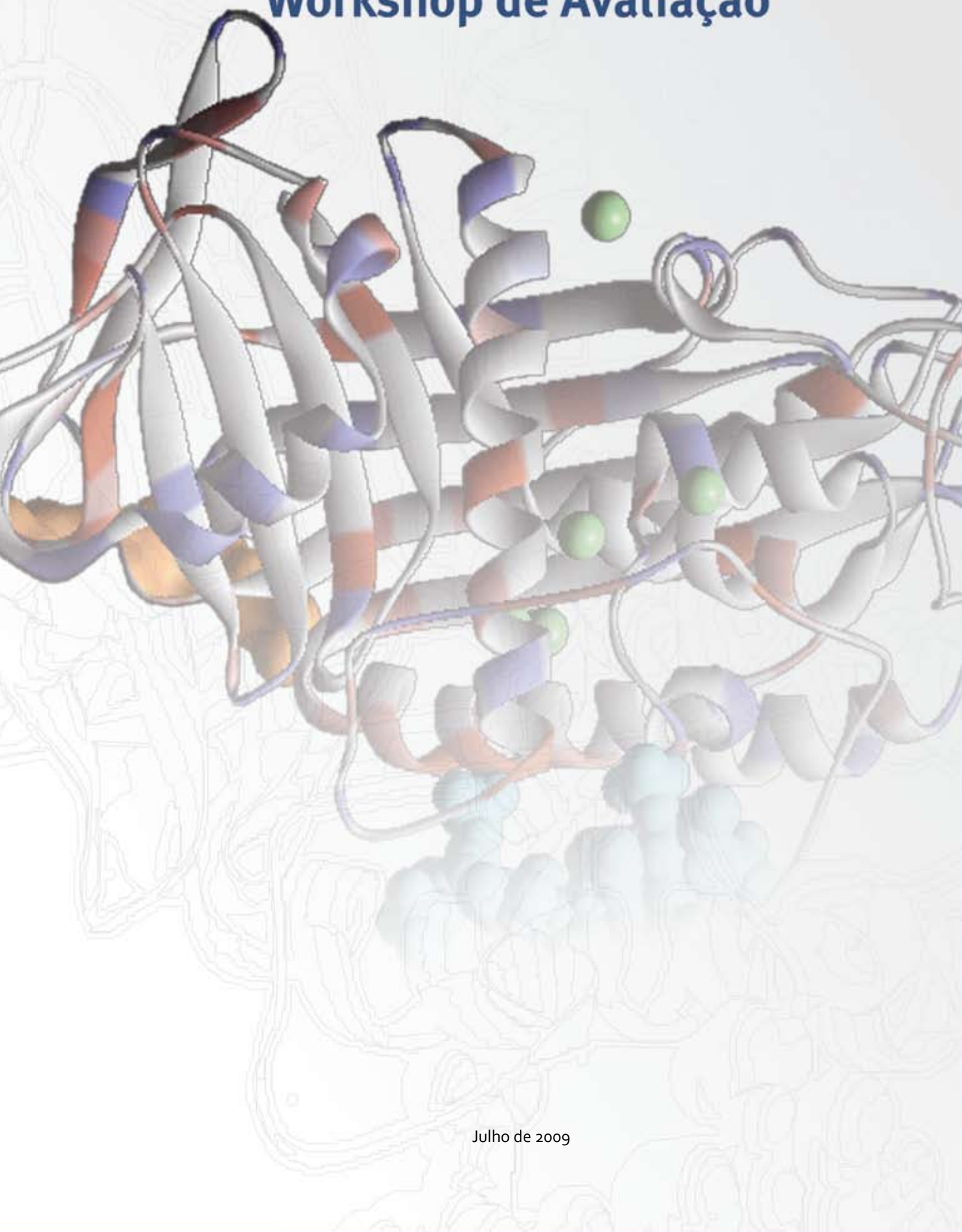


Programa GENOPROT

Workshop de Avaliação



Julho de 2009

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Ministro

Sergio Machado Rezende

Secretário Executivo

Luiz Antonio Rodrigues Elias

Secretário de Políticas e Programas de Pesquisa e Desenvolvimento

Luiz Antônio Barreto de Castro

Coordenador Geral de Biotecnologia e Saúde

Paulo José Péret de Sant'Ana

PARTICIPANTES DO WORKSHOP DE AVALIAÇÃO DO PROGRAMA GENOPROT, 4 E 5 DE DEZEMBRO DE 2008

Gestores:

Luiz Antonio Barreto de Castro – MCT

Paulo José Péret de Sant'Ana – MCT

Andréa Nascimento de Araújo – MCT

Maria Lúcia Horta de Almeida – FINEP

Carlos Almeida – FINEP

Pesquisadores:

Adriana Silva Hemerly

Adriano Monteiro de Castro Pimenta

Alan Carvalho Andrade

Alessandro Riffel

Ana Maria Abrantes Coelho

Artur Luiz Silva

Augusto Schrank

Carlos Priminho Pirovani

Célia Maria de Almeida Soares

Cirano José Ulhôa

Edmundo Carlos Grisard

Eliane Abdelhay

Elizabeth Pacheco Batista Fontes

Fabio César Gozzo

Fábio de Oliveira Pedrosa

Hernan Terenzi

Jorge Luis López-Lozano

Lewis Joel Greene

Marcelo Menossi Teixeira

Maria Emília Machado Telles Walter

Maria Risoleta Freire Marques

Marie-Ane Van Sluys

Natália Martins

Paulo Mascarello Bisch

Renata de Bastos Ascenço Soares

Robert Neil Gerard Miller

Rodrigo Guerino Stabeli

William Lee Burnquist

Avaliadores:

Carlos Bloch Júnior

Fernando Araripe Gonçalves Torres

Genaro Ribeiro de Paiva

Georgios Joannis Pappas Júnior

Giancarlo Pasquali

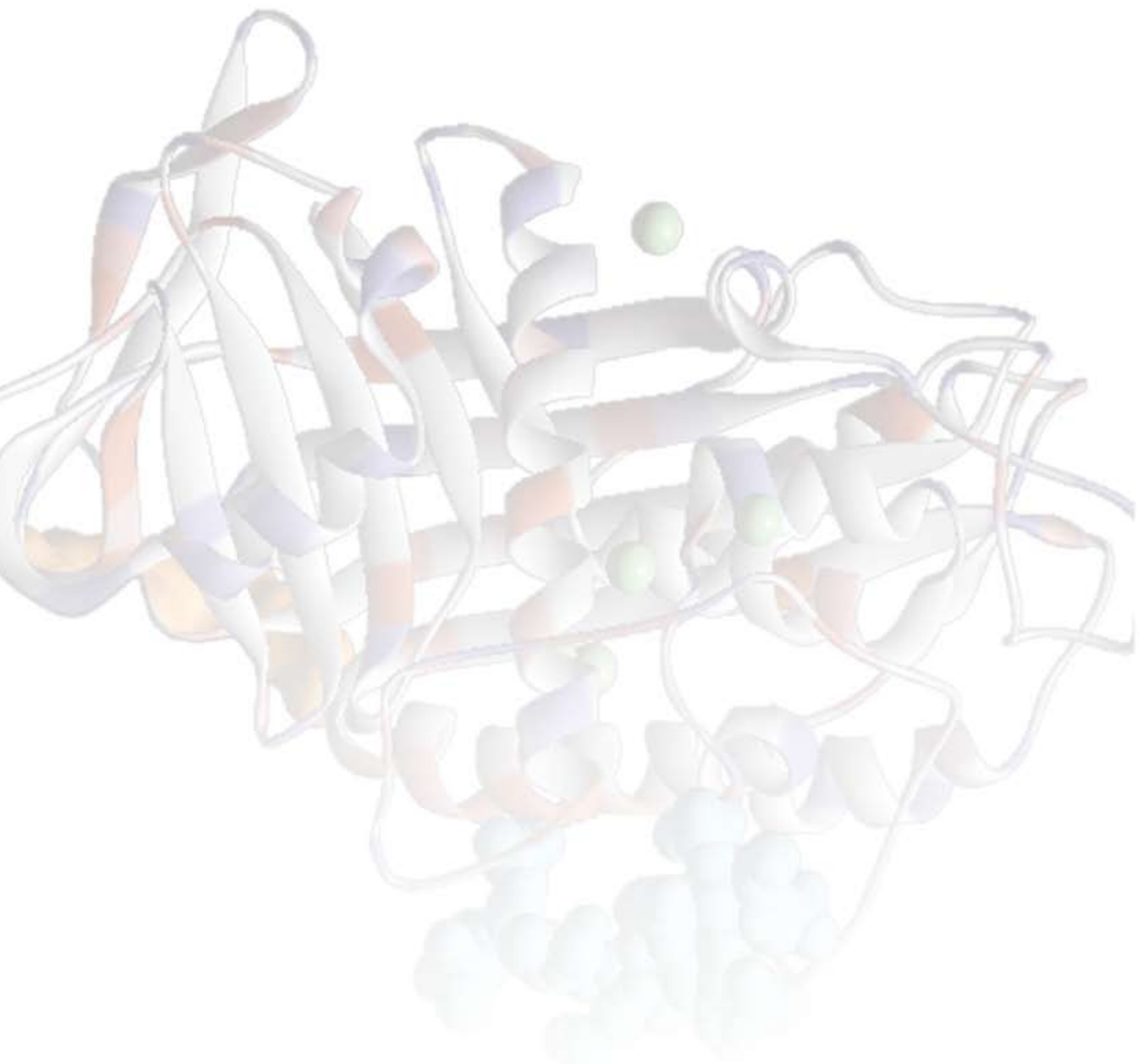
Sandro José de Souza

Organização:

Andréa Nascimento de Araújo

Sumário

Apresentação	5
1. Histórico do Programa GENOPROT	7
a) 1º Período (2003-2005)	7
b) 2º Período (2005-2007)	7
c) 3º Período (2007-atual)	8
2. Áreas de atuação	8
a) Capacitação de recursos humanos	8
b) Projetos financiados	8
3. Workshop de avaliação do Programa GENOPROT	10
4. Considerações finais	11
Apêndice A	12
Quadro 1 - Projetos de pesquisa apoiados durante o primeiro período do GENOPROT (Rede Nacional de Proteoma)	12
Quadro 2 - Projetos apoiados durante o segundo período GENOPROT	12
Quadro 3 - Projetos contratados em resposta à Chamada Pública MCT/Finep/Ação Transversal - Rede GENOPROT - 08/2007, terceiro período do GENOPROT..	13
Apêndice B	14
Lista das Instituições de Ciência e Tecnologia envolvidas nos projetos GENOPROT	14
Anexo A	16
Resumos dos Projetos Financiados pelo Programa GENOPROT	16
Anexo B	111
Relatórios dos Consultores sobre a Avaliação do Programa GENOPROT	125



Apresentação

O GENOPROT é um programa do Ministério da Ciência e Tecnologia – MCT que visa promover o avanço do conhecimento nas áreas de Genômica e Proteômica. O resultado final desta iniciativa é obter genes caracterizados funcionalmente, atualmente variável, de grande limitação para o desenvolvimento da engenharia genética em nosso País.

A compreensão da interação das redes funcionais, estabelecidas entre as proteínas e genomas associados e os dados gerados pela expansão da Genômica no país, possibilitará a produção de novos conhecimentos científicos fundamentais para o desenvolvimento biotecnológico de novos produtos de interesse econômico e social no Brasil.

O Brasil ingressou na era genômica no início da década. Como marco deste esforço inicial histórico, o artigo de capa na Revista Nature, de Julho de 2000, apresenta a seqüência do primeiro patógeno de plantas - Xylella fastidiosa, uma doença de citrus. Nos últimos seis anos, foram financiados pelo MCT 34 projetos, no valor de R\$ 28 milhões. Inicialmente, não houve nos financiamentos, preocupação em combinar projetos na área Genômica e Proteômica. Portanto, era inevitável que os esforços na área genômica não encontrassem consequência na área proteômica e vice versa. O termo GENOPROT objetivou estabelecer um vínculo entre os projetos em genômica, como iniciativas relacionadas aos produtos da expressão gênica e suas funções.

O Workshop que realizamos em 2009, revela fatos importantes deste esforço do MCT. Utilizamos uma metodologia de avaliação simples, convidando todos os coordenadores de Projetos para apresentarem seus resultados publicamente. Convidamos ainda, cinco Consultores Ad Hoc para proceder a avaliação de todos os projetos. Suas observações preciosas estão no final do documento. O documento de avaliação em seu Sumário Executivo revela que os projetos envolveram 82 instituições, em quatorze Estados, de Norte a Sul do País. Trezentos e setenta alunos participaram dos projetos. Cerca de 75% dos projetos aglutinaram quatro ou mais instituições de C&T. Entre os temas abordados, câncer em saúde humana e cana de açúcar em agricultura predominaram fruto possivelmente de esforços anteriores nas duas áreas, realizados pelo Instituto Ludwig em câncer e através do projeto SUCEST, financiado pela FAPESP em cana de açúcar. Outras áreas importantes foram objeto de interesse, particularmente stress biótico e abiótico em plantas. No sentido de garantir a eficácia do programa e a solução de problemas regionais ou nacionais, por meio da geração de novos produtos e processos biotecnológicos, recomendações foram feitas pelos Consultores Ad Hoc, algumas das quais destacamos nesta Introdução:

- Apoio à manutenção de equipamentos necessários para as áreas de Genômica e Proteômica;
- Apoio à nucleação e ao fortalecimento de grupos da área de desenvolvimento de bioinformática;
- Integração de redes de pesquisa existentes com o programa GENOPROT, como por exemplo, Rede Brasileira de Pesquisas sobre o Câncer, Rede Dengue, Rede Malária ou Ridesa, o que incentivaria ainda mais a colaboração entre pesquisadores de projetos já financiados que abordam os mesmos temas;
- Realização de um estudo sobre o estado da arte da Genômica e Proteômica no Brasil, para subsidiar a proposição de um edital, voltado para a solução de problemas relevantes para a sociedade brasileira, utilizando-se os conhecimentos de Genômica e Proteômica e incentivando-se a participação do setor produtivo no desenvolvimento dos projetos.

Muitos projetos ainda não têm produção científica, visto que o último Edital ocorreu em 2007 e financiou 19, dos 34 projetos citados. A produção científica dos projetos, que foram objeto de Editais anteriores, é bastante satisfatória, ressaltando-se que três pedidos de patentes resultaram de projetos financiados pelo GENOPROT. Portanto, esta avaliação é parcial, mas demonstra que a iniciativa merece apoio adicional. Convidamos à leitura deste documento de avaliação, prática pouco exercitada quando recursos públicos são alocados em P&D.

Secretário Luiz Antônio Barreto de Castro

Programa Genoprot

O GENOPROT é um programa do Ministério da Ciência e Tecnologia – MCT, executado também pela Financiadora de Estudos e Projetos – FINEP, para promover o avanço do conhecimento nas áreas de Genômica e Proteômica. A compreensão da interação das redes funcionais estabelecidas entre as proteínas e genomas associados e os dados gerados pela expansão da Genômica no país, possibilitará a produção de novos conhecimentos científicos fundamentais e permitira o desenvolvimento biotecnológico de novos produtos de interesse econômico e social.

O investimento realizado pelo MCT no financiamento de 34 projetos de pesquisa do programa atingiu cerca de R\$ 28 milhões e foi apoiado pelos Fundos Setoriais de Agronegócios, Biotecnologia e Saúde. Contou ainda com contrapartida dos governos estaduais envolvidos nas duas primeiras fases do programa.

1. Histórico do Programa GENOPROT

O Programa GENOPROT passou por três períodos distintos, com diferentes modos de implementação de projetos e formas de organização dos grupos de pesquisa envolvidos.

a) 1º Período (2003-2005)

O primeiro período do GENOPROT tinha como objetivos principais a capacitação de recursos humanos e a indução da formação de grupos de pesquisa em Proteômica, por meio de redes estaduais de laboratórios de pesquisa interligadas pelos laboratórios centrais.

Nessa fase foram financiadas 13 redes estaduais (ver Apêndice A, Quadro 1 e resumos do Anexo A), envolvendo 55 Instituições de Ciência e Tecnologia (ICTs) e cerca de 70 laboratórios de pesquisa, Figura 1. O investimento total do MCT em projetos desse período foi de R\$ 5,2 milhões.

Nesse período, com o objetivo de expandir nacionalmente a competência em Proteômica, o MCT e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq financiaram 20 cursos em técnicas fundamentais de Proteômica que resultaram na capacitação de cerca de 230 pessoas de todo o Brasil.

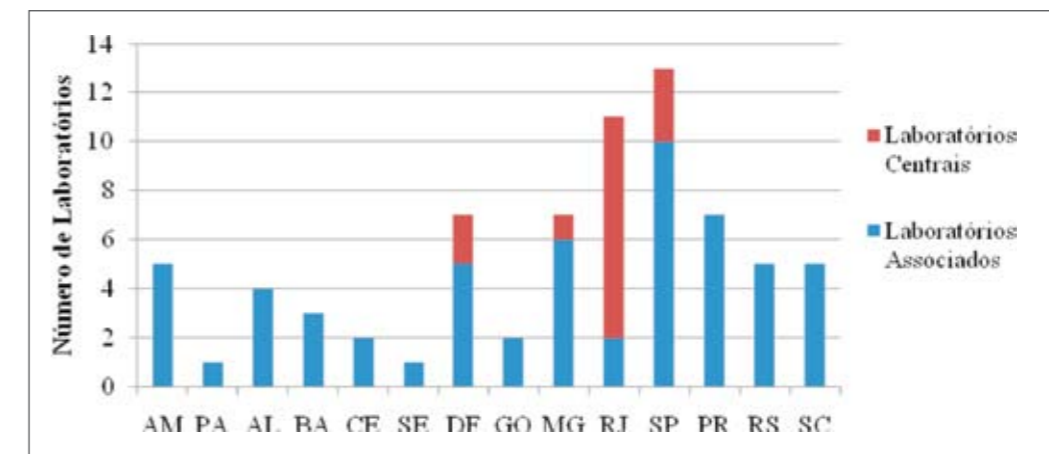


Figura 1: Distribuição por estado dos laboratórios de pesquisa participantes da Rede Nacional de Proteoma, inclusive os laboratórios centrais.

b) 2º Período (2005-2007)

No final de 2005, a estrutura da rede foi reformulada com a extinção do papel dos laboratórios centrais. O foco dos estudos também foi modificado passando-se a dar maior ênfase aos problemas regionais e à utilização de dados gerados pelos estudos genômicos desenvolvidos no país. Contudo, a pesquisa nesse período continuou sendo realizada pelas redes estaduais. A rede nesta nova formatação foi denominada GENOPROT.

Seis propostas que apresentaram conformidade com a nova estrutura da rede e compromisso financeiro estadual foram contratadas (ver Apêndice A, Quadro 2 e resumos do Anexo A). A contrapartida estadual variou de acordo com o PIB de cada estado. O investimento do MCT nessa fase atingiu R\$ 6,3 milhões.

c) 3º Período (2007-Atual)

Em 2007, o Comitê Gestor do Fundo Setorial de Biotecnologia decidiu pelo lançamento de edital para o financiamento de novos projetos, uma vez que o Brasil já possuía competência técnica em Proteômica.

A chamada pública teve como objetivo apoiar a formação e o fortalecimento de grupos consorciados, por meio de financiamento a projetos de pesquisa interdisciplinares, de modo a induzir a compreensão de processos epigenéticos, processos de controle da expressão gênica, estudo de proteínas e suas funções, incluindo fatores que regulam a transcrição, marcadores biológicos de processos celulares normais, patológicos ou de estresse, que possam ser usadas para geração de novos produtos e processos biotecnológicos, cujo potencial de aplicação se caracterize em avanço nas áreas de saúde humana, saúde animal, agricultura, indústria, ou meio ambiente, em parceria com empresas públicas ou privadas.

O edital recebeu 68 propostas, sendo 19 projetos delas aprovadas (ver Quadro 3 do Apêndice A e resumos do Anexo A), com investimento total do MCT de R\$ 17,6 milhões.

2. Áreas de atuação

a) Capacitação de recursos humanos

O Programa GENOPROT vem contribuindo para a formação e o fortalecimento de grupos de pesquisa nas áreas de Genômica e Proteômica, visto que o desenvolvimento dos projetos envolve cerca de 370 alunos de diversos níveis de escolaridade, Figura 2, e resultou na publicação em periódicos, até dezembro de 2008, de cerca de 200 artigos científicos.

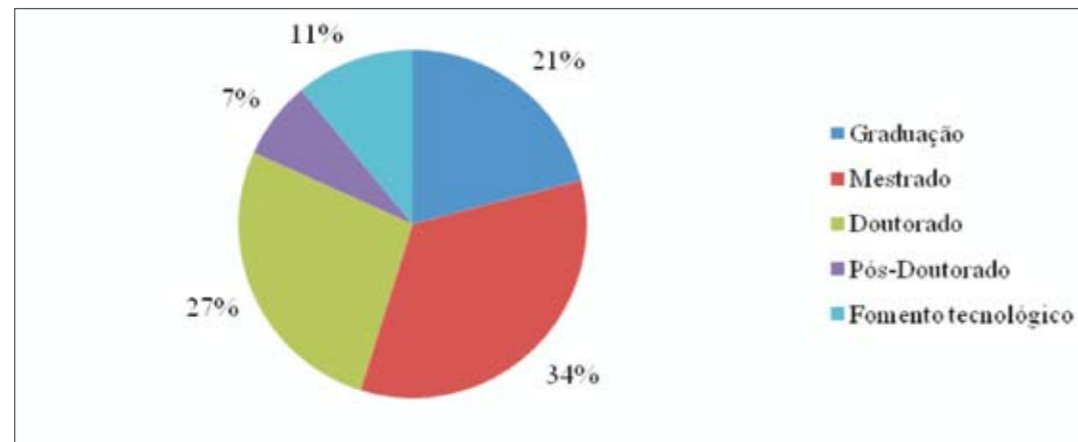


Figura 2: percentual de recursos humanos envolvidos em projetos do Programa GENOPROT, em nível de escolaridade.

b) Projetos financiados

O GENOPROT foi capaz de induzir a associação entre diferentes grupos de pesquisa, uma vez que 73,5% dos projetos envolvem quatro ou mais ICTs; entretanto, a análise sobre os temas abordados evidencia a convergência de alguns projetos, particularmente aqueles que abordam estresse hídrico em plantas (cana-de-açúcar), câncer e interação patógeno-hospedeiro, o que indica a necessidade de se induzir maior interação entre diferentes grupos de pesquisas, respeitando-se, porém, a saudável concorrência entre iniciativas dentro de mesmas linhas de pesquisa.

O número de projetos liderados por pesquisadores das Regiões Norte e Nordeste diminuiu ao longo do programa, enquanto a porcentagem de projetos liderados por pesquisadores da Região Centro-Oeste aumentou significativamente, conforme mostrado na Figura 3. Esse fato pode indicar uma possível imaturidade dos grupos de pesquisa do Norte e Nordeste para a proposição de projetos na área de Proteômica e a necessidade de capacitação de recursos humanos daquelas Regiões.

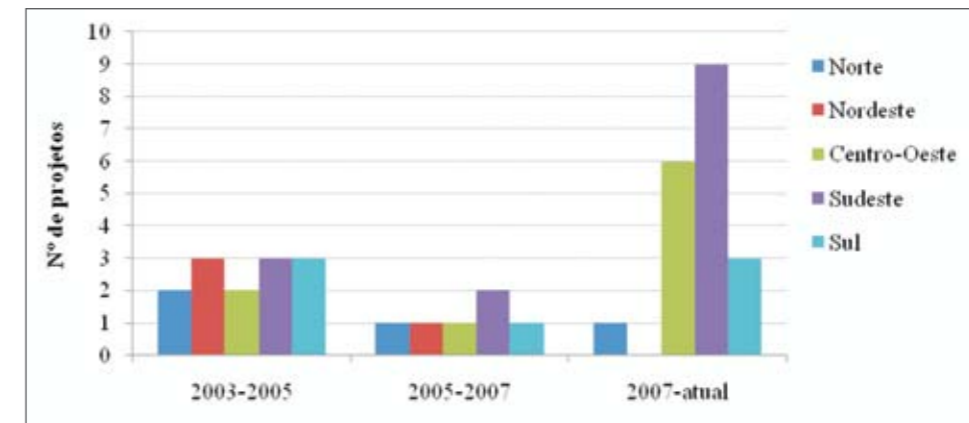


Figura 3 – Distribuição regional de líderes dos projetos de pesquisa financiados pelo Programa GENOPROT. Até o momento, três projetos do programa renderam depósitos de pedidos de patentes, enquanto outros indicam a possibilidade de gerar avanços importantes e promissores para a biotecnologia.

ICTs participantes

Os 34 projetos do programa são desenvolvidos por pesquisadores de 82 ICTs distintas (Apêndice B), localizadas em todas as regiões do país.

Dessas 82 ICTs envolvidas no programa, 11 vem participando desde o início do GENOPROT, especialmente, os laboratórios da UFRJ, UFMG, UnB e Embrapa/Cenargen que já possuíam competência e infra-estrutura para desenvolverem pesquisas avançadas em Proteômica desde o início do programa.

Podemos citar as Redes Proteoma de Santa Catarina e Paraense de Genômica e Proteômica como exemplos da indução da formação de centros de excelência que permitiram o estabelecimento de competência aos pesquisadores de seus respectivos estados.

A participação de ICTs das Regiões Norte e Sul diminuiu ao longo do programa, Figura 4, indicando que algumas instituições dessas regiões enfrentaram dificuldades em permanecer no GENOPROT¹. Por outro lado, houve um aumento considerável da participação de ICTs localizadas na Região Centro-Oeste. Nos casos específicos dos Estados do Paraná, do Rio Grande do Sul e do Ceará houve descontinuidade dos trabalhos desenvolvidos inicialmente, uma vez que, após o término da vigência de seus projetos, das 11 instituições que compunham aquelas Redes Estaduais, somente três desenvolvem projetos na fase atual.

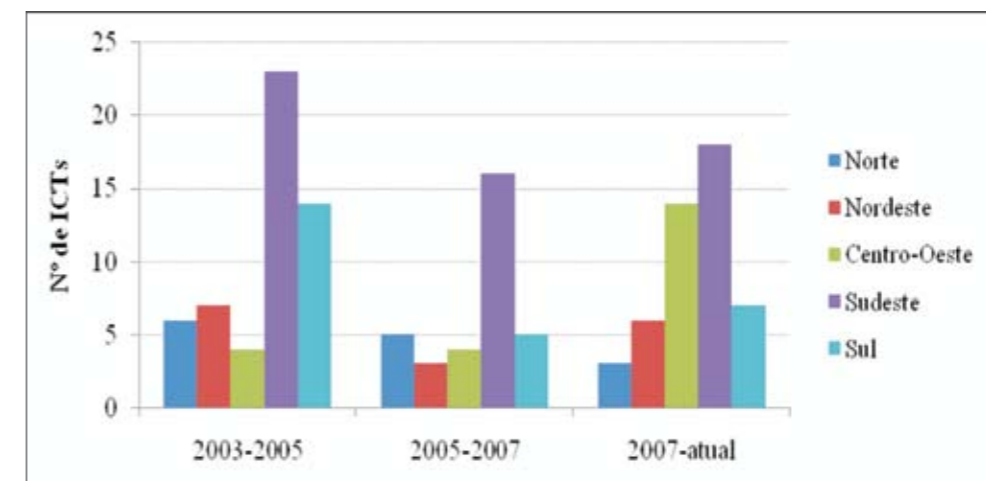


Figura 4 – Número de ICTs participantes nos três períodos do Programa GENOPROT.

A maioria das 82 ICTs envolvidas no GENOPROT (54%) participa no desenvolvimento de apenas um projeto, enquanto 23% participam de dois projetos. Em contrapartida, a USP e a UFRJ estão envolvidas em oito projetos cada, a Unicamp em sete e a UFPE em seis. O Cenargen, a UFV, a UFG, o IOC/Fiocruz, a USP de Ribeirão Preto e a UFSC participam de cinco projetos cada uma.

¹ A Rede do Distrito Federal se ressentiu da falta de contrapartida estadual, o que impossibilitou o financiamento de seus projetos durante o primeiro período de programa. O mesmo ocorreu com as Redes Estaduais do Paraná e do Rio Grande do Sul, durante o segundo período do programa.

3. Workshop de avaliação do Programa GENOPROT

Os 34 projetos que fazem parte do Programa GENOPROT foram agrupados sob os temas: agropecuária (16), saúde humana (10), e multidisciplinar (8); e foram avaliados durante workshop realizado em dezembro de 2008, em Brasília, DF. O evento foi coordenado pelo Dr. Luiz Antonio Barreto de Castro, Secretário de Políticas e Programas de Pesquisa e Desenvolvimento do MCT, e contou com a participação de 27 líderes de pesquisa, ou de seus representantes, e ainda com a participação de dois representantes da Finep.

Na oportunidade os coordenadores dos projetos apontaram tanto problemas relacionados aos trâmites burocráticos do sistema, como atraso na liberação de recursos ou da contrapartida estadual; licitação para compra de equipamentos ou materiais; importação de equipamentos e materiais; e “engessamento” do orçamento dos projetos, como problemas enfrentados com relação à manutenção e up grade de equipamentos e à carência de recursos humanos na área de bioinformática. Relataram ainda a dificuldade enfrentada junto ao Conselho de Gestão do Patrimônio Genético – CGEN para obtenção de autorização para acesso a componente do patrimônio genético brasileiro, que acarretou grande atraso na contratação de um dos projetos apoiados.

Com relação à FINEP, seu representante esclareceu que os problemas imputados à agência devem-se principalmente à obrigatoriedade de cumprimento da legislação em vigor, principalmente o que determina a Instrução Normativa da Secretaria do Tesouro Nacional n.º 1, de 15 de janeiro de 1997 e o que determinava o Acórdão 2731/2008 do Tribunal de Contas da União, que proibiu as agências de fomento de firmarem contratos e convênios com as Fundações de apoio às Instituições Federais de Ensino Superior para financiamento de projetos de pesquisa.

Quanto aos problemas relacionados ao CGEN, o MCT propôs o credenciamento do CNPq como instituição reconhecida para autorizar o acesso aos componentes do patrimônio genético para fins de pesquisa científica e tecnológica e a revisão e atualização das normas infralegais expedidas pelo CGEN.

A comissão de avaliação foi composta pelos pesquisadores:

- A comissão de avaliação foi composta pelos pesquisadores:
- Carlos Bloch Júnior – Cenargen;
- Fernando Araripe Gonçalves Torres – UnB;
- Genaro Ribeiro de Paiva – Cenargen;
- Georgios Joannis Pappas Júnior – Cenargen;
- Giancarlo Pasquali – UFRGS; e
- Sandro José de Souza – Instituto Ludwig.

De forma geral, os consultores concluíram que o Programa GENOPROT vem induzindo o estabelecimento e o fortalecimento de competências regionais nas áreas de Genômica e Proteômica e vem mostrando-se como importante ação de continuidade de investimentos federais (íntegra dos pareceres no Anexo B).

Entretanto, os consultores consideraram a abordagem escolhida pela maioria dos grupos, a análise comparativa entre estados metabólicos contrastantes, um indicativo de que os estudos proteômicos no Brasil encontram-se ainda em estágio inicial. Por isso, a continuidade do programa deve focar aqueles projetos que apresentarem possibilidades consistentes de inovação tecnológica, com forte estímulo à parceria com o setor produtivo.

Os consultores também apontaram para a necessidade de adoção de medidas para:

- apoiar a manutenção preventiva e o up grade de equipamentos de grande porte adquiridos por meio do GENOPROT;
- criar Institutos Nacionais de Ciência e Tecnologia sobre estresse biótico e abiótico em plantas, ou sobre o sistema de estresse em plantas, uma vez que 11 dos 16 projetos da área de agropecuária apoiados pelo GENOPROT tratam de estresse biótico ou abiótico em plantas;
- estimular a colaboração entre projetos sobre a mesma temática;
- estimular a criação de centros de nucleação ou cursos de especialização (360h) em bioinformática;
- estimular à utilização de equipamentos por regime de comodato;
- estimular e apoiar a apresentação para empresas de carteira de projetos com potencial comprovado para o desenvolvimento de produtos;

- estimular o compartilhamento da infra-estrutura para o uso de grandes equipamentos – estruturação de centros multiusuários ou de plataformas para uso comum;
- lançar editais para o financiamento de novos projetos ou para o financiamento da continuação de projetos bem avaliados cuja vigência tenha terminado; e
- realizar acompanhamento e avaliação periódicos dos projetos financiados.

4. Considerações finais

A avaliação dos dados apresentados durante o workshop indica que, no longo prazo, os resultados deste programa deverão ter impactos positivos nas áreas de saúde humana e animal, agricultura e meio ambiente.

No sentido de garantir a eficácia do programa e a solução de problemas regionais ou nacionais por meio da geração de novos produtos e processos biotecnológicos, as seguintes recomendações foram feitas:

- apoio à manutenção de equipamentos necessários para as áreas de Genômica e Proteômica;
- apoio à nucleação e ao fortalecimento de grupos da área de desenvolvimento de bioinformática;
- integração de redes de pesquisa existentes com o programa GENOPROT, como por exemplo, Rede Brasileira de Pesquisas sobre o Câncer, Rede Dengue, Rede Malária ou Ridesa, o que incentivaria ainda mais a colaboração entre pesquisadores de projetos já financiados que abordam mesmos temas;
- promoção do avanço na área de Proteômica a partir do fortalecimento da infra-estrutura de grupos de pesquisa com excelência em Proteômica que utilizem técnicas avançadas, apoiando a formação e a consolidação de centros multiusuários ou prestadores de serviço e a capacitação de recursos humanos nestas técnicas; e
- realização de um estudo sobre o estado da arte da Genômica e Proteômica no Brasil, com mapeamento dos grupos de pesquisa, da infra-estrutura e dos problemas brasileiros abordados nas pesquisas com o objetivo de subsidiar a proposição de um edital voltado para a solução de problemas altamente relevantes para a sociedade brasileira, utilizando-se os conhecimentos de Genômica e Proteômica e incentivando-se a participação do setor produtivo no desenvolvimento dos projetos.

Apêndice A

Rede estadual	Projeto	Coordenador
AL	Análise proteômica de cultivares de cana-de-açúcar em ambientes de estresse hídrico	Antônio Euzébio G. Sant'Ana
AM	Rede Proteômica do Amazonas: Análise proteômica de <i>C. violaceum</i> – peptídeos e proteínas com potencial biotecnológico.	Jorge Luis López-Lozano
BA	Estudo do proteoma de <i>Crinipellis perniciosa</i> .	Júlio Cezar de M. Cascardo
CE	Proteomas de feijão-de-corda e cajueiro sob condições de estresses bióticos e abióticos.	Joaquim A. G. da Silveira
GO	Proteomas de interesse médico e biotecnológico: <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> e grãos de arroz.	Célia Maria de A. Soares
MG	Proteoma estrutural e funcional do veneno do escorpião amarelo <i>Tityus serrulatus</i> .	Adriano Pimenta
PA	Proteoma do músculo esquelético do búfalo.	Paula Schneider
PR	Análise proteômica do estresse hídrico em cafeeiro.	Fábio de Oliveira Pedrosa
RJ	Consolidação da Rede de Pesquisa em Proteoma do Estado do Rio de Janeiro.	Gilberto Domont
RS	Implantação de análise proteômica no RS.	Augusto Schrank
SC	Análise proteômica de <i>Mycoplasmas</i> de interesse em suinocultura.	Hernán Terenzi
SP	Rede Proteoma do Estado de São Paulo.	Fabio César Gozzo

Quadro 1 – Projetos de pesquisa apoiados durante o primeiro período do GENOPROT (Rede Nacional de Proteoma).

Rede estadual	Projeto	Coordenador
AM	Rede Proteômica do Amazonas – Análise proteômica do fruto e semente do guaranazeiro (<i>Paullinia cupana</i>).	Jorge Luis López-Lozano
BA	Rede Integrada de Estudos Genômicos e Proteômicos – Rede Proteômica do Estado da Bahia – Fungo <i>Crinipellis perniciosa</i> e sua interação com <i>T. cacao</i> .	Júlio Cezar de M. Cascardo
GO	Estratégias proteômicas para o estudo da parede celular e membrana de <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> .	Célia Maria de A. Soares
MG	Proteoma estrutural e funcional do veneno do escorpião amarelo <i>Tityus serrulatus</i> .	Adriano M. de C. Pimenta
SC	GENOPROT – Rede Integrada de Estudos Genômicos e Proteômicos – Rede Proteoma de Santa Catarina (RPSC): Proteômica de micoplasmas de interesse em suinocultura.	Hernán Terenzi
RJ	Fixação biológica de nitrogênio – cana-de-açúcar e <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> . ^α	José Ivo Baldani

Quadro 2 – Projetos apoiados durante o segundo período GENOPROT.

α : Contratação em andamento.

Projeto	Coordenador
Aplicação e estudos moleculares do agente de controle biológico <i>Trichoderma harzianum</i> .	Cirano Jose Ulhoa
Caracterização fisiológica e molecular da resposta à seca em cana-de-açúcar.	Marcelo Menossi Teixeira
Descoberta de genes de resistência na interação entre <i>Musa acuminata</i> e <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .	Robert Neil Gerard Miller
Estratégias genômicas e proteômicas no estudo da expressão de fatores de virulência em <i>Paracoccidioides brasiliensis</i> e <i>Cryptococcus neoformans</i> .	Célia Maria de A. Soares
Genética e proteômica do carcinoma de células escamosas de orofaringe.	Carmen Sílvia Passos Lima
Genômica e proteômica das leucemias	Hector N. Seuánez Abreu
Identificação de genes de cana-de-açúcar diferencialmente expressos em condições de estresse hídrico.	William Lee Burnquist
Identificação e caracterização de marcadores biológicos e diagnósticos em tripanosomatídeos patogênicos através de genômica e proteômica comparativas.	Edmundo Carlos Grisard
Identificação e caracterização de novos genes e proteínas de interesse biotecnológico para o Brasil.	Maria Julia Manso Alves
Implantação do 1º Laboratório de Oncogenética e Radiobiologia de Goiás.	Renata de Bastos A. Soares
Integrando genômica funcional e biotecnologia para melhorar a tolerância a estresses em plantas.	Elizabeth P. Batista Fontes
Proteômica estrutural e funcional aplicada à área biomédica.	Lewis Joel Greene
Proteômica funcional para elaboração de ferramentas biotecnológicas para tratamento de doenças tropicais com especial ênfase em malária e leishmaniose.	Rodrigo Guerino Stabeli
Qualidade do Café - aroma e sabor a partir de proteínas e metabólitos.	Alan Carvalho Andrade
Rede GENOPROT Dengue: Ferramentas de genômica e proteômica na identificação de alvos moleculares para diagnóstico e terapia da dengue.	Paulo Mascarello Bisch
Respostas moleculares em camarões de cultivo <i>Litopenaeus vannamei</i> infectados com o vírus da mancha branca e sob condições de estresse.	Maria Risoleta F. Marques
S-nitrosilação de fatores de transcrição e morte celular programada em plantas.	Ana Carolina M. Arisi
Software para análise genômica em ambiente computacional cooperativo e distribuído na Região Centro-Oeste.	Maria Emília M. Telles Walter
Vibrios: genômica, proteômica e prospecção biotecnológica.	Ana Maria Abrantes Coelho

Quadro 3 – Projetos contratados em resposta à Chamada Pública MCT/Finep/Ação Transversal – Rede GENOPROT – 08/2007, terceiro período do GENOPROT.

Apêndice B

Lista das Instituições de Ciência e Tecnologia envolvidas nos projetos GENOPROT

1. Associação de Combate ao Câncer em Goiás – ACCG-GO
2. Centro de Pesquisa Leônidas e Maria Leane – ILMD/Fiocruz Amazônia
3. Centro de Pesquisas René Rachou – René Rachou/ Fiocruz
4. Centro de Tecnologia Canaveira – CTC
5. Centro Universitário de Anápolis – Unievangel
6. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Agrobiologia – Embrapa Agrobiologia
7. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Agroindústria Tropical – Embrapa Agroindústria Tropical
8. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Agropecuária Oeste – Embrapa Agropecuária Oeste
9. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Amazônia Ocidental – Embrapa Amazônia Ocidental
10. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Arroz e Feijão – Embrapa Arroz e Feijão
11. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Café – Embrapa Café
12. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Cerrados – Embrapa Cerrados
13. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Mandioca e Fruticultura Tropical – Embrapa Mandioca e Fruticultura Tropical
14. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Recursos Genéticos e Biotecnologia – Embrapa Cenargen
15. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Soja – Embrapa Soja
16. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Suínos e Aves – Embrapa Suínos e Aves
17. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Tabuleiros Costeiros – Embrapa Tabuleiros Costeiros
18. Escola Superior de Agricultura “Luis de Queiroz” – USP/ Esalq
19. Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto – FAMERP
20. Fundação de Medicina Tropical do Amazonas – FMTAM
21. Fundação Ezequiel Dias – FUNED
22. Hospital Geral de Bonsucesso – HG de Bonsucesso
23. Instituto Agrônomo de Campinas – IAC
24. Instituto Agrônomo do Paraná – IAPAR
25. Instituto Butantan – Butantan
26. Instituto Carlos Chagas – ICC/Fiocruz
27. Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – IPEC/Fiocruz
28. Instituto de Pesquisas em Patologias Tropicais – IPEPATRO
29. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA
30. Instituto Nacional do Câncer – INCA
31. Instituto Oswaldo Cruz – IOC/Fiocruz
32. Laboratório Nacional de Luz Síncrotron – LNLS
33. Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro – PUC/ RJ
34. Universidade Católica de Brasília – UCB
35. Universidade Católica de Goiás – UCG
36. Universidade de Brasília – UnB
37. Universidade de Caxias do Sul – UCS
38. Universidade de Cuiabá – UNIC
39. Universidade de São Paulo – USP
40. Universidade de São Paulo – USP/Pirassununga
41. Universidade de São Paulo – USP/Ribeirão Preto
42. Universidade de São Paulo – USP/São Carlos
43. Universidade do Estado de Santa Catarina – UDESC
44. Universidade do Estado do Rio de Janeiro – UERJ
45. Universidade do Oeste de Santa Catarina – UNOESC
46. Universidade do Sul de Santa Catarina – Unisul
47. Universidade do Vale do Itajaí – Univali
48. Universidade Estadual de Campinas – Unicamp
49. Universidade Estadual de Feira de Santana – UEFS
50. Universidade Estadual de Goiás – UEG
51. Universidade Estadual de Londrina – UEL
52. Universidade Estadual de Maringá – UEM
53. Universidade Estadual de Ponta Grossa – UEPG
54. Universidade Estadual de Santa Cruz – UESC
55. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF
56. Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE
57. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP/Araraquara
58. Universidade Federal da Bahia – UFBA
59. Universidade Federal de Alagoas – UFAL
60. Universidade Federal de Goiás – UFG
61. Universidade Federal de Goiás – UFG/Catalão
62. Universidade Federal de Lavras – UFLA
63. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – UFMS
64. Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG
65. Universidade Federal de Ouro Preto – UFOP
66. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE
67. Universidade Federal de Rondônia – UNIR
68. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC
69. Universidade Federal de São Carlos – UFSCar
70. Universidade Federal de São Paulo – UNIFESP
71. Universidade Federal de Uberlândia – UFU
72. Universidade Federal de Viçosa – UFV
73. Universidade Federal do Acre – UFAC
74. Universidade Federal do Amazonas – UFAM
75. Universidade Federal do Ceará – UFC
76. Universidade Federal do Pará – UFPA
77. Universidade Federal do Paraná – UFPR
78. Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ
79. Universidade Federal do Rio Grande do Norte – UFRN
80. Universidade Federal do Rio Grande do Sul – UFRGS
81. Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE
82. Universidade Regional de Blumenau – FURB

Anexo A

Resumos dos Projetos Financiados pelo Programa GENOPROT

Projeto: “Análise Proteômica de Cultivares de Cana-de-Açúcar em Ambientes de Estresse Hídrico”

Coordenação: Antônio Euzébio Goulart de Sant’Ana – Universidade Federal de Alagoas

Principal instituição executora: Universidade Federal de Alagoas

A cana-de-açúcar é para o Brasil uma das culturas de maior importância socioeconômica e de grande estratégia em termos alimentares e energéticos. O país é hoje o maior produtor mundial dessa matéria-prima, com mais de 400 milhões de toneladas, que se transformam em mais de 30 milhões de toneladas de açúcar e 38 bilhões de litros de álcool. Na região Nordeste, tradicional produtora de cana-de-açúcar, o estado de Alagoas apresenta-se como o principal produtor, com mais de 50% do total. No entanto, vários fatores vêm afetando a produção da cana-de-açúcar, principalmente nas áreas tradicionais e de expansão da cultura na região nordeste, e um dos principais é o déficit hídrico. A esse problema somam-se também as previsões de mudanças climáticas globais que aumentarão a frequência de episódios de restrição hídrica, principalmente nessas regiões. O desenvolvimento de variedades de cana-de-açúcar mais tolerantes ao estresse hídrico tem sido grande objeto de estudo para a melhoria da capacidade competitiva da indústria sucroenergética da região nordestina, no entanto, pesquisas em melhoramento genético, baseadas em ferramentas tradicionais têm encontrado dificuldades na obtenção de grandes avanços nesse aspecto. A adaptação das plantas ao déficit hídrico pode ser o resultado de vários mecanismos fisiológicos e moleculares diferentes e muitos estudos têm demonstrado que essa adaptação fisiológica está associada a proteínas induzidas sob essa condição. Portanto a proteômica tem provado ser uma poderosa ferramenta para a identificação de proteínas e mecanismos de resposta ao estresse hídrico. O presente projeto está propondo, utilizando ferramentas de proteômica, a identificação de proteínas de diferentes genótipos de cana-de-açúcar, que tenham sua síntese modificada em condições de estresse hídrico. Serão utilizados para este estudo genótipos contrastantes com histórico de tolerância (RB72910, RB92579 e RB867515) e sensibilidade (RB72454) a esse fator. Para analisar as respostas, os genótipos serão submetidos às seguintes condições: controle (irrigação na capacidade de campo), restrição hídrica (três e seis dias após a suspensão de irrigação) e recuperação (três dias de irrigação após estresse). Para acompanhamento e confirmação do estabelecimento do estresse pela planta serão avaliados parâmetros fisiológicos e bioquímicos e amostras de tecidos de raízes e folhas serão coletadas para extração e análise das proteínas diferencialmente expressas. Os extratos serão submetidos à eletroforese bidimensional e as proteínas diferencialmente expressas para os diferentes tratamentos serão identificadas por espectrometria de massas (ESI-MS/MS). Os resultados obtidos podem primeiramente nos trazer informações sobre o mecanismo fisiológico da resposta dos diferentes genótipos de cana-de-açúcar, quando submetidos ao estresse hídrico, além da identificação das proteínas com síntese alterada durante essa resposta. Espera-se com isso que essas proteínas possam ser utilizadas como possíveis marcadores moleculares em projetos de melhoramento genético e também seus genes servirem como alvos para manipulação genética e o desenvolvimento de variedades geneticamente modificadas mais tolerantes ao estresse hídrico.

