

las glicosiladas que estão envolvidas em importantes funções biológicas relacionadas com a patogenicidade e virulência, além de ser uma fonte significativa de antígenos. Devido às dificuldades no tratamento e resistência das infecções fúngicas, houve, nas últimas décadas, uma intensa busca dos mecanismos de patogênese utilizados por fungos. O projeto direciona-se à análise bioquímica e funcional de antígenos fúngicos envolvidos na patogenicidade. Técnicas modernas cromatográficas, análises de metilação, ressonância nuclear magnética de próton e carbono-13, espectrometria de massa farão parte da caracterização dos antígenos de *H. capsulatum* e *P. boydii*, assim como o envolvimento dessas moléculas na ativação do sistema imune.

909

### Expressão dos genes BmeABC de bombas de efluxo de *Bacteroides fragilis* em *Escherichia coli*, caracterização do perfil de substrato das bombas BmeABC e sua relação com a resistência aos antimicrobianos

Viviane Nakano

Instituto de Ciências Biomédicas  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 2008/57330-4  
Vigência: 1/4/ 2009 a 31/3/2013

Efluxo é o bombeamento de soluto para fora da célula. Genes e proteínas de bombas de efluxo estão presentes em bactérias sensíveis e resistentes a antimicrobianos. Em bactérias gram-negativas, o sistema de efluxo consiste na bomba localizada na membrana interna de uma proteína periplasmática adaptadora e de um canal na membrana externa eficiente para expelir substâncias tóxicas, entre elas antimicrobianos. Bombas de efluxo têm sido muito estudadas em diversos microrganismos, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria sp.*; no entanto, em anaeróbios existem poucos estudos. *Bacteroides fragilis* é um dos mais importantes anaeróbios pertencentes à microbiota intestinal de humanos e animais; está associado a inúmeras enfermidades extraintestinais e, além disso, possui resistência a diversas classes de antimicrobianos. Bombas de efluxo têm sido descritas em *B. fragilis* e é sabido que possuem um sistema de efluxo da família RND (*resistance nodulation division*) composto de 16 bombas denominadas de bmeABC1-16. Neste estudo, serão realizadas a clonagem dos genes bmeABC1, bmeABC3, bmeABC12 e bmeABC15 das bombas de efluxo de *B. fragilis* em hospedeiro suscetível (*E. coli*) e as análises da expressão e da utilização dos substratos por esses sistemas. Os dados obtidos neste estudo servirão para uma melhor compreensão do funcionamento do sistema de bomba de efluxo e sua relação com a resistência aos antimicrobianos.

910

### Reconhecimento de patógenos bacterianos por receptores intracelulares e sua importância no controle da infecção microbiana

Dário Simões Zamboni

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 2006/52867-4  
Vigência: 1/8/2006 a 31/7/2010

Bactérias gram-negativas como *Legionella pneumophila* e *Coxiella burnetii* são capazes de se multiplicar no interior de células hospedeiras, pois utilizam tipos especializados de transporte de proteínas (tipo IV) para injetar proteínas bacterianas diretamente no citoplasma celular. Em contrapartida, células hospedeiras desenvolveram estratégias para detectar a presença desses patógenos e controlar sua multiplicação. Fundamental para esse reconhecimento são receptores citoplasmáticos tipo NLR (do inglês Nod-Like Receptors). Dentre os NLRs destaca-se Birc1e, que detecta moléculas de *Legionella* no citoplasma celular e induz ativação de caspase-1, o que resulta em resistência de macrófagos à infecção bacteriana (Zamboni *et al.*, 2006, veja manuscrito anexo). A presente proposta de pesquisa objetiva utilizar uma abordagem integrativa por meio de técnicas modernas de microbiologia celular e molecular para melhor compreender os mecanismos de função de Birc1e e de outros membros dessa emergente família de receptores. Tal abordagem consiste em investigar a interação entre bactéria e célula hospedeira, interferindo tanto em genes celulares quanto em genes bacterianos. Os objetivos específicos incluem: 1) identificação de moléculas microbianas responsáveis pela ativação dos NLR; e 2) determinação da importância e consequências da ativação desses receptores no processo de interação patógeno-célula hospedeira.

911

### Construção de clone infeccioso da dengue tipo 3: ferramenta para estudo da patogenia viral

Victor Hugo Aquino Quintana

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 2005/52364-0  
Vigência: 1/8/2005 a 31/7/2010

