

140 Estratégias de regulação transcricional em produção e expressão de retrovírus

Bryan Eric Strauss

Instituto do Coração (InCor)

Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina/USP

Processo 2000/12156-5

Vigência: 1/11/2001 a 31/10/2007

A terapia genética é um método de tratamento promissor, mas fugidio, que pode se mostrar capaz de interromper a progressão de tumores. Vetores retrovirais foram desenvolvidos como agentes de transferência genética, pois são seguros, não provocam uma resposta imunológica e são facilmente modificados. O estudo e o desenvolvimento contínuo desses vetores são necessários para superar dificuldades associadas à produção e à expressão de vírus. Pretendo desenvolver um sistema de produção de vírus que protegerá a linhagem celular produtora de vírus dos ataques de um gene citostático ou citotóxico viralmente codificado e evitará a mutação para esse gene, enquanto permite o crescimento dessas células em grandes quantidades e por períodos prolongados de tempo. Isso será concretizado pelo desenvolvimento de um sistema de produção de vírus induzível. A segunda área deste projeto é desenvolver um vetor retroviral que tenha expressão *in vivo* direcionada e aumentada. Pretendo desenvolver vetores retrovirais que contenham elementos reguladores modificados na região U3 do LTR, de modo que a expressão viral seja dirigida por fatores característicos da célula-alvo (expressão regulada) por um fator codificado no próprio vírus (expressão aumentada). Um objetivo futuro deste projeto é combinar essas ideias para a produção e expressão de vírus. Se forem bem-sucedidas, essas modificações de produção e expressão retroviral poderão ser desenvolvidas em testes clínicos para o tratamento de câncer.

141 Mosquitos geneticamente modificados: possíveis aplicações no controle da transmissão de malária e dengue

Margareth de Lara Capurro Guimarães

Instituto de Ciências Biomédicas

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2000/12138-7

Vigência: 1/6/2001 a 31/3/2006

O projeto trabalha com a hipótese de que mosquitos geneticamente manipulados podem ser utilizados no bloqueio ou na redução da transmissão de doenças transmitidas pelos mesmos. O objetivo desta estratégia é aumentar a frequência, em uma população de mosquitos, de um gene que interfira no desenvolvimento ou na propagação das enfermidades. Como resultado, espera-se a redução ou eliminação da transmissão dos patógenos ao hospedeiro

humano. Utilizar-se-ão ferramentas de biologia molecular na síntese de genes que, incorporados no genoma do mosquito, resultarão em mosquitos refratários e/ou não transmissores dos patógenos. O projeto apresentado tem os seguintes objetivos gerais: 1) clonagem e caracterização de genes expressos em corpos gordurosos de *Aedes aegypti*, *Anopheles aquasalis* e *Anopheles darlingi*, assim como de suas regiões promotoras e regulatórias; 2) análise e caracterização de proteínas de hemolinfa de *Ae. aegypti*, *An. aquasalis* e *An. darlingi* que possam interferir na interação parasita-hospedeiro; 3) obtenção de anticorpos recombinantes com atividade de bloqueio da transmissão de malária humana; 4) modelagem de anticorpos recombinantes com atividade de bloqueio da transmissão da dengue.

142 Estudo do bloqueio do fator de início de tradução de eucariotos 5A (eIF5A): abordagem estrutural e bioquímica

Claudio Miguel da Costa Neto

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 2000/11397-9

Vigência: 1/5/2001 a 31/7/2006

O fator de início de tradução de eucariotos (eIF5A) é a única proteína conhecida que contém o aminoácido hipusina. A função de eIF5A ainda não é bem conhecida, mas este fator está associado com o início de tradução, trânsito nucleocitoplasmático, decaimento de mRNA e proliferação celular. A enzima Pkc1p de *S. cerevisiae* está envolvida na fosforilação da desoxi-hipusina sintase, responsável pelo primeiro passo da formação pós-traducional de hipusina. Pkc1p está associada ainda com a regulação do ciclo celular e controle negativo da formação de ribossomos, ação coordenada por receptores de membrana WSCs. A expressão em alto número de cópias dos genes de Pkc1p e de receptores WSCs suprimiu o fenótipo temperatura-sensível de um mutante de eIF5A em leveduras. Neste estudo, pretende-se determinar a primeira estrutura cristalográfica de eIF5A de eucariotos e realizar estudos conformacionais do peptídeo que contém o sítio de hipusinação. A interação genética entre os genes de Pkc1p e eIF5A também será investigada. Por último, será analisado o efeito sinérgico de inibidores de hipusinação combinados com drogas de ação anticancerígena. Espera-se contribuir para a compreensão das vias de ação de eIF5A e, logo, dos mecanismos envolvidos no controle da proliferação celular.

143 Estudo das regiões do promotor do P450c17 humano que contêm sequências de reconhecimento do NF1 e do SF1: análise dos determinantes da atividade funcional e as implicações na especificidade