Projeto: “Análise Proteômica de *Chromobacterium violaceum*. Peptídeos e proteínas com potencial biotecnológico”

Coordenação: Jorge Luis López Lozano

Execução: Rede Proteômica do Amazonas (EMBRAPA, FIOCRUZ, FMTAM, INPA, UFAM)

A *Chromobacterium violaceum* é uma bactéria Gram-negativa, pertencente à família Nettleiaceae que produz um pigmento, a violaceína. A bactéria apresenta grande adaptabilidade em diversos ambientes (variações de pH, temperatura, condições nutricionais). O completo seqüenciamento do

seu genoma sugere 4.431 ORFS para a expressão de proteínas. O objetivo do trabalho foi estabelecer as interações genoma-proteoma que participam na adaptação dessa bactéria às variações, *in vitro*, de pH, temperatura, meio nutricional e atividade antimicrobiana das proteínas / peptídeos contra malária, leishmania e fungos. Após as análises dos géis 2D das amostras em diferentes condições experimentais, as proteínas de interesse, foram identificadas por PMF usando-se espectrometria de massa sistema Q-ToF. No total foram identificadas 96 proteínas com 100% de “score” estatístico. A expressão diferencial das proteínas foi observada em todas as condições experimentais, predominando proteínas das classes das chaperoninas ácidas e ribossomais básicas e a expressão de proteínas próprias para cada sistema de estresse avaliado também foi detectada. A identificação das proteínas que foram estudadas é de fundamental importância para correlacionar interações genoma – proteoma que favorecem a fisiologia da bactéria para adaptar-se em condições de estresse. Essas informações também fazem possível a escolha de promotores para a aplicação biotecnológica em processos de expressão de proteínas recombinantes, a partir da construção de vetores de expressão. As frações proteicas livres de violaceína, apresentaram, *in vitro*, atividade antimicrobiana. As proteínas / peptídeos responsáveis por essa atividade estão em processo de purificação.

Palavras-chave: proteoma, promotores resposta ao estresse, *Chromobacterium violaceum*.

Projeto: “Análise proteômica da semente e fruto do guaranazeiro (*Paullinia cupana*)”

Coordenação: Jorge Luis López Lozano

Execução: Rede Proteômica do Amazonas (EMBRAPA, FIOCRUZ, FMTAM, INPA, UFAM)

O fruto do guaranazeiro (*Paullinia cupana*) é de importância industrial no Estado do Amazonas por ter uma cadeia produtiva para a elaboração de refrigerantes, cosméticos e como remédio de uso popular para o tratamento de doenças. Informações obtidas do transcriptoma do fruto demonstraram proteínas que participam na biossíntese de metilxantinas (cafeína, teobromina e teofilina), flavonóides com atividade contra radicais livres, proteínas como mecanismos de defesa contra fungos e proteínas com possíveis atividades contra doenças humanas, corroborando assim o uso etno-farmacológico dessa espécie pelos povos amazônicos. O objetivo do trabalho, que ainda está na fase inicial de execução, é de identificar e estabelecer as relações genoma – proteoma durante o processo de amadurecimento do fruto e semente, principalmente nas vias que regulam a expressão das metilxantinas, flavonóides e das proteínas de defesa. Para isso, diferentes estádios do fruto em processo de maturação já foram coletados, a semente e o carpo foram separados e as proteínas extraídas pelo método de precipitação TCA-acetona. A expressão diferencial das proteínas nos diferentes estágios, será realizada utilizando-se sistemas de eletroforese 2D, DIGE e espectrometria de massa. Os resultados a obter podem fornecer importantes subsídios para o aprimoramento da manipulação genética da espécie visando uma melhora a resistência a fitopatogenos e melhoramento na produção dos metabólitos secundários de interesse industrial.

Palavras-chave: proteoma, guaranazeiro, *Paullinia cupana*, metilxantinas, flavonóides.

Publicações:

1. ANGELO, P. C. S., SENA, M.T., MORAES, L. A. C., SOUZA, M. G., SOUZA, A. G. C., LOZANO, J. L. L. Interação antagônica entre *Chromobacterium violaceum* e *Colletotrichum guaranicola*, o agente causador da antracnose do guaranazeiro In: I Seminário sobre Pesquisas com o Guaranazeiro no Amazonas, 2005, Manaus - Amazonas. **Anais do I Seminário sobre Pesquisas com o Guaranazeiro no Amazonas**. Manaus - Amazonas: Embrapa Amazônia Ocidental - SEBRAE, 2005. p.93 – 97.
2. ANGELO, P. C. S.; SOTERO-MARTINS, A.; FRANCO, A. M. R.; PEREIRA, J. C. R.; ARAÚJO, J. C. & LOZANO, J. L. L. Interação de frações proteicas de *Chromobacterium violaceum* com esporos de *Colletotrichum sp.* isolado de guaranazeiro (RESUMO 4208). In: **Anais da 61ª Reunião Anual da SBPC**. Manaus-AM. 2009 (resumo aceito - publicação eletrônica no site da SBPC em outubro de 2009).
3. ANGELO, P. C. S.; SOTERO-MARTINS, A.; FRANCO, A. M. R.; PEREIRA, J. C. R.; ARAÚJO, J. C. & LOZANO, J. L. L. Frações proteicas de *Chromobacterium violaceum* em interação com esporos de *Colletotrichum sp.* isolado de guaranazeiro. Texto para Comunicado Técnico - Embrapa Amazônia Ocidental - Aceito para publicação em 2009

4. BARAUNA, W. J. Q.; ALENCAR, P. H. S. N.; CASTRO, M. M.; MIYAMOTO, M. S. F.; LOZANO, J. L. L.; ANDRADE, E. V.; ASTOLFI FILHO, S. Caracterização do Perfil Protéico de *Chromobacterium violaceum* Cultivado em Condições de Estresse Térmico. In: I Congresso sobre Diversidade Microbiana da Amazônia, 2006, Manaus. **Livro de Trabalhos CDMICRO-2006**. Manaus : Universidade Federal do Amazonas, 2006. p. 125-126.
5. SILVA, O. G.; ANDRADE, E. V.; ASTOLFI FILHO, S. Efeito antifúngico da *Chromobacterium violaceum* e de isolados aquáticos de *Chromobacterium* sp. In: I Congresso sobre Diversidade Microbiana da Amazônia, 2006, Manaus. **Livro de Trabalhos CDMICRO - 2006**. Manaus: Universidade Federal do Amazonas, 2006. p. 107-108.
6. CORDEIRO, I. B.; CASTRO, M. M.; GRAVA, A.; ORLANDI, P. P.; LOZANO, J. L. L.; ANDRADE, E. V.; ASTOLFI-FILHO, S. Proteoma da *Chromobacterium violaceum*: resposta ao estresse térmico em baixas temperaturas. In: **54 Congresso Brasileiro de Genética**, 2008, Salvador - BA. 54 Congresso Brasileiro de Genética, 2008. p. 103-103.
7. CASTRO, A. V.; CORDEIRO, I. B.; ANDRADE, E. V.; ASTOLFI FILHO, S. Construção de um vetor de expressão de quitinase para *Pichia pastoris*. In: **54 Congresso Brasileiro de Genética**, 2008, Salvador - BA. 54 Congresso Brasileiro de Genética, 2008. p. 107-107.
8. ANDRADE, E. V.; ALENCAR, P. H. S. N.; NEIVA, M.; ASTOLFI-FILHO, S. Atividade quitinolítica de quitinase recombinante isolada de *Chromobacterium violaceum* expressa em *Escherichia coli*. In: **54 Congresso Brasileiro de Genética**, 2008, Salvador BA. 54 Congresso Brasileiro de Genética, 2008. p. 104-104.
9. BRITO, D. V.; ANDRADE, E. V.; ASTOLFI-FILHO, S. Análise de seqüências nucleotídicas de genes de quitinase de *Chromobacterium* sp. da região amazônica. In: **54 Congresso Brasileiro de Genética**, 2008, Salvador - BA. 54 Congresso Brasileiro de Genética, 2008. p. 94-94.
10. CORDEIRO, I. B.; CASTRO, M. M.; CASTRO, D.; GRAVA, A.; ORLANDI, P. P.; LOZANO, J. L. L.; ANDRADE, E. V.; ASTOLFI FILHO, S. Proteoma da *Chromobacterium violaceum*: resposta ao estresse térmico. 2008.
11. CAMPOS, F. R. A.; NERY, L. C. R.; FIGUEIRA, L. P.; GOMES, C. C.; SILVA JUNIOR, R. P.; LOZANO, J. L. Avaliação da Atividade Leishmanicida e Leishmanióstática de proteínas de *Chromobacterium violaceum*. In: **XLII Congresso de Medicina Tropical**, 2006, Teresina. XLII Congresso de Medicina Tropical, 2006.
12. CAETANO, S. K.; FRANCO, A. M. R.; NERY, L. C. R.; MOREIRA, F. R. A. C. N. Potencial biotecnológico de peptídeos e proteínas de *Chromobacterium violaceum* com atividade leishmanicida. **Anais XVII Jornada de iniciação científica PIBIC CNPQ/FAPEAM/INPA**. pág. 243-244, 2008.
13. CAMPOS, F. R. A.; NERY, L. C. R.; FIGUEIRA, L. P.; GOMES, C. C.; SILVA JUNIOR, R. P.; LOZANO, J. L. Avaliação da Atividade Leishmanicida e Leishmanióstática de proteínas de *Chromobacterium violaceum*. In: **XLII Congresso de Medicina Tropical**, 2006, Teresina. XLII Congresso de Medicina Tropical, 2006.
14. CAETANO, S. K.; FRANCO, A. M. R.; NERY, L. C. R.; MOREIRA, F. R. A. C. N. Potencial biotecnológico de peptídeos e proteínas de *Chromobacterium violaceum* com atividade leishmanicida. **Anais XVII Jornada de iniciação científica PIBIC CNPQ/FAPEAM/INPA**. pág. 243-244, 2008.

Projetos: Estudo do Proteoma de *Crinipellis pernicioso* e Rede Integrada de Genômicos e Estudos Proteômicos - Rede Proteômica do Estado da Bahia - Fungo *Crinipellis pernicioso* e sua Interação com *T. cacao*.

Coordenação Júlio Cezar de Mattos Cascardo – Universidade Estadual de Santa Cruz

Execução: Rede Proteômica do Estado da Bahia

A rede de Proteômica foi implantada na Bahia em 2004, sendo essa uma continuação natural do projeto genoma iniciado em 2001. Inicialmente, até o ano de 2006 apenas a UESC e a UEFS participavam. Na segunda etapa iniciada em 2007, a UFBA foi incluída no projeto. Essa rede tem sido essencial na consolidação dos programas de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular da UESC e no de Biotecnologia da UEFS, ambos com níveis de mestrado e doutorado. Os projetos capacitaram vários alunos de mestrado e doutorado, além de bolsistas ICs, Posdocs e bolsistas de inovação tecnológica. No programa de pós-graduação da UESC já totalizam oito teses de mestrado e de doutorado, entre defendidas e em andamento. Na UEFS são oito teses, incluindo as colaborações com a UFBA no programa. Além dessas, através de um PQI, quatro professores do quadro efetivo da UESC estão finalizando suas teses de doutorado nos laboratórios da UESC, até julho de 2009, mas vinculados ao programa de Pós-graduação em Genética e Biologia Molecular da UNICAMP. Essas teses englobam estudos de genes e proteínas miceliais de diferentes fases de cultivo do fungo *Moniliophthora pernicioso*, proteínas de virulência secretadas pelo patógeno, silenciamento de genes do fungo por RNA interferente e caracterização do proteoma do apoplasto do hospedeiro *T. cacao*. As metas propostas no primeiro projeto foram obtidas em sua totalidade. Um total de 13 Artigos foi publicado em periódicos indexados, com média de fator de impacto acima de 2.5. Ainda há 8 artigos em fase de submissão e manuscritos encontram-se em fase de preparação. Além disso, dois trabalhos foram premiados no Concurso de Idéias Inovadoras promovido pela FAPESB e SEBRAE, sendo o 1º. Lugar na categoria Inventor livre e o 2º Lugar na categoria Doutorado. Atualmente, o segundo projeto encontra-se no meio de sua execução. A importação do espectrômetro de massas foi finalizada e se encontra instalado em pleno funcionamento. As proteínas responsáveis pela mutação letal nos genótipos de cacau da série *Luteus-Pa* foram identificadas e proteínas diferencialmente expressas pelo fungo *M. pernicioso* e pelo hospedeiro *T. cacao* estão sendo identificadas. Inúmeras teses de mestrado e doutorado envolvendo o patossistema *T. cacao-M. pernicioso* estão sendo coorientadas por pesquisadores vinculados à rede, com vistas à utilização do MS para a identificação de proteínas. Além disso, inúmeras colaborações, visando à identificação de proteínas diversas com interesse biotecnológico estão sendo estabelecidas. As primeiras estruturas tridimensionais de proteínas do fungo e do cacau foram resolvidas. Para tal, uma parceria com a USP (São Carlos e Pirassununga) e com o LNLS foi essencial. Outra parceria essencial envolve a participação no projeto Millenium do IMBEBB, onde uma estrutura de uma proteína de difícil cristalização está sendo resolvida via NMR. O projeto conta atualmente com o engajamento de vários professores, alunos de pós-graduação e de graduação. Um novo laboratório de proteômica foi construído na UESC onde todos os equipamentos adquiridos estão alocados. Está sendo adquirido um software de "docagem molecular" (Molecular Docking) que servirá via web aos três laboratórios da rede. Nele serão testados ligantes para possíveis alvos protéicos que tiverem, sua estrutura 3D resolvida. Atualmente, a UESC detém uma boa capacidade de expressão de proteínas heterólogas, com inibidores de proteases, proteases, proteínas PR e outras enzimas produzidas e caracterizadas; possui também boa capacidade de separação de amostras protéicas complexas em géis bidimensionais e análises por espectrometria de massas. A UEFS encontra-se com bons grupos estruturados na área de modelagem computacional e enzimologia e a UFBA na área de cristalização de proteínas e refinamento de estruturas. Cada instituição hoje conta com um HPLC para purificação de proteínas. Cabe ressaltar que esses projetos foram essenciais para equipar os laboratórios dessas três instituições. Pode-se dizer que a rede trabalha em sintonia, sendo que vários alunos têm como orientadores e co-orientadores dos seus programas de pós-graduação, professores dessas três IES trabalhando juntos nesses projetos. Assim, a rede tem sido eficiente no fortalecimento e consolidação de Programas de pós-graduação envolvendo a genética, biologia, molecular e biotecnologia, e, tem contribuído para o desenvolvimento científico e tecnológico, especialmente, para a compreensão do patossistema *T. cacao-M. pernicioso*.

Publicações:

1. P'UNGARTNIK, C.; SILVA, A. C.; MELO, S. A.; GRAMACHO, K. P.; DE MATTOS CASCARDO, J. C.; BRENDEL, M.; MICHELI, F.; GESTEIRA, A. S. High-affinity copper transport and Snq2 export permease of *Saccharomyces cerevisiae* modulate cytotoxicity of PR-10 from *Theobroma cacao*. **Molecular Plant-Microbe Interactions**, v. 22, p. 39-51, 2009.
2. LOPES, M. A.; GOMES, D. S.; KOBLITZ, M. G. B.; PIROVANI, C. P.; CASCARDO, J. C. M.; GOÉS-NETO, A.; MICHELI, F. Use of response surface methodology to examine chitinase regulation in the basidiomycete *Moniliophthora perniciosa*. **Mycological Research**, v. 112, p. 399-406, 2008.
3. PIROVANI, C. P.; CARVALHO, H. A. S.; MACHADO, R. C. R.; GOMES, D. S.; ALVIM, F. C.; POMELLA, A. W.; GRAMACHO, K. P.; CASCARDO, J. C. M.; PEREIRA, G. G. A.; MICHELI, F. Protein extraction for proteome analysis from cacao leaves and meristems, organs infected by *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of the witches' broom disease. **Electrophoresis**, v. 29, p. 2391-2401, 2008.
4. SANTOS JR., M. C.; TARANTO, A. G.; ASSIS, S. A. AND GÓES-NETO, A. Homology modelling of pyrophosphorylase, enzyme involved in chitin pathway of *Moniliophthora perniciosa*. **Int. J. Bioinformatics Research and Applications**, Vol. 5, No. 2, 2009
5. PUNGARTNIK, C.; MELO, S. C. O.; BASSO, T. S.; MACENA, W. G.; CASCARDO, J. C. M.; BRENDEL, M. Reactive oxygen species and autophagy play a role in survival and differentiation of the phytopathogen *Moniliophthora perniciosa*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 46, p. 461-472, 2009.
6. SANTOS, R. X.; MELO, S. C. O.; CASCARDO, J. C. M.; BRENDEL, M.; PUNGARTNIK, C. Carbon source-dependent variation of acquired mutagen resistance of *Moniliophthora perniciosa*: similarities in natural and artificial systems. **Fungal Genetics and Biology**, v. 45, p. 851-860, 2008

Colaborações:

1. CUNHA-JÚNIOR, J. P.; SILVA, D. A. O.; SILVA, N. M.; SOUZA, M. A.; SOUZA, G. R. L.; PRUDENCIO, C. R.; PIROVANI, C. P.; CASCARDO, J. C. M.; BARBOSA, B. F.; GOULART, L. R. A4D12 monoclonal antibody recognizes a new linear epitope from SAG2A *Toxoplasma gondii* tachyzoites, identified by phage display bioselection. **Immunobiology** (Germany), v. press, p. 1-12, 2009.
2. BÉLA, S. R.; SILVA, D. A. O.; CUNHA-JÚNIOR, J. P.; PIROVANI, C. P.; CHAVES-BORGES, F. A.; CARVALHO, F. R.; OLIVEIRA, T. C.; MINEO, J. R. Use of SAG2A recombinant *Toxoplasma gondii* surface antigen as a diagnostic marker for human acute toxoplasmosis: analysis of titers and avidity of IgG and IgG1 antibodies. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 62, p. 245-254, 2008.

Aceitos para publicação:

1. SOUZA, C. S.; OLIVEIRA, B.; COSTA, G. G. L.; SCHRIEFER, A.; SELBACH-SCHNADELBACH, A.; UETANABARO, A. P.; PIROVANI, C. P.; PEREIRA, G. A. G.; TARANTO, A.; CASCARDO, J. C. M.; GOÉS-NETO, A. Identification and characterization of a class III chitin synthase gene of *Moniliophthora perniciosa*, the fungus that causes witches' broom disease of cacao. **Journal of Microbiology**, 2009.
2. ALVIM, F. C.; MATOS, E.; PIROVANI, C. P.; GRAMACHO, K. P.; PUNGARTNIK, C.; BRENDEL, M.; CASCARDO, J. C. M.; VINCENTZ, M. Carbon source-induced changes in physiology of *Moniliophthora perniciosa* affecting mycelium morphology and secretion of necrosis-inducing proteins. **Genetics and Molecular Research**, 2009.
3. MONZANI, P. S.; PEREIRA, H. M.; MELO, F. A.; MEIRELLES, F. V.; OLIVA, G. AND CASCARDO, J. C. M. New topology of the ACBP from *Moniliophthora perniciosa*. **BBA. Proteins and Proteomics** 2009.
4. PIRES, A. B. L.; GRAMACHO, K. P.; SILVA, D. C.; GÓES-NETO, A.; SILVA, M. M.; SOBRINHO, J. S. M.; PORTO, R. F.; DIAS, C. V.; BRENDEL, M.; CASCARDO, J. C. M.; PEREIRA, G. A. G. Early development of *Moniliophthora perniciosa* basidiomata and developmentally regulated genes. **BMC Microbiology**, 2009.

5. CARIBÉ DOS SANTOS, A. C.; SENA, J. A. L.; SANTOS, S. C.; DIAS, C. V.; PIROVANI, C. P.; PUNGARTNIK, C.; VALLE, R. R.; CASCARDO, J. C. M.; VINCENTZ, M. dsRNA-induced gene silencing in *Moniliophthora perniciosa*, the causal agent of witches' broom disease of cacao. **Fungal Genetics and Biology**, 2009.

Projeto: "Proteomas de Feijão-de-Corda e Cajueiro sob Condições de Estresses Bióticos e Abióticos"

Coordenação: Joaquim Albenísio Gomes da Silveira

Execução: Universidade Federal do Ceará

A Rede Proteômica do Ceará foi implantada em 2004 abrangendo inicialmente pesquisadores da UFC, EMBRAPA e UECE. Por questões regionais, adotou-se como modelo principal o feijão-de-corda (*Vigna unguiculata*), por sua importância e também pelo fato do grupo pertencente ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da UFC trabalhar com proteínas dessa espécie há mais de 40 anos. O cajueiro compôs secundariamente o projeto na estratégia de transferir as ferramentas proteômicas para estudos com essa espécie de grande importância regional. O objetivo da Rede Ceará foi expandir as técnicas de proteômica em laboratórios de pesquisa do Estado, identificar e elucidar o envolvimento de proteínas nos mecanismos de defesa contra fatores de estresses ambientais em feijão-de-corda. Além de equipar os laboratórios com equipamentos modernos, o projeto também tinha como objetivo ampliar a qualificação de recursos humanos de alto nível. O projeto permitiu avanços significativos nos diversos aspectos da pesquisa e formação de recursos humanos, possibilitando a publicação de diversos artigos científicos em revistas internacionais de larga circulação e produção de várias monografias de graduação, dissertações de mestrado e teses de doutorado. Foram realizados também dois cursos sobre "Análise proteômica em sistemas vegetais", direcionado a pesquisadores e estudantes de pós-graduação. Dessa maneira, é possível afirmar que o projeto financiado pelo MCT/FINEP/FUNCAP alcançou plenamente seus objetivos e metas a despeito de algumas dificuldades de execução. A primeira dificuldade foi a escolha do modelo de estudo, no caso duas espécies vegetais, apesar da pesquisa ter se concentrado no feijão. Mesmo uma única espécie vegetal tem se mostrado como um modelo muito complexo para estudos proteômicos devido dificuldades de padronização metodológica e divisão de tarefas entre os membros da Rede. A segunda dificuldade foi relacionada com os trâmites burocráticos para liberação de recursos e importação dos equipamentos. A terceira dificuldade foi a estratégia adotada pelo Programa Nacional de Proteoma no sentido de centralizar os equipamentos fundamentais (espectrômetros de massa) no eixo Brasília-Sudeste. Isso dificultou em muito o acesso dos pesquisadores do Ceará que acabaram realizando, na maioria das vezes, estudos proteômicos parciais (mapas bidimensionais em géis). Apesar dessa dificuldade, alguns pesquisadores conseguiram identificar centenas de proteínas e genes de feijão-de-corda envolvida com defesa de planta graças ao esforço individual e auxílio de outros projetos. Apesar das dificuldades, considera-se que a Rede de Proteomas do Ceará alcançou plenamente seus objetivos primários e que o financiamento obtido foi de grande importância para o desenvolvimento da pesquisa e formação de recursos humanos na região nordeste do Brasil.

Projeto: “Proteomas de interesse médico e biotecnológico: *Paracoccidioides brasiliensis* e grãos de arroz”

Coordenadora: Célia Maria de Almeida Soares - Universidade Federal de Goiás

Principais instituições executoras: Universidade Federal de Goiás e Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

O projeto “Proteomas de interesse médico e biotecnológico: *Paracoccidioides brasiliensis* e grãos de arroz” tem como objetivos centrais a capacitação de recursos humanos e montagem de infra-estrutura na área de proteoma no Estado de Goiás. Em função desses objetivos foram estabelecidas metas físicas, as quais compreendem a formação de recursos humanos em cursos oferecidos pelo MCT em Laboratórios Centrais; treinamento de pesquisadores do grupo no Laboratório Central em Brasília (UnB); identificação de proteínas do proteoma da parede celular de *P. brasiliensis*; identificação e caracterização de proteínas de grãos de arroz de cultivares selecionados. A capacitação de recursos humanos foi bastante incrementada no projeto com a realização de cursos na área, por pesquisadores associados ao projeto, com a realização de estágios por estudantes em laboratórios no país (UnB e UFPR) e no exterior (USA) e com o estabelecimento de projetos colaborativos, em desenvolvimento. Foram identificadas várias proteínas da parede celular do fungo *P. brasiliensis*, tais como quitinases 1 e 2 (Santana, 2008, dissertação de mestrado; manuscrito em redação); N-acetil-Beta-D-glicosaminidase (Santos, 2007, tese de doutorado; manuscrito em preparação). A proteína de parede celular, com possível papel na manutenção da forma miceliana do fungo, DFG5 (Maia, 2007 dissertação de mestrado; Castro et al., 2008, *Yeast* 25, 141-154), foi caracterizada. Foram caracterizadas as proteínas GPI-ancoradas Gel3 (Castro, 2008; tese de doutorado; Castro et al., *FEMS Yeast Res.* 9, 103-114, 2009) e PRA (Castro 2008, dissertação de mestrado; Castro et al., 2008; submetido). Foi também caracterizado o imunógeno/adesina de superfície triose fosfato isomerase (Pereira et al., 2007, *FEMS Yeast Res.* 7, 1381-1388). Outras moléculas de superfície foram caracterizadas: formamidase (Borges et al, *FEMS Yeast Res*, em revisão), serino proteinase (Parente et al, em redação final), aspartil proteinase (Tacco et al., *Med. Mycol*, in press). A metodologia para eletroforese bidimensional de proteínas, a análise de géis com softwares e a caracterização de proteínas por espectrometria de massas foi também padronizada. Várias proteínas diferencialmente expressas entre as fases miceliana e leveduriforme do fungo *P. brasiliensis* foram caracterizadas (projeto em desenvolvimento). Um total de 73 genótipos de arroz foi analisado quanto ao perfil de frações protéicas contendo albumina, globulina, prolamina e glutelina, observando-se grande variabilidade no teor das proteínas, dados que podem ser utilizados em futuros programas de melhoramento genético. Foram analisadas as proteínas diferencialmente expressas em genótipos de arroz de sistema de cultivo de terras altas e irrigado e de espécie silvestre, o que resultou na seleção de moléculas a serem analisadas por espectrometria de massas, em desenvolvimento. Os resultados parciais foram objetos de comunicação em congressos científicos. O desenvolvimento do projeto foi e tem sido bastante positivo, visto ter iniciado a formação de recursos humanos na área de proteômica no Estado de Goiás. Com o desenvolvimento do projeto foi possível a ampliação dos objetivos, os quais deverão ser atingidos completamente, visto a incorporação ao grupo de um espectrômetro de massas, adquirido com recursos do CT-INFRA/2007. A liberação de recursos pela interveniente foi tardia e parcial; aguarda-se ainda a liberação de uma parcela dos recursos concedidos.

Projeto “Estratégias proteômicas para o estudo da parede celular e membrana de *Paracoccidioides brasiliensis*”.

Coordenação: Célia Maria de Almeida Soares - UFG

Execução: Universidade Federal de Goiás (UFG) e Associação Educativa Evangélica – UNIEVANGÉL

A parede/membrana celular de fungos patogênicos está em contato com o hospedeiro, atuando como uma barreira contra produtos de defesa e aportando antígenos, transportadores de moléculas/ions e

enzimas que possuem um papel ativo durante a infecção. Moléculas do fungo patogênico humano *Paracoccidioides brasiliensis* foram descritas em nosso grupo com potencial papel durante a transição micélio levedura e ou durante a infecção, tais como adesinas, transportadores de micronutrientes essenciais que são restritos durante a infecção no hospedeiro, proteínas GPI (glicosilfosfatidilinositol) ancoradas e potenciais imunógenos. Os objetivos gerais da proposta visam à identificação de proteínas da superfície celular, caracterização de proteínas GPI-ancoradas e de enzimas relacionadas ao metabolismo da parede celular. Pretende-se também a identificação de interações entre proteínas da parede celular e outras, purificação e caracterização de proteínas nativas da parede celular do fungo, bem como localização, por imunoeletromicroscopia ou microscopia confocal, de moléculas da superfície de *P. brasiliensis*. Em função dos objetivos propostos, os seguintes resultados foram obtidos, os quais geraram produtos, como discriminado a seguir. Foram caracterizadas as proteínas de superfície com papel no metabolismo da parede celular: quitinases 1 e 2 (Santana, 2008, dissertação de mestrado; manuscrito em redação); N-acetil-Beta-D-glicosaminidase (Santos, 2007, tese de doutorado). A proteína de parede celular, com possível papel na manutenção da forma miceliana do fungo, DFG5 (Maia, 2007 dissertação de mestrado; Castro et al., 2008, *Yeast* 25, 141-154), foi caracterizada. Foram caracterizadas as proteínas GPI-ancoradas Gel3 (Castro, 2008; tese de doutorado; Castro et al., *FEMS Yeast Res.* 9, 103-114, 2009) e PRA (Castro 2008, dissertação de mestrado; Castro et al., 2008; submetido). Foi também caracterizado o imunógeno/adesina de superfície triose fosfato isomerase (Pereira et al., 2007, *FEMS Yeast Res.* 7, 1381-1388). Outras moléculas de superfície foram caracterizadas: formamidase (Borges et al., *FEMS Yeast Res*, em revisão), serino proteinase (Parente et al), Aspartil proteinase (Tacco et al., *Med. Mycol*, in press). Foi também investigado a expressão de catalases em *P. brasiliensis*, com a posterior caracterização da espécie P através de espectrometria de massas (Chagas et al, 2008; *Fungal Genet. Biol.* 45, 1470-1478, 2008; Chagas et al., manuscrito submetido). Novos antígenos de *P. brasiliensis*, moléculas da superfície celular e altamente expressas durante o processo infeccioso foram identificadas e caracterizadas (Moreira et al., *Microbes Infect*, in press). Estudos estão sendo realizados visando o estudo de proteínas diferencialmente expressas durante a transição de *P. brasiliensis* de micélio para leveduras, com foco em proteínas da parede celular, o que se constitui em tese de doutorado em desenvolvimento. A interação de moléculas de superfície com outras proteínas do fungo está sendo investigada através da metodologia de duplo híbrido em leveduras. Com essa estratégia estão sendo investigadas as interações de proteínas de superfície celular (Gel1, Gel2, Gel3, formamidase, serino proteinase, transportador de cobre, gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) com outras proteínas do fungo *P. brasiliensis*. Pretende-se com essa estratégia obter um mapa geral das interações protéicas em nível de parede/membrana celular de *P. brasiliensis*. Um espectrômetro de massas foi adquirido com recursos aprovados em edital CT-INFRA/FINEP. Tal equipamento deverá incrementar o desenvolvimento dos trabalhos do grupo. Ressalte-se a interação entre as instituições UFG e UNIEVANGÉL; um professor da UNIEVANGÉL é aluno de doutorado do grupo da UFG e o outro professor da UNIEVANGÉL atua em bioinformática no projeto. A nossa expectativa é que o projeto produza várias publicações adicionais e contribua significativamente para o conhecimento da biologia do fungo *P. brasiliensis*.

Projeto: “Estratégias genômicas e proteômicas no estudo da expressão de fatores de virulência em *Paracoccidioides brasiliensis* e *Cryptococcus neoformans*”.

Coordenação: Célia Maria de Almeida Soares – Universidade Federal de Goiás.

O fungo dimórfico *Paracoccidioides brasiliensis* e o complexo de espécies *Cryptococcus neoformans* são agentes etiológicos de doenças humanas importantes, com alta prevalência no Brasil. Os grupos envolvidos no projeto têm experiência científica comprovada nos dois sistemas. A proposta visa integrar as competências existentes nos dois modelos biológicos com o objetivo de identificar mecanismos comuns que possam estar envolvidos na patogênese e virulência desses microrganismos. Pretende-se, dessa maneira, identificar novos alvos para o controle das referidas doenças. Um objetivo geral, que caracteriza o projeto, visa identificar genes envolvidos na homeostase de micronutrientes em *P. brasiliensis* e nas leveduras patogênicas *C. neoformans* e *C. gattii*. Para tanto,

foram construídas bibliotecas de cDNAs com expressão diferencial em resposta à privação de ferro e cobre. Os resultados evidenciam uma reprogramação metabólica nos dois sistemas fúngicos durante a privação de micronutrientes. O perfil proteico nas condições de privação dos micronutrientes está sendo estudado, através de eletroforese bidimensional e espectrometria de massas. Os dados de espectrometria de massas corroboram a reprogramação metabólica dos fungos em resposta à privação dos micronutrientes cobre e ferro. Com relação à análise funcional pretende-se construir mutantes funcionais para os genes que foram identificados como relevantes para o processo de homeostase de micronutrientes. Uma alternativa ao fungo *P. brasiliensis*, para o qual ainda não se estabeleceu ferramentas adequadas de manipulação genética, bem como uma estratégia adicional ao modelo *Cryptococcus* é a construção de bibliotecas de mutantes por recombinação ectópica baseada no sistema de Agro-transformação. Tal estratégia já foi implantada para *Cryptococcus*, com a obtenção de cerca de 10.000 mutantes, os quais estão sendo analisados quanto às suas características fenotípicas; protocolos estão sendo estabelecidos para o fungo *P. brasiliensis*. Ainda com ênfase no estudo do metabolismo da obtenção de micronutrientes, genes ortólogos aos descritos em fungos como relevantes para a captação de ferro e cobre estão sendo investigados quanto à expressão e regulação nos dois modelos em estudo. Ensaio enzimáticos confirmam a síntese de proteínas ligadas à captação de ferro. A utilização e síntese de sideróforos por *P. brasiliensis* também está sendo analisada. Os resultados indicam que *P. brasiliensis* capta e produz sideróforos a exemplo de outros patógenos. Abordagens genômicas e proteômicas estão sendo utilizadas para a identificação/caracterização de adesinas dos fungos em estudo. Estudos de adesão *in vitro* a componentes da matriz extracelular estão sendo realizados com o intuito de se identificar adesinas, as quais possam ser relevantes aos processos de adesão e invasão dos patógenos. Bibliotecas subtraídas de cDNAs estão sendo construídas com o objetivo de se identificar novas adesinas e a possível correlação de expressão com a deficiência dos micronutrientes ferro e cobre. Estudos proteômicos nas condições citadas serão realizados.

Os ensaios experimentais a serem realizados deverão prover um grande arsenal de moléculas com provável envolvimento na patogênese dos fungos *P. brasiliensis* e *C. neoformans/gattii*. Moléculas comuns aos dois sistemas estão sendo avaliadas quanto à expressão em modelos *ex vivo* de infecção, bem como em outros fungos patógenos humanos, de relevância para o país. Dessa maneira, isolados dos fungos *Histoplasma capsulatum*, *Sporothrix schenckii* e *Coccidioides immitis* estão sendo obtidos de espécimes clínicos, caracterizados fenotipicamente e armazenados em condições adequadas para análises comparativas futuras. Com o objetivo de promover análises comparativas nos projetos, com a consequente instalação de bancos de dados de ESTs e proteínas, estão sendo desenvolvidas ferramentas de bioinformática visando o adequado processamento dos dados gerados. Em conclusão os resultados evidenciam intensa reprogramação gênica nos fungos *P. brasiliensis* e *C. neoformans/gattii* em resposta à privação de micronutrientes ferro e cobre, assim como em modelos *ex-vivo* de infecção e sugerem a presença de estratégias comuns aos dois sistemas para captação de ferro e cobre, moléculas escassas durante o processo infeccioso.

Publicações:

1. BORGES CL, PARENTE JA, BARBOSA MS, SANTANA JM, BÃO SN, SOUSA MV, SOARES CMA. Characterization of the highly expressed formamidase of Paracoccidioides brasiliensis. **FEMS Yeast Res.** em revisão.
2. DANTAS SFIM, REZENDE TCV, BAILÃO AM, TABORDA CP, SANTOS RVS, CASTRO KP, SOARES CMA. Identification and characterization of antigenic proteins potentially expressed during the infectious process of Paracoccidioides brasiliensis. **Microbes Infect.** No prelo.
3. TACCO BACA, PARENTE JA, BARBOSA MS, BÃO SN, GÓES TS, PEREIRA M, SOARES CMA. Characterization of a secreted aspartyl protease of the fungal pathogen Paracoccidioides brasiliensis. **Med. Mycol.** No prelo.
4. CASTRO NS, CASTRO KP, ORLANDI I, FEITOSA LS, ROSA E SILVA LK, VAINSTEIN MH, BÃO SN, SOARES CMA. Characterization and functional analysis of the β -1,3 glucanosyltransferase of the

human pathogenic fungus Paracoccidioides brasiliensis. **FEMS Yeast Res.**, 9, 103-114, 2009.

5. CASTRO NS, BARBOSA MS, MAIA ZA, BÃO SN, FELIPE MSS, SANTANA JM, MENDES-GIANNINI MJS, PEREIRA M, SOARES CMA. Characterization of Paracoccidioides brasiliensis PbDfg5p, a cell-wall protein implicated in filamentous growth. **Yeast**, 25, 141-154, 2008.
6. CHAGAS RF, BAILÃO AM, PEREIRA M, WINTERS MS, SMULLIAN AG, DEEPE JR GS, SOARES CMA. The catalases of Paracoccidioides brasiliensis are differentially regulated: Protein activity and transcript analysis. **Fungal Genet. Biol.**, 45, 1470-1478, 2008.
7. PEREIRA LA, BÃO SN, BARBOSA MS, SILVA JLM, FELIPE MSS, SANTANA JM, MENDES-GIANNINI MJS, SOARES CMA. Analysis of the Paracoccidioides brasiliensis triosephosphate isomerase suggests the potential for adhesin function. **FEMS Yeast Res.**, 7, 1381-1388, 2007.

Projeto: "Proteoma Estrutural e Funcional do Veneno do Escorpião Amarelo Tityus serrulatus."

Coordenação: Adriano Monteiro de Castro Pimenta – Universidade Federal de Minas Gerais

Execução: Rede Proteoma de Minas Gerais

Toxinas presentes em peçonhas de escorpiões são, em sua maioria, proteínas básicas, de baixo peso molecular, geralmente com 60-70 resíduos de aminoácidos e quatro pontes de dissulfeto, comumente denominadas toxinas de cadeias longas e ativas em canais para Na⁺ voltagem-dependentes de células excitáveis. Outras toxinas descritas são menores, possuindo cerca de 40-45 resíduos de aminoácidos enovelados por três ou quatro pontes dissulfeto sendo, por isso, chamadas de toxinas de cadeias curtas e são responsáveis pelo bloqueio de canais para K⁺ de células excitáveis, linfócitos e eritrócitos. Outras toxinas também podem interagir com os canais para Cl⁻ e para Ca²⁺. Essas proteínas possuem atividade tóxica em vários grupos de vertebrados e de invertebrados, podendo ser classificadas de acordo com seu espectro de ação como toxinas ativas em mamíferos, insetos (toxinas inseticidas) ou crustáceos. Proteínas com atividade enzimática também foram encontradas nas peçonhas de escorpiões, como: fosfolipase A₂, hialuronidase, acetilcolinesterase e fosfatase alcalina.

Por meio do fracionamento por cromatografia líquida uni e bi-dimensional, foram obtidas centenas de frações contendo os componentes do veneno. A partir da análise por espectrometria de massa (ESI-Q-TOF e MALDI-TOF-TOF), foram determinadas as massas moleculares de cerca de 380 componentes. Tais componentes foram separados em cerca de 18 "clusters", que representam famílias estruturais diferentes. Tal representatividade é baseada apenas em critérios de eluição cromatográfica (carga líquida x hidrofobicidade), não sendo, dessa forma, levados em conta dados sobre a estrutura primária dos componentes proteicos. Destes quatro famílias estruturais receberam maior atenção quanto à sua estrutura e/ou isolamento para estudos posteriores: 1) peptídeos de baixa massa molecular (até cerca de 3 kDa) que são potenciais candidatos à peptídeos potenciadores de bradicinina e outros peptídeos semelhantes a hormônios. Um peptídeo em especial (733 Da), foi seqüenciado e sintetizado. O peptídeo sintético foi testado *in vivo* quanto à sua capacidade de potencializar a bradicinina (hormônio hipotensivo) e os resultados foram positivos. Uma caracterização mais aprofundada está em curso e este peptídeo é um candidato à patente, uma vez que sua estrutura primária é bastante original; 2) uma família de peptídeos semelhantes às defensinas. A caracterização total da estrutura primária de representantes dessa família foi totalmente finalizada e está em curso a caracterização da atividade biológica desta proteína; 3) isolamento dos TsPeps. Tais peptídeos foram descritos anteriormente por nosso grupo, sem que fosse feito, entretanto, um estudo aprofundado sobre suas atividades biológicas. Devido a certa dificuldade de síntese deste peptídeo, está em curso o isolamento de maiores quantidades, visando o ganho de material para o aprofundamento de estudos estruturais e funcionais destes peptídeos. 4) Proteínas de alta massa molecular com semelhança estrutural com enzimas. Algumas seqüências parciais foram determinadas e a completude dessas seqüências está em curso.

