

servado em cada grupo. A integração entre diversos níveis de organização será realizada por meio da aplicação de matrizes de correlação entre taxas de evolução calculadas para diversas variáveis. Quanto aos possíveis mecanismos geradores de diversidade, serão investigados os tempos de divergência dos grupos nos novos ambientes, a presença de duplicações no genoma e compromissos funcionais dados pela direcionalidade em caminhos evolutivos de padrões morfofisiológicos a partir das condições ancestrais em cada grupo. Esta proposta utiliza uma abordagem extremamente integrativa para investigar questões majoritárias de evolução fenotípica em vertebrados, promovendo a implementação de linhas de pesquisa emergentes (por exemplo, evolução do desenvolvimento e ecofisiologia evolutiva) e aplicação de técnicas pouco utilizadas no Brasil (por exemplo, cinemática, extração de DNA em tecidos fixados em formol e métodos comparativos filogenéticos).

210

### Participação do *locus coeruleus* na quimiossensibilidade ao CO<sub>2</sub>/pH

Luciane Helena Gargaglioni Batalhão

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal  
Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Processo 2004/09717-6

Vigência: 1/3/2005 a 30/4/2009

Os quimiorreceptores centrais são neurônios sensíveis às alterações do CO<sub>2</sub>/pH presentes no encéfalo. Além disso, são essenciais para a regulação respiratória do equilíbrio ácido-base em vertebrados de respiração aérea. Na visão tradicional, esses receptores encontram-se presentes principalmente na superfície ventral da medula oblonga. Contudo, várias evidências recentes, obtidas a partir de estudos em mamíferos, indicam que os quimiorreceptores centrais estão amplamente distribuídos no SNC, em diferentes áreas do tronco encefálico, incluindo o *locus coeruleus* (LC). O LC é um importante núcleo noradrenérgico do tronco encefálico que modula um grande número de processos fisiológicos e comportamentais, além de estar envolvido em várias enfermidades. Este núcleo apresenta papel de destaque como quimiorreceptor central, pois possui uma alta porcentagem de neurônios quimiossensíveis (80%). Contudo, ainda não está claro o papel desta estrutura nas respostas compensatórias ao CO<sub>2</sub>/pH e se vertebrados não mamíferos possuem quimiorreceptores para CO<sub>2</sub>/pH localizados no LC, como verificado em mamíferos. O presente projeto tem como objetivos: 1) investigar a participação dos neurônios noradrenérgicos do LC na hiperventilação, na hipertensão e na hipotermia induzidas por hipercapnia (aumento na pressão parcial de CO<sub>2</sub> no sangue arterial) em ratos; 2) e 3) averiguar a possível participação da neurotransmissão serotoninérgica e da substância P, no LC, nas respostas ventilatórias, pressóricas e termorreguladoras induzidas por hipercapnia em ratos; 4)

determinar se em anfíbios (sapos *Bufo paracnemis*) o LC também atua como quimiorreceptor de CO<sub>2</sub>/pH e participa das respostas compensatórias à hipercapnia.

## GENÉTICA

211

### Identificação e caracterização da síndrome respiratória aguda murina associada à malária severa: estudo da interação parasito-hospedeiro

Sabrina Epiphânio

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Campus Diadema

Processo 2009/53256-7

Vigência: 1/2/2010 a 31/1/2014

A malária é responsável por cerca de 1 milhão de mortes anualmente, sendo um dos principais problemas de saúde pública em países em desenvolvimento. *Plasmodium vivax* é a espécie dominante de malária fora do continente africano, sendo responsável por 25% a 40% dos casos de malária no mundo. Embora considerada uma doença benigna, a infecção por esta espécie pode ser altamente debilitante e, muitas vezes, fatal. Infecções por *P. vivax* têm sido, recentemente, relacionadas com a síndrome respiratória aguda (SRA), caracterizada pela diminuição da capacidade de trocas gasosas e aumento da atividade leucocitária e de mediadores inflamatórios nos pulmões. O grande número de fatores que potencialmente estão envolvidos na SRA, associados às grandes dificuldades no estudo da doença em humanos, faz com que as bases moleculares desta disfunção pulmonar permaneçam ainda mal compreendidas. Modelos murinos têm sido muito importantes para a compreensão dos mecanismos da patogênese da malária severa, como os modelos desenvolvidos para a malária cerebral e síndromes placentárias e anêmicas. No entanto, até o momento não existe um modelo definido e caracterizado para o estudo da SRA associada à malária. Este projeto visa estabelecer e analisar um modelo murino que reproduza as características patológicas observadas na SRA humana, bem como identificar biomarcadores moleculares com potencial importância para um diagnóstico precoce e um prognóstico preciso da SRA associada à malária. O estabelecimento deste modelo trará uma importante contribuição para o entendimento da malária pulmonar, por meio da compreensão das bases moleculares da enfermidade, além de possibilitar novos estudos direcionados ao desenvolvimento de novas metodologias de diagnóstico e tratamento da SRA.

