

gunda parte, se tentará melhorar a técnica do PCR longo para o diagnóstico de deleções do DNAmT em pacientes, o que facilitará o diagnóstico devido à facilidade técnica, à rapidez e não à necessidade de material radioativo. Na terceira parte, pretende-se verificar se pacientes com defeito na fosforilação oxidativa apresentam maior produção de radicais livres por meio de imunistoquímica e *Western blot* de material proveniente de músculo, utilizando-se anticorpos contra SOD (Superoxido Dismutase) e NOS (Nitric Oxide Synthase). Na quarta parte, será verificado o cérebro de ratos epiléticos (modelo experimental da pilocarpina) que apresentem aumento de SOD e NOS na fase aguda. Será analisada a presença de deleções do DNAmT (uma deleção específica pelo método quantitativo de diluições de múltiplas deleções pelo método de PCR longo) e proteínas mitocondriais (COX II e COX IV) por meio de imunistoquímica e *Western blot*. Este estudo será realizado na fase crônica do modelo, ou seja, após três meses de indução do status epilético. Os resultados deste projeto poderão contribuir para o conhecimento da relação entre a duplicação e deleção do DNAmT, simplificar o diagnóstico das deleções do DNAmT e verificar se as deleções do DNAmT no envelhecimento realmente estão associadas com a lesão oxidativa.

253

### Desenvolvimento de um modelo animal para a síndrome de Marfan por meio da manipulação do genoma do camundongo

Lygia da Veiga Pereira  
Instituto de Biociências  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 1996/09031-9  
Vigência: 1/4/1997 a 31/3/2002

A síndrome de Marfan (SMF) é a mais comum das doenças de tecido conjuntivo, afetando os sistemas ósseo, cardiovascular e ocular, e é causada por mutações no gene FBN1. Este gene codifica a fibrilina, componente das microfibras, largamente distribuídas pelo organismo e associadas à elastina nas fibras elásticas. Estudos iniciais indicam a grande importância da fibrilina na manutenção da integridade dos tecidos. A proposta é a criação de mutações no gene FBN1 em camundongos, gerando assim: 1) um modelo animal para a SMF; 2) um sistema *in vivo* para o estudo da contribuição da fibrilina na formação da fibra elástica e na manutenção da integridade de tecidos.

254

### A relação da africanização com os índices de infestação pelo ácaro *Varroa jacobsoni* nas populações de abelhas africanizadas e europeias na zona de transição (paralelos 30° – 35° Sul)

Márcia Regina Cavichio Issa

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto  
Universidade de São Paulo (USP)

Processo 1996/05422-3

Vigência: 1/1/1997 a 30/6/2001

O presente trabalho visa relacionar a variação do índice de infestação e reprodução do ácaro *Varroa* (que mede ação da varroatose) com a dinâmica do processo de africanização em populações de abelhas coletadas entre os paralelos 30° e 35° Sul (onde estão o sul do Rio Grande do Sul, Uruguai e parte da Argentina). Entre esses paralelos formou-se uma zona de transição, onde os grupos raciais de abelhas estão distribuídos de tal maneira que há uma faixa de abelhas completamente africanizadas, uma faixa com abelhas africanizadas e europeias e uma terceira faixa com abelhas apresentando apenas genes europeus. Serão analisados apiários em que não é feito controle químico. Também serão consideradas colmeias tratadas com acaricidas de dois apiários por região. A caracterização genética das populações de abelhas será feita por análise da variabilidade isoenzimática (Mdh e Hk), análise de sítios de restrição, amplificação de sequências específicas de DNA (PCR) e morfometria. Com essa comparação pretendemos: 1) avaliar se o processo evolutivo, que ocorreu nas regiões tropicais e subtropicais, pode atualmente estar ocorrendo em regiões temperadas; 2) avaliar a influência do processo de africanização na resistência da abelha *Apis mellifera* ao ácaro *Varroa jacobsoni*; 3) analisar se as características de resistência das abelhas africanizadas estão sendo introduzidas nas populações de abelhas europeias nessa região de transição e prover informações quanto à sobrevivência das europeias sem o uso de acaricidas; 4) avaliar a dinâmica da infestação em abelhas com DNAs mitocondrial e nuclear de origens diferentes (um de origem africanizada e outro de origem europeia); 5) analisar a influência da varroatose na africanização, comparando abelhas tratadas com não tratadas com acaricidas; 6) avaliar a influência da varroatose na dispersão da abelha africanizada (ao matar europeias, o ácaro libera nichos ecológicos); 7) obter dados para um controle mais efetivo da praga, reduzindo ao mínimo ou mesmo dispensando a necessidade do uso de controles químicos; 8) determinar, após quatro anos seguidos de coleta, se está ocorrendo um processo de adaptação na zona de transição e como esse processo varia conforme a região climática e o tipo de abelha em cada região.