O projeto prevê ainda o desenvolvimento e consolidação do banco de dados de proteoma. A arquitetura do banco já foi criada e desenvolvida e estamos na fase de povoamento dos dados do banco. No momento os dados obtidos do proteoma de escolopendromorfos estão sendo usados como modelo para o banco. A próxima etapa é o povoamento com os dados do proteoma do escorpião. Para isso é necessária a aquisição de uma servidora com capacidade de processamento e armazenamento adequados, já prevista para a segunda etapa do presente projeto.

Artigos completos publicados em periódicos

1. VERANO-BRAGA, T.; ROCHA-RESENDE, C.; SILVA, D. M.; IANZER, D. A.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; BOUGIS, P. E.; SANTOS, R. A.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Tityus serrulatus Hypotensins: a new family of peptides from scorpion venom. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 371, p. 515-520, 2008.
2. RATES, B.; FERRAZ, K.; BORGES, M.; RICHARDSON, M.; DELIMA, M.; PIMENTA, A. M. C. Tityus serrulatus venom peptidomics: Assessing venom peptide diversity. **Toxicon**, v. 52, p. 611-618, 2008.
3. DE LIMA, M. E.; FIGUEIREDO, S. G.; PIMENTA, A. M. C.; SANTOS, D. M.; BORGES, M. H.; CORDEIRO, M. N.; RICHARDSON, M.; OLIVEIRA, L. C.; STANKIEWICZ, M.; PELHATE, M. Peptides of arachnid venoms with insecticide activity targeting sodium channels. **Comparative Biochemistry and Physiology. C, Toxicology & Pharmacology**, v. 146, p. 264-279, 2007.
4. RATES, B.; BEMQUERER, M. P.; RICHARDSON, M.; BORGES, M. H.; MORALES, R. A. V.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Venomic analyses of Scolopendra viridicornis nigra and Scolopendra angulata (Centipede, Scolopendromorpha): shedding light on venoms from a neglected group. **Toxicon**, v. 49, p. 810-826, 2007.
5. BERNARDES, C. P.; SANTOS-FILHO, N. A.; COSTA, T. R.; GOMES, M. S. R.; TORRES, F. S.; COSTA, J.; BORGES, M. H.; RICHARDSON, M.; SANTOS, D. M.; PIMENTA, A. M. C.; HOMSI-BRANDEBURGO, M. I.; SOARES, A. M.; OLIVEIRA, F. Isolation and Structural Characterization of a New Fibrin(ogen)olytic Metalloproteinase from Bothrops moojeni Snake Venom. **Toxicon**, v. 51, p. 574-584, 2008.
6. NUNES, K. P.; COSTA-GONCALVES, A. C.; LANZA, L. F.; CORTES, S. F.; CORDEIRO, M. N.; RICHARDSON, M.; PIMENTA, A. M. C.; WEBB, C. R.; LEITE, R.; DE LIMA, M. E. Tx2-6 Toxin of the Phoneutria nigriventer Spider Potentiates Rat Erectile Function. **Toxicon**, v. 51, p. 1197-1206, 2008.
7. RICHARDSON, M.; PIMENTA, A. M. C.; BEMQUERER, M. P.; SANTORO, M. M.; BEIRAO, P. S. L.; DE LIMA, M. E.; FIGUEIREDO, S. G.; BLOCH Jr., C.; CAMPOS, F. A. P.; CORDEIRO, M. N. Comparison of the partial proteomes of the venoms of brazilian spiders of the genus phoneutria. **Comparative Biochemistry and Physiology. C, Toxicology & Pharmacology**, v. 142, n. 3-4, p. 173-187, 2006.
8. NASCIMENTO, D. G.; RATES, B.; SANTOS, D. M.; VERANO-BRAGA, T.; BARBOSA-SILVA, A.; DUTRA, A. A. A.; BIONDI, I.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Moving pieces in a taxonomic puzzle: venom 2D-LC/MS and data clustering analyses to infer phylogenetic relationships in some scorpions from the Buthidae family (Scorpiones). **Toxicon**, v. 47, n. 6, p. 628-639, 2006.

Produtos tecnológicos

1. NUNES, K. P.; DE LIMA, M. E.; RICHARDSON, M.; CORDEIRO, M. N.; PIMENTA, A. M. C.; DINIZ, M. R. V. Método para a potencialização da função erétil através do uso das composições farmacêuticas de toxina Tx2-6 da aranha Phoneutria nigriventer. 2008.
2. VERANO-BRAGA, T.; SANTOS, R. A.; DINIZ, C. R.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; BOUGIS, P. E.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Modificação, redução da estrutura primária e síntese de peptídeos hipotensivos presentes no veneno de escorpião para otimização na utilização dos mesmos como fármacos. 2008.
3. DE LIMA, M. E.; DINIZ, C. R.; SANTOS, R. A.; BOUGIS, P. E.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; PIMENTA, A. M. C. Scorpion peptide as hypotensive agent. 2007.
4. DE LIMA, M. E.; DINIZ, C. R.; BOUGIS, P. E.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; SANTOS, R. A.; PIMENTA, A. M. C.; VERANO-BRAGA, T. Synthesis, Modification And Reduction Of Primary Structure Of Hypotensive Peptides Present In Scorpion Venom For Optimizing Their Use As A Hypotensive Medicament. 2007.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos

FARIA-CAMPOS, A. C.; FERNANDES-RAUSCH, H.; GOMES, R.; RATES, B.; PIMENTA, A. M. C.; FRANCO, G. R.; CAMPOS, S. V. A. A New Approach to the Integration of Proteomics Experimental Data. In: **Brazilian Symposium on Bioinformatics**, 2007, Angra dos Reis. BSB 2007 Poster Proceedings, 2007. v. 1. p. 191-203.

Capítulos de livros publicados

VERANO-BRAGA, T.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. From Bradykinin-potentiating peptides to Hypotensins: More Than Four Decades of Research. In: Maria Elena de Lima; Adriano M. C. Pimenta; Russolina B. Zingali; Marie France Martin Eaucclair; Hervé Rochat. (Org.). **Animal Toxins: state of the art. Perspectives in health and biotechnology**. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2009, v. , p. -.

Resumos publicados em anais de congressos nacionais

1. VERANO-BRAGA, T.; REZENDE F. F.; ROCHA-RESENDE, C.; SILVA, D. M.; MATA-MACHADO, L. T.; GUATIMOSIM, S.; SANTOS, R. A.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. TsHpt-I: is this molecule a new tool to investigate the bradykinin potentiating peptides (BPPs) mode of action?. In: **XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (SBBq) and XI Congress of the Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB)**, 2008, Águas de Lindóia. XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (SBBq) and XI Congress of the Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB), 2008. v. 1.
2. NASCIMENTO, D. G.; ROCHA-RESENDE, C.; MOREIRA, D. F. F.; VERANO-BRAGA, T.; BLOCH Jr., C.; SANTOS, R. A.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Two novel Hypotensive peptides isolated from Tityus serrulatus venom. In: **XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (SBBq) and XI Congress of the Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB)**, 2008, Águas de Lindóia. XXXVII Annual Meeting of the Brazilian Biochemistry and Molecular Biology Society (SBBq) and XI Congress of the Pan-American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB), 2008. v. 1.
3. CISCOTTO, P. H. C.; NASCIMENTO, D. G.; RICHARDSON, M.; AGOSTINI, G. C.; RODRIGUES, R. J.; SANTORO, M. M.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Venome Comparative Analysis And Identification Of Novel Proteins From South-American Coral Snake. In: XXXV Reunião Anual da SBBq, 2006, Águas de Lindóia, SP. **Anais da XXXV Reunião Anual da SBBq**, 2006. v. 1.
4. 2) NASCIMENTO, D. G.; RATES, B.; SANTOS, D. M.; VERANO-BRAGA, T.; BARBOSA-SILVA, A.; DUTRA, A. A. A.; BIONDI, I.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Moving pieces in a taxonomic puzzle: Venom 2D-LC/MS and data clustering analyses to infer phylogenetic relationships in some scorpions from the Buthidae family (Scorpiones). In: XXXV Reunião Anual da SBBq, 2006, Águas de Lindóia, SP. **Anais da XXXV Reunião Anual da SBBq**, 2006. v. 1.
5. FERREIRA, R. N.; RATES, B.; CISCOTTO, P. H. C.; MELO, M. N.; BARBOSA-SILVA, A.; DE LIMA, M. E.; SANCHEZ, E. F.; PIMENTA, A. M. C. Venomic analyses of Bothrops species: a new approach to determine taxonomical/phylogenetic relationships based in venom complexities. In: XXXV Reunião Anual da SBBq, 2006, Águas de Lindóia. **Anais da XXXV Reunião Anual da SBBq**, 2006. v. 1.
6. FARIA-CAMPOS, A. C.; RATES, B.; GOMES, R. R.; FERNANDES-RAUSCH, H.; MORATELLI, F. S.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C.; CAMPOS, S. V. A.; FRANCO, G. R. Construction of a new data model for storing and retrieving toxin information. In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 2006, Fortaleza, CE. IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 2006. v. 1.
7. NASCIMENTO, D. G.; RATES, B.; SANTOS, D. M.; VERANO-BRAGA, T.; BARBOSA-SILVA, A.; DUTRA, A. A. A.; BIONDI, I.; MARTIN-EAUCCLAIRE, M. F.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Moving pieces in a taxonomic puzzle: venom 2D-LC/MS and data clustering analysis to infer phylogenetic relationships in some scorpions from the buthidae family (scorpiones). In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 2006, Fortaleza, CE. IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 2006. v. 1.

8. RATES, B.; BEMQUERER, M. P.; RICHARDSON, M.; BORGES, M. H.; MORALES, R. A. V.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Scolopendra viridicornis nigra and Scolopendra angulata (CENTIPEDE, SCOLOPENDROMORPHA) venom proteomics. In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 2006, Fortaleza, CE. IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 2006. v. 1.
9. CISCOTTO, P. H. C.; NASCIMENTO, D. G.; RICHARDSON, M.; AGOSTINI, G. C.; RODRIGUES, R. J.; SANTORO, M. M.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Venome comparative analysis and identification of novel proteins from south-american coral snake. In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 2006, Fortaleza, CE. IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 2006. v. 1.
10. FERREIRA, R. N.; RATES, B.; MELO, M. N.; CISCOTTO, P. H. C.; BARBOSA-SILVA, A.; SANCHEZ, E. F.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Venomic analyses from Bothrops species: a new approach to determine taxonomical/phylogenetic relationships based in venom complexities. In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 2006, Fortaleza, CE. IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, 2006. v. 1.
11. RATES, B.; NASCIMENTO, D. G.; SANTOS, D. M.; VERANO-BRAGA, T.; BARBOSA-SILVA, A.; DUTRA, A.A.A.; BIONDI, I.; MARTIN-EAUCLAIRE, M. F.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Phylogenetic inferences of Buthidae scorpions by venom 2D-LC/MS analyses. In: **I Congresso da Sociedade Brasileira de Espectrometria de Massas**, 2005, Campinas. I Congresso da BrMASS, 2005. v. 1.

Resumos publicados em anais de congressos internacionais

1. PIMENTA, A. M. C.; DE LIMA, M. E. Scorpion Hypotensins. In: X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST) - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009, Cabo de Santo Agostinho. **X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST)** - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009.
2. RATES, B.; FERRAZ, K. K. F.; BORGES, M. H.; RICHARDSON, M.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. De novo sequencing of Tityus serrulatus venom peptides. In: X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST) - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009, Cabo de Santo Agostinho, PE. **X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST)** - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009.
3. DUTRA, A.A.A.; FONSECA, F. G.; PINHO, T. M. G.; CRUZ, J. S.; ROMAN-CAMPOS, D.; PIMENTA, A. M. C. Scorpion toxins with anti viral activity. In: X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST) - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009, Cabo de Santo Agostinho, PE. **X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST)** - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009.
4. VERANO-BRAGA, T.; MELO, M. N.; LAUTNER, R. Q.; MURARI, A.; DE LIMA, M. E.; SANTOS, R. A.; PIMENTA, A. M. C. Tityus serrulatus Hypotensin-i (TsHpt-i): evaluating the crucial amino acids residues involved in its cardiovascular effects. In: X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST) - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009, Cabo de Santo Agostinho, PE. **X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST)** - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009.
5. FIGUEIREDO-REZENDE, F.; VERANO-BRAGA, T.; MATA-MACHADO, L. T.; GOMES, E. R. M.; GUATIMOSIM, S.; SABATINI, R. A.; PESQUERO, J. B.; DE LIMA, M. E.; SANTOS, R. A.; PIMENTA, A. M. C. Tityus serrulatus Hypotensins: new ligands of bradykinin receptors?. In: X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST) - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009, Cabo de Santo Agostinho, PE. **X Congress of SBTx and XVI Congress of International Society on Toxinology (IST)** - Toxin biodiversity: tools for biological research and drug development, 2009.

6. PIMENTA, A. M. C. and De LIMA, M.E. Small peptides, big world: prospecting, characterizing and optimizing structures of some neglected bioactive peptides from arthropod venoms. In: 1st International Congress - Natural Peptides to Drugs, 2008, Zermatt, Suíça. **3rd International Congress - Natural Peptides to Drugs**, 2006. v. 1. P.
7. PIMENTA, A. M. C. Proteomics in the venom quest: new frontiers in Toxinology. In: X-Meeting - 1st International Conference of the AB3C, 2005, Caxambu, MG. X-Meeting - 1st International Conference of the AB3C, 2005. v. 1. p. VIII-VIII.
8. RATES, B.; BARBOSA-SILVA, A.; NASCIMENTO, D. G.; SANTOS, D. M.; VERANO-BRAGA, T.; DUTRA, A.A.A.; DE LIMA, M. E.; PIMENTA, A. M. C. Machine learning-based clustering analyses of venom 2D-LC/MS data to infer phylogenetic relationships in scorpions from the Buthidae Family. In: **1st International Conference of the AB3C**, 2005, Caxambu, MG. X-Meeting - 1st International Conference of the AB3C, 2005. v. 1. p. 89-89.
9. PIMENTA, A. M. C. and De LIMA, M.E. Small peptides, big world: prospecting, characterizing and optimizing structures of some neglected bioactive peptides from arthropod venoms. In: **1st International Congress - Natural Peptides to Drugs**, 2004, Zermatt, Suíça. 1st International Congress - Natural Peptides to Drugs, 2004. v. 1.

Participação em eventos

1. 390 Congresso Brasileiro de Farmacologia e Terapêutica Experimental. Venomics: shake well before use. Indications, dosage and side effects. 2007. (Participações em eventos/Congresso).
2. 230. Workshop Temático do CAT/CEPID. Mining the venome. 2007. (Participações em eventos/Oficina).
3. VII Mostra Científica da Pós-graduação em Genética e Bioquímica - Tecnologias Ômicas (UFU). Venômica: redefinindo os limites na toxinologia através da proteômica. 2007. (Participações em eventos/Outra).
4. Segundo Simpósio Brasileiro de Cromatografia e Técnicas Relacionadas - SIMCRO. Pushing the limits: The use of high resolution techniques in Toxinology. 2006. (Participações em eventos/Simpósio).
5. I Congresso da BrMASS. Redefining boundaries in toxinology: the use of proteomic approaches and mass spectrometry in venom quest. 2005. (Participações em eventos/Congresso).

Dissertações de mestrado concluídas

1. Flávia Figueiredo de Resende. Estudo do mecanismo de ação do peptídeo hipotensor TsHpT-I, isolado da peçonha do escorpião Tityus serrulatus, e de seus análogos estruturalmente minimizados. 2009. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Imunologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, . Orientador: Adriano Monteiro de Castro Pimenta.
2. Breno Rates Azevedo. Venoma comparativo de Escolopendromorfos (Arthropoda, Centipede). 2006. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Imunologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Orientador: Adriano Monteiro de Castro Pimenta.
3. Thiago Verano Braga. Estudos bioquímicos, farmacológicos e de minimização da estrutura do peptídeo TsHpT-I isolado do veneno do escorpião Tityus serrulatus. 2005. Dissertação (Mestrado em Pós-Graduação em Bioquímica e Imunologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Adriano Monteiro de Castro Pimenta.

Teses de doutorado concluídas

1. Thiago Verano Braga. Minimização da estrutura primária do peptídeo TsHpt-I: identificação dos resíduos de aminoácidos cruciais e da estrutura peptídica mínima para a manutenção de seus efeitos anti-hipertensivos. 2009. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Adriano Monteiro de Castro Pimenta.

- Danielle Gomes Nascimento. Utilização de ferramentas proteômicas no estudo da peçonha do escorpião *Tityus serrulatus*. 2008. Tese (Doutorado em Bioquímica e Imunologia) - Universidade Federal de Minas Gerais, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Orientador: Adriano Monteiro de Castro Pimenta.

Projeto: "Análise Proteômica de Mycoplasmas de Interesse em Suinocultura" 2004-2006

Coordenação: Hernán Terenzi – Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina

Execução: Rede Proteoma de Santa Catarina

Este projeto representou o início da Rede Proteoma de Santa Catarina (RPSC; www.rpsc.ufsc.br). Sua origem foi o estímulo do MCT, com a correspondente contrapartida estadual, para a criação de grupos de pesquisa vinculados ao tema "proteômica". Assim, foi organizado um grupo de 8 laboratórios, coordenados por um deles, denominado Laboratório Associado Central (Hernán Terenzi (UFSC-Florianópolis – Interlocutor Científico da RPSC); e contando com 7 Laboratórios Associados (Edmundo C. Grisard (UFSC-Florianópolis), Cátia Klein (EMBRAPA-Concórdia), Jair J. João (UNISUL-Tubarão), Marcelo Maraschin (UFSC-Florianópolis), Marcos L. Pessatti (UNIVALI-Itajaí), Miguel P. Guerra (UFSC-Florianópolis), Lorena B. Tavares (FURB)).

A proposta de trabalho original foi a análise do proteoma global de *Mycoplasma hyopneumoniae* e *Mycoplasma synoviae*, microrganismos de interesse em Santa Catarina por seu impacto na suinocultura e avicultura. Os recursos obtidos nesse momento foram de R\$ 200.000,00 por parte da FINEP/MCT e contra partida de idêntico valor da FAPESC. Este orçamento foi utilizado para compra de equipamentos de eletroforese 1D, computadores, scanners simples, reagentes, para todos os grupos da RPSC; e ainda um HPLC, sistema de eletroforese 2D para o laboratório associado central.

Realizamos cursos de formação em eletroforese 2D e HPLC de proteínas para todos os grupos da RPSC e ao final do projeto conseguimos receber os equipamentos importados e instalá-los adequadamente. Assim a infraestrutura mínima para a RPSC estava instalada e podíamos prosseguir com a busca por novos recursos para o pleno desenvolvimento de uma rede de estudos de proteomas.

Projeto: "GENOPROT – Rede Integrada de Estudos Genômicos e Proteômicos – Rede Proteoma de Santa Catarina (RPSC): Proteômica de Micoplasmas de Interesse em Suinocultura" 2006-2009

Coordenação: Hernán Terenzi – Departamento de Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina

Execução: Rede Proteoma de Santa Catarina

Este projeto representa a segunda etapa de desenvolvimento da Rede Proteoma de Santa Catarina, com investimento substancial da FINEP/MCT (R\$ 2.000.000,00) e da FAPESC (R\$ 1.000.000,00). O projeto está em andamento e os grupos da RPSC receberão no decorrer deste ano os equipamentos para eletroforese 2D de proteínas, tornando-se independentes do laboratório central para análises bidimensionais. Vários grupos vêm obtendo resultados em análises proteômicas de alvos de interesse individual (plantas, Prof. Guerra; parasitas, Prof. Grisard; Mycoplasmas, Prof. Terenzi; proteínas recombinantes, Prof. Terenzi; plantas, Profa. Arisi). É muito claro o papel estimulante da RPSC, uma vez que 3 grupos de pesquisa (Profa. Arisi, Profa. Maria R. Marques e Prof. Grisard) apresentaram propostas em colaboração com a RPSC ao último edital GENOPROT, e as três foram aprovadas. Neste sentido, notamos que os CVs dos integrantes da RPSC estão mostrando cada vez mais o uso dos equipamentos recebidos, e certamente teremos um salto qualitativo e quantitativo importante em publicações, quando efetivarmos a compra do espectrômetro de massa, com os recursos recebidos. Este equipamento nos tornará independentes em análise de proteínas e estimulará ainda mais o surgimento de colaborações e formação de recursos humanos em proteômica.

Especificamente em relação ao tema do projeto, proteômica de micoplasmas, temos, em nosso laboratório, dois alunos de mestrado e um de doutorado diretamente envolvidos com proteoma de *Mycoplasma synoviae* (proteínas totais de membrana e secretadas), e *Mycoplasma hyopneumoniae* (proteínas de membrana e secretadas). Estamos em fase de análise por espectrometria de massa destas amostras, em colaboração com os Profs. Fabio O. Pedrosa e Emanuel M. de Souza da UFPR.

A infraestrutura operacional para a RPSC estará instalada até o fim deste ano, e seguramente em Julho de 2010 inauguraremos o Centro de Biologia Molecular Estrutural, onde estarão alocados todos os equipamentos da Rede. A colaboração entre FINEP/MCT/FAPESC/UFSC foi capaz de apoiar a formação de um forte grupo em proteômica no estado de Santa Catarina.

Produção bibliográfica

Artigos submetidos a publicação

- Angela C.O. Menegatti, Carolina P. Tavares, Catia S. Klein, Luciano Huergo, Javier Vernal, Hernán Terenzi. Proteome of the poultry pathogen *Mycoplasma synoviae*.
- Fábio Cristiano Angonesi Brod, Márcia Regina Pelisser, Jean Borges Bertoldo, Javier Vernal, Hernán Terenzi, Ana Carolina Maissonave Arisi. Heterologous expression and purification of a heat-tolerant *Staphylococcus xylosum* lipase

Artigos completos publicados em periódicos

- REY, N.A.; NEVES, A.; VIEIRA L.Q.; PICH, C.; TEREZI, H.; MAIA, E. C. P. A synthetic dinuclear copper (II) hydrolase and its potential as antitumoral: cytotoxicity, cellular uptake, and DNA cleavage. **Journal of Inorganic Biochemistry**, v.prelo, p.111-118, 2009.
- BOF, M.; SEVERINO, P.C.; SCARPELLINI, M.; MAZERA, D.; NEVES, A.; TEREZI, H. Mononuclear Cull-phenolate Bioinspired Complex is Catalytically Promiscuous: Phosphodiester and Peptide Amide Bond Cleavage. **Inorganic Chemistry**, v.prelo, p.11-22, 2009.
- PARRILHA, G.; FERNANDES, C.; BORTOLUZZI, A.; SZPOGANICZ, B.; SILVA, M.; PICH, C.; TEREZI, H.; HORNJR. A. A new oxo di-iron complex with suitable features to mimic metallohydrolase activity: X-ray molecular structure, aqua solution behavior and nuclease activity of the complex [Fe(HPCINOL)(SO₄)]₂-oxo. **Inorganic Chemistry Communications**, v.11, p.643-647, 2008.
- PUHL, A.; GIACOMINI, C.; IRAZOQUI, G.; BATISTA-VIERA, F.; VILLARINO, A.; TEREZI, H. Covalent immobilization of TEV-protease: a useful tool for cleavage of the His-tag of recombinant proteins. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v.prelo, p.112-115, 2008.
- INOCENTE, G.C.; VILLARINO, A.; TEREZI, H.; GUERRA, M. P. Differential proteomic analysis of developmental stages of *Acca sellowiana*. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.prelo, p.11-21, 2008.
- BASSI, E.; VERNAL, J.; ZANLUCA, C.; TEREZI, H.; ZANETTI, C. Expression, purification and immunodetection of a recombinant fragment (residues 179;281) of the G protein from rabies virus ERA strain. **Protein Expression and Purification**, v.59, p.309-313, 2008.
- FERNANDES, L.; FISCHER, F.; RIBEIRO, C.; SILVEIRA, G.; SA, M.; NOME, F.; TEREZI, H. Metal-free artificial nucleases based on simple oxime and hydroxylamine scaffolds. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, p.prelo, 2008.
- CAMARGO, M. A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A. J.; SZPOGANICZ, B.; MARTENDAL, A.; MURGU, M.; FISCHER, F. L.; TEREZI, H.; SEVERINO, P. C. New Gadolinium Complex with Efficient Hydrolase-like Activity: A 100-Million-Fold Rate Enhancement in Diester Hydrolysis. **Inorganic Chemistry**, v.47, p.2919-2921, 2008.
- SOLETTI, R. C.; FARIA, G. P.; VERNAL, J.; TEREZI, H.; ANDERLUH, G.; MOURA NETO, V.; GABILAN, N. H. Potentiation of anticancer-drug cytotoxicity by sea anemone pore-forming proteins in human glioblastoma cells. **Anti-Cancer Drugs**, v.19, p.517-525, 2008.
- RAZZERA, G.; VERNAL, J.; BARUH, D.; SERPA, V. I.; TAVARES, C.; LARA, F.; SOUZA, E. M.; PEDROSA, F. O.; ALMEIDA, F. C. L.; TEREZI, H.; VALENTE, A. P. Spectroscopic characterization

of a truncated hemoglobin from the nitrogen-fixing bacterium *Herbaspirillum seropedicae*. *JBIC. Journal of Biological Inorganic Chemistry*, p.prelo, 2008.

11. CHIARADIA, L. D.; MASCARELLO, A.; PURIFICAÇÃO, M.; VERNAL, J.; CORDEIRO, M. N. S.; ZENTENO, M. E.; VILLARINO, A.; NUNES, R. J.; YUNES, R. A.; TEREZINI, H. Synthetic chalcones as efficient inhibitors of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase PtpA. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, v.prelo, p.11-20, 2008.
12. REY, N.A.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.J.; PICH, C.T.; TEREZINI, H. Catalytic Promiscuity in Biomimetic Systems: Catecholase-like Activity, Phosphatase-like Activity, and Hydrolytic DNA Cleavage Promoted by a New Dicopper(II) Hydroxo-Bridged Complex. *Inorganic Chemistry*, v.46, p.348-350, 2007.
13. OTERO, L.; SMIRCICH, P.; VIEITES, M.; CIGANDA, M.; SEVERINO, P.; TEREZINI, H.; CERECETTO, H.; GAMBINO, D.; GARAT, B. DNA conformational changes and cleavage by ruthenium(II) nitrofurylsemicarbazone complexes. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.101, p.74-79, 2007.
14. SERPA, V.; VERNAL, J.; LAMATTINA, L.; GROTEWOLD, E.; CASSIA, R.; TEREZINI, H. Inhibition of AtMYB2 DNA-binding by nitric oxide involves cysteine S-nitrosylation. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, v.361, p.1048-1053, 2007.
15. CALGARO, M. R.; NETO, M. D. O.; FIGUEIRA, A. C. M.; SANTOS, M. A.M.; PORTUGAL, R. V.; GUZZI, C. A.; SAIDEMBERG, D. M.; BLEICHER, L.; VERNAL, J.; FERNANDEZ, P.; TEREZINI, H.; PALMA, M. S.; POLIKARPOV, I. Orphan nuclear receptor NGFI-B forms dimers with nonclassical interface. *Protein Science*, v.16, p.1762-1772, 2007.
16. SILVEIRA, G. P.; NOME, F.; GESSER, J. C.; SÁ, M. M.; TEREZINI, H. Estratégias utilizadas no combate a resistência bacteriana. *Química Nova*, v.29, p.844-855, 2006.
17. VERNAL, J., SERPA, V. I., TAVARES, C., SOUZA, E. M., PEDROSA, F. O., TEREZINI, H. Expression, purification and biochemical characterization of a single-stranded DNA binding protein from *Herbaspirillum seropedicae*. *Protein Expression and Purification*, v.53, p.195-200, 2006.
18. PERALTA, R.; NEVES, A.; BORTOLUZZI, A.; DOSANJOS, A.; XAVIER, F.; SZOGANICZ, B.; TEREZINI, H.; DEOLIVEIRA, M.; CASTELLANO, E.; FRIEDERMANN, G. New unsymmetric dinuclear CuII complexes and their relevance to copper(II) containing metalloenzymes and DNA cleavage. *Journal of Inorganic Biochemistry*, v.100, p.992-1004, 2006.

Projeto: "Proteoma do músculo esquelético do búfalo" – PROMEB

Coordenação: Maria Paula Cruz Schneider – Universidade Federal do Pará

A unidade de análise proteômica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará, que está sob a responsabilidade do grupo de pesquisa Laboratório de Polimorfismo de DNA, foi criada em 2005 com o apoio da FINEP/MCT/SECTAM, com o objetivo inicial de mapear as proteínas do músculo esquelético do búfalo em comparação com aquelas dos bovinos da raça nelore. Esta unidade conta atualmente com um sistema de focalização isoeletrica, sistema de eletroforese em gel SDS-PAGE que permite o processamento simultâneo de até seis amostras, scanner para aquisição de imagens, software para análise de imagens e espectrômetro de massa MALDI-TOF. Os resultados oriundos da análise revelaram grande similaridade entre os perfis proteômicos de bovinos e bubalinos com proteínas de ponto isoeletrico predominantemente no intervalo de pH 4 - 7 e peso molecular próximo a 45 kDa. As manchas proteômicas do tecido muscular de bubalinos mostraram-se mais intensas, sugerindo uma menor expressão destas proteínas em bovinos. Um resultado relevante consiste no treinamento de pessoal que incluiu dois bolsistas de iniciação científica, um de mestrado e um de doutorado envolvidos especificamente com a realização da análise de eletroforese bidimensional. Um total de 10 resumos foi publicado em anais de congressos científicos. Como outros resultados pode-se citar a cooperação entre a Universidade Federal do Pará através do Laboratório de Polimorfismo de DNA e a Universidade Federal de Minas Gerais através do Laboratório de Toxinas e Venenos Animais, especialista em análise proteômica estrutural e funcional, a criação da Rede de cooperação acadêmica, que inclui UFPA, UFMG e USP, para o estudo da biodiversidade microbiana amazônica e suas aplicações biotecnológicas e a cooperação internacional entre a equipe do Dr.

Victor de Lorenzo do Centro Nacional de Biotecnologia de Madri (CSIC) e a equipe da Dra. Maria Paula Schneider da UFPA (CNPq), que inclui, entre outros, estudos proteômicos de microrganismos cultiváveis e não cultiváveis do reservatório da hidroelétrica de Tucuruí. Em suma, a consolidação da unidade permitiu a elaboração de novas propostas, algumas já em execução ampliando assim o processo de capacitação de recursos humanos através dos programas de pós-graduação e atraindo a atenção para outras áreas do conhecimento como a de saúde e a vegetal, por exemplo, o que tem impacto direto no desenvolvimento científico e tecnológico da região amazônica.

Projeto: Análise Proteômica do Estresse Hídrico em Cafeeiro

Coordenação: Fábio de Oliveira Pedrosa Vice-Coordenador: Emanuel Maltempo de Souza – Universidade Federal do Paraná

Execução: Rede Proteoma do Paraná.

O projeto Proteopar foi desenvolvido pela Rede Proteoma do Paraná – Proteopar - de 8 laboratórios de 7 Instituições paranaense (UFPR, UEPG, UEL, IAPAR, Embrapa Soja, UEM, Unioeste) e teve como objetivo geral identificar proteínas de cafeeiro diferencialmente expressas em resposta ao estresse hídrico e durante a fase de recuperação pós-estresse. O desenho experimental biológico constou de duas variedades, resistente e susceptível, de cada espécie (*Coffea arabica* e *C. canephora*) três regimes hídricos (estressado, não-estressado ou controle e recuperado). Os órgãos analisados foram folhas e raízes, perfazendo 24 tratamentos. Os recursos recebidos da FINEP (R\$ 350.000,00) e Fundação Araucária (R\$ 350.000,00) foram utilizados para equipar os laboratórios com infra-estrutura completa para eletroforese bidimensional e gastos com custeio. O IAPAR através dos Dr. Luiz Gonzaga E. Vieira realizou a experimentação biológica direta com as variedades de cafeeiro, preparou e distribuiu os extratos proteômicos de folhas e raízes para todos os grupos. Os laboratórios associados tiveram como responsabilidade implantar e realizar análises bidimensionais dos extratos proteômicos, identificar as bandas proteômicas diferencialmente expressas, e realizar a análise por espectrometria de massa no Laboratório Central (UFPR). Pelo menos dois grupos receberam tratamentos idênticos, visando garantir a reprodutibilidade dos resultados. Coube ainda ao laboratório Central gerenciar todo o projeto, construir o portal da Internet e o banco de dados dos géis bidimensionais e realizar as análises de espectrometria ([HTTP://proteopar.genopar.org](http://proteopar.genopar.org)) de massa em Espectrômetro Maldi ToF. O IAPAR implantou a plataforma de identificação de proteínas utilizando as informações do Genoma do Café, já que era o único da rede autorizado a ter acesso a este banco de genes. A metodologia de eletroforese bidimensional foi implementada e consolidada em todos os laboratórios. Foram treinados 35 pesquisadores em eletroforese bidimensional, análise de imagem e espectrometria de massa. **Resultados:** 1. Foram obtidos 6 géis de referência do padrão de expressão proteômica de folhas de *C. arabica* variedade tolerante BA10 e sensível Geisha em resposta ao estresse hídrico e recuperação, 2. foram identificadas mais de 100 proteínas diferencialmente expressas em decorrência dos diferentes regimes hídricos, órgãos e variedades de cafeeiro. Um conjunto de proteínas com potencial para aplicação biotecnológica foi identificado: 1. Proteína ligadora de auxina, 2. Anexinas, 3. KNAT3 = Proteína Knotted1-like homeobox, 4. Aquaporinas, 5. Miraculinas, 6. Ciclofilinas (peptidil-prolil cis-trans isomerase), 7. Proteína de amadurecimento sensível ao ácido abscísico, 8. Quitinase classe III e 9. Centro de reação do fotosistema I. O projeto está tendo continuidade com a confirmação da identificação das proteínas diferencialmente expressas por espectrometria MALDI-TOF-TOF (equipamento recebido em dezembro de 2007), que serão validadas por PCR quantitativo (IAPAR), com o objetivo de finalizar uma publicação.

Os mecanismos de resistência a estresses têm sido um tema intensamente estudado tanto em procaríotos como em eucariotos. Os resultados obtidos no desenvolvimento deste projeto deverão contribuir para o entendimento dos mecanismos moleculares de resistência a estresse hídrico em plantas.

Manuscrito em preparação:

Humberto J.O. RAMOS, CHAVES Daniela F.S.; Luiz F.P. PEREIRA; Leonardo M. CRUZ; Maria H. FUNGARO, Mariângela HUNGRIA; Clarice OSAKU; Maria L. PETZL-ERLER; Ricardo A. AYUB; Rosane M. PERALTA; Celso J. MARUR; Emanuel M. SOUZA; Luiz G. E. VIEIRA; Fábio O. PEDROSA e REDE PROTEOPAR. Proteomic analysis of the Drought response in *Coffea* spp.

Resumo Expandido:

RAMOS, H. J. O.; CHAVES, F. S.; PEREIRA, L. F. P.; CRUZ, L. M.; FUNGARO, M. H.; HUNGRIA, M.; OSAKU, C.; PETZL-ERLER, M. L.; AYUB, R. A.; PERALTA, R. M.; MARUR, C. J.; SOUZA, E. M.; VIEIRA, L. G. E.; PEDROSA, F. O. e REDE PROTEOPAR. Análise Proteômica do Estresse Hídrico em Cafeeiro. **50 Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Águas de Lindóia, 2007.

Resumo:

RAMOS, H. J. O.; SEIXAS, D. F.; PEREIRA, L. F. P.; CRUZ, L. M.; FUNGARO, M. H.; HUNGRIA, M.; OSAKU, C.; PETZL-ERLER, M. L.; AYUB, R. A.; PERALTA, M.; MARUR, C. J.; SOUZA, E. M.; VIEIRA, L. G. E.; AND PEDROSA, F. O. Comparative Proteomic Analysis of Drought Stress Response in *Coffea*. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**. Bahia, 2007

Palestra

Humberto Ramos. Análise Proteômica do Estresse Hídrico em Cafeeiro. **5º Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, Águas de Lindóia, 2007.

Projeto: Consolidação da Rede de Pesquisa em Proteoma do Estado do Rio de Janeiro

Coordenação: Gilberto Domont – Universidade Federal do Rio de Janeiro

Execução: Rede de Pesquisa em Proteoma do Estado do Rio de Janeiro

1. Projetos desenvolvidos em rede com detalhamento de resultados.

a) *Vibrio cholera*

Destaca-se a comparação de géis obtidos de diferentes cepas da bactéria *Vibrio Cholera* em diferentes condições de crescimento, algumas proteínas envolvidas na virulência já foram identificadas. Também foram identificadas por espectrometria de massa mais de uma centena de proteínas majoritárias da linhagem padrão El Tor que possui seu genoma sequenciado. Com este resultado foi construído um mapa de referência para esta linhagem, publicado na revista especializada *Proteomics* (Coelho A, Santos EO, Faria MLH, Carvalho DP, Soares MR, Von Kruger WMA, and Bisch PM (2004) **A proteome reference map for *Vibrio cholerae* El Tor**. *Proteomics* 4(5) 1491-1504. O trabalho continua com a análise do conjunto de proteínas produzidas em diferentes condições por cepas selvagens em comparação com cepas mutantes, com o objetivo de se verificar e entender os fatores de virulência destes microorganismos, assim como no esforço de identificar de forma sistemática o maior número possível de proteínas produzidas pela bactéria. Um segundo trabalho já foi publicado: **The phosphate starvation response in *Vibrio cholerae* O1 and *phoB* mutant under proteomic analysis: disclosing functions involved in adaptation, survival, and virulence**. *Proteomics*, 6 (5): 1495-1511, 2006.

b) *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Análise de proteoma da bactéria diazotrófica *Gluconacetobacter diazotrophicus* e de sua interação endofítica com plantas de cana-de-açúcar.

Um mapa proteômico de referência contendo 450 “spots” corados foi construído e mais de 200 proteínas, empregando análise por MALDI TOF and MALDI TOF/TOF, foram identificadas. Estas proteínas correspondem aos produtos de 171 genes, com pontos isoelétricos entre 4 e 7 e massas moleculares entre 10 e 120 kDa. Várias isoformas foram encontradas. As proteínas estão grupadas em 20 categorias diferentes e 26 vias metabólicas, em sua maior parte de metabolismo energético, de aminoácidos e de síntese protéica. As proteínas hipotéticas corresponderam a 11% das proteínas

identificadas. Também estão representadas funções tóxicas, de resistência e adaptação. A publicação deste trabalho depende do fechamento do mapa genômico da bactéria, tema do Projeto Rio Gene. Este trabalho foi recentemente publicado com a participação de vários dos laboratórios que integram a Rede **“Protein Expression Profile of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, a sugarcane endophytic plant-growth promoting bacterium”**. *Proteomics* 8, 1631-1644, 2008.

O mapa proteômico da interação endofítica está concluído e a análise de imagens para determinação de proteínas diferencialmente expressas já foi feita. Os trabalhos de identificação destas proteínas foram iniciados.

c) Venenos

i) *Bothrops insularis*

Diferentes enfoques foram utilizados para compreender a complexidade do veneno de *Bothrops insularis*. O fracionamento protéico foi feito usando 2D; a cromatografia de exclusão, seguida de 2D, foi empregada para agrupar proteínas por MM e para estudar interações protéicas; a porção peptídica do veneno foi estudada diretamente nos espectrômetros de massa (MS). A identificação de proteínas foi feita empregando MALDI-TOF-MS e MALDI-TOF-TOF-MS, “ion-trap tandem MS/MS” e ESI-Q-TOF para seqüenciamento de novo. Os Bancos de Dados utilizados foram o construído a partir do transcriptoma da glândula de veneno (Dr. PauloLee Ho, Instituto Butantan) e o NCBI. Foram identificadas cerca de 60 proteínas pertencentes as famílias de metaloproteases, serinoproteases, fosfolipases, lectinas, VEGF além de peptídeos com características de potenciadores de bradicinina ainda não descritos. Também foi identificada a presença de desintegrinas neste veneno a partir da análise da fração com menos de 10 kDa. A degradação das metaloproteases também foi objeto de estudo. (**Artigo submetido**). Um manuscrito está em fase final de redação para ser enviado para publicação ainda este mês. Além disso, abordagens inovadoras tem sido usadas para avaliação de proteínas diméricas e multiméricas resultando na identificação de lectinas do tipo C e possibilitando posterior purificação e caracterização desta molécula associada a determinação da estrutura molecular por modelagem (**Artigo submetido**).

ii) *Bothrops jararaca* e outros venenos

O proteoma do veneno de *Bothrops jararaca* também é objeto de estudo pelos laboratórios da Rede. Foi usada a mesma estratégia do estudo do veneno de *Bothrops insularis* para fracionamento e identificação de proteínas. Foi utilizado o Banco de Dados do transcriptoma da glândula de veneno cedido pelo Dr Rodolpho Albano. Também foi realizada uma avaliação das proteínas multiméricas a partir da obtenção do gel bidimensional realizado na presença e na ausência de agentes redutores. A partir desta análise foi possível identificar diversos pares de subunidades ligadas formando heterodímeros.

Outros venenos estão sendo estudados tendo diversas características exploradas, a partir do veneno de *B. jararacussu* analisamos a imogenicidade de seus componentes e propondo novas formas de produção do antisoro. Também foram estudados os venenos das serpentes Elapidae *Micrurus corallienus* e *M. frontalis* (resumos apresentados na Reunião anual da SBBq, 2007)

iii) Inibidores e sub-proteomas de venenos

Além dos estudos com inibidores, um terceiro trabalho está relacionado à obtenção e identificação de subproteomas do veneno empregando os inibidores de metaloproteases e de miotoxinas isolados de *Didelphis marsupialis*. Este trabalho está pronto e será, em breve, redigido para publicação. Outro estudo que já apresenta resultados consistentes é a análise de componentes de veneno que interagem com proteínas plasmáticas. Este estudo foi realizado através da confecção de colunas de afinidade contendo trombina e protrombina. Até agora alguma metaloproteases e lectinas foram identificadas, estudos se encontram em andamento para confirmar a interação destas moléculas com trombina e antitrombina (resumos apresentados SBBq 2006 e 2007).

d) Dengue

Um dos objetivos deste projeto é estudar as proteínas diferencialmente expressas em uma linhagem de célula hepática humana e compará-las com aquelas presentes em soros de pacientes com dengue grave, através do uso de técnicas proteômicas. Durante este primeiro ano a maior parte dos esforços se destinou à padronização do preparo das amostras para corrida em géis bi-dimensionais e identificação por espectrometria de massas. Nesse sentido, várias condições foram testadas e assim foi possível obter amostras em condições excelentes para a análise por eletroforese bi-dimensional tanto dos secretados das células em cultura como dos soros de pacientes. Amostras de baixo peso molecular também foram obtidas e serão identificadas diretamente por espectrometria de massas. Em paralelo ao estabelecimento das condições ideais para as análises proteômicas, desenvolvemos um método de quantificação viral por RT-PCR em tempo real, a fim de avaliar a replicação ao longo da infecção. Este método se mostrou bastante eficiente na quantificação do vírus nos extratos celulares, nos sobrenadantes das culturas, em soros de pacientes e em mosquitos infectados. Este é o primeiro método capaz de identificar o vírus em todos esses tipos de amostras.

Atualmente a obtenção do secretado e extrato celular estão padronizados, tanto para análise de peptídeos como de proteínas e o estudo comparativo dos secretados está em desenvolvimento.