A infecção do homem com os vírus da dengue (Denv), que pertencem ao gênero *Flavivirus* da família Flaviviridae, pode ser assintomática ou causar doença que pode variar desde uma síndrome semelhante à gripe (febre da dengue [DF]) até a forma mais grave e algumas vezes fatal, caracterizada por derrame capilar, trombocitopenia, e algumas vezes choque hipovolêmico (febre he-

morrágica da dengue [DHF/DSS]). Os Denv são classificados em quatro sorotipos imunologicamente distintos: Denv1-4. Estudos epidemiológicos têm identificado a reinfeção com um segundo sorotipo e a presença de anticorpos preexistentes contra Denv como fatores de risco para desenvolvimento de DHF/DSS. Também tem sido observado que distintos genótipos dentro de um mesmo sorotipo apresentam diferentes graus de virulência que estariam relacionadas com a presença de diferentes estruturas secundárias nas regiões não codificadoras, bem como nas proteínas estruturais e não estruturais. Recentemente tem aumentado o número de casos de DHF/DSS no Brasil devido, principalmente, à introdução do Denv-3. Este estudo tem por objetivo construir um clone infeccioso de um Denv-3 isolado no Brasil, o qual servirá como ferramenta para estudo da patogenia viral. O clone infeccioso será submetido a mutações na região não codificadora 5' e na região codificadora da proteína E, e os efeitos dessas mutações serão avaliados por testes indiretos *in vitro* e *in vivo*.

### 912 Papel da calcineurina e de espécies reativas de oxigênio na transição dimórfica e viabilidade do fungo patogênico *Paracoccidioides brasiliensis*

Claudia Barbosa Ladeira de Campos  
Universidade do Vale do Paraíba (Univap)  
Processo 2004/15430-1  
Vigência: 1/5/2005 a 31/1/2009

O fungo *Paracoccidioides brasiliensis*, agente etiológico da paracoccidioidomicose, uma das principais micoses profundas do Brasil, apresenta-se sob as formas de micélio e levedura. A transição dimórfica do micélio para levedura ocorre pelo aumento da temperatura de 25°C para 37°C e é um importante fator de virulência. É sugerido que o sistema Ca<sup>2+</sup>/calmodulina/calcineurina seja essencial para o dimorfismo por garantir a manifestação das modificações necessárias para a adaptação do fungo ao aumento de temperatura, sendo que a ausência desse sistema os sensibiliza a qualquer forma de estresse e à morte celular. Postula-se que espécies reativas de oxigênio (EROs) sejam mediadores das lesões causadas pela ausência da resposta protetora do sistema Ca<sup>2+</sup>/calmodulina/calcineurina. Neste projeto, é proposto verificar o papel da calcineurina e de EROs na transição dimórfica e viabilidade de *P. brasiliensis*. Para tal, serão avaliadas se a inibição da calcineurina bloqueia a transição micélio-levedura e induz à morte do fungo, se a oxidase alternativa é regulada pela calcineurina e se atua diminuindo a geração de EROs pela mitocôndria. Será estudada, ainda, a expressão de genes regulados pela calcineurina durante a transição dimórfica. O conhecimento dos processos envolvidos na patogenidade e virulência de *P. brasiliensis* pode

fornecer ferramentas para auxiliar o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas contra esse fungo.

### 913 Vírus da febre amarela: diagnóstico, aspectos moleculares e interferência de RNA

Maurício Lacerda Nogueira  
Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (Famerp)  
Processo 2004/11098-2  
Vigência: 1/9/2005 a 31/8/2009

A febre amarela (YF) é uma doença infecciosa que se mantém endêmica ou enzoótica nas florestas tropicais da América, causando periodicamente surtos isolados ou epidemias de importante impacto para a saúde pública. O objetivo é auxiliar a impedir a reurbanização da febre amarela, por meio da implementação de um sistema de diagnóstico rápido e busca ativa de casos atípicos, e com a formação de um centro de pesquisa e diagnóstico de arboviroses e viroses emergentes. Além do diagnóstico, este centro será também um centro de pesquisa em virologia básica. Na etapa proposta por este projeto, serão estudadas as interações proteína-proteína com NS5 de YF e seus parceiros celulares. O conhecimento dessas interações é de fundamental importância para a nova abordagem proteômica e molecular de *design* racional para drogas. O conhecimento dessas interações e seu papel no ciclo replicativo viral permitirá, no futuro, o desenho de drogas que inibam especificamente uma interação proteína-proteína que seja fundamental para o ciclo replicativo viral. Outro aspecto de virologia básica a ser implementado é a técnica de interferência de RNA. Essa metodologia nos permite uma inibição específica do RNA-alvo. Essa capacidade é especialmente interessante em vírus de RNA como o YF, que podem ser completamente inibidos por essa abordagem. No futuro este sistema pode permitir a geração de mosquitos e mesmo animais resistentes a viroses.

### 914 Avaliação do metabolismo de síntese de PHAMCL e controle de sua composição monomérica

José Gregório Cabrera Gomez  
Instituto de Ciências Biomédicas  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 2003/01602-2  
Vigência: 1/10/2003 a 30/4/2008

Poli-hidroxicanoatos (PHA) são polímeros que despertam grande interesse, pois apresentam propriedades termoplásticas, são biodegradáveis e biocompatíveis e podem ser sintetizados por bactérias a partir de matérias-primas renováveis. A grande diversidade de PHA sinte-