255

### Determinação da frequência e das características moleculares das mutações dinâmicas responsáveis por doenças neurodegenerativas

Iscia Teresinha Lopes Cendes

Faculdade de Ciências Médicas  
 Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)  
 Processo 1995/09659-5  
 Vigência: 1/7/1997 a 31/3/2002

No início dos anos 1990, foi descoberta uma nova classe de mutações que sabemos hoje ser responsável por cinco doenças neurodegenerativas: doença de Huntington (DH), atrofia dentatorubropalidoluisiana (DRPLA), ataxia espinocerebelar tipo 1 (SCA 1), doença de Machado-Joseph (DMJ) e doença de Kennedy (DK). Essas mutações são causadas pela expansão de um trinucleotídeo (CAG)<sub>n</sub> localizado na região codificante de cada um dos genes responsáveis pelas doenças acima. Desse modo, indivíduos normais apresentam alelos que variam de 8 a 35 unidades de CAG, enquanto indivíduos afetados apresentam alelos com mais de 40 unidades CAG. Com a disponibilidade do teste molecular, a confirmação diagnóstica em casos suspeitos, clinicamente típicos ou atípicos, pode ser realizada. Além disso, pode-se efetuar estudos de correlação, comparando o tamanho e a estrutura molecular interna do (CAG)<sub>n</sub> com aspectos clínicos e genéticos. Este projeto tem como objetivo executar a amplificação *in vitro* da região do (CAG)<sub>n</sub> contido nos genes responsáveis por DH, DRPLA, SCA1, DMJ e DK. Essa amplificação será feita a partir de DNA genômico obtido de pacientes com síndromes de demência e distúrbios de movimento; ataxias cerebelares; e amiotrofias espinais. O tamanho do (CAG)<sub>n</sub> será determinado em indivíduos normais e clinicamente afetados. Além disso, polimorfismos localizados adjacentes ou no interior do (CAG)<sub>n</sub> serão também estudados. Serão realizadas comparações entre o genótipo de cada paciente e características clínicas e genéticas desses indivíduos. O estudo levará à aquisição de informações que serão úteis para orientar melhor o diagnóstico clínico, assim como definirá padrões para o uso dos testes moleculares como confirmação diagnóstica e diagnóstico pré-sintomático de indivíduos em risco de desenvolver essas doenças.

256

**A mela causada pelo fungo *Thanatephorus cucumeris/Rhizoctonia solani* em feijoeiro na região de Cunha, SP: estudos sobre o controle por meio do uso de variedades crioulas e os fatores de virulência**

Lyndel Wayne Meinhardt  
 Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena)  
 Universidade de São Paulo (USP)  
 Processo 1995/09557-8  
 Vigência: 1/12/1996 a 31/3/2001

O propósito neste projeto é examinar e buscar soluções para os problemas enfrentados pelos pequenos agricultores da região de Cunha, SP, que faz parte dos últimos fragmentos de Mata Atlântica no estado. O objetivo geral do projeto é re-

duzir a incidência de doenças, aumentando a produtividade, diminuindo assim a pressão de desmatamento sobre a Mata Atlântica. Em outras palavras, deseja-se propor soluções aos agricultores que tornem seu sistema agrícola sustentável e não simplesmente de subsistência, eliminando a necessidade de continuamente se destruir a mata nativa. Os objetivos específicos do projeto seriam: 1) estudar a doença conhecida como mela, que ataca o feijão (*Phaseolus vulgaris* L.), analisando no nível molecular o seu agente causal, *Thanatephorus cucumeris/Rhizoctonia solani*; 2) avaliar plantas de feijão cultivadas localmente, para conhecer a resistência natural dessas plantas, utilizando-as para o desenvolvimento de linhagens resistentes à mela; 3) estabelecer os efeitos da fertilidade do solo sobre a incidência de mela e avaliar seus efeitos sobre o sistema de cultivo na região de Cunha, implementando práticas que possam corrigir o problema de baixa fertilidade.

257

**Regulação gênica em eucariotos: investigação de mecanismos de controle da transcrição de diferentes espécies em *Saccharomyces cerevisiae***

Gonçalo Amarante Guimarães Pereira  
 Instituto de Biologia  
 Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)  
 Processo 1995/09449-0  
 Vigência: 1/9/1996 a 31/12/2001

O trabalho visa investigar mecanismos de regulação transcricional em eucariotos. Para isso serão desenvolvidos sistemas de clonagem de reguladores de microrganismos, plantas e mamíferos em leveduras. A interação entre os reguladores, seus sítios de ligação nos promotores e a cromatina será também avaliada.

258

**Estudo da distrofina e seu complexo de proteínas associadas e relacionadas: localização e relação com processo de degeneração e regeneração muscular**

Mariz Vainzof  
 Instituto de Biociências  
 Universidade de São Paulo (USP)  
 Processo 1995/09278-1  
 Vigência: 1/12/1996 a 30/11/2000

A distrofina, cuja ausência ou alteração causa as distrofias musculares de Duchenne/Becker (DMD/DMB), faz parte de uma família de proteínas relacionadas que incluem a utrofina, codificada por um gene autossômico, a merosina, componente da matriz extracelular, e o complexo composto por diferentes glicoproteínas associadas à distrofina. (DAGs). O bom funcionamento do complexo seria responsável por um correto mecanismo de con-