A fim de aperfeiçoar as análises do secretado celular realizamos também uma abordagem tipo mud-pit onde o extrato foi analisado unidimensionalmente por eletroforese e cada banda foi tripsinizada e analisada por espectrometria de massas por LC-MS/MS. A partir desta abordagem foi possível identificar mais de 120 proteínas secretadas pelas células sendo que pelo menos 20 são exclusivas da célula infectada (**Artigo Aceito Biochimica et Biophysica Acta Proteins and Proteomics**). A fim de confirmar os dados estamos adquirindo anticorpos contra as proteínas identificadas e iremos analisar sua expressão por western blotting. Paralelamente, em colaboração com um grupo na Universidade do México foram realizadas as análises de expressão por microarray.

Além disso, também a eletroforese bidimensional para análise de soro de pacientes com dengue hemorrágico já foi padronizada. As análises comparativas entre soro de indivíduos normais e doentes também se encontram em andamento. Também foram acertadas as técnicas de cultura do vírus da dengue em células Vero e de mosquito *Aedes albopictus* para estudar o proteoma diferencial de células humanas e de invertebrados quando submetidas à ação, em cultura, do vírus.

O desenvolvimento deste projeto também vem sendo extremamente importante na formação de pessoal na área de proteômica. Como resultado do envolvimento de estudantes de Iniciação Científica e Pós-Graduação podemos citar os seguintes trabalhos de conclusão de curso e teses já apresentados ou com previsão de defesa para este semestre: monografia de conclusão de curso de Lidiane Martins de Albuquerque, defendida em setembro de 2004; monografia de conclusão de curso de Luiza de Mendonça Higa, com defesa em abril de 2005; tese de mestrado de Thaís Moraes da Conceição, com defesa em abril de 2005; tese de mestrado de Flávia Canellas de Souza com defesa em maio de 2006, monografia de final de curso da aluna Marjolly Brígido Caruso com defesa em julho de 2006; tese de mestrado de Lidiane Martins de Albuquerque defendida em junho de 2007 (o artigo gerado por estes dados está na fase final de preparação) e tese de Janete Chung 2007.

1) Publicações:

a) Laboratório de Toxinologia – Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica, Instituto Oswaldo Cruz, Fiocruz

Coordenador: Jonas Enrique Perales Aguilar

i) Trabalhos publicados relativos à Rede Proteômica de Rio de Janeiro ou que fizeram uso da tecnologia proteômica instalada através do programa.

1. LERY, L. M., COELHO, A.; VON KRUGER, W. M. A.; GOLÇALVES, M. S. M.; SANTOS, M. F.; VALENTE, R. H.; SANTOS, E.O.; ROCHA, S. L. G.; PERALES, J.; DOMONT, G. B.; TEIXEIRA, K. R. S.; BISCH, P. M. Protein Expression Profile of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, a sugarcane endophytic plant-growth promoting bacterium. **Proteomics**, v.8, p.1631 - 1644, 2008.
2. FREITAS, Z.F., CHAPEAUROUGE, D. A., PERALES, J., BERTOLINI, M. C. A Systematic approach to identify STRE-Binding Proteins of *gsn* Glycogen Synthase gene Promoter in *Neurospora crassa*. Available online. **Proteomics**, v.8, p.00 - 01, 2008. Disponível on line.

3. BALDO, C.; TANJONI, I.; LEÓN, I. R.; BATISTA, I. F. C.; DELLA-CASA, M. S.; CLISSA, P. B.; VALENTE, R. H.; WEINLICH, R.; LOPES-FERREIRA, M.; LEBRUN, I.; RODRIGUES, V. M.; PERALES, J.; MOURA-DA SILVA, A.M. BnP1, a novel P-I metalloproteinase from *Bothrops neuwiedi* venom: Biological effects benchmarking relatively to jararhagin, a P-III SVMP. **Toxicon**, v.51, p.54 - 65, 2008.
4. MORAES, ROGER DE; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; TRUGILHO, M. R. O.; PERALES, J.; TIBIRIÇA, E. V. Chronic Dynamic Exercise Increases Apolipoprotein A-I Expression in Rabbit Renal Cortex as Determined by Proteomic Technology. **British Journal of Sports Medicine**, 2008. Disponível on line.
5. PASSOS, L. K. J.; ANDRADE, H. M.; CALDEIRA, R. L.; ROMANHA, A. J.; MURTA, S. M. F.; CHAPEAUROUGE, D. A.; PERALES, J.; COELHO, P. M. Z.; CARVALHO, O.S. Proteome analysis of the cardiac and pericardial tissue of *Biomphalaria tenagophila* populations susceptible and resistant to *Schistosoma mansoni* infection. **Acta Tropica**, v.105, p.229 - 234, 2008.
6. RICCI-SILVA, M. E.; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; TAMBOURGI, D. V.; PERALES, J.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A.M. Immunological and proteomic technologies as tools for unraveling toxins involved in envenoming by accidental contact with *Lonomia obliqua* caterpillars. **Toxicon**, 2008. Disponível on line.
7. LEÓN, I. R.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; VALENTE, R. H.; MOTA, E. M.; LENZI, H. L.; PERALES, J. Improved protein identification efficiency by mass spectrometry using a N-terminal chemical derivatization of peptides from *Angiostrongylus costaricensis*, a nematode with unknown genome. **Journal of Mass Spectrometry**, v. 42, (6) p. 781-792, 2007.
8. BAHIA, D.; GONTIJO, N. F.; LEÓN, I. R.; PERALES, J.; PEREIRA, M. H.; OLIVEIRA, G. C.; OLIVEIRA, R. C.; REIS, A. B. Antibodies from dogs with canine visceral leishmaniasis recognise two proteins from the saliva of *Lutzomyia longipalpis*. **Parasitology Research**, v. 100, n 3, p.449-454, 2007.
9. CUNHA BASTOS V. L. F.; SALLES, J. B.; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; PERALES, J.; ALBANO, R. M.; BASTOS, F.F.; CUNHA BASTOS, J. Cytosolic glutathione peroxidase from liver of pacu (*Piaractus mesopotamicus*), a hypoxia-tolerant fish of the Pantanal. In Press. Available on Line. **Biochimie (Paris)**, v.89, p.1332 - 1342, 2007.
10. SANTOS I.S.; OLIVEIRA, A. E.A.; CUNHA, M.; MACHADO, O. L.T.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; FERNANDES, K.V.S.; PERALES, J.; GOMES, V.M. Expression of chitinase in *Adenantha pavonina* L. seedlings. **Physiologia Plantarum (Copenhagen)**, Available on Line. **Physiologia Plantarum (Copenhagen)**, v.131, p.80 - 87, 2007.
11. VON KRÜGER, W. M. A.; LERY, L. M. S.; SOARES, M. R.; NEVES-MANTA, F. S.; BATISTA E SILVA, C. M.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; PERALES, J. e BISCH, P. M. The phosphate starvation response in *Vibrio cholerae* O1 and *phoB* mutant under proteomic analysis: disclosing functions involved in adaptation, survival, and virulence. **Proteomics**, 6 (5): 1495-1511, 2006.
12. MODESTO, J. C. A.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L. M.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; FRITZEN, M.; OLIVA, M. L. V.; HO, P. L.; PERALES, J.; CHUDZINSKI-TAVASSI, A. M. Insularinase, a prothrombin activator from *Bothrops insularis* venom, is a class P-I metalloprotease derived from a gene encoding protease and disintegrin domains. **Biological Chemistry, Alemanha**, v. 386, p. 589-600, 2006.
13. BONAVIDA, A. G. C.; DA COSTA, A. S.; PIRES, A. L. A.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; PERALES, J.; CORDEIRO, R. S. B.; MARTINS, M. A.; SILVA, P. M. R. Contribution of mast cells and snake venom metalloproteinases to the hyperalgesia induced by *Bothrops jararaca* venom in rats. **Toxicon, Inglaterra**, v. 47, p. 885-893, 2006.
14. MARQUES, M. A. M.; ESPINOSA, B. J.; SILVEIRA, E. K. X.; PERALES, J.; et al. Continued Proteomic Analysis of *Mycobacterium leprae* Subcellular Fractions. **Proteomics (Weinheim. Print)**, 4, 2942-2953, 2004.
15. NEVES-FERREIRA, A. G. C.; ANDRADE, C. M.; VANNIER-SANTOS, M. A.; PERALES, J.; et al. Complete Amino Acid Sequence and Location of Omp-28, an Important Immunogenic Protein from *Salmonella enterica* Serovar Typhi. **Journal of Protein Chemistry, Estados Unidos**, 23, n. 1, p. 71-77, 2004.

ii) Artigos Aceitos Para Publicação

MARQUES, M. A. M., NEVES-FERREIRA, A. G. C. N., SILVEIRA, E. K. X., VALENTE, R. H., CHAPEAUROUGE, D. A., PERALES, J., BERNARDES, R.S., DOBOS, K. M., BELISLE, J. T., SPENCER, J. S., BRENNAN, P. J., PESSOLANI, M. C. V. Deciphering the Proteomic Profile of Mycobacterium leprae Cell Envelope. *Proteomics*, 2008.

iii) Trabalhos apresentados em congressos cujos resumos foram publicados em Jornais.

1. NEVES-FERREIRA, A. G. C.; MARQUES, M. A. M.; SILVEIRA, E. K. X.; VALENTE, R. H.; CHAPEAUROUGE, A.; PESSOLANI, M. C. V.; PERALES, J.; BRENNAN, P. J. The Proteome of Mycobacterium leprae. *Molecular and Cellular Proteomics*, v. 4, n. N 8suppl.1, p. S243, 2005.
2. KRUGER, W. M. A. V.; SANTOS, L. L. M.; SOARES, M. R.; NEVES-MANTA, F. S.; SILVA, C. M. B. E.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; PERALES, J.; BISCH, P. M. A proteomic analysis of the phosphate stimulon in Vibrio cholerae O1 reveals functions involved in adaptation, survival, and virulence. *Molecular and Cellular Proteomics*, USA, v. 4, n. N-8 Suppl1, p. S249, 2005
3. NEVES-FERREIRA, A. G. C.; VALENTE, R. H.; ROCHA, S. L. G.; PERALES, J.; et al. Studies on Snake Venom Subproteomes Derived from Affinity Chromatography Using Immobilized Toxin Inhibitors. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, Brasil, v. 10, n. 3, p. 356, 2004.
4. WB Lopes (M), RH Valente,, AGC Neves Ferreira, A Chapeaurouge,, GB Domont and J Perales. A Snake Venom Metalloproteinase Inhibitor From Bothrops moojeni Serum. *J. Venomous Animals and Toxins and Tropical Diseases* 10 (3): 495 (2004)
5. 5. CHERMONT, S. A.; JURGILAS, Patrícia B.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; PERALES, J.; et al. Isolation of Angiostatin from Normal Human Plasma Using Affinity Chromatography with a Myotoxic PLA2 From Bothrops Asper Venom. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, Brasil, v. 10, n. 3, p. 595, 2004.
6. JURGILAS, Patrícia B.; DEMEIS, J.; MENDES-DA-CRUZ, D.; PERALES, J.; et al. DM43, A Snake Venom Metalloproteinase Inhibitor, Induces Cellular Death on Fibroblast Cell Line (3T3). *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, Brasil, v. 9, n. 2, p. 548, 2003.

iv) Trabalhos apresentados em Congressos

1. SILVEIRA, E. K. X.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; VALENTE, R. H.; PERALES, J.; et al. Application of proteomics in defining the cytosolic proteins of Mycobacterium leprae. In: XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia, Florianópolis. *Anais do XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia*, 2003.
2. S L G Rocha, A G C Neves Ferreira, R H Valente, A D Chapeaurouge, S A Chermont, Gilberto Barbosa Domont and J Perales. Proteomic Approach to Study the Interaction Between the SVMP Inhibitor DM43 and Different Snake Venoms. In *XIV World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins and XXXII Reunião Anual da SBBq*, Abstract Book, p. 21, Adelaide, Austrália, 2003.
3. R H Valente, A G C Neves Ferreira, A Chapeaurouge, S L Rocha, MRO Trugillo, J Perales, A L Oliveira Carvalho, D L S Dutra, L S Wermelinger, R B Zingali, I L M Junqueira de Azevedo, P L Ho, I G da Silva, M Junqueira and Gilberto Barbosa Domont. Bothrops insularis predictive proteome. In *XIVth World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins and XXXII Reunião Anual de SBBq*, Abstract Book, V. 14, p. 135, Adelaide, Austrália, 2003.
4. A Chapeaurouge, Gilberto Barbosa Domont, R H Valente, A G C Neves Ferreira, S T Ferreira and J Perales Folding of DM43, a metalloproteinase inhibitor from Didelphis marsupialis. In *XIVth World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins and XXXII Reunião Anual de SBBq*, Abstract Book, V. 14, p. 46, Adelaide, Austrália, 2003
5. PERALES, J. Isolamento e Caracterização de Metaloproteases e Fosfolipases de Venenos de Serpentes Utilizando Cromatografia de Afinidade e Técnicas Proteômicas. In: *VI Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática*, 2004, Rio de Janeiro. ENZITEC - p. 162-162. 2004

6. PERALES, J. Snake Venom Analysis using Proteomic Techniques. In: *XXXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica*, Caxambu-MG. v. XXXIII. p. 02-02. 2004.
7. VALENTE, R. H.; FERREIRA, Ana Gisele da Costa Neves; CHAPEAUROUGE, Alex; PERALES, J.; et al. New Data from Bothrops insularis Venom Predictive Proteome Effort. In: *XXXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica*, Caxambu-MG, 2004.
8. ALBUQUERQUE, L M; FERREIRA, Ana Gisele da Costa Neves; VALENTE, R H; TRUGILHO, M R O; JURGILAS, P B; CHAPEAUROUGE, A; CHERMONT, S A; FARIA NETO, H Castro; BOZZA, P; BOZZA, F; PERALES, J. Otimização da técnica de eletroforese bidimensional para análise proteômica comparativa entre plasmas de pacientes com dengue grave e de doadores saudáveis. In: *XIX Reunião Anual da Federação de Sociedades de Biologia Experimental (FESBE)*, Águas de Lindóia. 2004.
9. SILVA, I G da; ROCHA, S L G; FERREIRA, Ana Gisele da Costa Neves; VALENTE, R H; JUNQUEIRA, M; DOMONT, G B; PERALES, J. Proteomic analysis of Didelphis marsupialis serum (gambá): search of SVMPs inhibitors and its isoforms. In: *XXXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)*, Caxambu. 2004. p. N-126.
10. Trugilho, MRO, Junqueira-de-Azevedo, ILM, Neves-Ferreira, AGC, Jurgilas, PB, Ho, PL, Domont, GB and Perales, J. Cloning, sequencing and comparison of venom toxin inhibitors from Didelphis marsupialis. *XXXIII Reunião Anual da SBBqBM*, 15-18 de maio, 2004, Caxambu, Livro de Resumos, B-48, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
11. Angulo, Y, Rocha, SLG, Neves-Ferreira, AGC, Domont, GB, Perales, J, Gutierrez, JM and Lomonte, B. Inhibitory effect of DM64, a protein from Didelphis marsupialis serum, on the activities of crotalid snake venom myotoxic phospholipases A2. In *XXXIII Reunião Anual da SBBqBM*, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-104, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
12. Lopes, WB, Valente, RH, Neves-Ferreira, AGC, Domont, GB and Perales, J. Identification and preliminary characterization of a metalloproteinase inhibitor from Bothrops moojeni serum. *XXXIII Reunião Anual da SBBqBM*, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-119, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
13. BIANCO JR, C; CARVALHO, Ljm; ALVES, Fa; OLIVEIRA, Sg; MICHAEL, T; ROCHA, S L G; FERREIRA, Ana Gisele da Costa Neves; PERALES, J; MUNIZ, Japc; DANIEL-RIBEIRO, C. Study in vitro and in vivo of the passive transfer protective effect of anti-MSP3 and anti-GLURP antibodies on Plasmodium falciparum growth. In: *XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical / I Encontro de Medicina Tropical do Cone Sul*, Florianópolis. 2005.
14. I. S. Santos; M. Da Cunha; A. E. A. Oliveira; O. L. T. Machado; A. G. C. Neves-Ferreira; S. F. F. Ribeiro; Machado, O.L.T.; V. M. Gomes. Chitinase expression in Adenantha pavonina L. seedlings. *XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)*. Águas de Lindoia 2005. (Resumo E-5).
15. Goulart CL; Sousa FJR; Lery LM; Manta FSN; Neves-Ferreira AGC; Perales JE; Bisch PM; von Kruger WMA. Molecular characterization of Vibrio cholerae O1 alkaline phosphatase. *XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)*. Águas de Lindoia 2005. (Resumo F-7).
16. von Kruger, WMA; Lery, LMS; Soares, MR; Manta, FSN; Silva, CBM; Neves-Ferreira, AG; Perales, J.E.; Bisch, PM. The phosphate starvation response in Vibrio cholerae O1 and PhoB mutant under proteomic analysis: disclosing functions involved in adaptation, survival and virulence. *XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)*. Águas de Lindoia 2005. (Resumo F-21).
17. Evaristo, J.A.M.; Retamal, C.A.; Olivares, F.L; Chapeaurouge, A.Alves; E.W. A survey for secreted proteins of Gluconacetobacter diazotrophicus growing in complex and defined liquid medium. *XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)*. Águas de Lindoia 2005. (Resumo F-23).
18. Xavier da Silveira E.K.; Barbosa, D.A.; Marques, M.A.M.; Valente, R.H.; Neves-Ferreira, A.G.C.; Chapeaurouge, A.; Perales, J.; Pessolani, M.C.V. and Brennan, P.J. The Proteome of Mycobacterium leprae. *XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)*. Águas de Lindoia 2005. (Resumo F-55).

19. Moraes Neto, A.H.A. de; Evaristo, J.A.M.; Retamal, C.A.; Chapeaurouge, A.; Alves, E.W.; De Souza, W. Comparative Analysis of Proteins of the Cuticle of Males and Females of *Litomosoides chagasfilhoi* Nematoda: Filarioidea by Electrophoresis 1-D and Proteomics. **XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**. Águas de Lindoia 2005. (Resumo G-77).
20. Coelho, F.E.M.R.F.; Valente, R.H.; Neves-Ferreira, A.G.C.; Lopes, W.B.; Leon, I.R.; Cidade, D.A., Albano, R.M., Domont, G.B. and Perales, J. Bothrops jararaca Venom Proteome. **XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**. Águas de Lindoia 2005. (Resumo N-110).
21. Oliveira-Carvalho, A.L.; Guimarães-Ramos, P.; D.L.S. Dutra; H.C. Castro; I.L.M. Junqueira-de-Azevedo; P.L. Ho; R.H. Valente; A.G.C. Neves-Ferreira, J. Perales, R.B. Zingali. Clone identification of Bothrops insularin, a thrombin inhibitor protein from *Bothrops insularis* venom using proteomics approach. **XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**. Águas de Lindoia 2005. (Resumo N-135).
22. De Moraes, R.; Gioseffi, G.; Valente, R.H.; Tyrugilho, M.R.O.; Leon, I.R.; Perales, J.; Tibiriçá, E. Investigação dos Mecanismos envolvidos nas alterações da reatividade vascular renal induzidas pelo treinamento físico aeróbico: uma abordagem proteômica. **FESBE. Biologia do Exercício Físico**, 37, 2005.
23. Diana Bahia, Nelder Figueiredo Gontijo, Ileana Rodrigues Leon, Jonas Perales, Leila Alves Campos, Guilherme Oliveira, Rodrigo Correa-Oliveira, and Alexandre Barbosa Reis. The identification of two novel saliva proteins of *Lutzomyia longipalpis* by antibodies of dogs with canine visceral leishmaniasis (CVL). **Congresso de Chagas**, Caxambu, 2005.
24. PERALES, J.; DANIEL-RIBERO, C. T.; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; Bianco-Jr C.; Carvalho, L.J.M. Study in vitro and in vivo of the passive transfer protective effect of anti-MSP3 and anti-GLURP antibodies on *Plasmodium falciparum* growth. In: **XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical / I Encontro de Medicina Tropical do Cone Sul**, 2005, Florianópolis. XLI Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.
25. FAJARDO, Fernanda D.; BARBOSA, W. B.; GIRARD, Murielle F.; BOUTEILLE, Bernard; VALENTE, Richard Hemmi; CHAPEAUROUGE, Alexandre; PERALES, J.; PREVIATO, Jose Oswaldo; MENDONÇA-PREVIATO, Lucia; TODESCHINI, Adriane R. Inactive *Trypanosoma cruzi* Trans-Sialidase Recognizes a 36-KDa Protein on Endothelial Cell Surface. In: **Annual Conference of the Society for Glycobiology**, 2005, Boston, Massachusetts. Meeting of the Society for Glycobiology - 2005. p. 1228-1228.
26. PENHA, Carla V Loureiro Y; Kubitschek-Barreira, P.H; Larcher, G.; PERALES, J.; LEÓN, Ileana Rodriguez; BEZERRA, Leila M Lopes; Bouchara, J.F. Proteomic analysis of cytoplasmic extracts from a mutant of *Candida glabrata* and its parent strain. In: **The 16th Congress of International Society for Human and Animal Mycology**, 2006, Paris-France. ISHAM, 2006. v. 16.
27. Monique R. O. Trugilho; ALBUQUERQUE, Lidiane Martins de; NEVES-FERREIRA, A. G. C. N.; CHAPEAUROUGE, D.A.; FARIA NETO, Hugo C. Castro; BOZZA, Patrícia Torres; BOZZA, Fernando; PERALES, J. Using different softwares in a proteomic analysis of 2D-gels of plasmas from patients with dengue hemorrhagic fever and from healthy donors. In: **Intelligent Systems for Molecular Biology - ISMB**, 2006, Fortaleza. **The 14th Annual Meeting of the International Society for Computational Biology. Late Breaking Poster Index**. v. 14. p. 05-05.
28. MARQUES, Marcela Ferreira; JURGILAS, Patricia Barbosa; LOPES, Willian Braulio; PERALES, J. Optimized purification method of two metalloproteinases from *Bothrops jararaca* venom. In: **XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**, 2006, Águas de Lindoia. SBBQ-Resumo ID:9332, 2006. v. L-118.
29. FAJARDO, Fernanda D.; DIAS, Wagner B.; GIRARD, Murielle F.; KOELLER, Carolina M.; BOUTEILLE, Bernard; VALENTE, Richard Hemmi; CHAPEAUROUGE, Alexandre; PERALES, J.; PREVIATO, Jose Oswaldo; MENDONÇA-PREVIATO, Lucia; TODESCHINI, Adriane R. Inactive trans-sialidase from *Trypanosoma cruzi* binds to Annexin II on endothelial cell surface. In: **XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**, 2006, Águas de Lindoia. SBBQ-Resumo ID:0233, 2006. v. Q-7.
30. HIGA, L.M; CANELLAS, F; CARUSO, M.B.; CHAPEAUROUGE, Alexandre; OLIVEIRA-CARVALHO, A.L.; PERALES, J.; ZINGALI, Russolina Benedeta; DAPOIAN, Andrea T. Identification of proteins differentially secreted by hepg2 cells infected with dengue virus through a proteomic approach. In: **XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**, 2006. SBBQ-Resumo ID:8292, 2006. v. Q-9.
31. LEÓN, Ileana Rodriguez; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; MOTA, Ester Maria; LENZI, Henrique Leonel; PERALES, J. Improved protein identification efficiency by mass spectrometry using a N-terminal chemical derivatization of peptides from *Angiostrongylus costaricensis*, a nematode with unknown genome. In: **XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**, 2006, Águas de Lindoia. SBBQ-Resumo ID:8982, 2006. v. W-26. Trabalho Selecionado.
32. ALBUQUERQUE, Lidiane Martins de; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; VALENTE, Richard Hemmi; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; JURGILAS, Patrícia Barbosa; CHAPEAUROUGE, Alexandre; CHERMONT, Simone A; FARIA NETO, Hugo C. Castro; BOZZA, Patrícia Torres; BOZZA, Fernando; PERALES, J. Comparative proteomic analysis of plasmas from patients with dengue hemorrhagic fever and from healthy donors. In: **XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**, 2006, Águas de Lindoia. SBBQ-Resumo ID:9004, 2006. v. W-27. Trabalho premiado.
33. ROCHA, Surza Lúcia G; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; CHAPEAUROUGE, Alexandre; VALENTE, Richard Hemmi; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; LEÓN, Ileana Rodriguez; DOMONT, Gilberto Barbosa; PERALES, J. Use of the antitoxin DM43 as a tool for the analysis of snake venom subproteomes. In: **XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBQ)**, 2006, Águas de Lindoia. SBBQ-Resumo ID:8637, 2006. v. W-39.
34. ANDRADE, Héliida M de; MURTA, Silvana M F; NIRDÉ, Philipe; CHAPEAUROUGE, Alexandre; PERALES, J.; REGO, Juciana V; ROMANHA, Alvaro J. Proteínas do *Trypanosoma cruzi* Relacionadas com a Resistência ao Benzamizol. In: **XIX Congresso Brasileiro de Parasitologia**, 2006. Revista de Patologia Tropical, 2006. v. 34.
35. TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; LEÓN, I. R.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; ROCHA, S. L. G.; MORAES, Milton Ozorio; DOMONT, G. B.; PERALES, J. Heterologous expression and functional characterization of the first two domains of DM43, an antihemorrhagic protein from *Didelphis marsupialis*. In: **IX Congresso Brasileiro de Toxinologia**, 2006, Fortaleza - Ceara. Anais do IX Congresso Brasileiro de Toxinologia, 2006. v. Único. p. 51.
36. COELHO, F. E. M. R. F.; VALENTE, R. H.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; LEÓN, I. R.; CIDADE, D. A.; ALBANO, R. M.; DOMONT, G. B.; PERALES, J. Bothrops jararaca Venom Proteome. In: IX Congresso Brasileiro de Toxinologia, 2006, Fortaleza - Ceará. **Anais do IX Congresso Brasileiro de Toxinologia**, 2006. v. Único. p. 106. Trabalho premiado,
37. ROCHA, S. L. G.; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; CHAPEAUROUGE, D. A.; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; LEÓN, I. R.; DOMONT, G. B.; PERALES, J. Use of the antitoxin DM43 as a tool for the analysis of snake venom subproteomes. In: IX Congresso Brasileiro de Toxinologia, 2006, Fortaleza - Ceará. **Anais do IX Congresso Brasileiro de Toxinologia - SBTx**, 2006. v. Único. p. 164.
38. Simins, M.S.; Ricci-Silva, M.E.; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; PERALES, J.; CHUDZINSKII-TAVASSI, A. M. Proteomics analysis of the salivary secretions from the *Amblyomma cajennense* tick (acari: ixodidae) (Fabricius: 1787). In: Anais do IX Congresso Brasileiro de Toxinologia, SBTx., 2006, Fortaleza - Ceará. **Anais do IX Congresso Brasileiro de Toxinologia**, SBTx, 2006. v. Único. p. 215.
39. LEÓN, Ileana Rodriguez; VALENTE, Richard Hemmi; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; ROCHA, S. L. G. DA; OLIVEIRA-TRUGILHO, M. R.; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; PERALES, J. Mass spectrometric characterization of the glycosylation present in antiophidic proteins, DM43 and DM64, from an enriched *Didelphis marsupialis* serum fraction. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology**, 10th IUBMB Conference, 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 16.

40. Santos S.G.; Diniz, C.G.; Silva, V.L.; ANDRADE, Héliida M de; CHAPEAUROUGE, D. A.; PERALES, J.; Carvalho, M.A.R. Differentially regulated proteins in *Prevotella intermedia* after oxidative stress analyzed by 2D electrophoresis and mass spectrometry. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 53.
41. Dias, G.M.; CHAPEAUROUGE, D. A.; PERALES, J.; López, M.L.; Retamal, C.A. Sulphydryl-disulfide proteins in stallion epididymal spermatozoa. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. Q. p. 10.
42. Diz M.S.S.; CARVALHO, André O.; DaCunha M.; RODRIGUES, Rosana; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; PERALES, J.; MACHADO, Olga L.T.; GOMES, Valdirene M. Isolation, characterization and immunolocalization of a Lipid transfer protein (LTP) from chili pepper seeds. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference, 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. E. p. 52.
43. Fischer, J.S.G.; Carvalho, P.C.; Carvalho, M.G.C.; Fonseca, C.O.; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; ALBUQUERQUE, L. M. DE; PERALES, J.; DOMONT, Gilberto Barbosa. Difference gel electrophoresis (DIGE) of serum from patients with grade IV astrocytomas and control subjects. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 64.
44. Kikuchi, S.; Sodr , C.; CHAPEAUROUGE, D. A.; PERALES, J.; Mendo a, L.L.; Fernandes, O. Analysis of protein expression of *Trypanosoma cruzi* Zymodeme 3. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 45.
45. São Luis, J.B.; MOTA, Ester Maria; LEÓN, Ileana Rodriguez; PERALES, J.; LENZI, Henrique Leonel; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa. Identification of immunogenic proteins of *Angiostrongylus costaricensis* by proteomic methodologies. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 60.
46. ALBUQUERQUE, Lidiane Martins de; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; CHAPEAUROUGE, D. A.; VALENTE, Richard Hemmi; JURGILAS, Patrícia Barbosa; CHERMONT, Simone A; BOZZA, Patrícia Torres; BOZZA, Fernando; PERALES, J. Comparative proteomic analysis of plasmas from patients with dengue hemorrhagic fever and from healthy donors. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 30.
47. Brunoro, G.V.F.; Pagnoncelli, D.; De Moura-Gallo, C.V.; CHAPEAUROUGE, D. A.; NEVES-FERREIRA, Ana Gisele da Costa; PERALES, J. Proteomic analysis of nipple aspirate fluid (NAF) from both breasts of a patient with unilateral breast cancer. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 65.
48. COELHO, F. E. M. R. F.; VALENTE, R. H.; NEVES-FERREIRA, A. G. C. N.; CIDADE, D. A.; ALBANO, R. M.; DOMONT, G. B.; PERALES, J. Bothrops jararaca Venom Proteome Update. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 47.
49. Simons, M.S.; Oliveira, D.G.L.; Faria, F.; De-S -Júnior, P.L.; Silva -Ricci, M.E.; VALENTE, R. H.; LEÓN, I. R.; PERALES, J.; CHUDZINSKII-TAVASSI, A. M. Evaluation of proteases and inhibitors from the saliva of *Amblyomma cajennense* tick (acar: ixodidae) related to blood coagulation and extra cellular matrix. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. L. p. 103.
50. TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; LEÓN, I. R.; NEVES-FERREIRA, A. G. C. N.; ROCHA, S. L. G. DA; MORAES, Milton Ozorio; DOMONT, G. B.; PERALES, J. Heterologous Expression and Functional Characterization of an Antiophidic Protein From *Didelphis marsupialis*. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. B. p. 47.
51. Evaristo, J.A.M.; Retamal, C.A.; Olivares, F.L.; Paranhos, F.D.R.; CHAPEAUROUGE, D.A.; PERALES, J.; ALVES, Elias Walter. A Survey for Glycated Proteins of *Gluconacetobacter diazotrophicus* by Proteomics Approach Glycomics. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. F. p. 66.
52. Vitola, C.M.; ROCHA, S. L. G. DA; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; Lucena, S. L.; SILVA, Patrícia Martins Rodrigues e; NEVES-FERREIRA, A. G. C. N.; PERALES, J.; MARTINS, Marco A. Proteomic Analysis Of Allergic Mast Cell Activation. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 4.
53. Sodr , C.; CHAPEAUROUGE, D. A.; PERALES, J.; Mendo a, L.L.; Fernandes, O. Analysis of Soluble Protein Expression of Different *Trypanosoma Cruzi* Phylogenetic Groups. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 41.
54. Giulianetti-Almeida, M.P; Silva, R.A; ANDRADE, H lida M de; CHAPEAUROUGE, D. A.; PERALES, J.; Noronha, F.S.M.; Fr zard, F. Leishporin, a pore-forming-protein of *Leishmania amazonensis*: binding to lipid bilayers, strategy of purification and new insights on its identity and mechanism of lysis. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. G. p. 52.
55. Soares, A.J.C.; Santos, M.F.; Chung, J.; ALBUQUERQUE, L. M. DE; TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira; NEVES-FERREIRA, A. G. C. N.; PERALES, J.; DOMONT, G. B. Proteomics & Sepsis New Avenues for Diagnosis. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ** - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference., 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007. v. W. p. 62
56. LEÓN, I. R., VALENTE, R. H., NEVES-FERREIRA, A. G. C. N., ROCHA, S. L. G., TRUGILHO, Monique Ramos de Oliveira, PERALES, J. Mass Spectrometric Characterization of the Glycosylation Sites Present in Antiophidic Proteins, DM43 and DM64. In: **The Satellite Meeting on Methods in Protein Structural Analysis (MPSA)**, 2007, Varadero-Cuba.
57. PERALES, J. Analysis of Snake Venoms Subproteomes Using the Antitoxin DM43 as a Tool. In: **9th Pan-American Section Congress of the International Society of Toxinology**, 2007, Queretaro-Mexico. v.Unico. p.20 - 21

v) Projetos da Fiocruz atendidos pelo Laboratório

- Proteoma de venenos de serpentes brasileiras
Dr. Jonas Perales – Lab. Toxinologia / Dept^o Fisiologia e Farmacodinâmica / IOC
Rede Proteômica do Rio de Janeiro / FAPERJ
- Análise proteômica comparativa dos plasmas de doadores saudáveis e de pacientes com dengue grave
Dr. Jonas Perales, Dr. Hugo Caire de Castro Faria Neto, Dra. Patrícia Bozza, Dr. Fernando Bozza - Depto Fisiologia e Farmacodinâmica / IOC – Fiocruz.
- Defini o do proteoma do *Mycobacterium leprae*
Dra. Cristina Pessolani e Dra.  rika Maria Kopp Xavier da Silveira - Lab. Hanseníase / Depto Medicina Tropical / IOC - Fiocruz

- Perfil global de expressão gênica na pele de pacientes com hanseníase: papel da inflamação e anti-inflamatórios
Dr. Milton Ozório Moraes - Lab. Hanseníase / Depto Medicina Tropical / IOC - Fiocruz
- Busca de novos alvos moleculares para o controle das leishmanioses
Dra. Yara Maria Traub-Cseko - Lab. Biologia Molecular de Tripanosomatídeos e Flebotomíneos / DBBM / IOC – Fiocruz
- Abordagem proteômica para identificação de antígenos de *Plasmodium falciparum* e *P. vivax* potencialmente vacinais
Dr. Cláudio Tadeu Daniel Ribeiro e Dra. Maria de Fátima Ferreira da Cruz – Lab. Pesquisas em Malária / Depto Imunologia / IOC – Fiocruz
- Análise proteômica comparativa entre rins de coelhos treinados e sedentários.
Dr. Jonas Perales e Dr. Eduardo Tibiriçá / Depto Fisiologia e Farmacodinâmica / IOC – Fiocruz
- Proteoma de *Trypanosoma cruzi*: Análise de diferenças fenotípicas entre as cepas com distintos perfis patogênicos.
Dr. Octavio Fernandes / Depto de Medicina Tropical, IOC - Fiocruz
- Proteoma de *Leishmania* do Novo Mundo: Caracterização do perfil protéico de cepas de referência e análise de diferenças fenotípicas entre as cepas de acometimento cutâneo e mucoso.
Dra. Elisa Cupolillo, Depto de Imunologia, IOC - Fiocruz
- Busca de Vacinas, Métodos de Diagnósticos e Novos Alvos de Drogas Contra Doenças Parasitárias Através do Estudo do Proteoma de Parasitas e Vetores.
Dr. Álvaro José Romanha, Centro de Pesquisa René Rachou - Fiocruz
- Abordagens moleculares no estudo da infectividade do esporozóito do *Plasmodium*.
Dra. Cristiana Ferreira Alves de Brito - Centro de Pesquisa René Rachou - Fiocruz

a) Laboratório de Química de Proteínas/ Unidade Proteômica – Departamento de Bioquímica, Instituto de Química, UFRJ

Coordenador: Gilberto B Domont

i) Trabalhos publicados que fizeram uso da tecnologia proteômica.

1. LERY, L.M.; COELHO, A.; KRUGER, W. M. A.; GONCALVES, M.S.; SANTOS, M. F.; VALENTE, R. H.; SANTOS, E. O.; ROCHA, S. L.; PERALES, J.; DOMONT, G. B.; TEIXEIRA, K. R. S.; BISCH, P. M. Protein expression profile of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, a sugarcane endophytic plant growth-promoting bacterium. *Proteomics*, v.8, p.1631 - 1644, 2008.
2. ANDRADE, A.E.; SILVA, L. P.; PEREIRA, J. L.; NORONHA, E. F.; REIS, F. B. JR.; BLOCH, C. JR.; SANTOS, M. F.; DOMONT, G. B.; FRANCO, O. L.; MEHTA, A. In vivo proteome analysis of *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* in the interaction with the host plant *Brassica oleracea*. *FEMS Microbiology Letters*. v.281, p.167 - 174, 2008.
3. JESUS, J. B.; CUERVO, P.; JUNQUEIRA, M.; BRITTO, C.; SILVA-FILHO, F. C. E.; SOARES, M. J.; CUPOLILLO, E.; FERNANDES, O.; DOMONT, G. B. A further proteomic study on the effect of iron in the human pathogen *Trichomonas vaginalis*. *Proteomics*, 7 p. 1961-72: 2007.
4. CUERVO, P.; JESUS, J. B.; JUNQUEIRA, M.; MENDONÇA-LIMA, L.; GONZALEZ, L. J.; BETANCOURT, L.; GRIMALDI JR., G.; DOMONT, G. B.; FERNANDES, O.; CUPOLILLO, E. Proteome analysis of *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* by two-dimensional gel electrophoresis and mass spectrometry. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 154 p. 6-21 2007.
5. JESUS, J. B.; CUERVO, P.; JUNQUEIRA, M.; BRITTO, C.; SILVA FILHO, F. C.; SABOIA-VAHIA, L.; GONZÁLES, L. J.; DOMONT, G. B. Application of two-dimensional electrophoresis and matrix-

assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry for proteomic analysis of the sexually transmitted parasite *Trichomonas vaginalis*. *Journal of Mass Spectrometry*, v.42, p. 1463 - 1473, 2007.

6. FLORIANO, W. B.; DOMONT, G. B.; NASCIMENTO, M. A. A molecular dynamic study of correlations between solvent-accessible surface, molecular volume and folding state. *The Journal of Physical Chemistry B*, v.111, p.1893 - 1899, 2007.
7. CARVALHO, P. C.; CARVALHO, M. G. C.; LILLA, S.; De NUCCI, G.; FONSECA, R.; SPECTOR, N.; MUSACCHIO, J.; DOMONT, G. B. Differential protein expression patterns obtained by mass spectrometry can aid in the diagnosis of Hodgkins disease. *Journal of Experimental Therapeutics & Oncology*, v.6, p.155 - 157, 2007.
8. CARVALHO, P. C.; FISCHER, J. S. G.; BARBOSA, V. C.; DEGRAVE, W.; CARVALHO, M. G. C.; DOMONT, G. B. Ellipsoid clustering machine: a front line to aid in disease diagnosis. *Electronic Journal of Communicaton, Information & Innovation in Health*, v.1, p.308 - 315, 2007.
9. NOGUEIRA, F. C.; GONCALVES, E. F.; JEREISSATI, E. S.; SANTOS, M.; COSTA, J. H.; OLIVEIRA-NETO, O. B.; SOARES, A. A.; DOMONT, G. B.; CAMPOS, F. A. Proteomic analysis of embryogenic cells suspensions of cowpea (*Vigna unguiculata*). *Plant Cell Reports*, v. fev 28, p.epub, 2007.
10. LEOPOLDINO, A. M.; CANDURI, F.; CABRAL, H.; JUNQUEIRA, M.; MARQUI, A. B. T.; APPONI, L. H.; FONSECA, I. O.; DOMONT, G. B.; SANTOS, D. S.; VALENTINI, S.; BONILLA-RODRIGUEZ, G. O.; FOSSEY, M. A.; AZEVEDO JR., W. F.; TAJARA, E. H. Expression, purification, and circular dichroism analysis of human CDK9. *Protein Expression and Purification*, v.47, p.614 - 620, 2006.
11. MACIEL, C. M.; JUNQUEIRA, M.; PASCHOAL, M. E. M.; KAWAMURA, M. T.; DUARTE, R. L. M.; CARVALHO, M. G. C.; DOMONT, G. B. Differential proteomic serum pattern of low molecular weight proteins expressed by adenocarcinoma lung cancer. *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, v.5, p.31 - 38, 2005.
12. MACIEL, C. M.; JUNQUEIRA, M.; PASCHOAL, M. E. M.; KAWAMURA, M. T.; DUARTE, R. L. M.; CARVALHO, M. G. C.; DOMONT, G. B. Differential proteomic serum pattern of low molecular weight proteins expressed by adenocarcinoma lung cancer. *J. Exp. Therapeutics and Oncology*, 5(1): 31 – 38, 2005
13. SOARES, A.; SANTOS, M.; JUNQUEIRA, M.; DAVID, C.; e DOMONT, G. B. A proteomic study of sepsis. *Critical Care* 9: 66-67, 2005
14. ANJOS, A. R.; DOMONT, G. B.; FERREIRA, S. T.; PEDROSA, C.; e NARCISO, M. S. Biological evaluation of a protein isolate from cowpea (*Vigna unguiculata*). *Food Chemistry* 87: 491 – 499, 2004.

ii) Artigos em Preparação:

1. Richard Hemmi Valente, Patrícia Ramos Guimarães, Magno Junqueira, Ana Gisele C. Neves-Ferreira, Márcia R. Soares, Alex Chapeaurouge, Ileana Rodriguez León, Surza Lucia Rocha, Monique Ramos de Oliveira Trugilho, Ana Lucia Oliveira Carvalho, Luciana Wermelinger Serrão, Denis Luís da Silva Dutra, Luciana Iwanaga Leão, Inácio Loiola Meirelles Junqueira-de-Azevedo, Paulo Lee Ho, Russolina Benedetta Zingali, Jonas Perales and Gilberto Barbosa Domont. Bothrops insularis Snake Venom Diversity Through Proteomic Studies.
2. Patrícia Cuervo; Constança Britto; Luis Javier González; Fernando Costa e Silva-Filho; Leticia Coutinho Lopes;; Elisa Cupolillo; Gilberto Barbosa Domont; Jose Batista De Jesus. Differential protein expression among *T. vaginalis* isolates.
3. Marise Fonseca dos Santos, Vânia Lúcia Muniz de Páduac, Eduardo Mattos Nogueira, Adriana da Silva Hemerly and Gilberto Barbosa Domont. *Gluconacetobacter diazotrophicus* proteome during interaction with high BNF sugarcane plantlets.

iii) Capítulo de Livro

AZEVEDO, R.; SOARES, A. J. C.; DOMONT, G. B. Proteômica na Sepse In: **Sepse.1** Ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2007, v.Unico, p. 41-52.

iv) Trabalhos resumidos publicados

1. VR Osório e Castro and GB Domont. Peptides are formed when RNase is treated with Fenton reagent in the presence of copper (II). **The FEBS Journal** 272: 417 – 418 (2005)
2. A G C Neves Ferreira, RH Valente, S L G Rocha (M), MRO Trugilho (D), IR Leon, A Chapeaurouge, GB Domont and J Perales. Studies on Snake Venom Subproteomes Derived from Affinity Chromatography Using Immobilized Toxin Inhibitors. **J.Venomous Animals and Toxins and Tropical Diseases** 10 (3): 356 (2004)
3. WB Lopes (M), RH Valente, AGC Neves Ferreira, A Chapeaurouge,, GB Domont and J Perales. A Snake Venom Metalloproteinase Inhibitor From Bothrops Moojeni Serum. **J.Venomous Animals and Toxins and Tropical Diseases** 10 (3): 495 (2004).

v) Apresentações em Congressos Nacionais e Internacionais

1. JESUS, José Batista de, CUERVO, Patricia, JUNQUEIRA, Magno, BRITTO, C., SILVA-FILHO, F. C. E., SOARES, M. J., CUPOLILLO, Elisa, FERNANDES, Octávio, DOMONT, GB. A FURTHER PROTEOMIC STUDY ON THE EFFECT OF IRON IN THE HUMAN PATHOGEN TRICHOMONAS VAGINALIS In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
2. CARVALHO, Paulo Costa, FISCHER JSG, DOMONT, GB, CARVALHO, Maria da Gloria C, HEWEL, J., YATES, JR, BARBOSA, V.C. A NOVEL STRATEGY FOR DIFFERENTIAL PROTEOMICS BY SPECTRAL COUNTING AND STATISTICAL LEARNING In: XXXVI Reunião Anual da SBBqBM, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
3. CANDIDO, E.S., PEREIRA, J.L., QUESADO-DUVAL, A. M., NORONHA, E.F., SANTOS, Marise F dos, DOMONT, GB, QUIRINO, B.F. BIOCHEMICAL ANALYSIS OF XANTHOMONAS GARDNERI EXOENZYMATIC ACTIVITY TOWARDS PLANT TISSUE In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
4. Coelho, FEMRF, VALENTE, Richard Hemmi, NEVES-FERREIRA, A G C, LEON, I R, Cidade, DA, Albano, RM, DOMONT, GB, PERALES, Jonas. Bothrops jararaca VENOM PROTEOME UPDATE In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
5. Kubitschek-Barreira, PH, PENHA, C. V. L. Y., SILVA, DS, CHAPEAUROUGE, A, DOMONT, GB, LOPES-BEZERRA, L. M. COMPARISON OF EXTRACTION METHODS FOR THE PROTEOMIC ANALYSIS OF SURFACE PROTEINS OF SPOROTHRIX SCHENCKII In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
6. FISCHER JSG, CARVALHO, Paulo Costa, CARVALHO, Maria da Gloria Costa, FONSECA, CO, NEVES-FERREIRA, A G C, ALBUQUERQUE LM, TRUGILHO, MRO, PERALES, Jonas, DOMONT, GB. Difference gel electrophoresis (DIGE) of serum from patients with grade IV astrocytomas and control subjects In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
7. CORRÊA, A.S.R., MEHTA, A., PELEGRINI, P. B., SANTOS, Marise F, DOMONT, GB, FRANCO, O.L. DIFFERENTIAL EXPRESSION IDENTIFICATION OF COFFEA ARABICA PROTEINS THROUGH THE SOMATIC EMBRYOGENESIS BY PROTEOMIC ANALYSIS In: XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
8. SANTOS, Marise F dos, NOGUEIRA, e M, HEMERLY, A S, DOMONT, GB. DIFFERENTIAL PROTEOME OF GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS UNDER SUGARCANE INFLUENCE In: **XXXVI Reunião Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.

