

BIOFÍSICA

089

Identificação e caracterização molecular de proteínas quinases de *Trypanosoma cruzi* para o estudo da comunicação celular, modelagem molecular e desenho de drogas inibidoras: estudo dos parceiros das vias de sinalização focado na invasão de EA

Diana Bahia

Escola Paulista de Medicina

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Processo 2007/50551-2

Vigência: 1/8/2007 a 31/7/2011

As proteínas quinases (PKs) compreendem uma grande família de enzimas que medeiam a resposta de células eucarióticas a estímulos externos. As PKs são moléculas-chave em várias vias de transdução de sinal, em eucariotos; estão envolvidas em diferentes cascatas de sinalização que controlam diversos processos biológicos, tais como a adesão, alteração no citoesqueleto, migração, proliferação, diferenciação, comunicação celular e sobrevivência. A doença de Chagas é causada pelo tripanosomatídeo *Trypanosoma cruzi* e afeta entre 16 e 18 milhões de indivíduos, matando de 10% a 20% dos infectados na América Latina. Há poucas drogas eficazes disponíveis no mercado e estas são bastante tóxicas. A fim de levar a cabo a total erradicação de sua transmissão no continente americano, a Organização Mundial da Saúde (OMS) lista temas de pesquisa prioritários, entre eles novos alvos de drogas e vacinas. Para alcançar o objetivo, uma estratégia racional de desenho de drogas vem sendo desenvolvida, tendo como escopo moléculas envolvidas em transdução de sinal, especificamente PKs. Pouquíssimas PKs foram caracterizadas em *T. cruzi*, apesar de estar comprovado que vias de sinalização são ativadas quando da invasão do parasita no hospedeiro. O presente projeto visa caracterizar, no nível molecular, PKs de *T. cruzi*, notadamente de formas amastigotas extracelulares (EA), bem como achar parceiros nas vias de transdução de sinal dessas quinases visando à elucidação dos mecanismos de infectividade de formas EA de *T. cruzi*. Como evidências mostram que as vias de sinalização dessas formas diferem entre cepas e das outras formas do parasita, o estudo mais aprofundado de quinases em EA já se justifica em termos do entendimento da biologia do parasita e sua relação com o hospedeiro. A identificação e caracterização de moléculas sinalizadoras em EA podem constituir uma maneira de entender o processo biológico e até, futuramente, ser um modelo de como interferir, por meio de desenho de compostos inibidores, na infectividade dessa forma de vida do parasita. Com a recente conclusão dos genomas do chamado complexo *Trityps* – *Trypanosoma brucei*, *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania major* –, as diretrizes científicas serão

alteradas e a genômica funcional será indubitavelmente crucial na identificação de alvos proteicos para a realização de genômica estrutural e desenvolvimentos de novos agentes quimioterápicos.

090

Centro emergente de RMN de biomoléculas

Roberto Kopke Salinas

Instituto de Química

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2006/61091-0

Vigência: 1/6/2007 a 31/5/2011

O projeto envolve o uso de técnicas modernas de RMN aplicadas à solução de estruturas de macromoléculas biológicas e ao estudo de interações entre elas. Também envolve o uso de estratégias computacionais, em especial *docking* e dinâmica molecular, como ferramentas complementares aos estudos experimentais. Entre os sistemas em interesse estão proteínas relacionadas à patogenicidade de *Xanthomonas citri* e a tropomiosina de músculo esquelético. Com relação a *Xanthomonas*, a ideia é compreender os mecanismos moleculares que podem levar à patogenicidade. A compreensão desses mecanismos no nível molecular é essencial para se buscar meios eficientes de combate às infecções causadas em plantas cítricas. No futuro, esse centro emergente de RMN de biomoléculas estará disponível para uma gama ampla de colaborações dentro do próprio instituto e para outros centros de pesquisa na cidade de São Paulo, além de ampliar o pequeno grupo de centros especializados que atuam nessa área no país.

091

Mecanismos de ligação: as células e fusão das membranas do vírus da dengue

Avram Michael Slovic

Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS)

Associação Brasileira de Tecnologia de Luz Síncrotron (ABTLuS)

