

intuito de aumentar – ou mesmo substituir integralmente – a participação das ESC na formação das gônadas do indivíduo. Com esse intuito, serão utilizados embriões murinos e bovinos (produzidos *in vivo* e *in vitro*, respectivamente) como receptores da ICM, oriunda de embriões obtidos *in vivo* ou de partenogenotos, na indução do quimerismo das gônadas. Os embriões doadores das ICM serão obtidos de camundongos transgênicos GFP ou de vacas da raça nelore. Será testada a metodologia de redução – e mesmo de exclusão – da ICM do embrião receptor, como favorecimento à incorporação e povoamento da ICM oriunda dos embriões doadores (no caso extremo, o embrião receptor contribuiria somente com o trofotoderma, sendo toda a ICM oriunda do embrião doador). Será utilizada a transfecção da ICM, com EGFP, para a determinação *in vitro* da eficácia do quimerismo embrionário na espécie bovina. Um dos objetivos deste projeto é adquirir conhecimento básico no estabelecimento de linhagens autorrenováveis de células-tronco embrionárias, oriundas de embriões bovinos (produzidos *in vivo* e mediante partenogênese) a partir de fêmeas selecionadas com base no seu histórico reprodutivo e/ou produtivo. Além disso, será investigada a eficácia na obtenção de fêmeas bovinas quiméricas e sua caracterização quanto ao grau de quimerismo presente nos ovários. Embora este projeto possua um fundamento na pesquisa básica, em sua estrutura conceitual existe uma profunda ênfase nas aplicações, práticas e comerciais, decorrentes do domínio das técnicas propostas no presente projeto. Algumas dessas aplicações poderiam ser a manipulação gênica de tais linhagens de ESC – relacionadas às características de produção, reprodução e resistência – ou na incorporação de transgenes nessas linhagens. Tais modificações no genótipo das ESC, associado à clonagem por NT, poderiam resultar em fontes inesgotáveis de matéria-prima na construção de biorreatores bovinos. Finalmente, a implementação de um polo de biotecnologia animal na Unesp, no *campus* de Assis, será uma forte base de sustentação e nucleação científica para o recém-criado curso de graduação em biotecnologia.

041

### Modelo de risco para circulação do vírus da raiva em populações de herbívoros no Estado de São Paulo

Ricardo Augusto Dias

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2006/04250-8

Vigência: 1/12/2006 a 31/5/2008

O presente trabalho apresenta uma metodologia qualitativa de avaliação do risco de circulação do vírus da raiva (variante 3) em populações de herbívoros domésticos do Vale do Rio Paraíba do Sul, Estado de São Paulo. Serão construídas árvores de cenário que levarão

em conta a exposição e difusão da raiva, a fim de se estimar a probabilidade de ocorrência da raiva nos herbívoros. Essa probabilidade será associada à localização geográfica das propriedades rurais, e as áreas de maior risco serão priorizadas, quando da implantação das medidas de controle preconizadas pelo Programa Nacional de Controle da Raiva de Herbívoros, do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Para a realização do presente projeto, foi estabelecida uma parceria entre o Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde de Animal da FMVZ-USP, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e a Coordenadoria de Defesa Agropecuária do Estado de São Paulo.

042

### Patologia molecular: avaliação de alterações genômicas, proteômicas e glicobiológicas em tecidos pela técnica do *tissue array*

Paulo César Maiorka

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2005/60606-3

Vigência: 1/6/2006 a 31/5/2010

A biologia molecular é uma ferramenta importante que vem sendo aplicada ao estudo e compreensão de fenômenos biológicos. O conhecimento da estrutura e função dos genes, bem como suas alterações, é hoje amplamente explorado no campo da medicina molecular. A estrutura e funções, assim como as alterações das proteínas, também são amplamente investigadas na gênese de processos patológicos. Estes estudos vêm revolucionando os conceitos da patologia e dando início ao que se chama “a era da patologia molecular”. Dessa forma, as alterações nesses componentes celulares vêm contribuindo muito ao conhecimento da etiopatogenia de diversas doenças. Também recentemente estudos sobre os açúcares, componentes estruturais das células e dos tecidos, vêm sendo envolvidos na gênese de processos patológicos. Essas substâncias, encontradas normalmente na constituição morfológico-estrutural das células, desempenham inúmeras funções. Diversos distúrbios morfofuncionais, que caracterizam o processo de doença, são provocados por alteração quali e quantitativas desses componentes. Este ramo, a glicobiologia (glicopatologia), evidenciou a diversidade e a importância de tais componentes na estrutura e na função de células e tecidos e sua importância na manutenção da homeostasia. Dessa forma, pode-se dizer que o estudo da biologia das doenças, nos dias de hoje, caracteriza-se pela investigação das alterações genômicas, proteômicas e glicobiológicas das células e tecidos dos animais. Sendo, então, o estudo dos genes, das proteínas e dos açúcares considerado o tripé da patologia molecular. O estudo das alterações teciduais, determinadas pelas doenças, é o carro-chefe das atividades do patologista. O