9. CHUNG, Janete, de Meneses, MDF, JUNQUEIRA, Magno, SANTOS, Marise Fonseca dos, FERREIRA, Davis F, REBELLO, Moacyr A, DOMONT, GB. DIFFERENTIAL PROTEOMICS OF CELLULAR PROTEINS EXPRESSED IN RESPONSE TO DENGUE VIRUS (SEROTYPE 2) INFECTION OF VERO CELLS. In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
10. TRUGILHO, Monique R O, LEON, I R, NEVES-FERREIRA, A G C, ROCHA, Surza L G, Moraes, MO, DOMONT, GB, PERALES, Jonas. HETEROLOGOUS EXPRESSION AND FUNCTIONAL CHARACTERIZATION OF ANTIOPHIDIC PROTEIN FROM DIDELPHIS MARSUPIALIS In: **XXXVI Reuniao Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos., 2007. v.36.
11. CUERVO, Patricia, JESUS, José Batista de, BRITTO, C., MENDONCA-LIMA, L., SILVA FILHO, Fernando Costa, GONZÁLES, LJ, L Betancourt, GRIMALDI JR, Gabriel, JUNQUEIRA, Magno, FERNANDES, Octavio, CUPOLILLO, Elisa, DOMONT, GB. Leishmania braziliensis and trichomonas vaginalis as models for systems biology studies of protozoan parasites In: **Joint Meeteing: II SEProt and I EuPA**, 2007, Valencia, Espanha. Abstract Book. Valencia, Espanha: SEProt, 2007. v.2.
12. Rocha, L. A., Assis, B.P., Borges, D.H., DOMONT, GB, SANTOS, Marise F dos, Oliveira, R.J., Franco, O.L. PROTEOMICAL ANALYSES OF MIOCARDIUM ADAPTATION TO EXERCISE OVERLOAD In: **XXXVI Reunião Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
13. DOMONT, GB. SYSTEMS BIOLOGY OF SEPSIS AND PARASITES In: **XXXVI Reunião Anual da SBBqBM**, 2007, Salvador, Bahia. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2007. v.36.
14. JESUS, José Batista de, CUERVO, Patricia, SILVA FILHO, Fernando Costa, DOMONT, GB. A proteomic and ultrastructural analysis of Trichomonas vaginalis response to iron chelation In: **Biocología, Habana 2006: Aplicaciones Médicas de la Biotecnología**, 2006, Habana, CIGB, p.Bioinf-13.
15. JESUS, José Batista de, CUERVO, Patricia, JUNQUEIRA, Magno, SILVA FILHO, Fernando Costa, FERNANDES, Octavio, CUPOLILLO, Elisa, DOMONT, GB. A proteomic study of human parasite Trichomonas vaginalis In: **HUPO 5th Annual World Congress**, 2006, Long Beach. Molecular & Cellular Proteomics. Bethesda: ASBMB, 2006. v.5. p.S257 - S257.
16. Coelho, FEMRF, VALENTE, Richard H, NEVES-FERREIRA, A G C, LEON, I R, Cidade, DA, Albano, RM, DOMONT, GB, PERALES, J. Bothrops jararaca venom proteome In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia**, 2006, Fortaleza. CD de Resumos. Sao Paulo: SBTx, 2006. v.IX. p.SP042.
17. SANTOS, Marise Fonseca dos, PÁDUA, Vânia LM, FERREIRA, Paulo CG, DOMONT, GB. Differential proteome of Gluconacetobacter diazotrophicus grown as plankton and biofilm In: **XXXV Reunião Anual da SBBqBM**, 2006, Aguas de Lindóia, São Paulo. Livro de Resumos. São Paulo: SBBqBM, 2006. v.XXXV. p.1326.
18. JESUS, José Batista de, CUERVO, Patricia, JUNQUEIRA, Magno, SILVA FILHO, Fernando Costa, CUPOLILLO, Elisa, FERNANDES, Octavio, DOMONT, GB. Effect of iron availability on protein profiles of human pathogen Trichomonas vaginalis In: **HUPO 5th Annual World Congress**, 2006, Long Beach. Molecular & Cellular Proteomics. Bethesda: ASBMB, 2006. v.5. p.S250 - S250
19. TRUGILHO, MRO, LEON, I R, NEVES-FERREIRA, A G C, ROCHA, S L, Moraes, MO, DOMONT, GB, PERALES, J. Heterologous expression and functional characterization of the first two domains of DM43 an anti-hemorrhagic protein from Didelphis marsupialis In: **IX Congresso da Sociedade Brasileira e Toxinologia**, 2006, Fortaleza.
20. BARREIRA, P H Kubitschek, PENHA, C. V. L. Y., CARDOSO, J, LEON, Ileana, DOMONT, GB. Preliminary proteomic approach to study the cell wall components of the human pathogen Sporothrix schenckii In: **HUPO 5th Annual World Congress**, 2006, Long Beach. Molecular & Cellular Proteomics. Bethesda: ASBMB, 2006. v.5. p.S363 - S363.
21. CUERVO, Patricia, JESUS, José Batista de, JUNQUEIRA, Magno, DOMONT, GB, FERNANDES, Octavio, CUPOLILLO, Elisa. Proteomic mapping of the human pathogen Leishmania (Viannia) In: **Biocología, habana 2006: Aplicaciones Médicas e la Biotecnología**, 2006, Havana. Biotecnología, habana 2006: Aplicaciones Médicas e la Biotecnología. Havana: CIGB, 2006. p.Bionf-9.

22. CHUNG, Janete, MENEZES, Marcelo D F de, JUNQUEIRA, Magno, SANTOS, Marise Fonseca dos, FERREIRA, Davis F, REBELLO, Moacyr A, DOMONT, GB. Proteomics in the Identification of Cellular Proteins Expressed in Response to Dengue Virus 2 Infection of Vero Cells In: **XXXV Reunião Anual da SBBqBM, 2006, Águas de Lindóia**. Livro de resumos, 2006. v.XXXV. p.8945.
23. ROCHA, Surza L G, FERREIRA, Ana G C Neves, CHAPEAUROUGE, Alexander, VALENTE, Richard H, TRUGILHO, Monique R O, LEON, Ileana, DOMONT, GB, PERALES, Jonas. Use of the antitoxin DM₄₃ as a tool for the analysis of snake venom subproteomes In: **XXXV Reunião Anual da SBBqBM, 2006, Águas de Lindóia**. Livro de resumos. SBBqBM, 2006. v.XXXV. p.8637.
24. LERY, L M S, MEDEIROS, M S, SANTOS, Marise F, SANTOS, e O, KRUGER, W M A Von, DOMONT, GB, TEIXEIRA, Katia R S, COELHO, Ana, BISCH, Paulo M. A proteome reference map for *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL₅ In: **Molecular and Cellular Proteomics**. Estados Unidos: 2005. v.4. p.S240 - S240.
25. SOARES, Afonso, SANTOS, Marise F, JUNQUEIRA, Magno, DOMONT, GB. A proteomic study of sepsis In: **Critical Care**. Estados Unidos:2005. v.9. p.S66-S67.
26. JESUS, Jose de, CUERVO, Patricia, JUNQUEIRA, Magno, SILVA FILHO, Fernando, FERNANDES, Otavio, CUPOLLILLO, Elisa, DOMONT, GB. Differential proteomic analysis of the human pathogen *Trichomonas vaginalis* In: **Molecular And Cellular Proteomics**. Estados Unidos: 2005. v.4. p.S252 - S252.
27. CASTRO, V R Osório, DOMONT, GB. Peptides are formed when RNase is treated with Fenton reagent in the presence of copper II. In: **The Febs Journal**. Inglaterra: 2005. v.272. p.417 - 418
28. DOMONT, GB, CARVALHO, Paulo, CARVALHO, Maria da Gloria C, LILLA, Sergio, NUCCI, Gilberto de, SPECTOR, Nelson, MUSACCHIO, J. Toward a cancer-free serum standard through electrospray mass spectrometry and bioinformatics In: **HUPO 4th Annual World Congress, 2005, Munique**. Molecular and Cellular Proteomics. Bethesda: ASBMB, 2005. v.4. p.S88 - S88.
29. José Batista de Jesus, Patrícia Cuervo, Magno Junqueira, Fernando Costa Silva Filho, Octavio Fernandes, Elisa Cupolillo and Gilberto Barbosa Domont. Standardization of two dimensional gel electrophoresis for proteomic analysis of the human pathogen *Trichomonas vaginalis* **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, N-176, 2005, Caxambu, MG.
30. Paulo Costa Carvalho, Maria da Glória Costa Carvalho, Win De Grave, Sérgio Lilla, Gilberto de Nucci, Raul Fonseca, Nelson Spector, Juliane Musacchio and Gilberto Barbosa Domont. Diagnosing Hodgkins disease by support vector machines and global proteomic profile of serum obtained by ESI-MS. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, V-10, 2005, Caxambu, MG.
31. A M Leopoldino, O A Feitosa, F Carregaro, A M Selig, A B Trovo, M Junqueira, H Cabral, H Brandão, Gilberto Barbosa Domont, W F de Azevedo Jr, E H S Tajara and C H T P Silva. Expression, characterization, homology and molecular interaction field studies to the design of novel anti-cancer drugs of two target proteins in head and neck cancer. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, N-121, 2005, Caxambu, MG.
32. Paulo Mascharello Bisch, Gilberto Barbosa Domont, Ana Maria Abrantes Coelho, Katia Regina dos Santos Teixeira, Leticia Miranda Lery Santos and Wanda Maria Almeida von Kruger. A proteome map for *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL₅. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, SP05-4, 2005, Caxambu, MG.
33. F E M R F Coelho, R H Valente, A G C Neves Ferreira, W B Lopes, I R Leon, D A Cidade, R M Albano, G B Domont and J Perales. *Bothrops jararaca* venom proteome. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, N-110, 2005, Caxambu, MG.
34. P H Kubitschek Barreira, J L N Cardoso, Magno Junqueira, CV L Penha, Gilberto Barbosa Domont and L M Lopes Bezerra. Study of the differential expression of cell wall proteins on the yeast-like phase and conidia of *Sporothrix schenckii* by a proteomic approach. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, N-28, 2005, Caxambu, MG.
35. Patrícia Cuervo, Magno Junqueira, Rafael Góngora, John Walker, Gabriel Grimaldi Jr, Gilberto Barbosa Domont, Octávio Fernandes and Elisa Cupolillo. Proteome mapping of the human pathogen *Leishmania (Viannia) brasiliensis* and differentiation of strains related to distinct clinical phenotypes. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, G-72, 2005, Caxambu, MG.
36. M F Santos, E M Nogueira, A S Hemerly and Gilberto Barbosa Domont. Differential proteome from *Gluconacetobacter diazotrophicus* in the absence and presence of sugar cane. **XXXIV Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, N-105, 2005, Caxambu, MG.
37. Carvalho, PC, Carvalho, MGC, De Grave, E W, Lilla S, de Nucci G, Spector N, Musacchio, J., and Domont GB. Pattern Analysis of Sera from Healthy Controls and Hodgkin's Disease Patients Obtained by Q-TOF Mass Spectrometry. **Advances in Proteomics in Cancer Research, A35**, American Association for Cancer Research, October 6–10, 2004, Florida, USA Lopes, WB, Valente, RH, Neves-Ferreira, AGC, Chapeaurouge, DA, Homs-Brandeburgo, MI, Hamaguchi, A, Domont, GB and Perales, J. BMI, A snake venom metalloproteinase inhibitor from *Bothrops moojeni* serum. **VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia/ VIII Symposiym of The Pan American Section of The International Society on Toxinology**, 19-23 de Setembro, 2004, Angra dos Reis, RJ, Brasil. Abstract Book P136.
38. Jurgilas, PB, de Meis, J, Mendes-da-Cruz, D, Farias de Oliveira, D, Savino, W, Valente, RH, Neves-Ferreira, AGC, Domont, GB and Perales, J. DM₄₃, A potential inhibitor of matrix metalloproteinases involved in osteoarthritis. **VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia/ VIII Symposiym of The Pan American Section of The International Society on Toxinology**, 19-23 de Setembro, 2004, Angra dos Reis, RJ, Brasil. Abstract Book P234.
39. Chermont, SA, Jurgilas, PB, Neves-Ferreira, AGC, Chapeaurouge, DA, Domont, GB and Perales, J. Isolation of angiostatin from normal human plasma using affinity chromatography with a myotoxic phospholipase A₂ from *Bothrops asper* venom. **VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia/ VIII Symposiym of The Pan American Section of The International Society on Toxinology**, 19-23 de Setembro, 2004, Angra dos Reis, RJ, Brasil. Abstract Book P235.
40. Trugilho, MRO, Junqueira-de-Azevedo, ILM, Neves-Ferreira, AGC, Jurgilas, PB, Ho, PL, Domont, GB and Perales, J. Cloning, sequencing and comparison of venom toxin inhibitors from *Didelphis marsupialis*. **XXXIII Reunião Anual da SBBqBM**, 15-18 de maio, 2004, Caxambu, Livro de Resumos, B-48, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular
41. Angulo, Y, Rocha, SLG, Neves-Ferreira, AGC, Domont, GB, Perales, J, Gutierrez, JM and Lomonte, B. Inhibitory effect of DM₆₄, a protein from *Didelphis marsupialis* serum, on the activities of crotalid snake venom myotoxic phospholipases A₂. **XXXIII Reunião Anual da SBBqBM**, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-104, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
42. Lopes, WB, Valente, RH, Neves-Ferreira, AGC, Domont, GB and Perales, J. Identification and preliminary characterization of a metalloproteinase inhibitor from *Bothrops moojeni* serum. **XXXIII Reunião Anual da SBBqBM**, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-119, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
43. da Silva, IG, Rocha, SLG, Neves-Ferreira, AGC, Valente, RH, Junqueira, M, Domont, GB and Perales, J. Proteomic analysis of *Didelphis marsupialis* serum (gambá): search of SVMPS inhibitors and its isoforms. **XXXIII Reunião Anual da SBBqBM**, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-126, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
44. RH Valente, AGC Neves-Ferreira, DA Chapeaurouge, SL Rocha, MRO Trugillo, J Perales, EW Alves, AL Oliveira-Carvalho, DLS Dutra, LW Serrão, RB Zingali, ILM Junqueira-de-Azevedo, PL Ho, IG da Silva, M Junqueira and GB Domont. New data from *Bothrops insularis* venom predictive proteome. **XXXIII Reunião Anual da SBBqBM**, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-148, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
45. GB Domont. Differential proteomic serum pattern of low molecular weight proteins expressed by adenocarcinoma lung cancer patients. Conferência, **HUPO 3rd Annual World Congress**, Pequim, Outubro 2004.
46. PM Bisch, GB Domont, Ana Coelho, KRS Teixeira, LML Santos, WMA von Kruger. A proteome map for *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL₅. In: **XXXIII Reunião Anual da SBBqBM**, 15-18 de maio, 2004, Caxambu. Livro de Resumos, N-104, São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
47. C M Maciel, M Junqueira, M E M Paschoal, Gilberto Barbosa Domont and M G C Carvalho
48. nalysis of the proteomic pattern in serum of lung cancer patients. **XXXII Reunião Anual da SBBqBM**, Livro de Resumos, p. 27, Caxambu, MG, 2003.
49. S L G Rocha, A G C Neves Ferreira, R H Valente, A D Chapeaurouge, S A Chermont, Gilberto Barbosa Domont and J Perales. A Proteomic Approach to Study the Interaction Between the SVMPS Inhibitor

DM43 and Different Snake Venoms. **XIV World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins and XXXII Reunião Anual da SBBqBM**, Abstract Book, p. 21, Adelaide, Austrália, 2003.

50. C M Maciel, M Junqueira, Gilberto Barbosa Domont, M Paschoal and M G C Carvalho. Protein pattern in serum of lung cancer patients in Brazil. **10th World Conference on Lung Cancer**, Abstract Book, V.10, S215, Vancouver, Canadá.
51. R H Valente, A G C Neves Ferreira, A Chapeaurouge, S L Rocha, MRO Trugillo, J Perales, A L Oliveira Carvalho, D L S Dutra, L S Wermelinger, R B Zingali, I L M Junqueira de Azevedo, P L Ho, I G da Silva, M Junqueira and Gilberto Barbosa Domont. Bothrops insularis predictive proteome. **XIVth World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins and XXXII Reunião Anual de SBBqBM**, Abstract Book, V. 14, p. 135, Adelaide, Austrália, 2003.
52. A Chapeaurouge, Gilberto Barbosa Domont, R H Valente, A G C Neves Ferreira, S T Ferreira and J Perales. Folding of DM43, a metalloproteinase inhibitor from Didelphis marsupialis. **XIVth World Congress on Animal, Plant and Microbial Toxins and XXXII Reunião Anual de SBBqBM**, Abstract Book, V. 14, p. 46, Adelaide, Austrália, 2003.

vi) Títulos dos projetos em desenvolvimento

(1) Proteoma humano

- (a) Proteoma humano nas diferentes fases da sepse (em colaboração com o HUCFF, UFRJ).

Análise do padrão do soro de pacientes com linfoma de Hodgkin por espectrometria de massa (em colaboração com o HUCFF, UFRJ, a Fiocruz e o Departamento de Farmacologia, USP). Estudo de biomarcadores protéicos em câncer de cabeça e pescoço (em colaboração com a Faculdade de Medicina, UNESP, São José do Rio Preto).

(2) Agrobiologia

- (a) Proteoma diferencial da interação cana de açúcar – *Glucoacetobacter diazotrophicus* (colaboração com o Instituto de Bioquímica Médica, UFRJ)
- (b) Uma mapa de referência para a *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 (projeto da Rede Proteômica do Rio de Janeiro).

(3) Parasitologia

Proteoma diferencial de formas infectivas de *Trichomonas vaginalis* (colaboração com os Departamentos de Medicina Tropical e de Imunologia, Fiocruz e o Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, UFRJ).

(4) Fungos

Expressão diferencial de proteínas da parede de leveduras e conídios de *Sporothrix schenckii* (colaboração com o Departamento de Biologia Celular e Genética, UERJ).

(5) Venenos

- (a) Imunidade Natural (colaboração com o Departamento de Fisiologia e Farmacodinâmica, Fiocruz).
- (b) Proteoma preditivo do veneno de *Bothrops insularis* (Projeto da Rede Proteômica do Rio de Janeiro).

(6) Virologia

Estudo da expressão de proteínas durante a infecção por alfavírus (mayaro) e flavivírus (dengue) em células de *Aedes albopictus* e Vero 6. Virologia (colaboração com o Departamento de Virologia, IMPPG, UFRJ)

c) Laboratório de Química e Função de Proteínas e Peptídeos – Centro de Biotecnologia e Biotecnologia, Universidade do Norte Fluminense

Coordenador: Elias Walter Alves

i) Trabalhos completos

1. SALLES, J. B.; CUNHA BASTOS, V. L. F.; SILVA FILHO, M. V.; MACHADO, O. L. T.; SALLES, C. M. C.; GIOVANNI DE SIMONE, S. E CUNHA BASTOS, J. A novel butyrylcholinesterase from serum of *Leporinus macrocephalus*, a Neotropical fish. Corrected Proof, Available online 12 July 2005.
2. SILVA, L. B.; SALES, M. P.; OLIVEIRA, A. E. A.; MACHADO, O. L. T.; FERNANDES, K. V. S.; XAVIER-FILHO, J. The seed coat of *Phaseolus vulgaris* interferes with the development of the cowpea weevil [*Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae)]. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Brasil, v. 6, n. 1, p. 57-65, 2004.
3. SOARES, A. M. S.; SOUZA, T. F.; DOMINGUES, S. J. S.; JACINTO, T.; MACHADO, O. L. T. Methyl jasmonate promotes the transient reduction of the levels of 2-Cys peroxidase in *Ricinus communis* plants. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 42, p. 543-547, 2004.
4. SANTOS S. S.; CUNHA, M.; MACHADO, O. L. T.; GOMES, V. M. Thermostable chitinase from *Adenanthera pavonina* L. seeds: purification, characterization and immunolocalization. **Plant Science**, v. 167, p. 1203-1210, 2004.
5. GOMES, V. M.; CARVALHO, A.; CUNHA, M.; KELLER, M. N.; DEOLINDO, P.; BLOCH JR., C.; ALVES, E. W. Purification and characterization of a novel peptide with antifungal activity from *Bothrops jararaca* venom. **Toxicon** v. 45, n. 7, p. 817-827, 2005.

ii) Resumos

1. Moraes Neto, A.H. A. de; Evaristo, J.; Chaperouge, A.; Retamal, C. A.; Alves, E.W.; De Souza, W. Identification of some Proteins of the Cuticle of *Litomosoides chagasfilhoi* (Nematoda: Filarioidea) by Proteomics. Resumo apresentado sob a forma de **painel na XXXIII Reunião Anual da SBBq** (Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular) em Caxambu, MG, no período de 15 a 18 de maio de 2004.
2. Moraes Neto, A.H.A. de; Evaristo, J.; Chaperouge, A.; Retamal, C. A.; Alves, E.W.; De Souza, W. Comparative analysis of proteins of the cuticle of males and females of *Litomosoides chagasfilhoi* (Nematoda: Filarioidea) by electrophoresis 1D and Proteomics. Apresentado sob a forma de **painel na XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq)**, no período de 02 a 05/07/2005, em Águas de Lindóia, São Paulo.

d) Laboratório de Proteoma e Microsequenciamento de Proteínas e Peptídeos – LPMP. Instituto de Bioquímica Médica - UFRJ

Coordenador: Russolina B. Zingali

i) Publicações do Período envolvendo técnicas proteômicas e a utilização dos aparelhos da Rede proteômica do Rio de Janeiro:

1. OLIVEIRA-CARVALHO, A.L.; GUIMARÃES, P.R.; ABREU, P.A.; DUTRA, D.L.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L.; RODRIGUES, C. R.; HO, P. L.; CASTRO, H. C.; ZINGALI, R. B. Identification and characterization of a new member of snake venom thrombin inhibitors from *Bothrops insularis* using a proteomic approach. **Toxicon**, 51, p. 659-671, 2008.
2. OLIVA, I.B.; COELHO, R.M.; BARCELLOS, G.G.; SALDANHA-GAMA, R.; WERMELINGER, L.S.; ZINGALI, R. B.; BARJA-FIDALGO, C. Effect of RGD-disintegrins on melanoma cell growth and metastasis: Involvement of the actin cytoskeleton, FAK and c-Fos. **Toxicon**, v. 50, p. 1053-1063, 2007.
3. CIDADE, D. A.; SIMAO, T. A.; DAVILA, A. M.; WAGNER, G.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I. L.; HO, P. L.; BON, C.; ZINGALI, R. B.; ALBANO, R. M. *Bothrops jararaca* venom gland transcriptome: Analysis of the gene expression pattern. **Toxicon**, v.48, 437-461, 2006.
4. CIDADE, D. A.; WERMELINGER, L.S.; LOBO-HAJDU, G.; DAVILA, A. M.; BON, C.; ZINGALI, R. B.; ALBANO, R. M. Molecular diversity of disintegrin-like domains within metalloproteinase precursors of *Bothrops jararaca*. **Toxicon**, v. 48, 590-599, 2006.

5. WERMELINGER, L.S.; DUTRA, D.L.S.; OLIVEIRA-CARVALHO, A. L.; SOARES, S.M.; BLOCH JR, C.; AND ZINGALI, R.B. Fast analysis of low molecular mass compounds present in snake venom: identification of ten new pyroglutamate-containing peptides. **Rapid Communications in Mass Spectrometry**, 19, 1-6, 2005.
6. SOARES, M. R.; OLIVEIRA-CARVALHO, A. L.; WERMELINGER, L. S.; ZINGALI, R. B.; HO, P. L.; JUNQUEIRA-DE-AZEVEDO, I.D.; DINIZ, M. R. Identification of novel bradykinin-potentiating peptides and C-type natriuretic peptide from *Lachesis muta* venom. **Toxicon**, ;46(1):31-38 (2005).
7. GUIMARÃES-GOMES, V.; OLIVEIRA-CARVALHO, A.L.; JUNQUEIRA DE AZEVEDO, I. L. M.; DUTRA, D.L.S.; PUJOL-LUZ, M.; CASTRO, H.C.; LEE HO, P.; AND ZINGALI, R.B. Cloning, characterization, and structural analysis of a C-type lectin from *Bothrops insularis* (BiL) venom. **Archives of Biochemistry and Biophysics** 432, 1-11, 2004.
8. MACIEL, R. M.; DUTRA, D. L. S.; RUMJANEK, F. D.; JULIANO, L.; JULIANO, M. A.; e FANTAPPIÉ, M. R. Schistosoma mansoni Histone Acetyltransferase GCN5: Linking Histone Acetylation to Gene Activation. **Molecular & Biochemical Parasitology**, 133, 131-135, 2004.
9. CARNEIRO, F. A.; STAUFFER, F.; LIMA, C. S.; JULIANO, M. A.; JULIANO, L.; e DA POIAN, A. T. Membrane Fusion Induced by Vesicular Stomatitis Virus Depends on Histidine Protonation. **J. Biol. Chem.**, Vol. 278, Issue 16, 13789-13794, April 18, 2003.
10. MONTEIRO, R.Q, FOGUEL, D., CASTRO, H.C. AND ZINGALI R.B. Subunit Dissociation, unfolding, and inactivation of Bothrojaracin, a C-type lectin-like protein from snake venom. **Biochemistry** 42, 509-515, 2003.

ii) Apresentações em congressos (citação completa)

IX Pan-American Section Congress of the IST, 2007, Juriquilla, Queretaro, Mexico

1. Ramos-Guimarães, P.; Beghini D.G.; Oliveira-Carvalho, A.L.; Guimarães-Gomes V.; Zingali, R.B. **Bothrops jararaca venom proteins: New views on structure and functions using proteomic approach**. In: IX Pan-American Section Congress of the IST, 2007, Juriquilla, Queretaro, Mexico. Anais do IX Pan-American Section Congress of the IST, 2007. v. 1. p.

Poster

2. Ramos-Guimarães, P.; Oliveira-Carvalho, A.L.; Correa-Neto C., Aguiar, AS, Melgarejo AR, Leão LI, Junqueira-de-Azevedo, ILM, Ho PL, Soares MR Zingali, R.B **Predictive proteome of *Micrurus frontalis* versus *Micrurus corallinus* venom**. In: IX Pan-American Section Congress of the IST, 2007, Juriquilla, Queretaro, Mexico. Anais do IX Pan-American Section Congress of the IST, 2007. v. 1. p.

SBBq 2007

3. Lery, L.M.S.; Oliveira-Carvalho, A.L.; Bisch, P.M.; Zingali, R. PEPTIDOMICS ANALYSIS OF THE NITROGEN-FIXING BACTERIUM *GLUCONACETOBACTER DIAZOTROPHICUS*. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador 2007.
4. Wermelinger, LS; Frattani, FS; Geraldo RB; Juliano, MA; Castro, HC; and Zingali, RB;. **STRUCTURAL AND BIOLOGICAL COMPARISON OF BOTHROPS JARARACA DISINTEGRINS AND THEIR DERIVED-PEPTIDES**. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
5. Guimarães, J.A; Zingali, R.B.; Fuly, A.L. Enzymatic Characterization of Two Acidic Phospholipases A2 Isoforms Isolated from *Lachesis Muta* Snake Venom N-10, **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
6. Guimarães-Gomes, V; Pereira E.S; Junqueira-de-Azevedo, I.L.M; Ho, P.L; Salmon, D; Zingali, R.B. HETEROLOGOUS EXPRESSION AND REFOLDING OF ONE LECTIN FROM BOTHROPS INSULARIS SNAKEVENOM. **N-116 -XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
7. Correa-Netto, C; Foguel, D; Aguiar, A.S; Melgarejo, A.R; Teixeira R.A; Zingali, R.B. IMMUNOCHEMISTRY STUDY OF THE B. JARARACUSSU VENOM. **XXXVI Reunião Anual da**

SBBq e 10th IUBMB Conference, Salvador.

8. Sandim, V, Araújo, R., Guimarães, P. R, Zingali, R.B, Schwindt, A. B. S, Quirino, R, Ornellas, A. A, Pereira, D. A, Alves, G. IDENTIFICATION OF PROTEINS FROM THE URINE OF PATIENTS WITH RENAL TUMORS BY MALDI-TOF-TOF. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
9. Teixeira, R.A; Correa-Netto, C; Braga, C.A; Soares, M.S; Aguiar, A.S; Melgarejo, A.R; Foguel, D; Zingali, R.B. PROTEOMIC ANALYSIS OF B. JARARACUSSU VENOM. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
10. Caruso, M.B., Higa, L.M., Soares, M.R., Oliveira-Carvalho, A.L., Da Poian, A.T. and Zingali, R.B. A PROTEOMIC APPROACH TO STUDY HEPG2 HEPATOMA CELL INFECTED BY DENGUE VIRUS **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
11. Nogueira, A.C.F, Medeiros, R.C.A, Lima, V.L.M, Zingali, R.B. IDENTIFICATION OF PLASMA GLYCOPROTEINS FROM SCHISTOSSOMIASIS PATIENTS AND HEALTHY CONTROLS USING CRAMOLL LECTIN AND PROTEOMICS **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
12. Oliveira-Carvalho, AL., Correa-Neto, C, Guimarães, PR, Zingali, RB, Soares, MR. PREDICT PROTEOME OF *MICRURUS FRONTALIS* VENOM. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.
13. Lucena P.I.N., Beghini D.G, Oliveira-Carvalho A.L., Guimarães-Ramos P., Zingali R.B. HIGH MOLECULAR PROTEINS ANALYSIS OF *BOTHROPS JARARACA* VENOM WITH IMMUNOLOGICAL IDENTITY WITH BOTHROJARACIN THROUGH PROTEOMIC APPROACH. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador.

SBBq 2006

14. "Identification of proteins from *Bothrops jararaca* venom interacting with human prothrombin and thrombin using proteomic approach". Beghini, D.G; Ramos-Guimarães, P; Oliveira-Carvalho, A.L; Dutra, D.L.S; Guimarães-Gomes, V; Zingali, R.B.
15. "Identification of Plasma Glycoproteins from Hepatosplenic Schistosomiasis Patients and Controls". Nogueira, A. C. F; Carvalho, V. C. O; Correia, M. T. S; Coelho, L. C. B. B; Lima, V. L. M; Zingali, R. B.
16. "*Bothrops jararaca* Venom Predictive Proteome and an Overview of C-type Lectin Superfamily". Guimarães-Ramos, P; Oliveira-Carvalho, A.L; Dutra, D.L; Zingali, R.B.
17. "Fast Analysis of Low-Molecular-Weight Compounds Present in Snake Venom: Identification of Ten New Pyroglutamate-Containing Peptides". Wermelinger, L.S; Dutra, D.L; Oliveira-Carvalho, A.L; Soares, M.R; Bloch Jr, C; Zingali, RB.
18. "Análise comparativa da expressão global de proteínas entre cepas do clone epidêmico brasileiro e clone New York/Japan de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (MRSA)". Vital Brazil, J.M; Silva-Carvalho, M.C; Oliveira-Carvalho, A.L; Dutra, D.L.S; Zingali, R.B; Figueiredo, A.M.S.
19. "Bradykinin potentiating peptides in *Lachesis muta* snake venom: Identification of new peptides using mass spectrometry technologies and cDNA cloning". Oliveira-Carvalho, A.L; Wermelinger, L.S; Soares, M.S; Dutra, D.L.S; Bloch Jr, C; Junqueira-de-Azevedo, I.L.M; Diniz, M.R.V; Ho, P.L; Zingali, R.B.
20. "Identificação de proteínas secretadas por células Hepg2 infectadas pelo vírus da dengue-2 através da abordagem proteômica". Brígido, M.C; Higa, L.M; De Souza, F.C; Chapeaurouge, A; Ana Lucia De Oliveira-Carvalho, A.L; Perales, J; Da Poian; Zingali, R.B.
21. Wermelinger, LS; Dutra, DL; Oliveira-Carvalho, AL; Soares, MR; Bloch Jr, C; and Zingali, RB.

- "Fast Analysis Of Low-Molecular-Weight Compounds Present In Snake Venom: Identification Of Ten New Pyroglutamate-Containing Peptides" XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
22. Vieira, SM; Reis, FC; Dutra, DLS; Juliano, L, Juliano, MA; Zingali, RB "The Use of Fluorescence-Quenched Substrates Based on PAR 1 Sequence to Evaluate Enzymatic Activity of Thrombin" XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
 23. Oliveira-Carvalho A.L; Guimarães-Ramos, P; Dutra, D.L.S.; Castro H.C.; Junqueira-de-Azevedo I.L.M.; Ho, P.L; Valente, R.H.; Neves-Ferreira, A.G.C., Perales. J., Zingali R.B. "Clone identification of Bothroinsularin, a thrombin inhibitor protein from *Bothrops insularis* venom using proteomics approach". XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
 24. Rubatino, L.F.; Dutra, D.L.S.; Oliveira-Carvalho, A.L.; Lery, L.M.S.; Bisch, P.M.; Zingali, R.B. "Peptidomics studies: Contribution for better understanding of *Gluconacetobacter diazotrophicus* physiology" XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
 25. Caruso, M. B.; Oliveira-Carvalho, A.L; Dutra, D.L.S.; Canellas, F.; Higa L; Da Poian, A.T.; Zingali, R.B. "Mass spectrometry analysis of peptides secreted by HepG2 hepatoma cells infected with Dengue virus 2" XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
 26. Guimarães-Gomes V., Castro H. C., Dutra D. L. S., Carlini C. R. R. S. and Zingali R. B. "Immunological comparison of C-type lectin from *Bothrops insularis* (BiL) with plant and snake venom lectins" XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular.
 27. Guimarães-Ramos, P.; Oliveira-Carvalho, A.L.; Dutra, D.L.; Zingali, R.B. "*Bothrops jararaca* Venom Predictive Proteome and an Overview of C-type Lectin Family" XXXIV reunião anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. 2005
 28. Oliveira-Carvalho, AL; Wermelinger, LS; Soares, MR; Dutra, DLS; Bloch Jr, C; Junqueira-de-Azevedo I.L.M.; Diniz, M.R.V.; Ho, P.L; and Zingali, RB "Bradykinin potentiating peptides in *Lachesis muta* snake venom: identification of new peptides using mass spectrometry technologies and cDNA cloning". Resumo P187 VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, Angra dos Reis, 2004
 29. Wermelinger, LS; Dutra, DLS; Oliveira-Carvalho, AL; Soares, MR; Bloch Jr, C; and Zingali, RB "Maldi tof mass spectrometry and *De novo* Sequence as a tool to investigate and identify low mass peptides in snake venoms". Resumo P188 VIII Congresso da Sociedade Brasileira de Toxinologia, Angra dos Reis, 2004
 30. Valente, R.H.; Neves-Ferreira, A.G.C; Chapeaurouge, A.; Rocha, S.L; Trugilho, M.R.O; Albuquerque, L.M.; Perales, J.; Alves, E.W; Oliveira-Carvalho, A.L; Dutra, D.L.S; Wermelinger, L.S; Zingali, R.B; Junqueira de Azevedo; I.L.M; Ho, P.L; Junqueira, M; Domont, G.B: "New Data From *Bothrops Insularis* Venom Predictive Proteome Effort": XXXIII Reunião Anual da SBBq 2004
 31. Wermelinger, L.S.; Dutra, D.L.S.; Oliveira-Carvalho, A.L.; Monteiro, R.Q. and Zingali, R.B. "Comparative Study of Snake Venoms Using Maldi Tof Mass Spectrometry as a Tool to Investigate Low Mass Peptides in Complex Samples": XXXIII Reunião Anual da SBBq 2004
 32. R.H. Valente; A.G.C. Neves-Ferreira; A. Chapeaurouge; S.L. Rocha; M. Trugillo and J. Perales (Fiocruz); E.W. Alves (UENF); A.L. Oliveira-Carvalho; D.L.S. Dutra; L.S. Wermelinger and R.B. Zingali (UFRJ); I.L.M. Junqueira-de-Azevedo and P.L Ho; I.G. da Silva; M. Junqueira; and G.B. Domont, "*Bothrops insularis* Venom Predictive Proteome", Resumo N146, XXXII Reunião Anual da SBBq 2003.
 33. Castro HC, Guimarães-Gomes V, Oliveira-Carvalho AL, Junqueira-de-Azevedo ILM, Dutra DLS, Lee-Ho P and Zingali RB "Lectin From *Bothrops Insularis* (BiL): Cloning, Purification and theoretical model of the subunits". Resumo N107, XXXII Reunião Anual da SBBq 2003.
 34. Dutra, DLS; Oliveira-Carvalho AL; Wermelinger, LS and Zingali, RB, "MaldiTOF Mass Spectrometry

as a Tool to Investigate Low Mass Peptides in Complex Samples" Resumo N108, XXXII Reunião Anual da SBBq 2003.

