

146

Complexo telomérico de *Leishmania spp.*: dinâmica da replicação, otimização da purificação da telomerase e identificação de possíveis componentes da holoenzima

Maria Isabel Nogueira Cano

Instituto de Biologia

Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)

Processo 2000/01138-6

Vigência: 1/8/2000 a 31/10/2005

Este projeto visa à implantação do Laboratório de Biologia Molecular de Microrganismos no IB/Unicamp. Para dar início às atividades no laboratório, propomos estudos sobre a dinâmica da replicação das sequências teloméricas de protozoários do gênero *Leishmania*. Pretendemos determinar o perfil de TRF (*telomere restriction fragment*) e estimar o tamanho do terminal 3' *G-overhang* nos diferentes pontos do ciclo celular e otimizar a purificação bioquímica da enzima telomerase. Extratos com atividade enzimática serão utilizados para identificarmos candidatos a componente da holoenzima, a padronização de ensaio convencional de telomerase e a identificação da sequência-molde no componente telomerase RNA (TER).

147

Análise funcional dos mecanismos reguladores da transcrição e amplificação em pufes de DNA

Nadia Monesi

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 1999/12787-6

Vigência: 1/11/2000 a 28/2/2005

Os pufes de DNA formados nos cromossomos politênicos da glândula salivar de *Sciaridae* são sítios de amplificação e intensa atividade transcricional reguladas no desenvolvimento. O presente projeto trata da caracterização dos mecanismos moleculares que regulam tais processos nessas regiões do genoma. O projeto tem dois objetivos gerais. O primeiro é a caracterização fina do promotor do gene BhC4-1 de *B. hygida*, cuja regulação tecidual e temporal se mostrou conservada em linhagens transgênicas de *Drosophila* (MONESI *et al.*, 1998). Esta parte do projeto envolve o estabelecimento de novas linhagens transgênicas de *Drosophila*, a realização de ensaios funcionais nessas linhagens, bem como a realização de ensaios de retardamento em gel. O segundo objetivo é o estabelecimento de um sistema que permita a identificação de regiões funcionalmente importantes para a amplificação. Duas abordagens são consideradas: a) a análise de linhagens de *Drosophila* transformadas com um fragmento de 17kb do pufe de DNA C3 de *Rhynchosciara* americana, que contém a região de início da replicação

utilizada no processo de amplificação; b) ensaios transitórios em núcleos da glândula salivar de *B. hygida* por meio da injeção de construções contendo o fragmento de 17kb do pufe de DNA C3.

148

Aplicação dos princípios de evolução *in vitro* em estudos de função e estrutura da hipoxantina-guanina-fosforribosil-transferase de *Leishmania tarentolae*

Otavio Henrique Thiemann

Instituto de Física de São Carlos

Universidade de São Paulo (USP)

Processo 1998/14979-7

Vigência: 1/4/1999 a 31/3/2004

As leishmanioses estão dentre as mais devastadoras doenças humanas. No entanto, não se possui uma medida de tratamento eficiente e segura dos indivíduos infectados. Esses organismos se destacam por serem auxotróficos para purinonucleotídeos. Com a finalidade de desenvolver novas formas de quimioterapia, a via de recuperação se apresenta como uma ideia candidata a esse fim. Objetivando complementar a pesquisa em andamento, pretendemos empregar técnicas de evolução *in vitro* (DNA *shuffling*) para a seleção de mutantes do gene HG-PRT de *Leishmania*. Esses serão sequenciados e estudos cinéticos serão realizados. As enzimas mutadas poderão ser posteriormente cristalizadas e sua estrutura resolvida. Essa informação levará a um melhor entendimento do mecanismo de catálise e ao desenho de inibidores.

149

Fator de iniciação de tradução de eucariotos – 5a(eIF-5A) e o metabolismo de RNA mensageiro

Sandro Roberto Valentini

Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Processo 1998/14948-4

Vigência: 1/3/1999 a 29/2/2004

O eIF-5A, fator de iniciação de tradução de eucariotos-5A, está associado com várias etapas do metabolismo de RNA, incluindo a tradução e a degradação dos RNAs mensageiros. Esse fator é bastante conservado entre as diferentes espécies, apresenta características exclusivas e é essencial para o crescimento celular. Apesar de a função ainda não ser conhecida, esse fator está associado com a tradução de RNA mensageiros envolvidos na transição G1-S do ciclo celular, com o transporte nucleocitoplasmático dos mensageiros tardios de HIV e com a estabilização de RNAs mensageiros. O objetivo geral deste projeto é elucidar a função biológica desse fator, usando *S. cerevi-*