

137

Toxinas e antitoxinas naturais: isolamento, caracterização bioquímica funcional e estrutural

Andreimar Martins Soares

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

Processo 2001/07486-9

Vigência: 1/10/2002 a 28/2/2007

O projeto descreve o estudo sistemático de toxinas de venenos de serpentes e antitoxinas de origem animal em níveis bioquímico, funcional e estrutural. Propõe-se o isolamento de proteases e fosfolipases A2 de venenos de serpentes do gênero *Bothrops* (*B. jararacussu* e *B. pirajal*), efetuando-se a caracterização bioquímica (grau de pureza, peso molecular, ponto isoelétrico, composição em aminoácidos e sequência N-terminal) e funcional (atividades tóxicas, farmacológicas e enzimáticas) dessas proteínas. Em nível molecular, propomos: 1) a clonagem e o sequenciamento do inibidor de miotoxinas homólogas a PLA2s e do complexo antibotrópico (CAB) a partir do RNA total extraído do fígado de serpente *Bothrops jararacussu* e do gambá *Didelphis albiventris*; 2) a clonagem, o sequenciamento e a expressão de fosfolipases A2 ácidas a partir da glândula de veneno de *Bothrops jararacussu* com potencial aplicação farmacológico (inibidora de agregação plaquetária e hipotensiva); e 3) algumas das toxinas isoladas por métodos bioquímicos a partir dos venenos serão selecionadas e terão suas estruturas primárias elucidadas por biologia molecular. Portanto, o projeto estabelece diferentes objetivos multidisciplinares que poderão contribuir na íntegra para o melhor entendimento do mecanismo de ação de algumas toxinas de venenos de serpentes e inibidores naturais, ambos de grande potencial biotecnológico.

138

Aspectos moleculares na interação entre mosquito e plasmódios

Paulo Eduardo Martins Ribolla

Instituto de Biociências de Botucatu
Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Processo 2001/06647-9

Vigência: 1/1/2002 a 30/6/2006

O projeto pretende estudar aspectos moleculares da interação entre os mosquitos (anofelinos neotropicais, *Anopheles darlingi*, *Anopheles albitarsis* e *Anopheles aquasalis*) e plasmódios causadores da malária no Brasil (*Plasmodium falciparum* e *Plasmodium vivax*) sobre três aspectos: 1) estudo das enzimas digestivas e outras secreções do trato digestivo de mosquitos fêmeas e suas interações com os parasitas; purificação e caracterização das secreções do trato digestivo de fêmeas alimentadas com sangue; caracterização dos genes para as proteínas

secretadas e obtenção de suas regiões promotoras para possível utilização em mosquitos geneticamente modificados refratários aos parasitas; 2) geração de peptídeos inibitórios da invasão do epitélio do trato digestivo e das glândulas salivares pelos parasitas com a utilização de bibliotecas de fagos expressando peptídeos aleatórios; os fagos selecionados com afinidade por estes dois órgãos serão caracterizados e os peptídeos por eles expressos serão utilizados em ensaios de inibição da invasão do trato digestivo e das glândulas salivares; estes peptídeos poderão ser utilizados em mosquitos geneticamente modificados refratários ao parasita; 3) estudo populacional de *Anopheles darlingi* em comunidades ribeirinhas de Rondônia pela seleção e caracterização de microssatélites; após a seleção e caracterização dos microssatélites, estes serão utilizados para a comparação de mosquitos coletados em diferentes horas do dia e diferentes locais (intra-domiciliar, peridomiciliar) da comunidade ribeirinha de Portuchuelo (Rondônia), onde estudos sobre a malária já vêm sendo realizados por outros pesquisadores do Departamento de Parasitologia da USP.

139

Desenvolvimento corporal dos camundongos nocautes para os receptores B1 e B2 de cininas

Ronaldo de Carvalho Araújo

Escola Paulista de Medicina

Universidade Federal de São Paulo (Unifesp)

Processo 2001/03409-0

Vigência: 1/11/2001 a 30/6/2006

O sistema caliceína-cinina está envolvido em importantes eventos fisiológicos como o controle da pressão arterial, mediação da dor, captação de glicose no músculo esquelético e também na contração ou relaxamento do estômago e intestino delgado. Esses efeitos são mediados por dois receptores distintos denominados B1 e B2. O receptor B2 de cininas é constitutivo, estando presente em diversos órgãos. Em condições normais, o receptor B1 é expresso no trato gastrointestinal e no sistema nervoso central. Apesar da presença nesses órgãos, esse receptor é considerado um receptor inflamatório, pois sua expressão está aumentada em processos de injúria. Recentemente, por meio de técnicas de manipulação genética, nós geramos camundongos deficientes para o receptor B1 de cininas (PNAS, 2000). Inesperadamente, foi observado um desenvolvimento anômalo com maior peso corporal, maior ingestão alimentar e maior teor de gordura corporal nos nocautes B1. A diferença do peso corporal foi acentuada em animais idosos. O projeto tem como finalidade estudar os mecanismos envolvidos na obesidade dos camundongos nocaute do receptor B1 e avaliar o desenvolvimento dos nocautes para o receptor B2.