35. Guimarães-Gomes V, Oliveira-Carvalho, A.L, Junqueira-de-azevedo, ILM Dutra DLS; Castro HC HO, PL and Zingali RB. "Cloning and purification of, a C-type lectin-like protein from *B. insularis* (BiL) venom". Resumo 52 apresentado no VII Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia – 2002.
36. Oliveira-Carvalho, A.L.; M. I. D'Avila-Assafim, D. L. S. Dutra, H. C. Castro and R. B. Zingali, "Structural studies of Bothroinsularin, a C-type lectin-like protein from *B. insularis* venom". Resumo 224 apresentado no VII Simpósio da Sociedade Brasileira de Toxinologia – 2002.

e) Unidade Multidisciplinar de Genômica – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ

Coordenador: Paulo Mascarello Bisch

i) Trabalhos completos:

1. LERY, L. M.; COELHO, A.; VON KRUGER, W. M. A.; GOLÇALVES, M. S. M.; SANTOS, M. F.; VALENTE, R. H.; SANTOS, E. O.; ROCHA, S. L. G.; PERALES, J.; DOMONT, G. B.; TEIXEIRA, K. R. S.; BISCH, P. M. Protein Expression Profile of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, a sugarcane endophytic plant-growth promoting bacterium. **Proteomics**, v.8, p.1631 - 1644, 2008.
2. VON KRÜGER, W. M. A.; LERY, L. M. S.; SOARES, M. R.; NEVES- MANTA, F. S.; SILVA, C. M. B.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; PERALES, J.; e BISCH, P. M. The phosphate starvation response in *Vibrio cholerae* O1 and *phoB* mutant under proteomic analysis: disclosing functions involved in adaptation, survival, and virulence. **Proteomics**, 6 (5): 1495-1511, 2006.
3. COELHO, A.; SANTOS, E. O.; FARIA, M. L. H.; CARVALHO, D. P.; SILVA, M. R. S.; VON KRUGER, W.; BISCH, P. M. A Proteome reference Map for *Vibrio cholerae* El Tor. **Proteomics**, 4, 1491-1504, 2004.

ii) Trabalhos correlatos na área de Biologia Estrutural e Genômica

1. FERNANDES, M., SILVA, R.; ROSSLE, S. C.; BISCH, P. M.; RONDINELLI, E.; URMENYI, T. P. Gene characterization and predicted protein structure of the mitochondrial chaperonin HSP10 of *Trypanosoma cruzi*. **Gene**. Apr 11; 349:135-42, 2005.
2. LARENTIS, A. L.; ALMEIDA, R. V.; ROSSLE, S. C.; CARDOSO, A.M.; ALMEIDA, W.I.; BISCH, P.M.; ALVES, T. L. M.; MARTINS, O. B. Expression and homology modelling of 2'-aminobiphenyl-2,3-diol-1,2-dioxygenase from *Pseudomonas stutzeri* carbazole degradation pathway, **Cell Biochemistry and Biophysics**, 44 (3): 530-538, 2006.
3. ALMEIDA, R.V.; ALQUERES, S. M. C.; LARENTIS, A. L.; ROSSLE, S. C.; CARDOSO, A. M.; ALMEIDA, W. I.; BISCH, P. M.; ALVES, T. L. M.; MARTINS, O. B. Cloning, expression, partial characterization and structural modeling of a novel esterase from *Pyrococcus furiosus*. **Enzyme and Microbial Technology** 39 (5): 1128-1136, Sep 4 2006

iii) Apresentações em congressos (citação completa)

XXII Congresso Brasileiro de Microbiologia, 17 a 20 de novembro de 2003, Florianópolis

1. Lery LMS; Viana FC; Soares MR; Rossle SCS; Teixeira KRS; von Kruger WMA; Bisch PM. **Initial phase of a proteome project to "fuel" the understanding of *Gluconacetobacter diazotrophicus* physiology.** Rede Proteômica do Estado do Rio de Janeiro, Unidade Multidisciplinar de Genômica, UFRJ – IBCCF

2. Queiroga-Brito, S; Carvalho, DP; Araújo, LC; Lery, LMS; Pacheco, ABF; Bisch, PM; von Kruger. **Characterization of Motility mutants of *Vibrio cholerae* O1, O395.**

I Latin American Protein Society Meeting, Novembro de 2004, Angra dos Reis

3. Lery LMS; Viana FC; Teixeira KRS; von Kruger WMA; Bisch PM. Comparison of proteomes of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 under nitrogen fixing and non fixing conditions. Rede de Proteômica do Estado do Rio de Janeiro

XXIV Jornada de Iniciação Científica e Cultural da UFRJ, 2002, Rio de Janeiro

4. Lery, LMS., von Kruger, W.M.A., Bisch, P.M. **Do Genoma ao Proteoma: o Potencial Biotecnológico da *Gluconacetobacter diazotrophicus*.**

XXXII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. 2003, Caxambu

5. Lery, L. M. S., Viana, F.C., Soares, M.R., Teixeira, K.R.S., von Kruger, W.M.A., Bisch, P.M. **Initial phase of a proteome project to "fuel" the understanding of *Gluconacetobacter diazotrophicus* physiology.**
6. Queiroga-Brito, S; Carvalho, DP, Pacheco, ABF, von Kruger, WMA, Bisch, PM. **Characterization of Motility mutants of *Vibrio cholerae*.**

III Proteomic Forum. 2003, Munique

7. Lery, L. M. S., Viana, F.C., Soares, M.R., Rossle, S.C.S., Teixeira, K.R.S., von Kruger, W.M.A., Bisch, P.M. **Initial phase of a proteome project to "fuel" the understanding of *Gluconacetobacter diazotrophicus* physiology.**

V Ibero American Congress of Biophysics. 2003, Rio de Janeiro

8. Lery, L. M. S., Viana, F.C., Soares, M.R., Rossle, S.C.S., Teixeira, K.R.S., von Kruger, W.M.A., Bisch, P.M. **Initial phase of a proteome project to "fuel" the understanding of *Gluconacetobacter diazotrophicus* physiology.**
9. Passos, MDM; SCORZA, P.C.; SILVA, CB; SILVA, M.R.S.; BISCH, PM; VONKRUGER, W. **Caracterização da PhoB selvagem e mutante de *Vibrio cholerae* expressas em *Escherichia coli***

XXV Jornada de Iniciação Científica e Cultural da UFRJ. 2003, Rio de Janeiro

10. Lery, L. M. S., Viana, F.C., Soares, M.R., Rossle, S.C.S., Teixeira, K.R.S., von Kruger, W.M.A., Bisch, P.M. **Uso de técnicas proteômicas e bioinformática na caracterização da fisiologia da *Gluconacetobacter diazotrophicus*.**
11. Goulart CL, Matos DFR, Camacho EF, Queiroga-Brito S, Araújo LC, Soares MR, Carvalho DP, Bisch PM, von Krüger WMA. Expressão diferencial de porinas em mutantes *phoB* de *Vibrio cholerae* O1 afeta a sensibilidade a sais biliares e a colonização intestinal
12. Queiroga-Brito, S; Carvalho, DP; Araújo, LC; Soares, MR; Batista, CM; Camacho, EF; Pacheco, ABF; Bisch, PM; von Kruger, WMA. **Characterization of Motility mutants of *Vibrio cholerae*.**

XXVI Jornada de Iniciação Científica da UFRJ. 2004, Rio de Janeiro

13. Lery, L. M. S., Viana, F.C., Soares, M.R., Rossle, S.C.S., Teixeira, K.R.S., von Kruger, W.M.A., Bisch, P.M. **Análise de proteomas diferenciais da *Gluconacetobacter diazotrophicus* em condições de fixação e não fixação de nitrogênio.**

14. Goulart CL, von Krüger WMA, Soares MR and Bisch PM. **O efeito do pH e do glicerol na expressão de membros do regulon *pho* em *Vibrio cholerae*.**

XXXIII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. 2004, Caxambu

15. Goulart CL, von Kruger WMA, Soares MR and Bisch PM. **The effect of pH and glycerol on the expression of members of regulon *pho* in *Vibrio cholerae*.**
16. Passos, MDM; VON KRUGER, W.; BISCH, PM. **Characterization of the wild type and mutant forms of *Vibrio cholerae* response regulator expressed in *Escherichia coli***

XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. 2005, Águas de Lindóia

17. von Krüger, WMA, Lery, LMS, Soares, MR, Neves- Manta, FS, Silva, CMB, Neves-Ferreira, AGC, Perales, J and Bisch, PM. **The phosphate starvation response in *Vibrio cholerae* O1 and *phoB* mutant under proteomic analysis: disclosing functions involved in adaptation, survival and virulence.**
18. Goulart CL; Sousa FJR; Lery LM¹; Manta FSN; Neves-Ferreira AGC; Perales JE; Bisch PM; von Kruger WMA. **Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O1 alkaline phosphatase**
19. Queiroga-Brito, S., Rodrigues, JCF, Attias, M; Bisch, PM and von Kruger, WMA. **Characterization of a Nonmotile mutant of Classical *Vibrio cholerae* O1 O395: Ultrastructure, Adhesion Properties and Proteomic Analysis**

16ª. Reunião Anual de Usuários LNLS, Campinas, SP

20. LERY, L.M.S.; Teixeira, K. R. S.; KRUGER, W. M. A. V.; BISCH, Paulo Mascarello. **Comparative proteomic analysis of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5 under fixing and non fixing conditions.** In: 16 Reunião Anual de Usuários LNLS- Laboratório Nacional de Luz Síncrotron, 2006, Campinas- SP. Resumos de trabalhos Científicos- 16 Reunião Anual de Usuários LNLS, 2006. v. 1. p. 51-51.

The 14th annual meeting of the international society for computing biology, ISMB- Intelligent systems for molecular biology, 2006, Fortaleza, CE.

21. LERY, L.M.S.; KRUGER, W. M. A. V.; BISCH, Paulo Mascarello . **Bioinformatic analysis of *Gluconacetobacter diazotrophicus* proteome.** In: ISMB- Intelligent systems for molecular biology, 2006, Fortaleza. The 14th annual meeting of the international society for computing biology, 2006. v. 1. p. 1-1.

XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular 2006, Águas de Lindóia

22. KRUGER, W. M. A. V.; GOULART, C.L.; LERY, L.M.S.; Passos, MDM; PINTO, J.F.; BISCH, Paulo Mascarello . **A phosphate starvation induced porin is apparently involved in bile salt resistance in *Vibrio cholerae* O1 biotypes classical and El Tor.** In: XXXV Reunião Anual do SBBq, 2006, Águas de Lindóia- São Paulo. Anais da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular- SBBq, 2006. v. 1.
23. KRUGER, W. M. A. V.; BISCH, Paulo Mascarello . **Bile Salts Induce Production of Biofilm in *Vibrio cholerae* O1 and is Apparently Affected by Mutation in *phoB*.** In: XXXV Reunião Anual do SBBq, 2006, Águas de Lindóia- São Paulo. Anais da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. v. 1.

24. Passos, MDM; LADEIRA, T.C.; GOULART, C.L.; PINTO, J.F.; BISCH, Paulo Mascarello; KRUGER, W. M. A. V. **Vibrio cholerae O1 PhoB/PhoR system: Evidences of a complex autoregulation and roles in DNA replication, stationary phase survival and virulence.** In: XXXV Reunião Anual do SBBq, 2006, Aguas de Lindoia- São Paulo. Anais da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. v. 1.
25. BRITO, S.Q.; RODRIGUES, J.C.F.; ATTIAS, M; BISCH, Paulo Mascarello; KRUGER, W. M. A. V. **Genomic, Proteomic and Ultrastructure Analysis of a Nonmotile Mutant of Classical Biotype Vibrio cholerae O395.** In: XXXV Reunião Anual do SBBq, 2006, Aguas de Lindoia- São Paulo. Anais da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. v. 1.
26. KRUGER, W. M. A. V. **Effects of antitumor chemotherapics on the expression of genes of the Nucleotide Excision Repair system in Escherichia coli.** In: XXXV Reunião Anual do SBBq, 2006, Aguas de Lindoia- São Paulo. Anais da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. v. 1.
27. Barbosa, L.C.; Bisch, P.M; von Kruger, W. **A PROTEOMIC ANALYSIS OF BIOFILM INDUCED BY BILE SALTS IN VIBRIO Cholerae O1.** In: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference, 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007.
28. Brito, S.Q.; Amaral, P.; Carvalho, C.X.; Bisch, Pm; von Kruger, W - **Proteomic Analysis of a Non-motile Mutant of Vibrio cholerae O395.** In: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, SBBQ - The International Union of Biochemistry and Molecular Biology, 10th IUBMB Conference, 2007, Salvador, Bahia. XXXVI Annual Meeting of the SBBQ, 2007.
29. Lery, L.M.S.; Goulart, C.L.; Bisch, Pm; von Kruger, W. **PROTEOMIC ANALYSIS REVEALS INORGANIC PHOSPHATE-INDEPENDENT FUNCTIONS FOR THE PHOB/PHOR SYSTEM OF VIBRIO CHOLERAEE o1.** In: **Vibrio2007 Conference;** Paris, França, Volume:1; P 1-2. 2007.
30. Barbosa, L.C.; Bisch, Pm; von Kruger, W. **A PROTEOMIC ANALYSIS OF BIOFILM INDUCED BY BILE SALTS UNDER INORGANIC PHOSPHATE LIMITATION IN VIBRIO CHOLERAEE O1.** In: **Vibrio2007 Conference;** Paris, França, Volume:1; 2007.
31. Barros, E.M.; von Kruger, W.; Giambiagi-Demarval, M. **Análise da formação de biofilme nos patógenos oportunistas Staphylococcus haemolyticus e Staphylococcus saprophyticus.** Congresso Brasileiro de Microbiologia, Volume 24; p 15; Brasília – DF; BRASIL.
32. Afonso, P.P.; Lery, L.M.S.; Von Kruger, W.; Bisch, PM; Damaso, CRA. **Comparative Proteomic Analysis of Cantagalo and Vaccinia-loc Viruses.** Virus Reviews and Research; Volume:12; p 62; XVIII Encontro Nacional De Virologia; 2007 - Buzios, Rio de Janeiro, BRASIL.

iv) Títulos dos projetos em desenvolvimento

- (1) **Projeto 1:** Análise proteômica da bactéria diazotrófica *Gluconacetobacter diazotrophicus* e de sua interação endofítica com plantas de cana-de-açúcar (híbridos interespecíficos de *Saccharum*)".
- (2) **Projeto 2:** Regulação da expressão gênica em *Vibrio cholerae*
 - A. Caracterização da regulação da expressão gênica em cepas patogênicas de *Vibrio cholerae* em resposta à disponibilidade de fosfato inorgânico
 - Regulação da produção de hemolisina, um BINATO, R; MARTINEZ, C.E.A; PIZZATTI, L; ROBERT, B; ABDELHAY, E. Smad 8 binding to mice *msx1* basal promoter is required for transcriptional activation. *Biochemical Journal*, 2005 (in press).
 - PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; SOUZA, J. M.; BISCH, P. M.; ABDELHAY, E. Altered protein profile in Chronic Myeloid Leukemia chronic phase identified by a comparative Proteomics study . *Biochimica et Biophysica Acta (Proteins and Proteomics)*.
 - B. Fator de virulência de *V. cholerae*.
- (3) **Projeto 3: Estudo proteômico da infecção viral: O vírus da dengue**
Estudo da infecção de células de fígado humano por Proteômica Diferencial
- (4) **Projeto 4:** Análise Proteômica em Leucemia Mielóide Crônica – LMC (L. Pizzatti, E. Abdelhay)

- (5) **Projeto 5:** Estudos de Fatores de Virulência em *Vibrio Cholerae* (W. von Kruger, A. Pacheco)
- (6) **Projeto 6:** Estudos da Interação Proteína-DNA na Regulação da Expressão Gênica e nos Mecanismos de Reparo de DNA: Caracterização estrutural e funcional das proteínas LexA, PhoB e UvrB de *V. cholerae E. coli*. (A. Pacheco, R. M. Borges, G. Weissmuller, A. Leitão, C. Lage)
- (7) **Projeto 7:** Estudo da interação do protozoário fitopatogênico *Phytomonas serpens* com a glândula salivar do inseto vetor *Oncopeltus fasciatus* através de técnicas proteômicas e de imuno-marcação. (Angela Hampshire Lopes)

f) Divisão de Laboratórios do CEMO, INCA

Coordenadora: **Eliana Furlim Abdelhay**

i) Artigos completos publicados em periódicos

1. PIZZATTI, L.; AYRES SÁ, L.; SOUZA, J. M.; BISCH, P. M.; e ABDELHAY, E. Altered protein profile in chronic myeloid leukemia chronic phase identified by a comparative proteomic study; *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins & Proteomics* 1764, Issue 5, Pages 929-942, May 2006.
2. BINATO, R.; MARTINEZ, C. E. A; PIZZATTI, L.; ROBERT, B.; ABDELHAY, E. Smad 8 binding to mice *msx1* basal promoter is required for transcriptional activation. *Biochemical Journal*, 393(1):141-150, 2006.

ii) Artigos Aceitos Para Publicação

BINATO, R.;PIZZATTI, B.; ABDELHAY, E. Otx2 is a putative candidate to regulate *msx1* gene promoter from distal enhancer. *BBRC*. No prelo.

iii) Trabalhos completos em anais de eventos

1. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; SOUZA, Jamison Menezes de; ABDELHAY, Eliana Análise Proteômica em Leucemia Mielóide crônica. In: **XXXIII Jornada de Hematologia e Hemoterapia- HEMORIO**, 2002, Rio de Janeiro. 2002.
2. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; DETERLING, L. C.; SOUZA, Jamison Menezes de; ABDELHAY, Eliana. Proteomics in Chronic Myeloid Leukemia. In: **Blood- Journal of the American Society of Hematology**, 2001, Orlando. *BLOOD- Journal of the American Society of Hematology*. 2001. v. 98, p. 266b-266b.

iv) Resumos simples em anais de eventos

1. Pizzatti, L. B.; Villela, A. P.; Borba, F.; Sá, L. A.; Dobbin, J.; Bouzas, L. F.; Bisch, Paulo M; Abdelhay, E. Blast evolution biomarkers in chronic myeloid leukemia: a proteomic study. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006, Lindóia. **Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**. São Paulo : Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. p. 119.
2. Pizzatti, L. B.; Villela, A. P.; Borba, F.; Sá, L. A.; Dobbin, J.; Bouzas, L. F.; Bisch, Paulo M; Abdelhay, E. Proteomic avaliation of imatinib mesylate effect in leukemic bone marrow cells. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006, Lindóia. **Anais da Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**. São Paulo : Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. p. 120.
3. Villela, A. P.; Pizzatti, L. B.; Sá, L. A.; Gomes, B. E.; Paraguacu-Braga, F. H.; Abdelhay, E. Proteomic analysis of umbilical cord blood hematopoietic stem cells. In: Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006, Lindóia. **Anais da Reunião da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular, 2006. p. 120

4. BINATO,R and ABDELHAY,E. "BMP₄ signaling is necessary to activate MSX₁ transcription." In: **II International Meeting of Latin American Society of Developmental Biology**, Guarujá / SP,2005.
5. Pizzatti, Luciana; Binato, R; Sá, L. A.; Bisch, Paulo M; Abdelhay, E. Aplicação da espectrometria de massas na identificação de proteínas regulatórias em promotores eucarióticos. In: **I Congresso da BrMASS**, 2005, Campinas. Anais do I Congresso da BrMASS, 2005.
6. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; BISCH, P. M., ABDELHAY, E. "Proteomic Analyses of Hematopoietic Stem Cells of Chronic Myeloid Leukemia Patients". In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, Águas de Lindóia/SP, 2005.
7. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; BISCH, P. M., ABDELHAY, E. "Proteoma comparativo em Leucemia Mielóide Crônica". In: **Congresso Nacional de Genética**, Florianópolis/SC.2004
8. BINATO,R.;MARTINEZ,C.E.A.;PIZZATTI,L.;ABDELHAY,E. A ligação da proteína SMAD8 no promotor basal do gene MSX₁ de camundongo é necessária para a ativação de sua transcrição. In: **Congresso Nacional de Genética**, Florianópolis/SC.2004
9. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; SOUZA, J. M.; ABDELHAY, E. Protein profile in Chronic Myeloid Leukemia: a proteomic study. In: **5 Ibero American Congress of Biophysics**, Rio de Janeiro. 2003.
10. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; SOUZA, J. M.; ABDELHAY, E. The Chronic Myeloid Leukemia protein profile. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, Caxambú – MG, 2003.
11. PIZZATTI, L. B.; SOUZA, J. M.; SÁ, L. A.; ABDELHAY, E. The Chronic Myeloid Leukemia protein profile : a proteomic study. In: **Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo-SP, 2003.
12. PIZZATTI, L. B.; SÁ, L. A.; DETERLING, L. C.; SOUZA, J. M.; ABDELHAY, E. Proteomics in Chronic Myeloid Leukemia. In: **Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, Caxambú - MG. 2002.

v) Apresentações em Simpósios e Mesas Redonda

1. Chromatin remodeling and blastic transformation in leukemia- The differentiating cell section. **Congresso da SBBC**, Búzios, Rio de Janeiro, julho 2006
2. Ferramentas genômicas e proteômicas no diagnóstico e prognóstico de leucemias. **Congresso da SBG**, Foz do Iguaçu, Mato Grosso do Sul, setembro de 2006
3. Fronteiras entre a pesquisa básica e a pesquisa clínica- **V Bienal de Pesquisa da Fiocruz**, Rio de Janeiro, RJ, novembro de 2006.

g) Laboratório de Genética Molecular Bacteriana

Responsável: Ana Maria Abrantes Coelho

i) Artigos publicados:

1. LERY, L. M.; COELHO, A.; VON KRUGER, W. M.; GONÇALVES, M. S.; SANTOS, M. F.; VALENTE, R. H.; SANTOS, E. O.; ROCHA, S. L.; PERALES, J.; DOMONT, G. B.; TEIXEIRA, K. R.; BISCH, P. M. Protein expression profile of *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5, a sugarcane endophytic plant growth-promoting bacterium. **Proteomics**. Mar 13;8(8):1631-1644, 2008.
2. COELHO, A.; SANTOS, E. O.; FARIA, M. L. H.; CARVALHO, D. P.; SOARES, M. R.; VON KRUGER, W. M. A.; AND BISCH, P. M. A proteome reference map for *Vibrio cholerae* El Tor. **Proteomics** 4(5) 1491-1504, 2004 *
3. VICENTE, A. C. P. AND COELHO, A. 1990s *Vibrio cholerae* epidemic, Brazil. **Emerging infections and diseases** 11(1) 171-172, 2005.
4. FIGUEIREDO, S. C. A.; NEVES-BORGES, A. C. AND COELHO, A. The neuraminidase gene is present in the non-toxicogenic *Vibrio cholerae* Amazonia strain: a different allele in comparison to the pandemic strains. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v 100, n. 6, 663-669, 2005.

ii) Artigos em preparação

Figueiredo, SC, Reis, RC, Gonçalves, MSM, Miranda, PJ, Coelho, A. **The pathogenicity island VPI-2 of *Vibrio cholerae* Amazônia**. (2007)

iii) Resumo publicado em Jornais

Lery LMS, Medeiros MS, Santos MF, Santos EO, von Kruger WMA, Domont G, Teixeira KRS, Coelho A e Bisch PM (2005) A Proteome reference map for *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. **Molecular and Cellular Proteomics** 4 (8) S240.

iv) Capítulo de livro:

1. GOMEZ-GIL, B.; THOMPSON, F. L.; SAWABE, T.; VICENTE, A. C. P.; COELHO, A.; SWINGS, J. *Vibrios*. In: M. Dworkin, S. Falkow, E. Rosenberg, K. H. Schleifer, and E. Stackebrandt (ed.). (Org.). **The prokaryotes. An evolving electronic resource for the microbiology community**. 3 ed. New York, 2005, v., pp 100-. Aceito para publicação ainda em 2005.
2. VICENTE, A. C. P.; RIVERA, I. G.; VIEIRA, M. D.; AND COELHO, A. *Vibrio cholerae* populations and their role in South America. **The Biology of Vibrios**. (eds. Thompson, F. L.; Austin, B; Swings, J.) Washington, D. C.: American Society for Microbiology. Maryland v. 1, p. 239-247, 2005.

v) Resumos em Congressos:

1. GONÇALVES MSM, COELHO A (2004) Análise das proteínas da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **XXVI Jornada de Iniciação Científica da UFRJ**. *
2. GONÇALVES MSM, TEIXEIRA K, COELHO A (2004) Análise das proteínas da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Jornada do Instituto de Microbiologia Paulo de Goes, UFRJ. *
3. RODRIGUES TB, COELHO A (2004) Construção de linhagens mutantes hlyU Amazonia e El Tor de *Vibrio cholerae*. **XXVI Jornada de Iniciação Científica da UFRJ**.
4. SANTOS EO, C. A. G. SOARES, A. COELHO (2005) Proteome of *Vibrio cholerae* ElTor: A Comparison of Cells Grown in Mg Medium Plus Glucose Versus N-Acetylglucosamine. **105th General Meeting of the American Society for Microbiology**, Atlanta, Estados Unidos. Washington DC : ASM, 2005. v. 1. p. 304-304
5. SANTOS EO, COELHO A (2005) Proteome of *Vibrio cholerae* El Tor: a comparison of cells grown in Mg medium plus glucose versus N-acetylglucosamine. **XXXIII Reunião anual da SBBq**, Águas de Lindóia. *
6. DOMINGUES MD, COELHO A (2005) Secretome of *Vibrio cholerae* Amazonia and El Tor: a preliminary analysis. **XXXIII Reunião anual da SBBq**, Águas de Lindóia. Trabalho premiado, selecionado para apresentação oral por Michelle.*
7. VIEIRA, M. D.; COELHO A. (2005) Secretome of *Vibrio cholerae* Amazonia and El Tor: a preliminary analysis. Poster F-74, **XXXIV Reunião anual da SBBq**, Águas de Lindóia. **Trabalho premiado**, escolhido para apresentação oral.
8. LOUREIRO, M.M.; TURQUE, A.S.; BERTALAN, M.; FRANÇA, L. M.; SILVEIRA, C.B.; PÁDUA, V.L.M.; MARTINS, O.B.; FERREIRA, P.C.G. AND RIOGENE GENOMIC SEQUENCING CONSORTIUM (2005) Physical Mapping of *Gluconacetobacter diazotrophicus* Pal 5 Genome Using Macro restriction Analysis and Bacterial Artificial Chromosomes, **XXXIV Reunião da SBBq**, Lindóia.
9. BISCH, PM; DOMONT, G.B.; COELHO, A.; TEIXEIRA, K. R. S.; LERY, L.M.S.; VON KRUGER, W.(2005) A proteome map for *Gluconacetobacter diazotrophicus* PAL5. Resumos; v.34, **XXXIV Reunião Anual da SBBq**, Águas de Lindóia
10. REIS RC, FIGUEIREDO SCA, COELHO A (2005) Localização dos genes regulatórios *hlyU* e *nhaR* no genoma da linhagem Amazônia de *Vibrio cholerae*. p. LXIX, da **XXVII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ**.
11. MEDEIROS-GONÇALVES, MSM, COELHO A (2005) Análise das proteínas da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*. P. LXIX, da **XXVII Jornada Giulio Massarani de Iniciação Científica, Artística e Cultural da UFRJ**.

12. MEDEIROS-GONÇALVES, MS, FIGUEIREDO SCA, REIS RC, COELHO A (2005) Análise da ilha de patogenicidade VPI-2 da linhagem de *Vibrio cholerae* Amazonia. **XXIII Congresso de Microbiologia**, Santos, novembro.
13. MEDEIROS-GONÇALVES, MSM, COELHO A (2006) Clonagem de parte da ilha de patogenicidade VPI-2 de *Vibrio cholerae* Amazônia. **XII Semana de Microbiologia e Imunologia- UFRJ**. Trabalho premiado como melhor trabalho na área de Microbiologia Médica.
14. ALVES JUNIOR, N, COELHO A (2006) Análise do genoma de *V. cholerae* Amazônia. **XII Semana de Microbiologia e Imunologia- UFRJ**.
15. FIGUEIREDO, SONIA CA; REIS, RODRIGO C; GONÇALVES, MAYLA SM; BELTRÃO, PAULO JOSE MSI; COELHO ANA (2007) The VPI-2 (*Vibrio* pathogenicity island-2) of *Vibrio cholerae* Amazônia. **Congresso internacional Vibrio 2007**, Institut Pasteur, Paris, novembro. Apresentado por Ana Coelho.
16. FIGUEIREDO SCA, REIS RC, GONÇALVES, MSM, BELTRÃO, PJMSI, COELHO A (2007) The VPI-2 (*Vibrio* pathogenicity island-2) of *Vibrio cholerae* Amazônia. **XXXVI SBBq**. Apresentado por R. Reis.
17. LEME, J. M. M., VIEIRA, M. D., SANTOS, E. O., E COELHO, A. (2007) Comparative proteome of *Vibrio cholerae* Amazonia and an Hlyu mutant. **XXXVI SBBq**.
18. SANTOS, E. O., LEME, J. M. M., E COELHO, A. (2007) N-Acetylglucosamine utilization pathway in *Vibrio cholerae*. **XXXVI SBBq**. Apresentado por Eidy Santos.
19. GONÇALVES, MSM, REIS, RC, BELTRÃO, PJMI, VENTURA, RC, FIGUEIREDO SCA, COELHO A. 2007. A Ilha de patogenicidade 2 (VPI-2) da Linhagem Amazonia de *Vibrio cholerae*. **Jornada de Iniciação Científica da UFRJ**. Apresentado por Rafael Ventura.

vi) Palestras:

1. COELHO, A (2004) A proteome reference map fo *Vibrio cholerae* El Tor. **Reunião da SBBq**, II Simpósio de Proteômica. *
2. COELHO A (2004) Integração da Genômica com a Proteômica. **Curso nacional Introdução à Análise Proteômica**, MCT/CNPq, junho, UFRJ. *
3. COELHO (2004) Perspectivas da análise genômica e proteômica de *Vibrio cholerae*. **Simpósio "Perspectivas da Genômica, da Proteômica e da Nanobiologia no Estado do Rio de Janeiro 2005-2010"**. Dezembro. *
4. COELHO A (2004) Duas palestras na FAPERJ sobre andamento do projeto Genoma do Rio, apresentando os dados dos grupos do Departamento de Genética da UFRJ.
5. COELHO, A (2005) *Gluconacetobacter diazotrophicus*. **XXXIII Reunião da SBBq**, I Simpósio de Proteômica. *
6. VIEIRA MD, COELHO A (2005) Secretome of *Vibrio cholerae* El Tor: a preliminary analysis. **I Fórum em Proteômica**. Rede Proteômica do Rio de Janeiro. Julho, UFRJ. *
7. SANTOS EO, COELHO A (2005) Proteome of *Vibrio cholerae*: comparison of cells grown in Mg medium plus glucose versus N-acetylglucosamine. **I Fórum em Proteômica**. Rede Proteômica do Rio de Janeiro. Julho, UFRJ. *

h) Unidade Proteômica de Fungos – UERJ (Unidade Nova – EM IMPLANTAÇÃO)

Coordenadora: Dra. Leila Maria Lopes Bezerra

A Unidade ainda está em fase de consolidação. A Faperj liberou recursos em 2005/2006, para aquisição dos equipamentos de 2-DE e insumos para criação da Unidade Proteômica de Fungos. Foram adquiridos um sistema completo de eletroforese bidimensional (2-D) e o sistema de análise de imagens. O grupo estabeleceu colaborações na área de proteômica com o Dr. Jonas Perales (Fiocruz), com a Dra. Elaine Abdelhay (INCA) e com a Dra. Concha Gil (Universidad Complutense de Madrid).

i) Publicação

NASCIMENTO, R. C.; ESPÍNDOLA, N. M.; CASTRO, R. A.; TEIXEIRA, P. A. C.; LOUREIRO, Y.; PENHA, C.V.; LOPES-BEZERRA, L. M.; ALMEIDA, S. R. Passive immunization with monoclonal antibody against a 70-kDa putative adhesin of *Sporothrix schenckii* induces protection in murine sporotrichosis. **European Journal of Immunology**, 2008. No prelo.

ii) Artigos submetidos

1. SANTOS, G. S.; LOUREIRO, Y.; PENHA, C. V.; LIONE, V. O. F.; LOPES-BEZERRA, L. M.; SILVA-FILHO, F. C.; NAGAO, P. E. The in vitro interaction between group B Streptococcus and human umbilical vein endothelial cells induces tyrosine phosphorylation in both annexin V and glutathione S-transferase of host cells. **Microbiology**, 2008.
2. TEIXEIRA, P. A. C.; CASTRO, R. A.; LOUREIRO, Y.; PENHA, C. V.; PEREZ-TORRES, A.; LAZÉRA, M.; NASCIMENTO, R. C.; TRONCHIN, G.; DE ALMEIDA, S. R.; BOUCHARA, J. P.; LOPES-BEZERRA, L. M. A comparative study of the virulence of *Sporothrix schenckii* isolates and their surface adhesins for fibronectin. **Journal of Infectious Diseases**, 2008.

iii) Resumos Publicados em Jornais

Kubitschek-Barreira, P. H.; Loureiro y Penha, C. V.; Cardoso, J. L. N.; León I. R; Domont, G. B.; Lopes-Bezerra, L. M. Preliminary proteomic approach to study the cell wall components of the human pathogen *Sporothrix schenckii*. **Molecular and Cellular Proteomics** Vol. 5 (10) S-363, 2006.

iv) Apresentações em Congressos

1. SANTOS, G. S., SANTOS, C. S., LOUREIRO Y PENHA, C.V., LOPES-BEZERRA, L.M. Proteomic analysis of human endothelial cells In: XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica, 2008, Águas de Lindóia. **XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica**, 2008.
2. KUBITSCHKEK-BARREIRA, P.H, LOUREIRO Y PENHACV, SILVA, DS, CHAPEAUROUGEA, DOMONT G.B, LOPES-BEZERRA L.M. Comparison of extraction methods for the proteomic analysis of surface proteins of *Sporothrix schenckii*. In: **XXXVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, 2007.
3. CARLA-VERONICA LOUREIRO Y PENHA, GÉRALD LARCHER, JONAS PERALES, ILEANE RODRIGUEZ LEÓN, LEILA LOPES-BEZERRA AND JEAN-PHILIPPE BOUCHARA. Proteomic analysis of cytoplasmic extracts from a mutant of *Candida glabrata* and its parent strain. In: XVI Congress of International Society for Human and Animal Mycology (ISHAM). **Abstract book XVI Congress of International Society for Human and Animal Mycology**, Paris, 00044, 2006.
4. Kubitschek-Barreira, P. H.; Loureiro y Penha, C. V.; Cardoso, J. L. N.; León I. R; Domont, G. B.; Lopes-Bezerra, L. M. Preliminary proteomic approach to study the cell wall components of the human pathogen *Sporothrix schenckii*. In: Human Proteome Organisation (HUPO). **Anais Human Proteome Organisation**, 2006, California, (P-1368).
5. Loureiro y Penha, C. V., Kubitschek-Barreira, P. H., Larcher, G., Perales, J., Rodriguez León, I, Lopes-Bezerra, L. M and Bouchara, J. P. Proteomic analysis of cytoplasmic extracts from a mutant of *Candida glabrata* and its parent strain. In: XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. **Anais XXXV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, 2006, Águas de Lindóia, p. 93.
6. BARREIRA, Paula H. Kubtschek, PENHA, C. L., CARDOSO, Jorge Luiz N., Domont, G.B., Lopes-Bezerra, L. M. Study of the differential expression of cell wall proteins on the yeast-like phase and conidia of *Sporothrix schenckii* by a proteomic approach. In: XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. **Anais XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, 2005, Águas de Lindóia, p. 25.
7. PENHA, C. L., Kubitschek- Barreira, PH, CARDOSO, Jorge Luiz Do N., Léon, IR, Perales, J., BEZERRA, Leila M. Lopes. Identificação de Proteínas isoladas da Parede Celular do *Sporothrix schenckii* por Proteômica In: XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia. **Anais XXIII Congresso Brasileiro de Microbiologia** 2005, Santos, p. 67.

8. BARREIRA, Paula H. Kubtschek, PENHA, C. L., CARDOSO, Jorge Luiz, N, Domont, G.B. Lopes-Bezerra, L. M. Study of the differential expression of cell wall proteins on the yeast-like phase and conidia of *Sporothrix schenckii* by a proteomic approach. In: XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular. **Anais XXXIV Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular**, 2005, Águas de Lindóia, p.73.
9. Kubitschek-Barreira P, Cardoso J, Junqueira M, Santos MF, Domont G, Penha CVL, Lopes-Bezerra LM. Análise preliminar do perfil proteico de extratos isolados da parede celular de levedura e conídios do *Sporothrix schenckii*. **Anais IV Congresso Brasileiro de Micologia**, p. 95, 2004.
10. Kubitschek-Barreira P, Cardoso J, Junqueira M, Penha CVL, Domont G, Lopes-Bezerra LM. Study of the differential expression of cell wall proteins on the yeast-like phase and conidia of *Sporothrix schenckii*. **Anais da XXXIV Reunião da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular** (CD- Room). Trabalho Selecionado para Comunicação Oral (Programa SBBq 2005, p.25)

v) Projetos:

1. Projeto CNPq: "Análise Proteômica aplicada à Identificação de Adesinas e Fatores de Virulência do *Sporothrix schenckii* e *Aspergillus fumigatus*" – Edital Universal CNPq (proc 478018/04-5)
2. Projeto Faperj: "Análise Proteômica Aplicada À Identificação de Adesinas e Fatores de Virulência de Fungos de Importância Médica" – Faperj/Rede Proteômica (E-26/171.192/2004 e E-26/171.521/2004)
3. Projeto Faperj: "Rede de pesquisa em métodos moleculares para o diagnóstico de doenças crônicas degenerativas, infecciosas, parasitárias e neurodegenerativas", modalidade APQ1, processo E-26/171.557/2006
4. Projeto CNPq: "Apoio técnico para estudos envolvendo modelos de interação fungo-hospedeiro e aplicação de técnicas proteômicas na identificação de biomarcadores da parede celular de fungos", Edital 572005-AT, processo 503426/2005-9,
5. Projeto FINEP: "Genômica e Proteômica das Leucemias", Edital Rede GENOPROT 2007, processo 63347556 (convênio 01.07.0543.00)
6. Projeto Faperj: "Rede Proteômica de Rio de Janeiro / Pensa Rio", processo: E-26/110.344/2007

2) Eventos realizados:

I Fórum em Proteômica - Rede Proteômica do Rio de Janeiro - 1ª. Sessão em 11.07.2005

I Fórum em Proteômica - Rede Proteômica do Rio de Janeiro - 2ª. Sessão em 18.07.2005

II- Fórum da Rede Proteômica do Rio de Janeiro - Universidade Federal do Rio de Janeiro / Centro de Ciências da Saúde - 20 de Outubro de 2006

Projeto: "Implantação de Análise Proteômica no RS"

Coordenação: Augusto Schrank – Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Execução: Rede Proteoma do Rio Grande do Sul

A Rede Proteoma RS visa implantar a infra-estrutura e capacitar recursos humanos na área de Proteômica no RS. A Rede foi proposta por demanda do MCT e a SCT-RS determinou que a proposta fosse organizada e encaminhada pela FAPERGS. Em 2005 foi assinado um convênio UFRGS/FAPERGS/FINEP para a implantação da Rede que está formada por Laboratórios Centrais, com espectrometria de massas (laboratório nacional de Luz Sincrotron (LNLS-SP), IBI de Campinas e o laboratório de Química de Proteínas da USP-Ribeirão Preto), Laboratórios Associados, que possuem infra-estrutura de fracionamento e análise de proteínas e Laboratórios Usuários que colaboram na execução dos projetos. No final de 2007 o Centro de Biotecnologia (UFRGS) implantou também a infra-estrutura de espectrometria de massas financiada por projetos multi-usuários e está atendendo a alguns projetos da Rede Proteoma RS. A proposta da Rede Proteoma RS incorporou três linhas principais de pesquisas: (i) a análise proteômica da bactéria causadora da pneumonia suína *Mycoplasma hyopneumoniae*, que está sendo desenvolvida por cinco grupos de pesquisa; (ii) a análise proteômica de proteínas vegetais com ação inseticida, que está sendo desenvolvida por quatro grupos de pesquisa e (iii) a análise proteômica de proteínas da saliva de carrapato bovino, que está sendo desenvolvida por dois grupos de pesquisa. Os projetos têm foco em sistemas biológicos importantes na Agropecuária, pois é uma das principais atividades econômicas da Região Sul. (i) A bactéria *Mycoplasma hyopneumoniae* provoca a pneumonia enzoótica suína sendo muito contagiosa tornando os animais mais susceptíveis a outros agentes patogênicos e ainda causando perdas econômicas importantes na produção intensiva de suínos. O controle da infecção por *M. hyopneumoniae* em rebanhos suínos de granjas é fundamental para reduzir os custos de produção. As vacinas comerciais ou experimentais são baseadas em antígenos nativos da bactéria, entretanto, o número de proteínas antigênicas caracterizadas e disponíveis é restrito trazendo limitações para o imunodiagnóstico e para a vacinação. Os genomas de duas cepas de *M. hyopneumoniae* (uma patogênica e outra não patogênica) foram descritos pela Rede PROGENESUL em consórcio com o Projeto Genoma Brasileiro. Isso possibilitou esta abordagem proteômica complementar para identificar em grande escala proteínas expressadas por essas micoplasmas, uma etapa essencial para a caracterização de fatores de virulência e antígenos de valor diagnóstico ou vacinal. Realizamos um estudo proteômico prospectivo das cepas de *M. hyopneumoniae* que identificou 378 proteínas potencialmente antigênicas. Em 2008 iniciamos a análise de proteínas e superfície para identificar proteínas de membrana possivelmente antigênicas e/ou envolvidas em virulência. Participa neste projeto o CNPSA-EMBRAPA e colabora a Rede Proteoma de Santa Catarina. (ii) O surgimento das aplicações biotecnológicas na área vegetal abriu novas perspectivas de utilização de certas proteínas tóxicas como potentes bioinseticidas não poluidores, permitindo o desenvolvimento de plantas resistentes a fitopatógenos ou insetos fitófagos. As ureases do feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) apresentam diferentes graus de toxicidade em insetos como o percevejo de algodão e o caruncho do feijão-de-corda. Esta atividade é devida a peptídeos tóxicos gerados pela ação de proteinases do trato digestório de alguns destes insetos. Utilizamos uma abordagem proteômica, para a identificação da Canatoxina, uma isoforma de urease de *C. ensiformis*, e identificação do ponto de clivagem de peptídeos sintéticos que mimetizam a seqüência de urease. Assim foram caracterizadas enzimas proteolíticas de *D. peruvianus*, envolvidas na liberação do peptídeo tóxico. Também foram realizados estudos de identificação de algumas enzimas proteolíticas de *C. ensiformis*, onde dezesseis peptídeos tripticos, derivados de enzimas isoladas durante a germinação do feijão-deporco, foram identificados. (iii) O controle do carrapato bovino *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* continua a ser um grande desafio para a pecuária brasileira. Além da espoliação direta dos animais o carrapato é vetor dos agentes da tristeza parasitária bovina. O controle deste parasita é realizado fundamentalmente por acaricidas químicos que acarretam problemas na comercialização dos produtos e impacto ambiental. A busca de melhores antígenos é essencial para obter vacinas eficazes e adotamos a abordagem de inibir moléculas importantes para a hematofagia. Assim, a caracterização das proteínas salivares permitirá obtê-las por via recombinante. Saliva de carrapato foi digerida com tripsina e os fragmentos formados foram analisados por LC-MS/MS. Estes fragmentos

foram comparados com dados de seqüências de genes e de proteínas disponíveis em diversos bancos de dados. Foram identificadas na saliva cinco novas proteínas com provável participação nos mecanismos antihemostáticos que permitem a hematofagia. O trabalho prosseguirá procurando identificar novas proteínas e obter aquelas já identificadas para testes de imunoproteção.