212

### Regulação da mutagênese no modelo de *Caulobacter crescentus* e suas implicações para a evolução bacteriana

Rodrigo da Silva Galhardo

Instituto de Ciências Biomédicas

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2009/51387-7

Vigência: 1/11/2009 a 31/10/2013

Estudar os mecanismos por meio dos quais as bactérias modulam seu metabolismo de DNA, ora favorecendo a defesa da integridade genética, ora gerando variabilidade que serve de matéria-prima para a seleção natural e evolução, é de suma importância para vários aspectos da microbiologia, tais como a resistência a antibióticos, a variação antigênica e a manipulação de microrganismos para processos biotecnológicos. O objetivo deste projeto é investigar a fundo alguns aspectos da mutagênese bacteriana no modelo de *Caulobacter crescentus*, utilizando abordagens de bioquímica, genética molecular e genômica. Pretende-se estudar a regulação da expressão das DNA-polimerases de baixa fidelidade em resposta a diferentes estresses ambientais, tais como danos no DNA, exposição a antibióticos e entrada na fase estacionária. A modulação da atividade da DNA-polimerase DinB por meio de interações com outras proteínas, também será investigada. Ensaios *in vivo* serão desenvolvidos para analisar o envolvimento de tais enzimas na mutagênese espontânea e induzida por estresses. Utilizando o sequenciamento genômico de regiões selecionadas, será também investigado o efeito localizado da mutagênese em regiões compartimentalizadas do cromossomo bacteriano. Os resultados obtidos irão ajudar a compreender melhor a regulação da mutagênese e seu efeito no genoma bacteriano.

213

### Caracterização de ORFs de função desconhecida envolvidas na resposta antioxidante em *Saccharomyces cerevisiae*

Gisele Monteiro

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2009/01303-1

Vigência: 1/8/2009 a 31/7/2013

Aproximadamente 800 genomas foram sequenciados e apenas 40% das sequências obtidas são anotadas como genes de função conhecida. *Saccharomyces cerevisiae* é um dos organismos modelo mais bem estudados, no entanto aproximadamente 20% das ORFs (Open Reading Frames) possuem estrutura não determinada e função molecular desconhecida. Diante desse quadro, o presente projeto se propõe a caracterizar algumas dessas ORFs, as quais estejam envolvidas na resposta antioxidante. O projeto é relevante na área de estudos da regulação celular redox, pois investiga novas vias e mediadores para o processo. A todo instante, estamos expostos às espécies reativas de oxigênio, subprodutos da respiração celular. Além disso,

radiações UV, poluição e vários outros fatores ambientais promovem a formação de espécies pró-oxidantes, que, em excesso, levam ao estado de estresse oxidativo. O estresse oxidativo é conhecido por resultar em danos em biomoléculas, como DNA, proteínas e lipídeos. Para defender as células contra esses danos possuímos um complexo sistema antioxidante, sendo vários de seus componentes com função biológica pouco compreendida. Em poucos anos, muito tem sido descoberto sobre diversas propriedades de enzimas e moléculas de baixo peso molecular como antioxidantes. A descrição da sulfirredoxina quebrou um paradigma a respeito de estados superoxidados de cisteínas proteicas, sendo um exemplo de enzima de reparo de proteínas, assim como a metionina sulfóxidorredutase (descrita na década de 1980). A vitamina C passou de agente neutralizante de espécies oxidantes para o *status* de dupla ação: atuando também na prevenção de formação dos radicais livres, já que regenera enzimas antioxidantes responsáveis por neutralizar os pró-oxidantes (como peróxidos – Monteiro et al., *PNAS*, 2007). Os pró-oxidantes, por sua vez, têm tido papel cada vez mais importante na compreensão da biologia celular como moléculas sinalizadoras, sendo o exemplo mais clássico o óxido nítrico. A descoberta das vias de sinalização mediadas por esse radical livre (também descritas na década de 1980) levou à descoberta de novos medicamentos e significativa melhora na qualidade de vida de muitas pessoas. Esses são exemplos do quanto ainda é preciso estudar os mecanismos redox, pois importantes mediadores desse processo estão sendo descobertos. Após mais de dez anos do término do sequenciamento do genoma da *Saccharomyces cerevisiae*, cerca de 1.200 possíveis proteínas não estão caracterizadas. Por meio desses estudos pode-se descobrir novos caminhos metabólicos, novos mediadores tão importantes quanto o óxido nítrico e, quem sabe, trazer vários benefícios e conhecimento a respeito da biologia celular mediante suas caracterizações. O projeto abre também a possibilidade de diversas colaborações; a coleção de leveduras separadas para esse projeto permite a análise de outros fenótipos que envolvam mecanismos básicos de biologia celular, de interesse de qualquer grupo de pesquisa. Serão usados ensaios de viabilidades com uma coleção de mutantes para as ORFs de levedura, ensaios de complementação e estudos individuais da expressão gênica para determinar a função biológica, além de clonagem, expressão heteróloga e purificação das proteínas-alvo para testes de atividade e estudos estruturais comparativos das mesmas com a finalidade de compreender a função molecular e bioquímica. A resposta antioxidante está relacionada com vários processos patológicos humanos, como doenças neurodegenerativas, envelhecimento, câncer, processos inflamatórios, isquemia-reperfusão, dentre outros. Além disso, a compreensão do metabolismo e da fisiologia dessa levedura pode ter implicações diretas em diversas áreas biotecnológicas, já que *S. cerevisiae*