

Abordará a relação dessa atividade com a associação a membranas, bem como a caracterização das espécies radicalares intermediárias e das espécies excitadas geradas como produto final das reações. O estudo da atividade peroxidática de citocromo c também envolverá o desenvolvimento de biossensores e a caracterização dessa atividade peroxidática quanto a parâmetros cinéticos. Além de produtores de espécies pró-oxidantes, os citocromos serão também estudados como alvo das mesmas, nesse sentido será investigada a relação entre as alterações produzidas nos citocromos e sua participação no fenômeno de apoptose. Futuramente, os estudos serão estendidos a citocromo c modificado quimicamente e modificado por mutações sítio-dirigidas, bem como a outros citocromos respiratórios, especialmente citocromo c-oxidase.

099

### Estudo de materiais biocompatíveis: biocerâmicas e biovidros

Norberto Aranha

Instituto de Química de Araraquara  
Universidade Estadual Paulista (Unesp)  
Processo 1996/11263-5  
Vigência: 1/7/1997 a 31/12/2000

Um dos grandes avanços da medicina nas últimas décadas foi a possibilidade de reparar e/ou substituir partes do corpo humano por materiais pré-fabricados. Atualmente não se pode imaginar a medicina moderna sem utilizar materiais como metais, polímeros, carbono vítreo, biovidros em implantes. A pesquisa desses novos materiais tem aumentado nos últimos anos devido à sua grande importância no campo da ciência, na tentativa de torná-los cada vez mais biocompatíveis. Podemos dividir os biomateriais basicamente em dois grupos: primeiramente, temos os materiais biocompatíveis que constituirão o corpo da prótese, ou seja, darão a forma e a resistência mecânica desejadas. O segundo grupo, denominado de materiais bioativos, tem como finalidade interagir com o ambiente ao redor da prótese, caso, por exemplo, dos filmes de hidroxiapatita, permitindo desse modo a formação de tecido humano sobre a prótese, evitando a rejeição por parte do organismo. Nesse contexto, nosso trabalho destina-se ao estudo e desenvolvimento de biocerâmicas e biovidros e, em uma segunda etapa, à produção de filmes bioativos para recobrimento de próteses utilizadas em implantes. Portanto, as etapas a serem desenvolvidas serão: 1) síntese de biocerâmicas e biovidros por meio do processo de fusão, testando diferentes composições; 2) caracterização desses materiais por diferentes técnicas; 3) estudo de filmes finos bioativos, testando algumas rotas de produção existentes para escolher a mais adequada; e 4) testes de biocompatibilidade mediante medidas de bioatividade.

100

### Investigação da relação entre estrutura e função em fosfolipase lisina 49

Richard John Ward

Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto  
Universidade de São Paulo (USP)  
Processo 1996/11165-3  
Vigência: 1/9/1997 a 31/8/2001

As fosfolipases A2 (PLA2) catalisam a hidrólise de pontes ácido-éster na posição sn-2 dos fosfolipídeos, liberando ácidos graxos e lisofosfolipídeos. Esses produtos de hidrólise servem como substratos para a produção de ácido aracadônico e têm um padrão na regulação da resposta inflamatória e agregação de plaquetas. Tais funções regulatórias fazem com que as PLA2 sejam um alvo em potencial para a intervenção química no tratamento de doenças como artrite. Nesse sentido, o entendimento das interações proteína/lipídeo é essencial para o desenvolvimento de novos medicamentos. As PLA2 apresentam um alto grau de homologia, no nível de sequência de aminoácidos, e as comparações das diferentes sequências de aminoácidos revelaram que os resíduos envolvidos no sítio ativo são conservados. O resíduo Asp49 mostrou estar envolvido na ligação de cálcio, o que serve como um cofator na catálise e, na ausência deste íon, as PLA2s são inativas. Varias PLA2 foram isoladas a partir de venenos de serpentes *Bothrops* que perderam ou apresentam atividade catalítica extremamente baixa, e as sequências de aminoácidos dessas PLA2s revelaram que o Asp49 está substituído por uma lisina. A consequência dessa substituição é a perda da capacidade de ligação do cofator Ca<sup>2+</sup>, o que leva à ausência de atividade catalítica. Apesar de não apresentar atividade enzimática, a interação da PLA2-Lys49 com lipossomos de composição lipídica variada provoca uma liberação rápida do conteúdo aquoso dos lipossomos. Este processo é independente de íons cálcio e ocorre sem hidrólise fosfolipídica detectável. Utilizando a BthTxI de *Bothrops jararacussu* como um sistema-modelo, pretendemos investigar as bases estruturais do mecanismo que resulta em dano à membrana por PLA2-Lys49, combinando técnicas de biologia molecular e espectralfluorimetria. O sistema de expressão de BthTxI em *E. coli*, bem como o protocolo de purificação da proteína recombinante encontram-se estabelecidos. No presente projeto, pretendemos empregar mutagenese sítio-dirigida para gerar mutações pontuais na BthTxI. Após a obtenção de proteínas mutantes purificadas, os efeitos causados pelas mudanças na estrutura e na função da proteína serão avaliados utilizando-se diferentes técnicas de fluorescência. Bicamadas lipídicas artificiais foram muito usadas em estudos de interações entre proteínas e membranas. Lipossomas apresentam um modelo de membrana com as vantagens da simplicidade de preparação, facilidade para variar a composição de membrana e flexibilidade