Publicações:

1. ALARCON, F.; VASCONCELOS, A. T. R.; YIM L.; ZAHA, A. Genes involved in cell division in mycoplasmas. **Genetics and Molecular Biology** 30: 174-181, 2007.
2. BECKER-RITT, A. B.; MARTINELLI, A. H. S.; MITIDIERI, S.; FEDER, V.; WASSERMANN, G. E.; SANTI, L.; VAINSTEIN, M. H.; OLIVEIRA, J. T. A.; FIUZA L.M.; PASQUALI, G.; CARLINI, C. R. Antifungal Activity of Plant and Bacterial Ureasas. **Toxicon**, v. 50, p. 971-983, 2007.
3. BIZARRO, C.; SCHUCK, D. Purine and pyrimidine nucleotide metabolism in Mollicutes. **Genetics and Molecular Biology** 30: 190-201, 2007.
4. BROCCHI, M.; VASCONCELOS, A. T. R.; ZAHA, A. Restriction-modification systems in *Mycoplasma* spp. **Genetics and Molecular Biology** 30: 236-244, 2007.
5. CARLINI, C. R.; POLACCO, J. C. Toxic properties of ureasas. **Crop Science**, v. 48, p. 1665-1672, 2008.
6. CARVALHO, M. O.; FERREIRA, H. B. Quantitative determination of gene strand bias in prokaryotic genomes. **Genomics** 90: 733-740, 2007.
7. CASTRO, L. A.; PEDROSO, T. R.; KUSHIISHI, S. S.; RAMENZONI, M.; KICH, J. D.; ZAHA, A.; VAINSTEIN, M. H.; FERREIRA, H. B. Variable number of tandem aminoacid repeats in adhesion-related CDS products in *Mycoplasma hyopneumoniae* strains. **Veterinary Microbiology** 116: 258-269, 2006.
8. CIPRANDI, A.; OLIVEIRA, S. K.; MASUDA, A.; HORN, F.; TERMIGNONI, C. Boophilus microplus: Its saliva contains microphilin, a small thrombin inhibitor. **Experimental Parasitology**, v. 114, p. 40-46, 2006.
9. DEMARTINI D. R.; WLODAWER, A.; CARLINI, C. R. A comparative study of the expression of serine-proteinases in quiescent seeds and in developing *Canavalia ensiformis* plants. **Journal of Experimental Botany**, v. 58, p. 521-532, 2007.
10. ESTRELA, A.; SEIXAS, A.; TERMIGNONI, C. A cysteine endopeptidase from tick (*Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus*) larvae with vitellin digestion activity. **Comparative Biochemistry and Physiology. B, Biochemistry & Molecular Biology**, v. 148, p. 410-416, 2007.
11. FERREIRA, H. B.; CASTRO, L. A. A preliminary survey of *M. hyopneumoniae* virulence factors based on comparative genomic analysis. **Genetics and Molecular Biology** 30: 245-255, 2007.
12. FOLLMER, C.; CARLINI, C. R. Effects of chemical modification of histidines on the copper-induced oligomerization of jack bean urease (EC 3.5.1.5). **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 435, n. 1, p. 15-20, 2005.
13. LEAL, A. T.; SEIXAS, A.; POHL, P. C.; FERREIRA, C. A. S.; LOGULLO, C.; OLIVEIRA, P. L.; FARIAS, S. E.; TERMIGNONI, C.; VAZ JR, I. S.; MASUDA, A. Vaccination of bovines with recombinant *Boophilus* *Yolk* pro-Cathepsin. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 114, p. 341-345, 2006.
14. MENEGASSI, A.; WASSERMANN, G. E.; OLIVERA-SEVERO, D.; BECKER-RITT, A. B.; MARTINELLI, A. H. S.; FEDER, V.; CARLINI, C. R. Urease from cotton (*Gossypium hirsutum*) seeds: isolation, physico-chemical characterization and antifungal properties of the protein. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 56, p. 4399-4405, 2008.
15. MULINARI, F.; STANISÇUASKI, F.; BERTHOLDO-VARGAS, L. R.; POSTAL, M.; OLIVEIRANETO, O. B.; RIDGEN, D. J.; GROSSI-DE-SÁ, M. F.; CARLINI, C. R. Jaburetox-2Ec: an insecticidal peptide derived from an isoform of urease from the *Canavalia ensiformis* plant. **Peptides** (New York), v. 28, p. 2042-2050, 2007.
16. OLIVERA-SEVERO, D.; WASSERMANN, G. E.; CARLINI, C. R. *Bacillus pasteurii* urease shares with plant ureases the ability to induce aggregation of blood platelets. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 452, p. 149-155, 2006.
17. OLIVERA-SEVERO, D.; WASSERMANN, G. E.; CARLINI, C. R. Ureasas display biological effects independent of enzymatic activity. Is there a connection to diseases caused by urease-producing bacteria? **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 39, p. 851-861, 2006.
18. PINTO, P. M.; CHEMALE, G.; CASTRO, L. A.; COSTA, A. P. M.; KICH, J. D.; VAINSTEIN, M. H.; ZAHA, A.; FERREIRA, H. B. Proteomic survey of the pathogenic *Mycoplasma hyopneumoniae* strain 7448 and identification of novel post-translationally modified and antigenic proteins. **Veterinary Microbiology** 121: 83-93, 2007.
19. PINTO, P. M.; CARVALHO, M. O.; ALVES-JUNIOR, L.; BROCCHI, M.; SCHRANK, I. S. Molecular analysis of an Integrative Conjugative Element, ICEH, present in the chromosome of different strains of *Mycoplasma hyopneumoniae*. **Genetics and Molecular Biology** 30: 245-255, 2007.
20. PIOVESAN, A. R.; STANISÇUASKI, F.; MARCO-SALVADORI, J.; REAL-GUERRA, R.; DEFFERRARI, M. S.; CARLINI, C. R. Stage-specific gut proteinases of the cotton stainer bug *Dysdercus peruvianus*: Role in the Release of Entomotoxic Peptides from *Canavalia ensiformis* Urease. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 38, p. 1023-1032, 2008.
21. RAMOS, M. V.; FREITAS, C.D.T.; STANISÇUASKI, F.; SOUSA, D.P.; MACEDO, L.L.P.; SALES, M. P.; CARLINI, C. R. Performance of distinct crop pests reared on diets enriched with latex proteins from *Calotropis procera*: role of laticifer proteins in plant defense. **Plant Science** (Limerick), v. 173, p. 349-357, 2007.
22. RICCI, C. G.; PINTO, A. F. M.; BERGER, M.; TERMIGNONI, C. A thrombin inhibitor from the gut of *Boophilus microplus* ticks. **Experimental & Applied Acarology**, v. 42, p. 291-300, 2007.
23. SEIXAS, A.; LEAL, A.; NASCIMENTOSILVA, M.; MASUDA, A.; TERMIGNONI, C.; DASILVAVAZJR, I. Vaccine potential of a tick vitellin-degrading enzyme (VTDCE). **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 124, p. 332-340, 2008.
24. SOUZA, R. C.; ALMEIDA, D. F.; ZAHA, A.; MORAIS, D. A.; VASCONCELOS, A. T. R. In search of essentiality: Mollicutes-specific genes shared by twelve genomes. **Genetics and Molecular Biology** 30: 169-173, 2007.
25. STAATS, C. C.; BROETTO, L.; BOLDO, J. T.; VAINSTEIN, M. H.; SCHRANK, A. G. Comparative Analysis of Proteases, Oligopeptide Uptake and Secretion Systems in *Mycoplasma* spp. **Genetics and Molecular Biology** 30: 225-229, 2007.
26. STANISÇUASKI, F.; FERREIRA-DASILVA, C. T.; MULINARI, F.; PIRES-ALVES, M.; CARLINI, C. R. Insecticidal effects of canatoxin on the cotton stainer bug *Dysdercus peruvianus* (Hemiptera: Pyrrhocoridae). **Toxicon**, v. 45, n. 6, p. 753-760, 2005.
27. TOMAZETTO, G.; MULINARI, F.; STANISÇUASKI, F.; SETTEMBRINI, B. P.; CARLINI, C. R.; AYUB, M. A. Z. Expression kinetics and plasmid stability of recombinant *E. coli* encoding urease-derived peptide with bioinsecticide activity. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 41, p. 821-827, 2007.
28. VASCONCELOS, I. M.; MORAIS, J.K.S.; SIEBRA, E. A.; CARLINI, C. R.; SOUZA, D. O. B.; BELTRAMINI, L. M.; MELO, V. M.; OLIVEIRA, J. T. A. SBTX, a new toxic protein distinct from soyatoxin and other toxic soybean [*Glycine max*] proteins and its inhibitory effect on *Cercospora* *sojina* growth. **Toxicon**, v. 51, p. 952-963, 2008.

Projeto: "Rede de Proteoma do Estado de São Paulo"

Coordenação: Fabio C Gozzo – Laboratório Nacional de Luz Sincrotron

Execução: Rede de Proteoma de São Paulo

O projeto "Rede de Proteoma do Estado de São Paulo" teve início efetivo em novembro de 2007, quando algumas incompatibilidades de procedimentos entre as duas agências financiadoras do projeto foram resolvidas, tendo seu encerramento previsto para novembro de 2009. A rede reúne vários temas de pesquisa de interesse do Estado de São Paulo (plantas, patógenos, câncer humano, entre outros). Em novembro de 2007 foi organizada a primeira reunião com todos os coordenadores dos projetos constituintes da rede, onde foram discutidos o calendário, procedimentos técnicos, normas de uso dos laboratórios e apresentado o sistema eletrônico a ser utilizado para aquisição de bens e consumo com os recursos da rede. A rede é acompanhada por um Conselho formado pelos coordenadores dos laboratórios centrais da rede e por coordenadores de dois grupos da rede.

Entre os dias 3 e 6 de dezembro de 2007, foi organizado um curso de 42 horas para 36 usuários da rede, que cobriu os tópicos de teoria de análise proteômica, fundamentos de espectrometria de massas, interpretação de resultados e as abordagens experimentais mais recentes.

A partir de janeiro de 2008, foram iniciadas as aquisições de reagentes e materiais consumíveis necessários para a realização de experimentos pelos grupos integrantes. Também a partir de janeiro de 2008, os usuários iniciaram as visitas aos laboratórios centrais (que contam com os espectrômetros de massas da rede) para a realização das análises proteômicas.

De 1º de janeiro até o 1º de agosto de 2008, o servidor de análises proteômicas da rede registrou a execução de 10.260 análises nos bancos de dados de proteínas pelos grupos constituintes da rede.

Em julho de 2008 uma nova reunião com os coordenadores foi realizada para avaliação e discussões das atividades da rede.

Publicações e trabalhos aceitos

1. AM LEOPOLDINO, F CARREGARO, CH SILVA, O FEITOSA, UM MANCINI, JM FREITAS, EHTAJARA. "Sequence and transcriptional study of HNRPK pseudogenes, and expression and molecular modeling analysis of hnRNP K isoforms" **Genome**, 2007, 50, 451-62.
2. AB DE MARQUI, A VIDOTTO, GM POLACHINI, C DE M BELLATO, H CABRAL, AM LEOPOLDINO, JF DE GÓIS FILHO, EE FUKUYAMA, FA SETTANNI, PM CURY, GO BONILLA-RODRIGUEZ, MS PALMA, EH TAJARA. "Solubilization of proteins from human lymph node tissue and two-dimensional gel storage". **J Biochem Mol Biol**. 2006, 39, 216-22.
3. AM LEOPOLDINO, F CANDURI, H CABRAL, M JUNQUEIRA, AB DE MARQUI, LH APPONI, IO DA FONSECA, GB DOMONT, DS SANTOS, S VALENTINI, GO BONILLA-RODRIGUEZ, MA FOSSEY, WF DE AZEVEDO JR, EH TAJARA. "Expression, purification, and circular dichroism analysis of human CDK9". **Protein Expr Purif**. 2006 47, 614-20.
4. FC RODRIGUES-LISONI, DK MEHET, P PEITL JR, CD JOHN, WA DA SILVA JÚNIOR, E TAJARA, JC BUCKINGHAM, E SOLITO. "In vitro and in vivo studies on CCR10 regulation by Annexin A1". **FEBS Lett**. 2006 580, 1431-8. Epub 2006 Jan 31. Erratum in: **FEBS Lett**. 2006 Mar 20;580(7):1908. Mehemet, Devinder K [corrected to Mehet, Devinder K]; da Silva Júnior, Wilson Araújo [added].
5. H CABRAL, AM LEOPOLDINO, EH TAJARA, LJ GREENE, VM FAÇA, RP MATEUS, CR CERON, WA DE SOUZA JUDICE, L JULIANOD, GO BONILLA-RODRIGUEZ. "Preliminary functional characterization, cloning and primary sequence of Fastuosain, a cysteine peptidase isolated from fruits of Bromelia fastuosa". **Protein Pept Lett**. 2006 13, 83-9.
6. LP MORO, MT MURAKAMI, H CABRAL, A VIDOTTO, EH TAJARA, RK ARNI, L JULIANO, GO BONILLA-RODRIGUEZ. "Purification, biochemical and functional characterization of milliin, a new thiol-dependent serine protease isolated from the latex of Euphorbia milii". **Protein Pept Lett**. 2008, 15, 724-30.

7. FERNANDA M. CUNHA, DENISE A. BERTI, ZULMA S. FERREIRA, CLÉCIO F. KLITZKE, REGINA P. MARKUS AND EMER S. FERRO. "Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling", **J. Biol. Chem**. 2008, 283,24448-24459.
8. PAOLA A F CELEDON, , ALEXANDER ANDRADE, K.G.X. MEIRELES,, MAYRA C C G GALLO DE CARVALHO, D. G. G. CALDAS, D. H. MOON, RAPHAEL TOZELLI CARNEIRO, L. M. FRANCESCHINI, SHINITIRO ODA, C. A. LABATE. "Proteomic analysis of the cambial region in juvenile Eucalyptus grandis at three ages". **Proteomics**, 2007, 7, 2258-2274.
9. S VERJOVSKI-ALMEIDA, R DEMARCO. "Current developments on Schistosoma proteomics" **Acta Trop**, 2008, 108, 183-185.
10. ADRIANA F. PAES LEME, EDUARDO S. KITANO, MARIA F. FURTADO, PAULO L. HO, RICHARD H. VALENTE, ANTONIO C. M. CAMARGO, JAY W. FOX, SOLANGE M. T. SERRANO. "Analysis of the subproteomes of proteinases and heparin-binding toxins of eight Bothrops venoms". **Proteomics** 2008.
11. A SUSSULINI,. GHMF SOUZA, MN EBERLIN, MAZ ARRUDA. "Comparative metallomics for transgenic and non-transgenic soybeans". **Journal of Analytical Atomic Spectrometry**, 2007, 22, 1501-1506.
12. AK CALGAROTTO, DC DAMICO, LA PONCE-SOTO, PA BALDASSO, SL DA SILVA, GH SOUZA, MN EBERLIN, S MARANGONI. "Biological and biochemical characterization of new basic phospholipase A(2) BmTX-I isolated from Bothrops moojeni snake venom" **Toxicon**, 2008, 5, 1509-1519.
13. VL BONFIM, LA PONCE-SOTO, D MARTINS DE SOUZA, GHMF SOUZA, PA BALDASSO, MN EBERLIN AND S MARANGONI. "Structural and functional characterization of myotoxin, Cr-IV 1, a phospholipase A(2) D49 from the venom of the snake Calloselasma rhodostoma" **Biologicals**, 2008 36, 168-176.
14. JERUSA SIMONE GARCIA, GUSTAVO HENRIQUE MARTINS FERREIRA SOUZA, MARCOS NOGUEIRA EBERLIN, MARCO AURÉLIO ZEZI ARRUDA. "Evaluation of metal-ion stress in sunflower (Helianthus annuus L.) leaves through proteomic changes" **Metallomics** 2009
15. AMADEU H. IGLESIAS, LUIZ F.A. SANTOS, FABIO C. GOZZO. "Collision Induced Dissociation of Lys-Lys Intramolecular Cross-Linked Peptides" **J. Am. Soc. Mass Spectrom.**, 2009
16. FLA CARDOSO-MESTRINER, F SPILLER, HJ LAURE, FO SOUTO, BM TAVARES-MURTA, JC ROSA, A BASILE FILHO, SH FERREIRA, LJ GREENE, FQ CUNHA. "Acute-phase protein alpha -1-acid glycoprotein mediates neutrophil migration failure in sepsis by a nitric oxide-dependent mechanism" **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America** 2007, 104, 19595-19600

Manuscritos submetidos

1. FC Rodrigues-Lisoni, P Peitl, A Vidotto, GM Polachini, JV Maniglia, CF Souza, R Silistino-Souza, AS Damazo, SM Oliani. "Head and Neck Genome Project GENCAPO, Tajara EH. Genomics and proteomics approaches to the study of cancer-stroma interactions"
2. Denise A. Berti, Cain Morano, Fernanda M. Cunha, Clécio F. Klitzke, Emer S. Ferro and Lloyd D. Fricker. "Analysis of substrates and products of thimet oligopeptidase (EC 3.4.24.15) using a quantitative peptidomics approach".
3. Lilian C. Russo, Leandro M. Castro, Camila N. Goñi, Marc J. Glucksman, Cristoforo Scavone and Emer S. Ferro. "Positive modulation of EP24.15-stimulated secretion by calmodulin in hek293 cells"
4. R Caserta, M. A Takita, M. L.Targon, L. K Rosseli, A. P Souza, L Peroni, D. R Stach-Machado, A Andrade,.; C. A Labate, E. W Kitajima, M.A Machado, A. A Souza, "Expression of Xylella fastidiosa fimbrial and afimbrial proteins during the biofilm formation"

5. Karina Cogo, Alexander de Andrade, Carlos Alberto Labate, Reginaldo Bruno Gonçalves, Francisco Carlos Groppo "Proteomic evaluation of the effect of nicotine and cotinine on *Porphyromonas gingivalis*"
6. Alexander de Andrade, José Matheus Camargo Bonatto, Monica T. Labate, Fernanda Salvato, Eduardo L.O. Camargo, Luis Felipe Boaretto, Juliano Bragato and Carlos Alberto Labate "Changes in Proteome and Carbohydrates Composition in Response to Water Deficit in Roots of *Eucalyptus grandis*"
7. Ana K. Oliveira, Adriana F. Paes Leme, Marina T. Assakura, André Zelanis, Alexandre K. Tashima, Mônica Lopes-Ferreira, Carla Lima, Antonio C. M. Camargo, Jay W. Fox, Solange M.T. Serrano. "Simplified procedures for the isolation of HF3, bothropasin, disintegrin-like/cysteine rich protein and a novel P-I metalloproteinase from *Bothrops jararaca* venom"
8. Mirele Poleti, Andrea Tesch, Gustavo Henrique Martins Ferreira Souza, Jerusa Simone Garcia, Marcos Nogueira Eberlin, Marcelo de Cerqueira Cesar "Proteomic Approach for Determination of Relative Expression of Voltage-Dependent Anion Channel Isoforms in Rat, Bovine and Avian Brain Mitochondria"
9. Bruno M. Oliveira, Daniel Martins-de-Souza, José A. Silva, Paulo A. Baldasso, Jerusa S. Garcia, Marcos N. Eberlin, José C. Novello, Sérgio Marangoni "Purification and Biochemical Characterization of a new Trypsin inhibitor from *Lagenaria Vulgaris* Seeds"
10. Daniel Martins-de-Souza, Wagner F. Gattaz, Andrea Schmitt Giuseppina Maccarrone, Eva Hunyadi-Gulyás, Marcos N. Eberlin, Gustavo H. Souza, Sérgio Marangoni, José C. Novello, Christoph W. Turck, Emmanuel Dias-Neto "Proteomic analysis of dorsolateral prefrontal cortex indicates the involvement of cytoskeleton, oligodendrocyte, energy metabolism and new potential markers in schizophrenia"
11. Luiz F. A. Santos, Amadeu H. Iglesias, Fabio C. Gozzo "Fragmentation of Intermolecular Lys-Lys Cross-Linked Peptides generated by MALDI- and ESI-MS/MS for Structural Proteomics"
12. Luiz F. A. Santos, Amadeu H. Iglesias, Fabio C. Gozzo "Identification of Cross-Linked Peptides using High Resolution Precursor Ion Scanning and marker Ions"

Apresentação em Congressos

1. Marcadores de agressividade em tumores de cabeça e pescoço. Gregório SP, Silva AMA, Dinarte AR, Fortes CS, Vidotto A, Polachini GM, Silveira NJF, Rodrigues RV, Dias THG, Mancini UM, Canto AL, Ferraz A, Moreira-Filho CA, Lehn CN, Figueiredo DL, Góis-Filho JF, Serafini LN, Nobrega MP, Valentim PJ, Macareno R, Mamede RCM, Fukuyama EE, Nunes FD, Nobrega FG, Okamoto OK, Curioni OA, Cury PM, Wünsch-Filho V, Tajara EH, Dias-Neto E, Silva Jr WA, Carvalho MB, Michaluart Jr P, Zago MA Head and Neck Genome Project. **52º Congresso Brasileiro de Genética**, 3 a 6/09/06. Bourbon Cataratas Resort & Convention Center Foz do Iguaçu PR
2. Extração direta versus extração de proteínas após isolamento de RNA e DNA: qualidade dos géis de eletroforese 2. Polachini GM, Cury PM, Cabral H, Góis Fo JF, Fukuyama EE, Settanni FAP, Tajara EH. **52º Congresso Brasileiro de Genética**, 3 a 6/09/06. Bourbon Cataratas Resort & Convention Center Foz do Iguaçu PR
3. Proteomics in head neck cancer with invasive phenotype. Vidotto A.; Polachini, G.M.; Palma M.S., Head and Neck Genome Project/ GENCAPO, Tajara, E.H. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador, Bahia, 21 a 25 de maio de 2007
4. Investigation of stroma-tumor interaction in head and neck cancer. Rodrigues-Lisoni FC, Vidotto A, Polachini GM, Nunes FD, Dias F, Maniglia JV, Head and Neck Genome Project/GENCAPO, Tajara EH. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador, Bahia, 21 a 25 de maio de 2007
5. Identification of differentially expressed proteins in oral squamous cell carcinomas by proteomic analysis. Polachini, G.M., Vidotto, A., Kuramoto, A.C.K., Leopoldino, A.M., Palma, M.S., Kalil, J.,

Cunha-Neto, E., Head and Neck Genome Project/GENCAPO, Tajara, E.H. **XXXVI Reunião Anual da SBBq e 10th IUBMB Conference**, Salvador, Bahia, 21 a 25 de maio de 2007

6. Investigação da interação estroma-tumor em carcinomas de cabeça e pescoço. Rodrigues-Lisoni, FC; Vidotto, A; Polachini, GM; Maniglia, JV; Head and Neck Genome Project/GENCAPO; Tajara, EH. **53º Congresso Brasileiro de Genética**, Hotel Monte Real Resort, Águas de Lindóia-SP, 2 a 5 de setembro de 2007
7. Abordagem proteômica para o estudo do câncer. Eduardo B. Barbosa; Patrícia M. Cury; José V. Maniglia; Alessandra Vidotto; Giovana M. Polachini, Head and Neck Genome Project/GENCAPO, Eloiza H. Tajara. **XI Encontro Científico da FAMERP e IV CAIC**, 22 a 24 de outubro/2007, SJ Rio Preto
8. Investigation of stroma-tumor interaction in head and neck cancer. Carmona-Raphe J, Maniglia JV, GENCAPO Head and Neck Genome Project, Tajara EH, Rodrigues-Lisoni FC. **III Encontro de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP**, 20 a 22 de setembro de 2007.
9. Identification and validation of differentially expressed proteins in oral squamous cell carcinoma. Polachini, G. M.; Leopoldino, A. M.; Teixeira, A. P.; Vidotto, A.; Kuramoto, A. C. K.; Kalil, J.; Cunha-Neto, E.; Gencapo, G. C.; Tajara, E. H. **VIII São Paulo Research Conference Cancer 2007: da Biologia Molecular ao Tratamento**, São Paulo, 12 a 14 de novembro de 2007
10. Investigation of annexin a1 and stroma-tumor interaction in head and neck cancer. Carmona-Raphe J., Peitl P. Jr., Souza C.F., Maniglia J.V., Head and Neck Genome Project/GENCAPO, Tajara E.H., Rodrigues-Lisoni F.C. **VIII São Paulo Research Conference Cancer 2007: da Biologia Molecular ao Tratamento**, São Paulo, 12 a 14 de novembro de 2007
11. New marker in oral cancer and insights in regulation of PTEN phosphorylation. Andreia M Leopoldino, Cristiane H Squarize, Flavia A Matos, Eloiza HT Silva, GENCAPO, J. Silvio Gutkind. **AACR-NCI-EORTC International Conference on Molecular Targets and Cancer Therapeutics: Discovery, Biology, and Clinical Applications**, San Francisco, CA, Oct, 22-26, 2007
12. Annexin subcellular expression in laryngeal squamous cell carcinoma. Venancio A F Alves, Suely Nonogaki, Patrícia M. Cury, Victor Wunsch-Filho, Marcos B. de Carvalho, Pedro Michaluart, Jr., Raquel A. Moyses, Otávio A. Curioni, David L A Figueiredo, Cristovam Scapulatempo-Neto, Edwin R. Parra, Wilson A. da Silva, Jr., Francisco G. Nobrega, Eloiza H. Tajara, GENCAPO Head and Neck Genome Project, Marco A. Zago. **The Second Annual AACR International Conference on Molecular Diagnostic in Cancer Therapeutic Development**, Atlanta, Georgia, USA, September 17-20, 2007
13. Rodrigues-Lisoni, FC; Vidotto, A; Polachini, GM; Nunes, FD; Head and Neck Genome Project/ GENCAPO; Tajara, EH. Estudo da interação células nervosas-tumor em carcinoma adenóide cístico. **54º Congresso Brasileiro de Genética**, Hotel Monte Real Resort, Salvador, BA, 16-19 de setembro de 2008
14. Furlani, NG; Cunha, BR; Carmona-Raphe, J; Head and Neck Genome Project/GENCAPO, Rodrigues-Lisoni, FC; Tajara, EH. Investigação da interação linfócito-tumor em carcinomas de cabeça e pescoço. **54º Congresso Brasileiro de Genética**, Hotel Monte Real Resort, Salvador, BA, 16-19 de setembro de 2008
15. Vidotto A; Polachini, GM; Tajara, EH, Head and Neck Genome Project/GENCAPO. Proteomics as a tool for biomarker discovery in head and neck câncer. **54º Congresso Brasileiro de Genética**, Hotel Monte Real Resort, Salvador, BA, 16-19 de setembro de 2008
16. C-035 - SET PROTEIN IS OVEREXPRESSED IN HEAD AND NECK CANCER Polachini, G.M. (FAMERP); Leopoldino AM (USP-FCFRP); Gutkind, J.S. (NIH-NIDCR); GENCAPO (<http://ctc.fmrp.usp.br/ClinicalGenomics/cpl/>); Matos, F. A. (USP-FCFRP); Mercante, A.M.C. (HH) **XXXVII Reunião Anual da SBBq e XI Congresso da PABMB**, 17 a 20 de Maio de 2008 - Águas de Lindóia, São Paulo.

17. Andrade, A; Bonato, J.M; Salvato, F.; Boaretto, L.F.; Camargo, E.L.O.; Bragatto, J; Caldas, D. G. G.; Labate, C. A . Changes In Proteome And Cell Wall Composition In Response To Water Deficit In Roots Of Eucalyptus grandis. In: **Plant & Animal Genomes XVI Conference**, 2008, São Diego. Plant & Animal Genomes XVI Conference, 2008, São Diego-USA, 2008
18. Caldas, D. G. G.; Camargo, E.L.O.; Carvalho, M. C. C. G.; Moon, D. H.; Salvato, F.; Andrade, A; Labate, C. A. Proteomic Profile And The Identification Of Differentially Expressed Genes In Juvenile And Mature Trees Of Eucalyptus grandis. In: **Plant & Animal Genomes XVI Conference**, 2008, São Diego. Plant & Animal Genomes XVI Conference, 2008, São Diego-USA, 2008.
19. Labate, C. A.; Andrade, A; Bonatto, J. M; Boaretto, L.F.; Salvato, F.; Bragatto, J . Changes in proteome, soluble sugars and cell wall composition in roots of Eucalyptus grandis induced by water deficit. In: **Plant Biology 2008**, 2008, Mérida- Mexico. Plant Biology 2008
20. Salvato, F.; Camargo, E.L.O.; Bonato, J.M; Boaretto, L.F.; Andrade, A; Labate, C. A. Proteins differentially expressed in developing xylem of Eucalyptus grandis during tension wood formation. In: **American Society of Plant Biologists**, 2008, Merida. American Society of Plant Biologists - 2008, 2008.
21. Helio Miranda Costa Junior; Andrade, A; Labate, C. A.; Krieger, J. E.; Schechtman, D. cPKC isozyme specific substrates in murine embryonic stem cells. In: **Experimental Biology 2008**, 2008, San Diego. The FASEB Journal. San Diego- CA: The FASEB Journal, 2008. v. 22.
22. Stuart, R.; Andrade, A; Labate C.; Machado, M. Analysis of mycelial proteins from Alternaria alternata tangerine pathotype. In: XII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, 2008, Istanbul. XII International Congress of Bacteriology and Applied Microbiology, 2008.
23. Silva, Ms; Souza, Aa; Stuart, R.; Bonatto, J. M; Andrade, A; Labate, C. A; Machado, M. Análise proteômica do biofilme maduro de Xylella fastidiosa em comparação ao crescimento planctônico. In: **54º Congresso Brasileiro de Genética**, 2008, Salvador BA. Resumos do 54º Congresso Brasileiro de Genética 16 a 19 de setembro de 2008, 2008.
24. Cogo, C. H; Andrade, A; Labate, C. A; Bergamaschi, Cc; Goncalves, Rb; Groppo, Fc . Avaliação in vitro do efeito da nicotina e cotinina sobre a expressão de proteínas da Porphyromonas gingivalis W83. In: **Reunião Anual da SBPqO**, 2008, Aguas de Lindoia. Proceedings of the 25 SBPqO, 2008.
25. **XXIII Annual of the Brazilian Society of Protozoology, XXXIV Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease** – Águas de Lindóia – SP, October 27-29, 2008. "Comparative expression and post-translational modification of eIF5A during Trypanosoma cruzi growth".
26. Adriana F. Paes Leme, Marina T. Assakura, Antonio C.M. Camargo, Jay W. Fox, Solange M.T. Serrano. "Exploring the in vivo effects of snake venom metalloproteinases by proteomic approaches" **20. Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas**. 9 a 11/12/2007, Campinas, SP.
27. Solange M.T. Serrano, A.F. Paes-Leme, M.T. Assakura, A.C.M. Camargo, J.W. Fox. "Proteomic analysis of the in vivo effects of snake venom metalloproteinases" **Association of Biomolecular Resource Facilities Annual Meeting**, Salt Lake City, UT, USA, 9 a 12/02/2008.
28. Adriana F. Paes Leme, Marina T. Assakura, Antonio C.M. Camargo, Nicholas E. Sherman Jay W. Fox, Solange M.T. Serrano. "New Targets of Snake Venom Metalloproteinases Revealed by Proteomic Approaches" **HUPO Annual Meeting**, Amsterdam, Netherlands, 16 a 20/08/2008
29. Barbosa, H.S., Silva, M.A.O., Brandão, A.R., Sussulini, A., Gozzo, F.C., Arruda, M.A.Z., Comparative proteome analysis in transgenic and non-transgenic soybeans. **20 Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas**, 2007, Campinas, São Paulo.
30. Sussulini, A., Souza, G.H.M.F., Eberlin, M.N., Gozzo, F.C., Silva, M.A.O., Barbosa, H.S., Arruda, M.A.Z., Comparative metallomics: a study involving natural and transgenic soybeans. **35th Colloquium Spectroscopicum Internationale**, 2007, Xiamen, China.
31. Luiz Fernando A Santos, Amadeu H Iglesias, Fabio C Gozzo, Study of Fragmentation Pattern of Intramolecular Cross-Linked Peptides by ESI and MALDI-MS/MS, **55th ASMS Conference on Mass Spectrometry**, 2008, Denver, EUA
32. Fabio C Gozzo, Amadeu H Iglesias, Luiz Fernando A Santos, Use of Reporter Ion for the Identification of Cross-linked Peptides, **55th ASMS Conference on Mass Spectrometry**, 2008, Denver, EUA
33. Amadeu H Iglesias, Luiz Fernando A Santos, Fabio C Gozzo, Fragmentation Pattern of Intermolecular Cross-Linked Tryptic Peptides, **55th ASMS Conference on Mass Spectrometry**, 2008, Denver, EUA
34. Otake AH, Godoy L, Tortelli Júnior TC, De-Souza GA, Schwarz N, Sabino AA, Eberlin MN, Rosa JC, Chammas R, Greene LJ. Accumulation of prohibitin and nucleophosmin in distinct subnuclear compartments are associated with melanoma cell resistance to cisplatin. **Proceedings of the 99th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research**, San Diego, California, USA. Abstract 3213. Apr 12-16, 2008
35. Ferreira FR, Joca SR, Santos AR, WA Silva Jr, Catalán AM, Greene LJ, Guimarães FS. Effects of nitric oxide synthase inhibition on genomic and proteomic screening of the hippocampus of rats submitted to the forced swimming test. **10th Annual Genes, Brain & Behavior Meeting of the International Behavioural and Neural Genetics Society**, Portland, Oregon, USA. May 5-9, 2008
36. Miranda HC, Gomes GG, Tomazella GG, Thomé CH, Orellana MD, Covas DT, Costa Jr HM, Schechtman D, Greene LJ. Establishment of an efficient protein extraction protocol of mesenchymal stem cells isolated from umbilical cord vein for further proteome analysis. **XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq) e XI Reunião da Panamerican Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB)**, de 17 a 20 de maio de 2008, Águas de Lindóia, SP, Brasil. Resumo B-27.
37. Ferreira GA, Thomé CH, Catalán AMC, Garcia JS, Souza GHMF, Eberlin MN, Rosa JC, Greene LJ. Initial analysis of mantle cell lymphoma using the proteomic approach. **XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq) e XI Reunião da Panamerican Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB)**, de 17 a 20 de maio de 2008, Águas de Lindóia, SP, Brasil. Resumo W-50.
38. Catalán AMC, Ferreira FR, Joca SR, Greene LJ, Guimarães FS. Recovery of protein after RNA extraction from rat hippocampus. **XXXVII Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Bioquímica e Biologia Molecular (SBBq) e XI Reunião da Panamerican Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB)**, de 17 a 20 de maio de 2008, Águas de Lindóia, SP, Brasil. Resumo W-63.
39. Amadeu Hoshi Iglesias, Fábio Cesar Gozzo, Mapping Tif34/Tif35 Interaction Domain Using Mass Spectrometry, **2nd BrMASS**, Campinas 2007
40. Caroline A. Juliato, Fábio C Gozzo, Development of Bioinformatic Tools for Cross-Linking Experiments Coupled to Mass Spectrometry, **2nd BrMASS**, Campinas 2007
41. Alana R Figueiredo e Fabio C. Gozzo, Molecular Dynamics of Cross-linkers to Study Spatial Constraints Obtained from Cross-linking Experiments, **2nd BrMASS**, Campinas 2007
42. Amadeu Hoshi Iglesias, Fábio Cesar Gozzo, Cross-Linking and UPLC/MS/MS analysis of the Tif34/Tif35 Protein Complex, **55th ASMS Conference**, Indianapolis, EUA

Seminários and apresentações orais

1. "Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling". The Netherlands Cancer Institute, Amsterdam, The Netherlands, Hosted by Professor Jacques Nefeejs, 2/12/2008
2. "Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling". Tokyo Institute of Technology, Tokyo, Japan, Hosted by Professors Shigeru Hirose and Akira Kato, 14/11/2008

3. "Intracellular peptides as natural regulators of cell signaling". Technion Institute of Technology, Hosted by Professor Michael Glickman, 10/08/2008
4. "Novas revelações sobre a intimidade celular". Biochemistry Department, Chemistry Institute, University of São Paulo, São Paulo, Brazil, 23/10/2008
5. "Novas revelações sobre a biologia celular". Cell Biology and Development, Biomedicas Sciences Institute, University of São Paulo, São Paulo, Brazil, 28/08/2008
6. The Third Wave? 20 Congresso Brasileiro de Espectrometria de Massas, 2007, Campinas, São Paulo.
7. "Footprinting coupled to UPLC/MS/MS to map the interaction surface between Tif34 and HisTif35 proteins", 54th ASMS Conference, Indianapolis, EUA

Prêmios

1. Solange M.T. Serrano, A.F. Paes-Leme, M.T. Assakura, A.C.M. Camargo, J.W. 2008 ThermoElectron ABRF Outstanding Scientist/Technologists Award
2. Adriana F. Paes Leme 2008, HUPO Young Investigator Award.
3. Marco Aurélio Zezzi Arruda, 2007, CSI Excellent Poster Award, Colloquium Spectroscopicum Internationale XXXV. Xiamen, China
4. Luiz Fernando Arruda Santos, Amadeu Hoshi Iglesias, Fabio Cesar Gozzo, 2007, Best Poster Award, 2nd BrMASS, Campinas.

Projeto: "Fixação biológica de nitrogênio – cana-de-açúcar e *Gluconacetobacter diazotrophicus*"

Coordenação: José Ivo Baldani

Instituições envolvidas: Embrapa Agrobiologia, UFRJ, Fiocruz e UENF.

Objetivo: o objetivo geral do projeto é utilizar ferramentas de genômicas e proteômicas para a bioprospecção de genes de cana-de-açúcar e da bactéria *Gluconacetobacter diazotrophicus*, que atuam controlando o estabelecimento de uma associação benéfica eficiente entre gramíneas e bactérias diazotróficas endofíticas. Visa ainda consolidar o conhecimento gerado pelos dados de genoma e proteoma da *G. diazotrophicus*, além de possibilitar a ampliação do conhecimento para outras gramíneas e bactérias diazotróficas endofíticas. Como produto final espera-se identificar fatores relacionados com a interação planta-bactéria e desenvolver insumo biológico visando a geração de tecnologias e processos para aplicação no agronegócio brasileiro;

Resultados esperados:

- Definir o modelo da interação entre a cana-de-açúcar e a bactérias endofítica *G. diazotrophicus* visando otimizar os efeitos da inoculação da bactéria no desenvolvimento da planta;
- Caracterizar o processo de fixação biológica de nitrogênio em plantas não leguminosas com especial ênfase em cana-de-açúcar;
- Caracterizar as vias mais importantes de sinalização envolvidas na associação entre cana-de-açúcar e *G. diazotrophicus*, através do estudo de expressão e função gênica envolvidos nesta interação;
- Utilização do conhecimento gerado na interação *G. diazotrophicus* – cana-de-açúcar para identificar fatores genéticos que regulem a eficiência deste tipo de associação em diferentes espécies;
- Ampliar o conhecimento dos fatores genéticos envolvidos nas interações planta-microrganismos, de forma a otimizar os aspectos benéficos dessas interações;
- Identificar novos genes com funções estratégicas para aplicação na agricultura tropical, agregando valor a produtos e processos associados a cultura de cana-de-açúcar;
- Identificar através de estudos de proteômica produtos/funções associados a ORFs de função desconhecida em *G. diazotrophicus*;

- Determinar a estrutura genômica de *G. diazotrophicus* e de outras espécies do gênero através de hibridização de genomas utilizando a técnica de microarranjos;
- Desenvolvimento de biofertilizantes e/ou bioestimuladores, baseados em bactérias diazotróficas endofíticas para aumento da produtividade agrícola e garantia da sustentabilidade do setor sucroalcooleiro;
- Maximizar os benefícios da interação da cana-de-açúcar e *G. diazotrophicus* através do uso de plantas de cana-de-açúcar geneticamente modificadas em genes importantes para a associação;
- Patentear produtos tecnológicos desenvolvidos a partir de novos gene/funções importantes para o desenvolvimento de estratégias para o aumento de produtividade do agronegócio;
- Formar recursos humanos na área de biotecnologia em nível de graduação, pós-graduação e treinamento de profissionais.

Projeto: "Aplicação e estudos moleculares do agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*-TRI-PROGEN"

Coordenação: Cirano José Ulhoa – Universidade Federal de Goiás

Avanços significativos em estudos de controle biológico de patógenos de solo têm sido obtidos por instituições como a Embrapa Arroz e Feijão, Universidade Federal de Goiás (UFG) e a Universidade Católica de Brasília (UCB), em estudos que abrangem não somente experimentos de campo, mas também o uso de métodos moleculares para a caracterização de antagonistas e identificação de proteínas e genes envolvidos durante a interação patógenos hospedeiro. Dentre os trabalhos realizados por estes grupos destacam-se aqueles utilizando fungos do gênero *Trichoderma*. Estes fungos possuem um grande potencial de controle biológico de fitopatogênicos de solo como *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Marcophomina phaseolina* e *Sclerotinia sclerotiorum*, causadores de perdas na produção de culturas suscetíveis cultivadas nos Cerrados e outras regiões do Brasil. Perdas significativas da produção do feijoeiro, causadas por patógenos de solo, têm estimulado a demanda por métodos eficientes de controle de doenças.

Trichoderma spp., podem controlar o crescimento de fitopatógenos através de mecanismos que envolvem micoparasitismo, antibiose e competição por nutrientes. Além disto, algumas espécies possuem a capacidade de produzir substâncias que podem promover o crescimento e resistência em plantas. Considerando que estes fungos possuem um grande potencial para a aplicação em controle biológico de patógeno de feijoeiro, estamos propondo neste projeto: 1) avaliar a diversidade de *Trichoderma* spp., para o controle de patógenos de feijoeiro habitantes do solo; 2) estudar a nível molecular os mecanismos de interação entre *Trichoderma* spp., e alguns patógenos; 3) estudar o proteoma da interação *Trichoderma* spp/patógeno/feijoeiro (*Phaseolus vulgaris*). Para tanto, técnicas de identificação de proteínas e genes diferencialmente expressos serão utilizadas.

Equipe:

- Cirano José Ulhoa (coordenador)
- Alexandre Siqueira G. Coelho (pesquisador - UFG)
- Betania Ferraz Quirino (pesquisadora - UCG)
- Claudia Cristina M. G. Didonet (pesquisadora – UEG)
- Eliane Ferreira Noronha (pesquisadora - UCB)
- Luis Artur Mendes Bataus (pesquisador - UFG)
- Murillo Lobo Junior (pesquisador – Embrapa -CNPAP)
- Octávio Luiz Franco (pesquisador - UCG)
- Silvana Petrofeza da Silva (pesquisadora - UFG)
- Valdirene Neves Monteiro (pesquisador - UEG)

Publicações

1. Apresentação oral do trabalho "Produção de beta-1,3-glucanases por isolados de *Trichoderma* spp., em presença de parede celular de *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*". Autores: Trabalho apresentado pelo Prof. Cirano José Ulhoa. XI SINCOBIOL - **Simpósio de controle biológico. Bento Gonçalves (RS)** Período 01 a 05 de junho de 2009
2. Participação do Prof. Cirano José Ulhoa na mesa redonda "Controle biológico de microrganismos fitopatogênicos" com a palestra "Aspectos bioquímicos e moleculares da interação entre agente de controle biológico *Trichoderma* spp., e fitopatógenos. XI SINCOBIOL - **Simpósio de controle biológico. Bento Gonçalves (RS)** Período 01 a 05 de junho de 2009
3. Apresentação na forma de pôster: Lopes F.A.C., Rodrigues A.R., Junior M.L., Ulhoa C.J. Produção de Enzimas hidrolíticas por isolados de *Trichoderma* spp., na presença de parede celular de *Fusarium solani*. **IV Reunião Regional da FESBE, Goiânia (Go)**. Período 4 a 6 de junho 2009. FESBE 2009.

Projeto: "Caracterização Fisiológica e Molecular da Resposta à Seca em Cana-de-Açúcar"

Coordenador: Marcelo Menossi - Universidade Estadual de Campinas

Dentre os diversos estresses que afetam a produtividade agrícola, a resposta à seca ocupa uma posição central como o fator mais limitante ao crescimento das plantas, afetando principalmente pequenos produtores, que não têm acesso às tecnologias de irrigação.

O projeto é uma colaboração entre seis Universidades públicas (UFAL, UFPE, UFRPE, UFSCAR, USP e UNICAMP) e visa integrar competências na área de fisiologia, genética e melhoramento clássico, de forma a entender a fisiologia e a base genética da tolerância à seca em cana-de-açúcar com vistas à produção de plantas mais tolerantes.

Um dos objetivos é o estudo dos mecanismos fisiológicos que permitem o escape, a tolerância ou evasão à seca. Para tal experimentos de campo em várias localidades brasileiras serão realizados e vários descritores fisiológicos serão utilizados.

Um segundo objetivo será a caracterização da base genética da tolerância à seca será avaliada com o uso de chips para identificar alterações no transcrito e microtranscrito. Um catálogo de genes de interesse biotecnológico será produzido.

O terceiro objetivo tem como base uma estratégia de estudo do proteoma, que permitirá a identificação de proteínas que estão associadas à tolerância à seca. Um catálogo de proteínas de interesse biotecnológico será produzido, ampliando a abrangência do catálogo de genes.

Em paralelo temos o objetivo da formação de alunos de Iniciação Científica, Mestrado, Doutorado e Pós-Doutorado, contribuindo para alavancar a pesquisa em cana-de-açúcar.

A partir das informações geradas espera-se que sejam depositadas patentes. Dada a carência de formação de pessoal na área de propriedade intelectual em biotecnologia, consideramos que este também é um ponto forte dos objetivos do projeto.

Projeto: "Descoberta de Genes de Resistência na Interação entre *Musa acuminata* e *Mycosphaerella fijiensis*"

Coordenação: Robert Neil Gerard Miller – Universidade Católica de Brasília

A banana é a quarta "commodity" mais importante em termos de produção, com cultivo em mais de 120 países tropicais e subtropicais, e uma produção anual global de aproximadamente 100 milhões de toneladas. No entanto, o melhoramento genético da cultura tem sido limitado, com avanços alcançados apenas na última década. A banana tem suas espécies cultivadas oriundas de espécies selvagens diplóide, triplóide e tetraplóide de *M. acuminata* (genoma A) e *M. balbisiana* (genoma B), com a maioria das cultivares comerciais triplóides estéreis, com frutos sem semente desenvolvidos por partenocarpia e propagação vegetativa assexuada. A estreita base genética implica em uma acentuada suscetibilidade a pragas e doenças, o que causa danos significativos de produtividade na cultura bananeira.

De todas as doenças afetando a produção de *Musa* no Brasil, o maior impacto é atribuído aos fungos fitopatogênicos, em particular do gênero *Mycosphaerella*, organismos causadores de Sigatoka negra e amarela. Considerando as dificuldades para melhoristas de *Musa*, a genômica pode ser utilizada para o descobrimento de genes de resistência a estresses bióticos. Dando continuidade aos trabalhos realizados pelo grupo de pesquisadores, mais genes potencialmente envolvidos em resistência a estresse biótico em *Musa* serão identificados neste projeto através de sequenciamento de cDNA e análogos de genes de resistência (RGAs), com mapeamento físico e sequenciamento de clones de BAC ("Bacterial Artificial Chromosome") de *Musa*. Em paralelo, o desenvolvimento de marcadores gênicos terá uso subsequente em construção de mapas de ligação e seleção assistida por marcadores, de benefício considerável para os programas de melhoramento em *Musa* para a geração de novos genótipos resistentes. Validação de marcadores genéticos será conduzida em parentais de populações segregando para resistência a estresses bióticos. Considerando que a banana é cultivada em todo o país, avanços no melhoramento podem trazer benefícios para o pequeno produtor e para o consumidor final, mitigando as perdas de produtividade e utilização exacerbada de agrotóxicos.