Ministério da Ciência e Tecnologia

Processo 2006/60664-6

Vigência: 1/9/2007 a 30/11/2008

A febre da dengue é causada por um vírus da família Flavivírus, que infectou mais de 50 milhões de pessoas apenas no ano de 2005 e apresenta maior incidência no Brasil. Apesar de ser um problema epidêmico, não existe vacina nem terapia eficiente para combatê-lo. Os Flavivírus infectam o hospedeiro por meio da fusão de suas membranas com as da célula, a partir de vesículas endocíticas acidificadas, liberando o seu material genético. Apesar das informações estruturais disponíveis sobre a

fusão dessas membranas, ainda existem muitas questões em aberto com respeito aos mecanismos da ligação do vírus às células. Neste projeto, experimentos são propostos para entender melhor os estados intermediários durante a ligação e a entrada do vírus da dengue (DV), correlacionando as estruturas tridimensionais com o mapeamento funcional das interações importantes. Os objetivos serão focados em medidas de interação entre a proteína do envelope do DV e o receptor DC-SIGNR, e em testes de mudanças conformacionais transmembrana, as quais levam à fusão de membranas. Além disso, o projeto prevê a implementação de um ensaio para testar receptores do DV e inibidores da entrada do vírus na célula. Finalmente, será determinada a cinética de fusão de membranas dos Flavivírus brasileiros ainda não caracterizados do grupo do vírus da encefalite japonesa JEV, visando correlacionar mutações naturais na proteína E dos JEV com pH e composição lipídica com a fusão.

092

Estudos estruturais de *docking* e de dinâmica molecular aplicados à inibição enzimática de cisteinoproteases por organocalcogênicos

Mauricio Angel Vega Teijido
Faculdade de Ciências de Bauru
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2006/56078-4
Vigência: 1/6/2007 a 31/5/2010

Este projeto visa à realização, em paralelo, de duas linhas de pesquisa que confluem em uma linha mais abrangente: 1) estudos químico-quânticos aplicados a compostos organocalcogênicos (principalmente S, Se e Te) com ênfase em derivados halogenados; e 2) a modelagem dos complexos de inibição de cisteinoprotease catepsina B por organocalcogênicos. Algumas doenças em que a inibição da catepsina B seria proveitosa são artrite reumatoide, osteoporose, distrofia muscular e metástase tumoral. Nos estudos teóricos serão usadas metodologias relativísticas e estudos teóricos da densidade eletrônica para tentar caracterizar as interações observadas (covalentes, iônicas, interações secundárias etc.). Essas propriedades de ligação dos calcogênicos são de grande interesse científico pelas suas aplicações à química supramolecular, ao desenho de novos materiais e, neste caso, ao estudo dos complexos de inibição da catepsina B. Nos estudos de modelagem dos complexos organocalcogênio-catepsina B (e, em paralelo, da catepsina K) serão usadas as metodologias de *docking* e dinâmica molecular, procurando-se ter uma visão mais geral dos fatores estruturais que influem no mecanismo de inibição e, dessa forma, ter informações fundamentais que orientem o desenho de inibidores de maior especificidade e atividade biológica em catepsina B.

093

Estudo das relações quantitativas entre a estrutura e a atividade de inibidores da purinanucleosídeo-fosforilase de *Schistosoma mansoni*, da gliceraldeído-3-fosfatodesidrogenase glicossomal de *Trypanosoma cruzi* e da adenina-fosforibosiltransferase de *Leishmania tarentolae*

Adriano Defini Andricopulo
Instituto de Física de São Carlos
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2002/03144-9
Vigência: 1/11/2002 a 31/10/2006

Os objetivos principais deste projeto são os estudos das relações quantitativas entre a estrutura e a atividade de inibidores da purinanucleosídeo-fosforilase de *Schistosoma mansoni*, da gliceraldeído-3-fosfatodesidrogenase glicossomal de *Trypanosoma cruzi* e da adenina-fosforibosiltransferase de *Leishmania tarentolae*, compostos candidatos a protótipos de novos fármacos no tratamento quimioterápico da esquistossomose, doença de Chagas e leishmaniose, respectivamente. Para a realização de nossos objetivos, planeja-se a criação de amplos conjuntos-padrões de dados para inibidores das enzimas-alvos. Esses conjuntos, contendo os dados de estrutura e atividade inibitória correspondentes, organizados e classificados, serão a base científica para os estudos de modelagem molecular e o desenvolvimento de modelos de QSAR/QSAR 3D, empregando diferentes abordagens e metodologias de QSAR. Os modelos preditivos de QSAR/QSAR 3D, uma vez criados, serão úteis para o planejamento e desenho estrutural de novas moléculas que possuam propriedades farmacoterapêuticas otimizadas, capazes de representar novas entidades químicas, candidatas a protótipos de novos fármacos na quimioterapia segura das doenças infecto-parasitárias de interesse neste projeto.

094

Modulação artificial da diferenciação neuronal e função de receptores por oligonucleotídeos sintéticos atuantes nos níveis gênico e proteico

Alexander Henning Ulrich
Instituto de Química
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2001/08827-4
Vigência: 1/3/2002 a 31/8/2007

A linhagem P19 derivada de teratocarcinoma murino será utilizada como modelo de diferenciação neuronal *in vitro*. Mediante tratamento com agentes químicos em protocolos bem estabelecidos, tais células expressam (com cinéticas definidas) uma variedade de marcadores moleculares de diferenciação neuronal e comportam-se como