

129

Genoma funcional do cancro cítrico: estudo de interações patógeno-planta

Júlio Cezar Franco de Oliveira

Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal
Universidade Estadual Paulista (Unesp)
Processo 2004/02006-7
Vigência: 1/9/2004 a 31/8/2009

Visa-se a utilização de abordagens experimentais complementares para o estudo do cancro cítrico, uma doença causada pela bactéria fitopatogênica *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* (XAC). Utilizando tecnologia genômica, serão investigados os perfis de transcriptoma (análise por *microarrays*) e proteoma (eletroforese 2D e espectrometria de massa) da bactéria em condição não infectante, e durante o desenvolvimento da bactéria em planta hospedeira, para a bactéria selvagem e para mutantes comprometidos na indução de sintomas típicos de cancro. Genes considerados importantes para a patogenicidade terão as respectivas proteínas expressas em *E. coli*, cristalizadas e analisadas estruturalmente. A partir das proteínas expressas serão obtidos anticorpos úteis na investigação bioquímica. A interação planta-patógeno será ainda investigada por meio de microscopia óptica (luz visível e fluorescência), com o objetivo de estudarmos as respostas celulares da planta frente à bactéria selvagem, a mutantes e à *X. a. aurantifolli* estirpe C (XAA-C), que induz resposta de resistência (HR) em laranjeira. A resposta da planta será estudada ainda a partir de bibliotecas substrativas. Os dados obtidos para a XAC serão utilizados para a análise genômica comparativa entre XAC (genoma sequenciado) e XAA-B e XAA-C (em fase final de sequenciamento completo dos genomas).

130

Especificidade e mecanismo de catálise das oligopeptidases neurolisina, timet oligopeptidase e neprilisina: estudos de cinética enzimática associados a mutações sítio-dirigidas

Vitor Marcelo Silveira Bueno Brandão de Oliveira

Escola Paulista de Medicina
Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)
Processo 2003/13350-8
Vigência: 1/9/2004 a 31/8/2008

A proteólise é vista atualmente como um mecanismo essencial nos processos biológicos, desde o desenvolvimento até o metabolismo. E o eventual desequilíbrio de vias proteolíticas tem clara implicação em doenças. As enzimas responsáveis pela proteólise são as peptidases (proteases ou proteínases), especializadas em catalisar a hidrólise de ligações peptídicas. Entre as peptidases, existem enzimas especializadas em degradar pequenos peptídeos (peptídeos contendo menos de 30 aminoácidos), denominadas oligopeptidases.

O presente projeto de pesquisa tem como tema central o estudo das oligopeptidases timet oligopeptidase (TOP, EC 3.4.24.15), neurolisina (EC 3.4.24.16) e neprilisina (NEP, EC 3.4.24.11). Há estudos realizados sobre a especificidade das oligopeptidases, TOP, neurolisina e neprilisina. Para esses estudos tem sido fundamental o uso de substratos sintéticos com supressão intramolecular da fluorescência. Pretende-se agora empregar mutação sítio-dirigida em associação com substratos sintéticos com supressão intramolecular da fluorescência para investigar detalhes do mecanismo pelo qual as oligopeptidases atuam sobre seus substratos – uma etapa fundamental para o entendimento de suas funções nos organismos vivos, bem como para a geração futura de inibidores e substratos específicos.

131

Clonagem e caracterização de transportadores de aminoácidos em *Trypanosoma cruzi*: uma abordagem pós-genômica

Ariel Mariano Silber

Instituto de Ciências Biomédicas
Universidade de São Paulo (USP)
Processo 2003/13257-8
Vigência: 1/9/2004 a 28/2/2009

As doenças causadas por tripanossomos constituem um problema de saúde relevante nas Américas, África e na região tropical e subtropical do planeta. Na maior parte dos casos, as terapias são ineficientes e as probabilidades de cura são baixas. Porém, a terapia é um elemento essencial para o controle dessas doenças infecciosas e a descoberta de novas drogas contra organismos dos gêneros *Trypanosoma* e *Leishmania* constituem objetivos de pesquisa considerados relevantes. Está demonstrada na literatura a participação dos aminoácidos na diferenciação e no metabolismo energético nesses parasitas. É importante destacar o fato de que os processos de transporte constituem um primeiro passo para o metabolismo dos aminoácidos e, portanto, tornam-se alvos alternativos importantes para o desenho de drogas. Nesse contexto, chama a atenção o fato de haver poucos estudos na literatura sobre transporte de aminoácidos. Até o presente, não foi caracterizada em nível molecular, nesses organismos, nenhum transportador de aminoácidos. No presente projeto, propõe-se caracterizar em níveis bioquímico e molecular os genes codificantes de transportadores de prolina e glutamato do *Trypanosoma cruzi* e procurar análogos de seus substratos com potencial terapêutico. Dependendo do andamento do projeto, a estratégia proposta será estendida a outro parasita importante, *Leishmania spp.*

132

***Plasmodium berghei* como modelo para o estudo da variação antigênica em malária**