

no Estado de São Paulo. É previsto o isolamento e a subsequente análise de 300 a 400 isolados ambientais. Essa coleção será analisada seguindo os fundamentos da taxonomia polifásica (Thompson *et al.*, 2002; Vandamme *et al.*, 1996). Linhagens representativas dessa coleção serão analisadas por MLST. Os dados de MLST e de taxonomia polifásica de vibrios serão utilizados para a criação de uma ferramenta na internet para auxiliar a identificação de isolados desse importante grupo bacteriano. Nesse *web site*, cada espécie terá sequências dos *loci* analisados e ferramentas de comparação que possibilitarão a identificação *on-line* por qualquer pesquisador. O *site* será posteriormente mantido com recursos institucionais e atualizado periodicamente com a descrição de novas espécies. Antecipamos que os conceitos e desenvolvimento de protocolos experimentais resultantes deste projeto terão fortes impactos e repercussão na pesquisa em taxonomia microbiana em nível internacional. Os resultados deste projeto poderão ser amplamente disseminados e aplicados ao estudo de outros grupos microbianos complexos, sendo de grande valia para a revisão taxonômica destes e facilitação do processo de descrição de novas espécies de bactérias.

230

Regulação de genes de patogenicidade: uso da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* PA14 como um modelo de estudo de genes envolvidos na patogenicidade

Regina Lúcia Baldini
Instituto de Química
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2003/09253-7
Vigência: 1/5/2004 a 30/6/2009

Pseudomonas aeruginosa é uma bactéria que pode causar infecções oportunistas em indivíduos imunocomprometidos, especialmente vítimas de queimaduras e portadores de fibrose cística. A linhagem PA14, um isolado de queimadura de um paciente, é capaz de infectar uma série de modelos alternativos de patogenicidade, como plantas e insetos, além do modelo mais utilizado, em camundongos. Essa linhagem apresenta uma ilha de patogenicidade de 108 kb (Papi-1), onde se localizam várias regiões abertas de leitura (ORFs) conservadas em várias espécies de bactérias, porém de função desconhecida. Foi demonstrado que pelo menos 20 dessas ORFs têm papel na virulência de *P. aeruginosa* PA14 contra mamíferos e plantas. Produtos previstos de quatro dessas ORFs, organizadas em dois óperons contíguos, apresentam similaridade de sequência com sistemas de dois componentes, que são os principais sistemas de regulação em cascata em bactérias. Um grupo de ORFs que codifica para uma provável fímbria do tipo *chaperona-usher* localiza-se adjacente a esses dois óperons. Este projeto tem por objetivo estudar

a regulação dos genes de patogenicidade de *P. aeruginosa* PA14 por meio de técnicas de biologia molecular, tendo como ponto de partida os sistemas de dois componentes localizados na ilha de patogenicidade Papi-1.

231

Caracterização genômica e funcional de transposons mutator em cana-de-açúcar

Maria Magdalena Rossi
Instituto de Biociências
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2003/08890-3
Vigência: 1/4/2004 a 31/3/2008

Os elementos de transposição (TEs) constituem parte importante do material genético dos eucariontes, podendo representar desde 45% em humanos até 50-80% no genoma de gramíneas. No banco de dados do Sucest, foi encontrado um abundante espectro de TEs sendo expressos. O elemento mais frequente foi o transposon MuDR. Resultados obtidos em nosso laboratório revelaram que existem pelo menos três classes desses transposons em plantas e que elas existiam previamente à divergência entre mono e dicotiledôneas. Dentro de cada uma das classes, são mantidas as relações filogenéticas entre as espécies. Cada classe apresenta padrões de inserção genômica, assim como frequência de *stop codons* e *frame shifts* distintos; estas observações sugerem diferenças nos níveis de atividade dos elementos. Nesse contexto, este projeto visa à clonagem de elementos MuDR de cana-de-açúcar para sua posterior caracterização genômica e funcional, sendo os objetivos específicos: a clonagem de pelo menos um elemento MuDR para cada uma das três classes identificadas, caracterização estrutural dos elementos clonados (íntrons, éxons, TIRs etc.), caracterização das regiões flangeadoras, avaliação do número de cópias, identificação da contribuição dos parentais do híbrido e o estudo da expressão dos elementos.