emprego da técnica do *tissue array* como ferramenta na avaliação de grandes quantidades de amostras, em uma só lâmina, permite melhora considerável na aquisição de dados, também com melhora na eficiência dos procedimentos, além de propiciar menos falhas na reprodutibilidade da técnica, aliada à economia de reagentes. Isso tudo considerada a realização, em uma única reação, do exame simultâneo de grandes quantidades de amostras, as quais são selecionadas e reintroduzidas em um novo bloco de parafina, “arranjadas” de maneira conhecida e organizada. Este projeto tem por finalidade introduzir as técnicas de avaliação, em tecido, de alterações genômicas, proteômicas e glicobiológicas na patologia animal. A avaliação dessas alterações pela imunistoquímica, hibridização *in situ*, Fish, e lecitinoistoquímica serão conduzidas em doenças importantes que acometem os animais de produção e de companhia. A avaliação da expressão de oncoproteínas ligadas ao controle do ciclo celular na leucose bovina e em tumores do sistema nervoso central tem por finalidade o reconhecimento do envolvimento de oncogenes nesses processos. Tais achados podem ser correlacionados com o que já se conhece em patologia humana, subsidiando a possível comparação e formulação de modelos animais para tais doenças importantes na medicina humana e animal. Da mesma forma, a introdução da técnica da lecitinoistoquímica servirá para a identificação de açúcares nos tecidos dos animais, especialmente em doenças de acúmulo lisossomal, as quais acometem tanto o homem quanto os animais. Por fim, a introdução da técnica do *tissue array* tem por finalidade a formação de bancos de amostras raras, preparação de material didático para ensino de patologia, validação do estudo de expressão em tecidos, com grande economia de tempo, reagentes e a mão de obra que estaria ligada à realização de tais procedimentos.

043

**Avaliação do potencial zoonótico de *Escherichia coli* sfa+, sorogrupo O<sub>6</sub>, isoladas de aves com colibacilose: caracterização genotípica e fenotípica**

Terezinha Knobl

Faculdades Metropolitanas Unidas (FMU)

Processo 2005/57500-9

Vigência: 1/6/2006 a 31/7/2009

Amostras de *Escherichia coli* patogênicas estão associadas à ocorrência de diversas doenças no homem e nos animais. A presença da adesina S, codificada pelo operon sfa é considerada um dos principais fatores de virulência em amostras de *E. coli* isoladas de pacientes com meningite e infecções urinárias. Recentemente, estudos epidemiológicos têm demonstrado a presença do operon sfa em amostras de *E. coli* isoladas de aves com colissepticemia.

O papel desta adesina na patogenia da colibacilose aviária não foi definido e investiga-se a possibilidade das aves funcionarem como reservatório de amostras potencialmente patogênicas para o homem. O objetivo deste estudo será comparar amostras de *E. coli* sfa+, sorogrupo O<sub>6</sub>, isoladas de aves com colissepticemia e de humanos com infecções urinárias e meningite, mediante ensaios genotípicos e fenotípicos. A patogenicidade das amostras será determinada pela inoculação experimental em pintos de um dia e pela capacidade de adesão *in vitro* em células de linhagem cerebral de camundongos. A caracterização molecular será realizada pela pesquisa dos genes de virulência e das ilhas de patogenicidade, por meio da reação em cadeia pela polimerase (PCR), do polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados (AFLP) e do Pulse Field.

044

**Proteínas envolvidas na invasão de células hospedeiras por protozoários Apicomplexa como potenciais componentes para métodos profiláticos**

Ana Patrícia Yatsuda Natsui

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2005/53785-9

Vigência: 1/10/2005 a 28/2/2010

Parasitas do filo Apicomplexa causam grande impacto tanto na área humana, com doenças como malária, toxoplasmose e criptosporidiose, como na área veterinária, afetando animais com doenças como babesiose, neosporose, coccidiose e teileriose. Os Apicomplexa possuem um método único de invasão das células hospedeiras e, por ser um mecanismo extremamente conservado, a invasão celular tem sido alvo de intensos estudos em *Plasmodium* e *Toxoplasma*. Os estágios invasivos possuem organelas secretórias dos quais as proteínas secretadas por micronemas e roptrias são consideradas importantes para que a invasão ocorra com sucesso. O presente projeto se propõe a identificar proteínas secretadas por parasitas do filo Apicomplexa de interesse veterinário (*Neospora caninum*) e caracterizar as interações entre ligantes do parasita (*Babesia bovis*) com receptores de suas células hospedeiras. Serão utilizadas técnicas de proteômica para identificação de proteínas secretadas por *N. caninum*. Proteínas de interesse serão clonadas e expressadas e será estabelecido um sistema de transfecção por genética reversa para a análise funcional de genes selecionados. Em paralelo, serão realizados ensaios de afinidade entre proteínas recombinantes micronêmicas de *B. bovis* e extratos de membranas de eritrócitos mediante ressonância de plasmônio de superfície para a identificação de receptores moleculares.