

Isaias Glezer

Instituto de Química
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2007/53732-8
Vigência: 1/11/2008 a 31/10/2012

O Sistema Nervoso Central (SNC) é dotado de uma notável capacidade de interpretar informações sensoriais e organizar comportamentos necessários à sobrevivência do indivíduo e da espécie em ambientes complexos. No entanto, lesões no SNC são geralmente irreversíveis devido à limitada capacidade regenerativa desse tecido. Outro aspecto importante é o fato de as células da glia (isto é, não nervosas) participarem ativamente no processo pós-lesão no SNC, com resposta inflamatória particularmente restrita. Atualmente, é sugerido que condições específicas podem determinar se a neuroinflamação contribui de forma negativa ou positiva nos processos neurodegenerativos. A proposta de pesquisa em questão visa avaliar como diferentes padrões de expressão gênica e respostas celulares ligadas à resposta imune inata podem relacionar-se com uma melhor ou pior recuperação nervosa. Para esse fim, serão empregados métodos moleculares, bioinformáticos e histológicos para a identificação de genes e células-alvo com respostas características mediante as condições de melhor ou pior regeneração celular/funcional. Uma vez selecionados os genes candidatos, seus papéis no contexto serão examinados empregando-se técnicas de superexpressão e interferência de RNA (RNAi) *in vivo* (transdução lentiviral) e camundongos transgênicos ou *knockouts*; com subsequentes análises de expressão gênica, histológicas e comportamentais. Complementarmente, em função da triagem gênica, estarão disponíveis várias informações relativas aos padrões celulares de expressão de certos genes, incluindo os de genes específicos a certos circuitos encefálicos. Isso permite a avaliação da função e conectividade de certos neurônios por meio do uso de promotores de tais genes em construções virais/transgênicas. Similarmente, a função de genes específicos da glia pode ser investigada em diferentes contextos. Estas propostas em conjunto auxiliam a desvendar os mecanismos moleculares com o potencial de reforçar ou de degenerar o tecido nervoso, bem como a proporcionar um estudo complementar neurofisiológico por meio de manipulações genéticas/moleculares.

111

Simulação computacional em bioquímica: estrutura eletrônica de agregados polinucleares em metaloenzimas e ligação de inibidores a proteínas tirosina-fosfatases

Guilherme Menegon Arantes
Instituto de Química
Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2007/52772-6
Vigência: 1/1/2008 a 31/12/2010

Simulação computacional em bioquímica é uma área de pesquisa incipiente no Brasil e, em particular, no Estado de São Paulo. Este projeto visa ampliar o enfoque nessa área, desenvolvendo novos métodos e aplicando metodologias consolidadas em um problema relevante. A proposta é implementar um novo método baseado em função de onda multiconfiguracional que permitirá cálculos de estrutura eletrônica de compostos com muitos elétrons desemparelhados, como, por exemplo, agregados de ferro-enxofre encontrados como grupos prostéticos em metaloenzimas. Atualmente, não existe um método geral e confiável para tratar esses sistemas, portanto, o novo método permitirá a exploração de temas inéditos em bioquímica inorgânica. Ao mesmo tempo, propõe-se estudar os mecanismos de ligação de inibidores de proteínas tirosina fosfatases. Estas são enzimas-chave na sinalização e regulação de processos celulares e alvos potenciais para o tratamento de doenças como câncer e diabetes. Serão utilizados métodos computacionais de perturbação estatística para estimar a energia livre de ligação de moléculas pequenas às proteínas tirosina-fosfatases com o objetivo de otimizar racionalmente a potência e a seletividade dos inibidores conhecidos e sugerir novos compostos líderes para o desenvolvimento de fármacos.

112

Estresse oxidativo, apoptose e sinalização celular em células alveolares do tipo II: um modelo para estudos sobre os efeitos biológicos da poluição atmosférica

Helotônio Carvalho
Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)
Campus Diadema
Processo 2007/51744-9
Vigência: 1/6/2008 a 31/5/2012

A poluição atmosférica é um grave problema das grandes metrópoles, sendo responsável por um grande número de infecções respiratórias, pelo agravamento de condições alérgicas e de doenças cardiovasculares, além de estar associada ao câncer de pulmão. Apesar de o Proconve ter estabelecido medidas para a redução dos níveis de missões de veículos novos, que contribuíram para baixar consideravelmente as missões, o tamanho da frota em cidades como São Paulo ainda é responsável por altos níveis de poluição. Uma fração considerável dos poluentes atmosféricos, incluindo material particulado, é capaz de gerar espécies reativas de oxigênio (EROs) quando inalados. Essas espécies altamente reativas podem causar danos ao DNA, proteínas e membranas celulares, e culminar na morte da célula, que pode se manifestar na forma de apoptose. A proteína p53 possui um papel central no

controle de vários processos celulares, incluindo apoptose. A importância de p53 no controle das várias funções celulares é atestada pelo fato de mutações em p53 serem encontradas em aproximadamente metade dos casos de câncer. O propósito deste projeto é estudar o processo de apoptose desencadeado por material particulado e por estresse oxidativo em células alveolares do tipo II humanas (A549), a fim de determinar o papel da proteína p53 e de proteínas controladas por p53 com importante papel em apoptose como Bax, Puma, Noxa, FasR, DR5, FDXR, PIG3 e PIG8. Esses estudos serão realizados utilizando as técnicas de *Western blot* e PCR em tempo real. Os resultados obtidos poderão nortear tratamentos futuros para distúrbios cardiopulmonares causados por poluição atmosférica.