232

Abordagens genômica e proteômica para a identificação de genes e de proteínas envolvidos na tolerância à radiação solar em fungos: aplicações para o desenvolvimento de fotossensibilizadores

Gilberto Ubida Leite Braga
Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2003/07702-9
Vigência: 1/6/2004 a 30/4/2009

Serão utilizadas as abordagens genômica e proteômica para a identificação de genes e de proteínas envolvidos

na tolerância de fungos à radiação solar e para o estudo dos efeitos moleculares da fotossensibilização. A primeira etapa do projeto será conduzida com *Saccharomyces cerevisiae*. A identificação dos genes será feita por meio da comparação de transcriptomas de células expostas com os de células não expostas à radiação obtida com a utilização de *microarray* de DNA. A identificação de proteínas será realizada por meio da comparação de proteomas de células expostas e com os de células não-expostas à radiação. As proteínas totais serão separadas por eletroforese bidimensional e os contrastes serão isolados e analisados por meio de Maldi-TOF MS. A identificação das proteínas contrastantes será feita por meio de comparações com bancos de dados de proteínas de levedura. As mesmas abordagens serão utilizadas para o estudo dos efeitos moleculares do tratamento do fungo com substâncias fotossensibilizadoras. Na segunda etapa, serão conduzidos estudos de fotobiologia e de fotoquímica de conídios do deuteromiceto entomopatogênico *Metarhizium anisopliae* objetivando a identificação de genes envolvidos na tolerância à radiação solar expressos durante a conidiogênese e a identificação de substâncias fotoprotetoras presentes nos conídios.

233

Isolamento e caracterização de transcritos sexo-específicos em peixes utilizando a técnica de DDRT-PCR (Differential Display Reverse Transcriptase)

Adriane Pinto Wasko

Instituto de Biociências de Botucatu
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2003/06761-1
Vigência: 1/12/2003 a 30/11/2006

O Departamento de Morfologia do Instituto de Biociências da Unesp/Botucatu possui diversas linhas de pesquisa nas áreas de biologia celular e molecular, histologia e embriologia que, entre outras, incluem estudos sobre efeitos de substâncias cancerígenas e de drogas, biologia da reprodução e do desenvolvimento, determinação e diferenciação sexual, citogenética, genética evolutiva e molecular, identificação e caracterização de proteínas contráteis e histofisiologia e histopatologia dos aparelhos reprodutores feminino e masculino. Embora várias metodologias sejam utilizadas para o desenvolvimento desses estudos, tecnologias de expressão gênica diferencial ainda não são aplicadas e mostram-se extremamente importantes para sua complementação, fortificação e atualização. Nos últimos anos, diversas metodologias que permitem a identificação de transcritos diferencialmente expressos, ou seja, genes expressos como RNAs mensageiros para síntese de proteínas e que diferem em abundância entre diferentes amostras, vêm sendo descritas. Entre estas, a técnica de *display* diferencial (DO) representa uma metodologia relativamente simples e de baixo custo que constitui um modelo adequado para a

implementação de estudos de expressão gênica diferencial – por meio de transcrição reversa de RNA utilizando um *primer* ancorador, seguida de reação em cadeia da polimerase (PCR) do DNA complementar utilizando um *primer* arbitrário, diferenças de expressão gênica entre amostras distintas podem ser visualizadas por meio de eletroforese em gel de poliacrilamida. Como objeto inicial de estudos em expressão gênica diferencial utilizando a técnica de *display* diferencial, a espécie *Leporinus macrocephalus*, peixe de grande importância econômica para a pesca e para a piscicultura nacional e que apresenta um sistema cromossômico de determinação sexual do tipo ZZ/ZW, foi selecionada para a identificação e caracterização de transcritos sexo-específicos. Os resultados configurarão dados extremamente importantes para a compreensão da origem e da evolução dos mecanismos de determinação e diferenciação sexual em peixes e, de modo geral, em vertebrados.

234

Uso de marcadores Radp na análise genética de árvores matrizes vs. populações derivadas que formam parte do banco de germoplasma da floresta da USP-RP

Ana Lilia Alzate Marin

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2003/04199-4
Vigência: 1/4/2004 a 31/3/2009

Áreas de florestas tropicais têm diminuído progressivamente, para dar lugar a campos de agricultura, de pastagens e a extensas áreas de terras degradadas, com grande perda da biodiversidade. Na região de Ribeirão Preto, existem somente pequenas manchas de mata nativa em algumas fazendas, nos limites da cidade e no bosque municipal. Ante a urgência da disponibilidade de áreas para reflorestamento na região de Ribeirão Preto (pois o município conta com apenas 1,46% de sua área florestada, aproximadamente 0,36m²/habitante quando a recomendação da OMS é de 12m²/habitante – Sema, 1995) e o resgate das espécies arbóreas nativas regionais, iniciou-se, em 1997, a instalação de uma área de reflorestamento heterogêneo e a criação de um banco genético de sementes (banco de germoplasma). A manutenção da diversidade genética das espécies florestais que constituem este banco localizado na “floresta da USP-RP” assegurará a sua sobrevivência, permitindo o resgate de espécies da flora regional da mata estacional semidecidual. Futuramente este banco fornecerá sementes com garantida diversidade genética contribuindo para a efetiva recuperação de áreas degradadas em programas de reflorestamento florestal da região. Também, esta floresta favorecerá as condições climáticas e ambientais para a melhoria da vida da população, para uma região onde a cultura da cana-de-açúcar ocupa quase 100% da paisagem. Assim, para evitar a perda da variação