

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-

tração muscular e alterações em diferentes proteínas do complexo têm sido observadas em diversas doenças neuromusculares. Os objetivos do presente projeto consistem em estudar a distribuição da distrofina, DAGs, utrofina e merosina no músculo distrófico, em diferentes estágios de degeneração ou regeneração, bem como durante o desenvolvimento em: a) doenças neuromusculares humanas; b) modelos animais dessas doenças (camundongo mdx, dy/dy); c) tecido muscular no qual a degeneração muscular é provocada *in vivo*. O trabalho será desenvolvido por meio do estudo da distribuição dessas proteínas, por técnicas de imunistoquímica em cortes histológicos, utilizando-se anticorpos específicos para as diferentes proteínas e anticorpos desenvolvidos a partir de diferentes regiões de uma mesma proteína. O estudo qualitativo e quantitativo dessas proteínas será feito mediante a técnica de *Western blot*.

## MORFOLOGIA

259

### Contribuição da metilação de DNA na carcinogênese

Miriam Galvonas Jasiulionis

Escola Paulista de Medicina

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Processo 2006/61293-1

Vigência: 1/7/2007 a 30/6/2011

Evidências recentes têm apontado para a participação de alterações epigenéticas, entre elas a metilação do DNA, na gênese de tumores. No entanto, até hoje não foi estabelecida relação causal entre esses eventos. Este projeto tem como objetivo central a determinação da contribuição da metilação do DNA na gênese do câncer. Para isso, será utilizado um modelo murino de transformação maligna de melanócitos associado a alterações na adesão celular, desenvolvido durante pós-doutoramento, que consiste não só de células não tumorigênicas e células de melanoma, mas também de linhagens celulares correspondendo a etapas intermediárias do processo carcinogênico. Esse modelo não envolve a inserção de oncogenes exógenos, nem a utilização de carcinógenos físicos ou químicos e tem a vantagem de poder ser reproduzido, o que faz dele ótimo modelo para a identificação de alterações iniciais envolvidas na gênese do melanoma, entre elas aquelas envolvendo metilação do DNA. Estudos envolvendo diferentes técnicas de análise de nível de metilação do DNA, tanto global como em sequências específicas, ensaios de transfecção, expressão e atividade de DNA metiltransferases (DNMTs), tumorigenicidade e imunoprecipitação de cromatina serão realizados, visando à determinação da relação causal e temporal entre modificações na metilação do DNA e transformação maligna, à expressão e regulação das DNMTs ao longo desse processo, à relação entre metilação do DNA aberrante e instabilidade cromossômica e

ao impacto da metilação aberrante de genes específicos na aquisição do fenótipo maligno. As alterações observadas no modelo murino serão então estudadas em amostras de melanoma humano e correlacionadas com os dados clínicos dos pacientes. Este estudo poderá trazer informações sobre os mecanismos moleculares envolvidos no estabelecimento de padrões aberrantes de metilação, bem como contribuir com a identificação de alvos epigenéticos visando ao desenvolvimento de novas estratégias de diagnóstico, tratamento e prevenção de tumores.

260

### Efeito de células-tronco mesenquimais provenientes do cordão umbilical humano na regeneração do miocárdio após infarto

Daniela Mara de Oliveira

Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein (SBIBAE)

Processo 2006/59063-8

Vigência: 1/11/2007 a 31/10/2010

O infarto do miocárdio causa perda irreversível de cardiomiócitos e tecido vascular, provocando comprometimento da função cardíaca. O miocárdio não possui capacidade intrínseca de reparo fisiologicamente significativa e, mesmo com o arsenal terapêutico disponível, a morbidade e a mortalidade na insuficiência cardíaca resultante ainda representam problema sério de saúde pública. Dessa forma, o transplante de células-tronco ou progenitoras é uma modalidade terapêutica com potencial para uso em pacientes com disfunção cardíaca não controlável inteiramente por métodos tradicionais. Células-tronco mesenquimais (CTMs) expandem-se facilmente *ex vivo* e têm capacidade de diferenciação em células endoteliais e cardiomiócitos *in vitro*. O uso de CTMs na recuperação cardíaca vem sendo investigado em estudos experimentais e clínicos. A maioria desses estudos mostra que CTMs provenientes de medula óssea quando transplantadas em corações que sofreram infarto promovem melhora da função cardíaca. No entanto, os mecanismos envolvidos nesse fenômeno ainda não foram esclarecidos. As vantagens teóricas do uso terapêutico de CTMs provenientes de sangue de cordão umbilical (SCU) humano são a imaturidade celular, que contribui para a diminuição na incidência da doença do enxerto *versus* hospedeiro, e o aumento da disponibilidade de doadores compatíveis, devido à existência de bancos públicos de SCU para transplantes alogênicos. Utilizando um modelo pré-clínico de infarto do miocárdio em suínos, serão investigados: a) o potencial terapêutico do uso de CTMs de SCU humano na regeneração cardíaca; b) capacidade de implantação de CTMs de SCU humano no miocárdio infartado; c) se a pré-diferenciação cardiomiogênica e/ou endotelial *in vitro* dessas células melhora a ação terapêutica. Adicionalmente, testaremos diferentes parâmetros para o