113 **Abordagem proteômica para a expressão proteica diferencial entre culturas primárias de ilhotas pancreáticas humanas e linhagens celulares de insulinomas humanos**

Letícia Labriola
Instituto de Química
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2007/51474-1
Vigência: 1/3/2008 a 28/2/2010

O *diabetes mellitus* tipo 1 é uma enfermidade de incidência crescente no mundo. Com o intuito de melhorar a qualidade de vida dos pacientes, o transplante de ilhotas surgiu como alternativa de tratamento. No entanto, o transplante clínico ainda está limitado pela escassez de órgãos. Portanto, um estudo mais aprofundado dos mecanismos envolvidos na proliferação e na função diferencial das células- β pancreáticas permitiria identificar moléculas essenciais nesses processos e atuar decisivamente na proliferação *ex-vivo* dessas células. Para perseguir este objetivo, seria necessário dispor de um modelo celular mais estável, atualmente inexistente. Por esse motivo, no laboratório da profa. dra. Mari C. Sogayar estamos terminando a caracterização de três linhagens celulares derivadas de insulinomas humanos, por meio de um projeto com o Hospital Angel H. Roffo, de Buenos Aires. O presente trabalho destina-se a estudar os perfis proteicos de ilhotas pancreáticas humanas e de insulinomas humanos, utilizando a técnica de eletroforese bidimensional, acoplada à espectrometria de massa. O desenvolvimento deste projeto gerará informações importantes para permitir aprimorar a quantidade e a qualidade das células disponíveis para o transplante de ilhotas pancreáticas, assim como o desenvolvimento de ferramentas para fornecer outros métodos de detecção e ou tratamento desse tipo de tumor.

114 **Análise funcional e estrutural de proteínas antioxidantes dependentes de tióis: uma investigação de mecanismos moleculares de catálise e da formação de complexos proteicos contendo dissulfetos mistos**

Marcos Antonio de Oliveira
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Campus Experimental do Litoral Paulista
Processo 2007/50930-3
Vigência: 1/10/2007 a 30/9/2011

Tiorredoxinas peroxidases (Tpxs) são capazes de decompor H_2O_2 , peróxidos orgânicos e peroxinitritos, utilizando cisteínas altamente reativas como redutores. A maioria das TPxs utiliza tiorredoxina (Trx) como redutor. NADPH, por sua vez, reduz Trx em reação catalisada por tiorredoxina redutase (Trr). A transferência de elétrons entre essas proteínas ocorre através de pares de cisteínas presentes nos sítios ativos de cada proteína e substituições de uma dessas por serinas levam à formação de complexos unidos por dissulfetos mistos intermoleculares. Trabalhos recentes apontam o envolvimento de TPxs na sinalização celular, seja por meio do estabelecimento de dissulfetos mistos com MAP quinases, seja pela modulação dos níveis celulares de H_2O_2 . Adicionalmente, sob determinadas condições, as TPxs apresentam forte oligomerização que lhes confere a função de chaperona. Este projeto tem por objetivo a análise funcional de TPxs (e relacionadas) e de seus sistemas redutores em *Saccharomyces cerevisiae* e *Xylella fastidiosa*, por meio de estudos bioquímicos e determinação da estrutura 3D por meio de cristalografia de raios X de proteínas e complexos. Adicionalmente, serão determinados por espectrometria de massas, novos parceiros proteicos envolvidos na sinalização por H_2O_2 capazes de formar dissulfetos mistos com as TPxs. A caracterização estrutural e funcional dessas proteínas deve resultar em um melhor entendimento de seus mecanismos moleculares de ação e auxiliar na criação de quimioterápicos para o combate a patógenos como, no caso, de *X. fastidiosa*.

115 **Análise proteômica diferencial em *Xanthomonas axonopodis*: proteínas e genes de interesse biotecnológico**

Maria Teresa Marques Novo
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)
Processo 2007/50910-2
Vigência: 1/6/2009 a 31/5/2013

Este projeto visa a análise proteômica diferencial entre três estirpes da bactéria fitopatogênica *Xanthomonas axonopodis* (Xa) e a detecção de proteínas-alvo de inte-