

Os objetivos deste projeto são identificar e caracterizar polipeptídeos hormonais em plantas de cana-de-açúcar que funcionem como sinais intra e intercelulares associados à defesa e ao desenvolvimento vegetal. A sistemina, um polipeptídeo de 18 aminoácidos envolvido na transdução de sinais em resposta à injúria, foi identificada em várias solanáceas. No entanto, em fumo, a sistemina só foi encontrada com a utilização do ensaio de alcalinização. Este ensaio tem-se mostrado útil na identificação de novos polipeptídeos tais como o Ralf. Além das sisteminas e do Ralf, outros polipeptídeos (por exemplo, fitossulfoquinas, Enod40, Clavata3 e SCRs) foram identificados em plantas. Embora o projeto Sucest tenha revelado apenas a existência de homólogos ao Enod40, a presença de homólogos envolvidos na via de sinalização em resposta à injúria e a ubiquidade de alguns polipeptídeos (por exemplo, fitossulfoquinas e Ralf) sugerem a existência de polipeptídeos semelhantes em cana-de-açúcar. O número crescente de polipeptídeos e a diversidade dos processos fisiológicos em que eles estão envolvidos são provas da sua importância e das potenciais aplicações de tais descobertas no melhoramento vegetal. O plano de trabalho a ser adotado envolve o estabelecimento do ensaio de alcalinização, o isolamento de polipeptídeos e a caracterização funcional dos genes precursores dos polipeptídeos em cana-de-açúcar.

135

Controle redox de expressão gênica: caracterização de redes regulatórias e seu envolvimento na diferenciação de células-tronco (*stem cells*)

Oswaldo Keith Okamoto

Instituto Israelita de Ensino e Pesquisa Albert Einstein
Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Albert Einstein
(Sibibae)

Processo 2002/01826-5

Vigência: 1/12/2002 a 30/11/2006

Neste projeto, pretende-se investigar os eventos moleculares associados à perpetuação e diferenciação de células-tronco (*stem cells*) em estudos de genômica funcional. Uma vez que essa diferenciação é modulada pelo estado redox celular, parte-se do princípio de que espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO/ERN) ativam vias de sinalização e/ou eventos transcricionais específicos, culminando na regulação da expressão de grupos de genes (*regulons*), os quais podem exercer importante função nesse processo celular. Assim, propomos a caracterização de padrões globais de expressão gênica em células indiferenciadas e diferenciadas, expostas a ERO e ERN, visando à identificação de genes cuja expressão é alterada nas distintas condições experimentais. Esse papel sinalizador das ERO/N será investigado por meio das oscilações que estas causam no transcriptoma de células-tronco, como as derivadas de cordão umbilical e tecido germinativo em-

brionário, utilizando cDNA *microarrays*. Propomos ainda uma análise dos promotores dos genes redox-regulados na busca de elementos cis associados a fatores de transcrição que, juntamente com seus genes-alvo, servirão de substrato para a elaboração de redes regulatórias transcricionais. Essa organização hierárquica auxiliará na compreensão dos sinais de ativação, elementos regulatórios e genes envolvidos na diferenciação de células-tronco.

136

Desenho racional de inibidores contra DHODH (diidroorotato desidrogenase) e aplicações no tratamento da doença de Chagas e no combate à praga do amarelinho

Maria Cristina Nonato

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto
Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2001/14583-0

Vigência: 1/7/2002 a 31/8/2007

O presente projeto visa à determinação da estrutura cristalográfica e a modelagem de inibidores da enzima diidroorotato desidrogenase (DHODH) proveniente de dois diferentes organismos: *Trypanosoma cruzi* (TcDHODH), parasita causador da doença de Chagas, e *Xylella fastidiosa* (XfDHODH), uma bactéria fitopatogênica responsável pela “Praga do amarelinho”. DHODH pertence a um dos mais antigos processos metabólicos, a via de síntese de novo de nucleotídeo de pirimidinas, fundamental não somente na síntese de DNA e RNA, mas também em glicólise e biossíntese de lipídeos de membrana. DHODH atua no quarto passo dessa via metabólica e é responsável pela conversão de diidroorotato em orotato. DHODH utiliza o mononucleotídeo flavina (FMN, C17H21N4O9P1) como cofator, para promover a oxidação de diidroorotato, enquanto FMN é reduzido. A enzima DHODH foi identificada como sendo o alvo farmacológico de uma série de compostos químicos e naturais, tais como isoxazol, triazina, ácido cinchonínico e derivados de quinona. Estes compostos interferem em reações descontroladas do sistema imune, auxiliam no combate de infecções parasitárias, como malária, e em terapias antivirais através da diminuição da concentração intracelular de nucleotídeos de pirimidinas. No presente momento, existe um grande interesse em investigar inibidores de DHODH como agentes terapêuticos no tratamento de doenças que envolvem grande proliferação celular e/ou parasitária. Neste contexto, o projeto propõe a modelagem racional de inibidores baseado na estrutura cristalográfica de dois novos membros das DHODHs: diidroorotato desidrogenase do parasita *Trypanosoma cruzi* (TcDHODH) e da bactéria *Xylella fastidiosa* (XfDHODH). A presença da via de biossíntese de novo de pirimidinas em ambos os organismos foi recentemente identificada e a inibição da mesma pode ser uma importante arma no combate à pro-