos de ervilha e das próprias plântulas de copaíba e jatobá. Serão também efetuados ensaios para verificar os possíveis efeitos desses oligossacarídeos sobre a defesa em plantas, mediante o uso do bioensaio de produção de gliceolina em soja. Os resultados obtidos com este projeto deverão promover avanços significativos no entendimento da estrutura fina das moléculas de xiloglucano, das interações dos xiloglucanos com a celulose e conseqüentemente da arquitetura dos polímeros na parede celular vegetal. Esses conhecimentos provavelmente serão de grande valia nos estudos sobre o crescimento e desenvolvimento e mecanismos de defesa de plântulas de dicotiledôneas. Além disso, os conhecimentos gerados com esse projeto poderão ser utilizados em aplicações tecnológicas na indústria de papel, na qual o xiloglucano age melhorando a qualidade, e também na de alimentos, na qual esse polímero pode ser utilizado como espessante.

166 Clonagem e expressão de variantes de LDTI (Leech Derived Tryptase Inhibitor) em sistema *phage display*

Aparecida Sadae Tanaka
Escola Paulista de Medicina
Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)
Processo 1995/09256-8
Vigência: 1/8/1996 a 30/4/1999

As proteinases apresentam papel importante em muitos processos fisiológicos, como a coagulação sanguínea, fibrinólise, ativação de complemento e migração celular. O controle de proteases ocorre principalmente por inibidores específicos, sendo estes candidatos a novos e superiores agentes na prevenção e tratamento de muitas doenças, causadas por atividades proteolíticas não controladas. O LDTI é um inibidor de triptase e tripsina purificado de sanguessuga *Hirudo medicinalis*, pertencente à família tipo-Kazal. Este inibidor é composto de 46 resíduos de aminoácidos, apresenta alta homologia com os inibidores bedelina B-3, também presente em sanguessuga *Hirudo medicinalis*, e rodinina, inibidor específico para trombina purificado do inseto *Rhodnius prolixus*, vetor da doença de Chagas. Variantes de LDTI foram clonadas e expressas em *Saccharomyces cerevisiae*, as proteínas recombinantes apresentaram diferenças de especificidade em relação a diferentes proteinases. O LDTI será utilizado como modelo para estudar os inibidores protéicos da coagulação mediante técnicas de engenharia de proteínas. Uma nova técnica será utilizada proporcionando a criação de grandes bibliotecas de mutantes, assim como a

seleção desses por meio de ligação às enzimas em questão (*phage display*), a fim de compreender melhor a relação estrutura e função desses inibidores com as proteinases da coagulação. Esses inibidores poderão, no futuro, constituir a base para o desenvolvimento de anticoagulantes com aplicação terapêutica.

167 **Identificação e clonagem de genes diferencialmente expressos em plantas de *Arabidopsis* por meio de *differential display* de mRNAs**

Celso Eduardo Benedetti

Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)
Associação Brasileira de Tecnologia de Luz Síncrotron (ABTLuS)
Ministério da Ciência e Tecnologia
Processo 1995/06662-5
Vigência: 1/3/1997 a 30/11/2001

O mutante de *Arabidopsis thaliana coi1* é insensível à fitotoxina coronatina e ao fator de regulação de crescimento de planta, ácido jasmônico. Flores do mutante *coi1* apresentam desenvolvimento de grão de pólen alterado e são, portanto, machos estéreis. O objetivo do trabalho é utilizar a técnica de *differential display* de mRNAs para isolar genes regulados por ácido jasmônico em plantas *Arabidopsis*, relacionados ao processo de desenvolvimento de grão de pólen.

BOTÂNICA

168 **Estudos filogenéticos e evolutivos em Apocynaceae neotropicais**

André Olmos Simões

Escola de Artes, Ciências e Humanidades
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2008/01213-0
Vigência: 1/12/2008 a 30/11/2012

Este projeto tem por objetivo a obtenção de auxílio para a pesquisa em três temas vinculados à sistemática e evolução da família Apocynaceae, com ênfase em seus grupos neotropicais: 1) filogenia e sistemática das espécies neotropicais de Willughbeieae; 2) morfologia e evolução da estrutura floral em Rauvolfioideae; 3) evolução dos frutos carnosos em Apocynaceae. Durante um período de quatro anos, a ser iniciado em agosto de 2008, pretende-se estudar a anatomia, morfologia, taxonomia e filogenia de espécies selecionadas de Apocynaceae de forma a testar hipóteses sobre a evolução das flores e frutos na família e investigar os relacionamentos filogenéticos das espécies de Willughbeieae, uma das maiores e menos estudadas tribos da subfamília Rauvolfioideae.

169 **Equilíbrio energético da cana-de-açúcar: uma abordagem de sistemas para compreender a regulação do metabolismo da sacarose e a sinalização de açúcar**

Renato Vicentini dos Santos

Centro de Biologia Molecular
Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)
Processo 2008/58031-0
Vigência: 1/8/2009 a 31/7/2013

A pesquisa da cana-de-açúcar identificou e caracterizou uma sequência de proteínas envolvidas na biossíntese de carbono e na detecção de açúcar. No entanto, os resultados correntes para compreender a biossíntese e a acumulação de sacarose ficaram aquém das expectativas. Os mecanismos moleculares responsáveis pela conversa cruzada entre esses diferentes caminhos regulatórios e de sinalização e sua diversificação em plantas ainda precisam ser melhor elucidados para se compreender os padrões de crescimento de plantas e a produção de biomassa. Está apenas começando a produção dos dados detalhados de expressão genética necessários para compreender a rede de interações em nível molecular. Para tratar da taxa de descoberta de genes, abordagens de alto rendimento foram desenvolvidas para a experimentação biológica e questões biológicas relevantes com respeito a genes, interações de proteínas ou redes de processos biológicos podem ser agora enfrentadas. Aqui, propõe-se desenvolver uma abordagem de pesquisa que integra biologia molecular e de sistemas para melhorar o conhecimento sobre a biossíntese de carboidratos e a sinalização regulamentar de açúcar na cana-de-açúcar. Neste projeto de pesquisa, serão criadas maneiras para aplicar análises de rede regulatória e modelos metabólicos dinâmicos em dados moleculares e genéticos da cana-de-açúcar relacionados à biossíntese da sacarose e definiremos a diversificação de programas de expressão induzidos por glicose e sacarose em angiospermas. Espera-se que os modelos detectem a regulação de muitos componentes genéticos da cana-de-açúcar e antecipa-se que os dados melhorarão visão da sinalização de açúcar em plantas. Simulações desses modelos proporcionarão uma ferramenta eficaz para a identificação de candidatos a manipulações genéticas que tenham a melhor chance de promover o aumento do conteúdo de sacarose e para a priorização de análises futuras. Os resultados integrarão bases de dados que poderão embasar projetos relacionados à pesquisa de biomassa e bioenergia.

170 **Evolução dos sistemas de polinização em Vanilloideae (Orchidaceae) americanas**

Emerson Ricardo Pansarin