O sequenciamento genômico dos fungos *M. graminicola* e *M. fijiensis* contribui para o entendimento dos processos envolvidos na patogenicidade e na resistência e trará grandes contribuições para a comparação dos fungos patogênicos do gênero *Mycosphaerella*. As sequências representativas serão anotadas para o reconhecimento dos que são relacionadas à patogenicidade e à comunicação celular, como Rho GDP, canais de água (aquaporinas), enzimas da síntese de açúcar (Endoglucanase) e enzimas da via de glioxalato.

A interface multidisciplinar entre a genômica e a biotecnologia aplicada ao melhoramento genético, dentro de uma rede única de pesquisa, constitui o presente projeto MusaGeneBR2. O conjunto de dados produzidos permite a busca por seqüências com potencial para o agronegócio brasileiro (genes de resistência e seqüências promotoras de expressão), bem como viabilizara a produção de ferramentas de análise de função gênica e expressão diferencial de genes.

Atualmente o DATAMusa está em fase de ampliação de conteúdo e acessibilidade. No momento contamos com seqüências de transcriptoma de três espécies de *Musa* e de 5 clones BAC de *Musa acuminata*, além dos RGAs da mesma espécie.

Publicações

Artigos submetidos para publicação

1. Marco A. N. Passos, Georgios J. Pappas Júnior, Flavia L. Emediato, Manoel T. Souza Jr., Natalia F. Martins, Marcos Mota do Carmo Costa, Edson P. Amorim, Franc C. Baurens, Pietro Piffanelli, Ana Y. Ciampi, Robert N.G. Miller, Roberto Togawa. An analysis of expressed sequence tags in the *Musa acuminata* and *Mycosphaerella fijiensis* interaction for candidate gene discovery and marker development.
2. Robert NG Miller, Marco AN Passos, Natalia NP Menezes, Edson P Amorim, Marcos M do Carmo Costa, Georgios J Pappas Júnior, Ana Y. Ciampi. Characterization of novel microsatellite markers in *Musa acuminata* subsp. *burmannicoides*, var. *Calcutta 4*.

Artigos completos publicados em periódicos:

1. MILLER, R. N. G.; BERTIOLI, D. J.; BAURENS, F. C.; QUIRINO, B. A. F.; CIAMPI, A. Y.; SANTOS, C. M. R.; MARTINS, N. F.; SOUZA, M. T. JR.; PAPPAS, G. J. JR. Understanding Plant Responses to Biotic Stress: Ongoing Research in Musa. **Acta Horticulturae**. 2009. No prelo.
2. MILLER, R. N. G.; BERTIOLI, D. J.; BAURENS, F. C.; SANTOS, C. M.; ALVES, P. C.; MARTINS, N. F.; TOGAWA, R. C.; SOUZA JUNIOR, M. T.; PAPPAS, G. J. JR. Analysis of non-TIR NBS-LRR resistance gene analogs in Musa acuminata Colla: Isolation, RFLP marker development, and physical mapping. **BMC Plant Biology**. 8:15, 2008.

Projeto: “Genética e Proteômica do Carcinoma de Células Escamosas de Orofaringe”

Coordenação: Carmen Silvia Passos Lima - Universidade Estadual de Campinas

O projeto é constituído por três estudos distintos “Identificação de Genes de Susceptibilidade para o Carcinoma de Células Escamosas de Orofaringe por Genotipagem em Larga Escala”, “Polimorfismos dos Genes Codificadores da Il-1, Il-6 e Fator de Necrose Tumoral na Ocorrência e Gravidade da Mucosite Oral Atribuída ao Tratamento em Pacientes com Carcinoma de Células Escamosas de Cavidade Oral” e “Análise de Proteoma no Carcinoma de Células Escamosas de Orofaringe” e conta com a colaboração de pesquisadores de três centros “Universidade Estadual de Campinas”, o “Hospital Geral de Bonsucesso” do Rio de Janeiro e a “Universidade de Cuiabá”.

Pretende-se avaliar pacientes com carcinoma de células escamosas (CEC) de orofaringe e indivíduos saudáveis das diferentes regiões, tendo como principais objetivos:

1. Contribuir para o conhecimento da fisiopatologia do CEC de orofaringe, bem como de complicações associadas à terapêutica da doença;
2. Identificar polimorfismos gênicos envolvidos em processos relevantes para a carcinogênese do CEC de orofaringe, como o metabolismo de agentes químicos, o reparo de DNA, a angiogênese, a apoptose e a proliferação celular. Desta forma esperamos identificar grupos de indivíduos que herdaram de seus ancestrais um alto risco para a ocorrência da doença. Esses indivíduos deverão receber orientações adicionais para evitar contatos com carcinógenos e avaliações repetidas da cavidade oral para a prevenção ou o diagnóstico precoce desse tumor de alta prevalência em países em desenvolvimento.
3. Identificar polimorfismos gênicos envolvidos com a síntese de interleucinas e do fator de necrose tumoral e da mucosite oral após o tratamento com quimioterapia e radioterapia e, dessa forma, identificar indivíduos de alto risco para tal ocorrência, que mereçam receber tratamento adicional de suporte.
4. Identificar proteínas anormais na doença que possam servir como alvos para futuras terapêuticas.

Projeto: “Genômica e Proteômica de Leucemias”

Coordenação: Dr. Hector Seunez – Instituto Nacional do Câncer

A proposta em questão é composta de dois subprojetos cujos resultados estão descritos abaixo:

SUBPROJETO 1 – Ferramentas genômicas e proteômicas na identificação de biomarcadores de prognóstico e preditivos da resposta terapêutica nas LMAs primárias.

Neste trabalho foram inicialmente coletadas 122 amostras de medula óssea das quais foram selecionadas 82 amostras para análise proteômica de onde foi possível definir o perfil proteômico de Células Mononucleares de Medula Óssea de pacientes com LMA.

O perfil proteico de Células Mononucleares de Medula Óssea de pacientes diagnosticados com LMA na janela analisada através da tecnologia proteômica aplicada, é composto de 247 proteínas com as mais diversas funções celulares, além do metabolismo basal, proteínas oncogênicas, fatores de transcrição e proteínas anti-apoptóticas.

A partir da comparação do perfil proteômico da LMA com o perfil proteômico de Células Mononucleares de Medula Óssea de doadores saudáveis voluntários ao transplante foi possível definir um grupo de 61 proteínas identificadas apenas na LMA e ausentes em doadores saudáveis. Dentre elas estão proteínas conhecidamente alteradas na LMA, como a Nucleofosmina, e novas proteínas implicadas na doença, como a RUNDC1.

Após comparação com o perfil proteômico de Células Mononucleares de Medula Óssea de pacientes com LMC na fase blástica foi possível excluir 27 proteínas que estavam relacionadas com leucemias mielóides e não com a LMA especificamente, restando 34 proteínas putativas relacionadas com a LMA, representando possíveis biomarcadores.

Dando continuidade a esta análise mais 120 amostras de pacientes com LMA foram analisadas, totalizando 222 amostras. A comparação de todos os perfis obtidos por subtipo da doença definiu biomarcadores da LMA e permitiu definir 5 que apresentam relação com o subtipo FAB M1, que estavam presentes em todas as amostras deste subtipo e ausentes nos demais subtipos. Da mesma forma foram identificados 4 biomarcadores de M2, 6 biomarcadores de M3, 3 biomarcadores de M4, 5 biomarcadores de M5. Ainda não foram definidos biomarcadores dos subtipos M6 e M7 devido ao pequeno número de amostras destes subtipos.

Para a validação dos possíveis biomarcadores RUNDC1, *WD repeat*, Proteína tumoral D52, e azurocidina e os outros foi realizada a confirmação da expressão destas proteínas em uma amostragem de cerca de 20 casos de cada subtipo através de western-blot quando havia disponibilidade de anticorpo ou por RT-PCR em tempo real. Todos os biomarcadores propostos foram confirmados.

A fase seguinte consistiu em comparar perfis proteicos obtidos de pacientes com o mesmo subtipo da doença mais que apresentavam alterações cromossômicas não randômicas ou tinham cariótipo normal. Até o momento foi possível realizar esta análise para as seguintes translocações: t(9;11), Del 11q23, t(15;17), t(15;17) +8, cariótipo complexo. Com estas análises foi possível definir proteínas biomarcadoras de cada alteração cromossômica além de seu rearranjo já conhecido.

Esta mesma análise permitiu a identificação de uma série de modificações nos perfis proteicos das amostras de alguns subtipos morfológicos (M4 e M5) que apresentam cariótipo normal. Estes achados são importantes já que podem definir o prognóstico nestes casos.

Algumas destas proteínas estão no momento sendo estudadas para seu papel na leucemogênese utilizando técnicas de biologia molecular como análises de expressão por RT-PCR em tempo real, superexpressão em linhagens celulares hematopoéticas, nocaute por RNA interferência, análise de promotor por EMSA e espectrometria de massas.

No momento estamos também iniciando a análise destas amostras utilizando a técnica de LC-MS/MS que irá permitir a identificação de um perfil com muito mais proteínas podendo então aumentar o número de biomarcadores já identificados.

Todos os biomarcadores já validados estão sendo trabalhados para a construção de uma plataforma simples de diagnóstico (chip) que será montada no LIKA-UFPE.

SUBPROJETO 2 – Estudos Genômicos e Proteômicos em LMC.

Dando continuidade a nossos estudos em LMC comparamos os perfis proteômicos de pacientes em fase blástica com os perfis de pacientes na fase crônica. Nesta análise 42 proteínas diferencialmente expressas foram identificadas entre elas NuMA e gelsolin.

NuMA, proteína necessária a formação do fuso acromático mostrou que pode ser utilizada como marcador da doença, da evolução para a fase blástica e como marcador de resistência. As modificações pós-tradução dessa molécula estão sendo investigadas.

Comparamos também os perfis proteômicos de pacientes sensíveis ao mesilato de imatinibe e os pacientes resistentes ao mesmo medicamento e encontramos um novo marcador de resistência, o gene *suppressor of hairy wing*.

Também realizamos uma comparação da atividade transcricional entre amostras de pacientes quando na fase crônica e após sua evolução para a fase blástica e identificamos a super expressão do gene SUZ12 (um membro do complexo Polycomb) na evolução da doença.

Esta super expressão de SUZ12 foi confirmada em grande número de amostras de pacientes tanto em células mononucleares quanto CD34+, a nível de RNA e de proteína.

A análise do promotor do gene SUZ12 por EMSA e Supershift mostrou que diferentemente de outros cânceres, em LMC o gene não é ativado por beta-catenina.

A análise das proteínas do complexo formado no promotor de SUZ12 identificou delta-catenina e membros da via não canônica de WNT como WNT5a e WNT11 indicando que a via não canônica está ativando a expressão do gene.

Estes resultados foram confirmados por imunohistoquímica, imunofluorescência, supershift e RNAi para WNT1/WNT5a/WNT11.

Por outro lado o nocaute de SUZ12 em células K562 levou a uma melhor diferenciação mielóide medido pela expressão de marcadores de superfície.

Os dados da superexpressão de SUZ12, sua causa e consequência foram reunidos no manuscrito **“SuZ12 is a candidate target of the non-canonical WNT pathway in the progression of Chronic Myeloid Leukemia”** aceito para publicação no *Genes, Chromosomes & Cancer*.

As análises proteômicas realizadas nas várias fases da doença e em pacientes sensíveis e resistentes ao tratamento permitiu identificar um número muito maior de proteínas e vias de sinalização que interagem ou dependem da presença da proteína BCR-ABL. Nesta análise ficou claro que uma destas vias é a que depende da sinalização por STAT. Estudos do status desta proteína e da expressão de seus alvos mostraram que STAT 3 pode ser ativado por BCR-ABL independentemente de sua via de sinalização normal por interleucinas e fatores de crescimento via JAK. Este dado indicou que seria possível que pacientes resistentes ao mesilato de imatinib estivessem sendo estimulados diretamente por STAT 3. Desta forma foi estudada também a inibição da via de STAT 3 concomitante ao tratamento com mesilato de imatinibe em linhagens resistentes. Os dados mostraram que a inibição de dimerização de STAT3 pode colaborar com o mesilato de imatinib aumentando a probabilidade de apoptose das células BCR-ABL positivas. Estes dados foram aceitos para publicação no *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* no trabalho **“LL-3, a STAT3 inhibitor, represses BCR-ABL positive cell proliferation, activates apoptosis and improves the effect of Imatinib mesylate”**

Também foram iniciados os trabalhos de modelagem molecular de alguns dos biomarcadores identificados. Uma das proteínas biomarcadoras identificada na comparação entre pacientes na fase crônica e doadores saudáveis que nos pareceu de grande importância foi a proteína MM-1 que é uma moduladora de c-myc. Esta proteína pode se apresentar em várias isoformas que dependem de splicing alternativos. Esta proteína é expressa em doadores e sua expressão é perdida nos pacientes. Verificamos então qual isoforma era perdida e quais estavam presentes tanto em pacientes como em doadores. Várias das isoformas se mostraram presentes em ambas as amostras mas com distintas modificações pós-tradução. Por outro lado a isoforma completa descrita como a mais importante na modulação de c-myc foi identificada como a que é inibida em sua expressão na doença.

Para iniciar os estudos de interação desta proteína e suas isoformas foram criados modelos por modelagem molecular por homologia das várias isoformas de MM-1. Estes modelos serviram de base para a montagem de homodímeros e heterodímeros com c-myc e seus parceiros. Estudos de dinâmica molecular com as moléculas puras ou em dímeros estão sendo finalizados.

Outros estudos sobre resistência a drogas e o painel de proteínas envolvidas neste efeito além das MDR também já foram realizados tendo sido encontradas pelo menos 8 proteínas que parecem ter o papel de modular a resistência.

Publicações

- Hassan R, Felisbino FE, Stefanoff CG, Pires V, Klumb CE, Dobbin J, Seuánez HN, Zalberg IR: Burkitt's lymphoma/leukaemia transformed from a precursor B cell: clinical and molecular aspects. **European Journal of Haematology** 80:265-270 (2008).
- Hassan R, Klumb CE, Felisbino FE, Guiretti DM, White LR, Barros MHM, Seuánez HN, Zalberg IR: Clinical and demographic characteristics of EBV-associated childhood Burkitt's lymphoma in Southeastern Brazil: Epidemiological insights from an intermediate risk region. **Haematologica** 93:780-783 (2008).
- Hassan R, Stefanoff G, Felisbino F, Barros MHM, Zalberg IR, Klumb CE, Bigni RS, Seuánez HN: Second Epstein-Barr virus (EBV)-associated Burkitt lymphoma of the CNS in a child with progressive renal failure. **Journal of Clinical Oncology** 26:3085-3088 (2008).
- Silva, M. L. M.; Raimondi, Sc; Abdelhay, E.; Gross, M; Figueiredo Af; Ribeiro, R. C.; Marque-Salles, Tj; Sobral, E; Land, M.; Liehr, T. Banding and molecular cytogenetic studies detected a CFBF-MYH11 fusion gene that appeared as abnormal chromosome 1 and 16 in a baby with acute myeloid leukemia FAB M4-Eo. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 182, p. 56-60, 2008.
- Marques-Salles, T. J.; Liehr, T.; Mkrtychyan, H.; Raimondi, S.C.; Souza, M. T.; Figueiredo, A. F.; Rouxinol, S.; Jordy F.C.; Abdelhay, E; Santos, N.; Silva, M.L.M. A new chromosomal three-way rearrangement involving MLL masked by a t(9;19)(p11;p13) in an infant with acute myeloid leukemia FAB-M5. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 189, p. 59-62, 2009.
- Otero, L.; Terra B; Diniz, C.; Abdelhay, E.; Fernandez, T. S. Dicentric (8;13)(q10;q10) as an additional chromosomal abnormality in a case of acute promyelocytic leukemia with very poor outcome. **Leukemia and Lymphoma**, v.50, p.287-289, 2009.
- Lazzarotto-Silva C; Binato, R.; Du Rocher, B.; Costa, J. A. C.; Pizzatti, L.; Bouzas, L. F.; Abdelhay, E. Similar Proteomic Profiles of HMSC From Different Donors. **Cytotherapy** (Oxford), v.11, p.268-277, 2009.
- Silva, M. L. M.; Oliveira, M. S. P.; Raimondi, Sc; Mkrtychyan, H; Abdelhay, E.; Figueiredo A.F.; Souza, M. T.; Garcia, D. R. N.; Ventura, E. M. S.; Sousa, A. M.; Liehr, T. Unbalanced chromosome 1 abnormalities leading to partial trisomy 1q in four infants with Down Syndrome and acute megakaryocytic leukemia. **Molecular Cytogenetics**, v.2, p.7-13, 2009.
- Figueiredo, A F De; Mkrtychyan, H.; Liehr T.; Soares-Ventura, E. M.; Marques-Salles, T. J.; Santos, N.; Ribeiro R.C.; Abdelhay, E; Silva, M.L.M. A case of childhood acute myeloid leukemia AML (M5) with a neocentric chromosome neo(1)(qter->q23~24::q23~24->q43->neo->q43->qter) and tetrasomy of chromosomes 8 and 21. **Cancer Genetics and Cytogenetics**, v. 00, p. in press, 2009.

10. Binato. R; Mencalha, A.; Pizzatti, L.; Sholl V.; Zalcberg I.; Abdelhay, E. RUNX1T1 is overexpressed in imatinib mesylate-resistant cells. **Molecular Medicine Reports**, v. 2, p. 657-661, 2009.
11. Pizzatti, L.; Binato. R; Cofré, G.J.C; Gomes, B.; Dobbin, J.; Hausmann, M.E.; Dazambuja, D.; Bouzas, L. F. Suz12 is a candidate target of the non-canonical Wnt pathway in the progression of chronic myeloid leukemia. **Genes, Chromosomes & Cancer**, 2009.
12. Mencalha, A.; Rocher, B.; Salles, D.; Binato. R; Abdelhay, E. LLL-3, a STAT3 inhibitor, represses BCR-ABL-positive cell proliferation, activates apoptosis and improves the effects of Imatinib mesylate. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, 2009.

Projeto: "Identificação de genes de cana-de-açúcar diferencialmente expressos em condições de estresse hídrico"

Coordenação: William Burnquist – Centro de Tecnologia Canavieira

A fim de avaliar a resposta a estresse hídrico em cana-de-açúcar, foi desenvolvido um experimento piloto com 20 variedades comerciais submetidas a diferentes tempos de supressão de rega (irrigado, 3 dias, 10 dias e 20 dias de supressão de rega). Os parâmetros fisiológicos avaliados neste experimento (Fv/Fm, conteúdo de clorofila e teor relativo de água) serviram de base para estabelecimento de um protocolo de avaliação da resposta de plantas de cana-de-açúcar submetidas à seca.

Paralelamente foi avaliado por PCR em tempo real o comportamento de 3 genes, selecionados de um total de 10 genes disponíveis, em amostras de folhas coletadas das plantas deste experimento nos tratamentos: irrigado, 3 dias e 10 dias de supressão de rega. As amostras de plantas submetidas a 20 dias de supressão de rega não foram analisadas pela impossibilidade de extração de RNA a partir das folhas coletadas, muito danificadas em função do prolongado estresse a que foram submetidas. Os resultados desta avaliação estão sendo interpretados para estabelecimento de possíveis marcadores de expressão gênica em condições de estresse hídrico destas variedades.

Para permitir a coleta das amostras para extração de RNA que foi encaminhado para os dois grupos colaboradores do projeto, UFRJ (análise de expressão de microRNAs) e UFPE (encarregado da análise de expressão diferencial por SuperSAGE), foi montado um segundo experimento com as 4 variedades que apresentaram comportamentos mais contrastantes (sensíveis e tolerantes) no experimento descrito acima. Plantas de 3 meses foram submetidas a tempos menores de supressão de rega (0h, 24h e 72 h) a fim de permitir a avaliação dos primeiros sinais de indução e repressão gênica. Raízes e folhas das plantas foram coletadas para a composição dos grupos de amostras "sensíveis" e "tolerantes" à seca.

A partir destas amostras foi analisada a expressão diferencial dos genes por SuperSAGE e o padrão de expressão de microRNAs.

Até o presente momento, foram seqüenciadas mais de 10.000.000 de tags representando cerca de 900.000 transcritos únicos para cada um dos tipos de amostra: submetidas a estresse hídrico ou não.

Este grande número de transcritos únicos pode ser provavelmente explicado pela complexidade genética da cana-de-açúcar (alto nível de ploidia) e pela composição das amostras analisadas, uma vez que cada amostra foi composta por 4 variedades de cana-de-açúcar (sensíveis e tolerantes).

Um total de 82.000 tags mostrou-se diferencialmente expresso. A anotação destes tags está sendo realizada com base no genoma da cana-de-açúcar e do sorgo. Muitos tags analisados constituem novas seqüências de cana e podem representar novos genes para estudos futuros.

Uma abordagem semelhante está sendo realizada para as seqüências de microRNAs obtidas.

Análises de bioinformática tentando correlacionar a expressão destes genes analisados por SuperSAGE com os dados de microRNAs que ocorrem durante a condição de estresse revelaram até o momento cerca de 100 possíveis alvos de regulação por microRNA em cana-de-açúcar submetida à condição de déficit hídrico.

Projeto: "Identificação e caracterização de marcadores biológicos e diagnósticos em tripanosomatídeos patogênicos através de genômica e proteômica comparativas – QuadTryp"

Webpage: <http://www.quadtryp.ufsc.br>

Coordenação: Edmundo C. Grisard – Universidade Federal de Santa Catarina

O projeto QUADTRYP congrega a UFSC como executora e como co-executores o CBIOT/UFRGS, o IOC/Fiocruz, o IBMP/Fiocruz (Atual ICC), a Unesco e o CAV/UDESC. O projeto dividiu-se em quatro sub-projetos denominados GENOTRYP, que visa o estudo genômico, PROTRYP, que visa o estudo proteômico, BIOTRYP, que visa a análise via bioinformática dos dados e TRYPMEET, que visa a realização de reuniões científicas dos grupos envolvidos. A presente proposta irá permitir a definitiva integração dos grupos participantes e a utilização compartilhada de equipamentos implementados com diferentes projetos de pesquisa, destacando-se o Projeto Genoma Nacional e a Rede Nacional do Proteoma. Os impactos em curto prazo serão i) a implementação de capacidade de análise proteômica e bioinformática de maneira equalizada entre as instituições participantes, ii) o aproveitamento de recursos humanos qualificados e, muitos deles, recentemente integrados à força de trabalho em instituições de ensino, iii) a geração de dados a fim de permitir análises comparativas, iv) o estabelecimento de uma rede de pesquisa em tripanosomatídeos patogênicos utilizando o *Trypanosoma rangeli* como modelo inicial e v) a identificação de proteínas diferencialmente expressas entre diferentes formas, cepas e espécies de tripanosomatídeos patogênicos. Permitirá ainda o treinamento direto de estudantes de graduação e de pós-graduação e a melhoria significativa do ensino de pós-graduação nas instituições participantes. Deve-se considerar ainda a possibilidade de ampliação dos estudos da rede visando a inclusão de tripanosomatídeos patogênicos de interesse veterinário como o *T. vivax* e o *T. evansi*, motivo também pelo qual o Centro Agro-Veterinário (CAV) da UDESC compõe a presente proposta. Os impactos previstos para o subprojeto GENOTRYP são muito relacionados aos impactos previstos para o subprojeto PROTRYP, visto que em ambos os casos a proposta é dedicada a geração de dados para o entendimento da desconhecida biologia do *T. rangeli* e a utilização dos dados para o desenvolvimento de análises comparativas com outras espécies de tripanosomatídeos patogênicos (*T. cruzi*, *T. brucei*, *L. major* e *L. braziliensis*). As análises de bioinformática propostas irão não apenas auxiliar o desenvolvimento dos outros subprojetos se não também acelerar o processo de interpretação de resultados. Além de impactar diretamente o próprio desenvolvimento do projeto como um todo, espera-se contribuir com o desenvolvimento da Bioinformática e Biologia Computacional e Sistemas no Sul do Brasil, e os países vizinhos. A validação das plataformas Stingray (<http://stingray.biowebdb.org>) e ProtozoaDB (<http://protozoadb.biowebdb.org>) como repositórios de diferentes informações genômicas e proteômicas e posteriormente como plataformas de análises de biologia de sistemas irá também impactar na formação de recursos humanos especializados, que serão treinados no uso desta plataforma.

No âmbito do projeto Genotryp, foram geradas duas bibliotecas de GSS de formas epimastigotas de duas cepas de *T. rangeli* com insertos de quatro e seis Kb em média. Cada biblioteca de cada cepa gerou em média 10.000 clones, tendo sido validadas e todos os clones já estocados para seqüenciamento. O início da etapa de seqüenciamento aguarda somente a licitação para compra do material de consumo.

A plataforma Stingray já possui todas as seqüências de tripanosomatídeos de interesse assim como as EST de *T. rangeli* anteriormente produzidas. A análise específica de alguns genes de interesse já foram descritas no âmbito do subprojeto ProTryp.

Dentre os principais resultados obtidos até o presente momento, destacam-se no âmbito do subprojeto Protryp o estudo de proteínas de interesse. A partir do agrupamento das seqüências obtidas para o gene *TrTop2mt*, codificante para uma topoisomerase de tipo II, foi possível encontrar uma fase de aberta de leitura de 3.696pb, com conteúdo de C+G de 55%, codificando uma proteína com 1.232 aminoácidos e com uma massa molecular estimada de 138,8kDa. Para o gene *TrTop2α* a fase aberta de leitura foi de 4.368pb, com conteúdo C+G de 56%, codificando uma proteína com 1.456 aminoácidos e com uma massa molecular estimada de 164,5kDa.

A análise dos genes *TrTop2mt* e *TrTop2α* por *Southern blot* mostrou um padrão simples, utilizando-se como sondas fragmentos obtidos por PCR. Para todas as demais enzimas utilizadas, as quais possuem sítio único de clivagem dentro das seqüências das sondas, foram observadas duas bandas positivas para cada enzima, indicando a existência de uma única cópia destes genes no genoma do *T. rangeli*.

O gene *TrTop2mt* possui elevado grau de similaridade com seu correspondente no *T. cruzi* (96%) e *T. brucei* (88%), cerca de 80% com os demais tripanosomatídeos e de 50% com outras topoisomerasas II eucarióticas. Já, o gene *TrTop2α* possui aproximadamente 85% de similaridade com os genes correspondentes em tripanosomatídeos e 60% com outras topoisomerasas II eucarióticas. A comparação entre a seqüência dos dois genes demonstrou que eles apresentam 36% dos aminoácidos idênticos e 56% de similaridade, relacionados basicamente aos domínios funcionais característicos das enzimas pertencentes a esta família. A homologia entre as topoisomerasas II está dispersa por toda seqüência, porém é menor na região carboxi-terminal dessas proteínas, sendo esta característica comum a todas as topoisomerasas do tipo II descritas.

Anti-soros foram produzidos contra distintos fragmentos dos genes *TrTop2mt* e *TrTop2α*, e utilizados em ensaios de *western blot* contra extratos protéicos de *T. rangeli*, *T. cruzi*, *L. amazonensis*. O soro anti-*TrTop2α* e *TrTop2mt* foi capaz de reconhecer especificamente as proteínas com tamanhos moleculares esperados no extrato do *T. rangeli* (~165kDa/ 138,8kDa). Entretanto, nenhum dos dois soros permitiu a identificação de proteínas nos demais extratos protéicos.

Em ensaios de imunofluorescência indireta, o soro anti- *TrTop2α* reconhece um antígeno exclusivamente nuclear no *T. rangeli*, enquanto que soro anti- *TrTop2mt* reconhece antígenos no núcleo e no cinetoplasto, diferentemente do que foi observado por Fragoso e colaboradores, 1998, onde a marcação era exclusivamente nuclear. Anticorpos monoclonais estão em fase de produção visando um estudo aprofundado destas proteínas nos organismos de estudo.

Além das topoisomerasas, os genes da galactofuranosil transferase, da proteína tirosino-fosfatase e da glicoproteína de 63kDa estão na mesma fase experimental, ou seja, já foram clonadas, expressas e purificadas, estando o soro policlonal em fase de preparação. Todas as proteínas supracitadas serão analisadas por CD (equipamento adquirido no âmbito deste projeto) e por MS/MS junto ao CBiot/UFRGS, sendo que a produção de anticorpos monoclonais já iniciou.

O sub-projeto de bioinformática (Biotryp), plataforma GARSa, originalmente prevista para ser usada na análise de dados de EST e GSS foi aprimorada e sua nova versão foi denominada STINGRAY já encontra-se disponível para os usuários on-line (<http://stingray.biowebdb.org>). Esta nova plataforma inclui maiores facilidades e possibilidades de análise e já está devidamente preparada para ser instalada nos servidores do projeto, estando em fase de publicação.

Outra atividade relacionada a este sub-projeto é a implementação do "Laboratório de Biologia computacional e de sistemas", cujo processo licitatório visando a adequação física está em fase inicial de execução. Independente do espaço físico, já encontram-se operacionais os servidores e as estações de trabalho.

Face à morosidade na aquisição de equipamentos e reagentes, as reuniões científicas previstas (subprojeto Trypmeet) foram postergadas.

Produção Técnico-científica

Resumos apresentados ou aceitos em congressos:

- MARIN C, ARESI C, STOCO PH, STEINDEL M, GRISARD EC. Effect of hydroxyurea on the *Trypanosoma rangeli* differentiation *In vitro*. XXIV Reunião da Sociedade de Protozoologia e XXXV Reunião para Pesquisa Básica em Doença de Chagas - 27 a 29 de outubro 2008 - Águas de Lindóia – SP. Resumos p. 12.
- PUERTA C, SINCERO TCM, STOCO PH, CUERVO C, GRISARD EC. Comparative analysis of *Trypanosoma rangeli* histone H2A gene intergenic region with distinct intra-specific lineage markers. XXIV Reunião da Sociedade de Protozoologia e XXXV Reunião para Pesquisa Básica em Doença de Chagas - 27 a 29 de outubro 2008 - Águas de Lindóia – SP. Resumos p. 54.

- SINCERO TCM, PRESTES EB, GRISARD EC. Assessing the genetic population structure of *Trypanosoma rangeli* by microsatellite genotyping. XXIV Reunião da Sociedade de Protozoologia e XXXV Reunião para Pesquisa Básica em Doença de Chagas - 27 a 29 de outubro 2008 - Águas de Lindóia – SP. Resumos p. 61.
- STOCO PH, ROSA RD, MARIN C, ARESI C, FRAGOSO SP, STEINDEL M, GRISARD EC. Characterization of the *Trypanosoma rangeli* type II DNA topoisomerases domains. XXIV Reunião da Sociedade de Protozoologia e XXXV Reunião para Pesquisa Básica em Doença de Chagas - 27 a 29 de outubro 2008 - Águas de Lindóia – SP. Resumos p. 69.
- WHEELER G, GRISARD EC, BUTLER CE, ENGMAN DM, TYLER KM. Describing membrane dynamics in cardiomyocyte cell invasion. XXIV Reunião da Sociedade de Protozoologia e XXXV Reunião para Pesquisa Básica em Doença de Chagas - 27 a 29 de outubro 2008 - Águas de Lindóia – SP. Resumos p. 21.
- BUTLER C, WHEELER G, GRISARD EC, TYLER M. Are determinants of cell entry and virulence synonymous for American trypanosomes? British Society for Protist Biology Spring Meeting, 15 a 17 de Abril de 2009, Norwich, Norfolk, UK.
- GRISARD EC., STOCO, P.H., CORDERO, E.M., WHEELER, G., STEINDEL, M., DA SILVEIRA, J.F., TYLER, K.M. Heterologous expression of *Trypanosoma cruzi* gp82 in the life-cycle of *Trypanosoma rangeli*. XIII International Congress of Protistology / XXV Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XXXVI Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease, 23 a 28 de Agosto de 2009, Armação dos Búzios, RJ. Apresentação oral.
- SINCERO, T.C.M., GRISARD, E.C. Transcriptome-wide analysis of microsatellite repeats in *Trypanosoma rangeli*. XIII International Congress of Protistology / XXV Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XXXVI Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease, 23 a 28 de Agosto de 2009, Armação dos Búzios, RJ.
- WAGNER, G., STOCO, P.H., GOMES, R.P., BARBIERI, S.F., FACHINELLO, F.B., BUZELATTO, K., CORDEIRO, T.M., ARESI, C., STEINDEL, M., DÁVILA, A.M.R., GRISARD, E.C. Partial genomic analyses of *Trypanosoma rangeli* by GSS (Genomic Sequence Survey). XIII International Congress of Protistology / XXV Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XXXVI Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease, 23 a 28 de Agosto de 2009, Armação dos Búzios, RJ. Apresentação oral.
- TYLER K, BUTLER C, DE CARVALHOT, WHEELER G, GRISARDEC. Are determinants of cell entry and virulence synonymous for American trypanosomes? XIII International Congress of Protistology / XXV Annual Meeting of the Brazilian Society of Protozoology / XXXVI Annual Meeting on Basic Research in Chagas Disease, 23 a 28 de Agosto de 2009, Armação dos Búzios, RJ.

Artigos submetidos ou aceitos para publicação:

- PUERTA C, SINCERO TCM, STOCO PH, CUERVO C, GRISARD EC. Comparative analysis of *Trypanosoma rangeli* histone H2A gene intergenic region with distinct intra-specific lineage markers. *Vector Borne and Zoonotic Disease*, 9: 2009. DOI: 10.1089/vbz.2008.0017
- GRISARDEC, STOCOPH, WAGNERG, SINCEROTCM, ROTAVAG, RODRIGUES JB, SNOEIJER CQ, KOERICH LB, SPERANDIOMM, BAYER-SANTOS E, FRAGOSO SP, GOLDENBERG S, TRIANA O, VALLEJO GA, TYLER KM, DÁVILA AMR, STEINDEL M. Transcriptomic analyses of the avirulent trypanosome – *Trypanosoma rangeli*. *BMC Genomics*, submetido, 2009.
- WAGNERW, GUIMARÃES MP, OCAÑA KACS, LOUREIRO DR, RUIZ M, JUCÁ HCL, TSCHOEKE DA, MENDES PM, GERONIMO GA, CURY JC, GRISARDEC, CAVALCANTI MC, MACHADOML, MATTOSO M, DÁVILA AMR. STINGRAY: System for Integrated Genomic Resources and Analysis. Em preparação, 2009. DOI:
- BAYER-SANTOS EB, SINCERO TCM, STOCO PH, UMAKIA, FRAGOSO SP, STEINDEL M, GRISARD EC. Cloning, characterization and genetic variability assessment of *Trypanosoma rangeli* protein tyrosine Phosphatase gene (TrPTP2). *Experimental Parasitology*, em preparação, 2009.

Projeto: "Identificação e caracterização de novos genes e proteínas de interesse biotecnológico para o Brasil"

Coordenação: Maria Julia Manso Alves - Universidade de São Paulo

Descrição dos SubProjetos de sequenciamento de genes

O sequenciador solicitado (454, comercial) produz cerca de 400.000 seqüências por corrida, sendo que cada uma é completada em cerca de 4 horas, e com tamanho médio de 250 bases. Tem portanto uma capacidade superior de sequenciamento de cerca de 100 vezes em relação à tecnologia anterior, utilizada nos diferentes projetos de genoma no País. Devido à sua alta capacidade de gerar seqüências, é um aparelho que deverá atender a diferentes pesquisadores do Brasil, e que será gerenciado dentro do Instituto de Química. Foi solicitado para atender as propostas dos subprojetos abaixo, mas deverá se estender a outros projetos no futuro. Cada sub-projeto será iniciado mais ou menos concomitantemente, assim que o aparelho entrar em funcionamento. Células tumorais, patógenos e cana de açúcar são os sistemas enfocados na solicitação, refletindo as áreas de trabalho dos pesquisadores envolvidos.

Subprojeto 1. Identificação de novos genes, variantes de splicing e RNAs não codificadores em tumores.

Identificação de seqüências intrônicas e genes codificadores para proteínas expressas em linhagens celulares provenientes de câncer de próstata, mama e pâncreas. Pretende-se o aumento de conhecimento das bases moleculares da transformação maligna e identificar novos marcadores tumorais.

Subprojeto 2. Transcriptoma de estágios do ciclo de vida de *Schistosoma mansoni*.

Um esforço da comunidade científica produziu um bom número de seqüências do genoma de *S. mansoni*, mas a informação genômica ainda não está completa. Esse subprojeto tem como objetivo fazer o sequenciamento dos transcritos dos vários estágios e pesquisar variantes de "splicing" de genes de *S. mansoni*.

Subprojeto 3. Análise comparativa da expressão gênica global em *Leishmania*.

A expressão gênica de parasitos com alta e baixa capacidade de infecção/virulência será comparada, no intuito de entender as bases da infectividade de *Leishmania*, uma parasitose que no momento afeta um número alarmante de indivíduos e animais, principalmente cães.

Subprojeto 4 e 9. Sequenciamento de elementos promotores de genes de cana de açúcar. Novos genes associados à adaptação e desenvolvimento em cana-de-açúcar.

Devido à sua importância, foi escolhido investigar de um lado, os mecanismos que regulam a resposta ao ambiente na cana de açúcar. Pretende-se, a longo prazo, obter uma cartela de alternativas de promotores para a expressão de genes de interesse biotecnológico e identificar genes relacionados com processos adaptativos da cana-de-açúcar a stress, por exemplo à seca, e marcadores genéticos de seleção.

Projeto: "Implantação do 1º Laboratório de Oncogenética e Radiobiologia de Goiás"

Coordenação: Renata de Bastos A. Soares - Associação de Combate ao Câncer em Goiás

O presente projeto visa à implantação do primeiro Laboratório de Oncogenética e Radiobiologia do Centro-Oeste na Associação de Combate ao Câncer em Goiás (ACCG). Trata-se de uma iniciativa concebida com o objetivo de integrar oportunidade com possibilidade. A ACCG tem a oportunidade de contribuir com as ações já concluídas em genômica e os estudos a serem iniciados dentro da área da oncologia.

As técnicas tradicionais de diagnóstico do câncer incluem a avaliação histopatológica, a identificação de subtipos específicos de tumores, a determinação do grau do tumor, a avaliação dos linfonodos regionais e a presença de metástases (Perez et al., 2004). Tais métodos são extremamente úteis na avaliação inicial de um tumor, entretanto são limitados para prever a resposta a um determinado tratamento ou para prever os efeitos adversos decorrentes de um tratamento em particular. Prever a resposta de um tumor a um tratamento específico representa um dos maiores desafios para a oncologia (Robert et al. 2004). Ensaio celulares capazes de prever, em bases individuais, a resposta de um tumor a uma terapia anti-tumoral estão sendo testados em vários laboratórios (Hanke et al. 2004). Os mecanismos de resistência aos agentes anti-tumorais são numerosos e incluem a eficiência de reparo do DNA e as alterações de sinalização ou execução dos programas de morte celular (O'Neil et al. 2004). A disponibilidade de técnicas que avaliam o perfil de expressão gênica possibilita o estabelecimento de correlações entre a expressão de determinados genes e a sensibilidade das células tumorais humanas a tratamentos específicos.

Nós pretendemos testar os genes candidatos à radiosensibilidade clínica. As variantes genéticas são selecionadas com base em como elas afetam o fenômeno, que pode estar relacionado ao desenvolvimento da injúria causada pela radiação. Exemplos de tais fenômenos são susceptibilidade a um novo tipo de câncer, aumento da radiosensibilidade, deficiência no reparo e desordens fibróticas.

No entanto, nós sugerimos o endereçamento dos possíveis determinantes genéticos da radiosensibilidade clínica baseados em grupos de pacientes dosimetricamente bem caracterizados e cada evolução para os diferentes tipos de reações do tecido normal.

Um polimorfismo comum do gene p53 ocorre no segundo nucleotídeo códon 72, havendo a substituição de uma citosina por uma guanina, de modo a promover a substituição do aminoácido prolina (CCC) pelo aminoácido arginina (CGC). A frequência descrita para os genótipos é: C/C 30,13%; C/G 33,01% e G/G 36,86%. Como foi demonstrado por Dumont et al., 2003, o alelo Arg em maior capacidade de induzir a apoptose que o alelo Pro, contudo Orsted et al., 2007 demonstraram que o alelo Pro tem maior capacidade de promover a parada do ciclo para o reparo. Portanto, o resultado esperado quanto a este SNP é que o tecido normal com o alelo Pro tenha menor incidência de efeitos colaterais da radioterapia.

Os genótipos do SNP ATMex39 5557G>A são descritos nos artigos com a seguinte frequência: G/G de 56,2 a 75,6%; G/A de 22,2 a 37,0% e; A/A de 2,1 a 7,5% (Tomminska et al., 2006; Schrauder et al., 2008; Heikkinen et al., 2005). Este projeto pretende avaliar estes genótipos em relação ao fenótipo das pacientes quanto à radiosensibilidade, sendo que o resultado esperado é uma maior radiosensibilidade dos heterozigotos e dos homozigotos para o alelo A.

Tais hipóteses irão prover as melhores oportunidades de identificação dos determinantes genéticos da radiosensibilidade clínica e, posteriormente contribuir para a quantificação da influência de certos determinantes genéticos das reações nos diferentes tipos de tecido normal.

Projeto: "Integrando Genômica Funcional e Biotecnologia para Melhorar a Tolerância a Estresses em Plantas"

Coordenação: Elizabeth P. B. Fontes – Universidade Federal de Viçosa

A capacidade de um organismo em lidar com estresses bióticos e abióticos depende de uma defesa molecular rápida e coordenada. As plantas, em particular, estão constantemente sendo ameaçadas com estes estresses e têm desenvolvido uma diversidade de respostas constitutivas e induzidas de forma a adaptarem-se e sobreviverem em diferentes ambientes. O interesse majoritário dessa linha de pesquisa seria identificar genes e proteínas, e elucidar mecanismos bioquímicos associados a respostas celulares a estresses bióticos e abióticos em plantas com o objetivo eventual de desenvolver estratégias moleculares para aquisição de resistência engenheirada em plantas. Em uma primeira fase no desenvolvimento do referido programa molecular, a nossa equipe de pesquisadores utilizou uma abordagem genômica para identificar os transcriptomas da soja induzidos por estresse osmótico e por estresses promovidos no retículo endoplasmático (RE). Diversos genes candidatos com o potencial de serem usados como alvos em estratégias moleculares para aquisição de tolerância à seca foram identificados. Nesta segunda fase de desenvolvimento do referido tema de pesquisa, pretende-se concentrar esforços na caracterização molecular e funcional de genes candidatos para aquisição de tolerância engenheirada a condições adversas do meio ambiente. Além disso, pretende-se estender a aplicação das estratégias moleculares desenvolvidas em sistemas-modelo para culturas agronomicamente importantes para o cenário agrícola nacional. De caráter científico inovador, pretende-se elucidar as bases moleculares da resposta integrativa das células vegetais a estresse osmótico e do retículo endoplasmático. De caráter tecnológico, os principais objetivos a serem alcançados são: (1) identificação de genes e proteínas de potencial biotecnológico, (2) desenvolvimento de processos biotecnológicos para obtenção de tolerância à estresse osmótico e à seca em plantas modelo e (3) obtenção de plantas transgênicas de relevância econômica tolerantes a déficit hídrico.

Dentro do contexto de defesa contra estresse biótico, a nossa equipe tem concentrado esforços em identificar estratégias moleculares para aquisição de resistência engenheirada contra geminivírus, já que constituem um dos maiores e mais importantes grupos de vírus de plantas, causando grandes restrições à produtividade agrícola. Utilizando o sistema duplo híbrido de leveduras, em uma primeira fase desse programa molecular, foi conduzido um "screening" exaustivo de proteínas do hospedeiro que interagem com a proteína viral de movimento intracelular NSP. Entre diversas proteínas identificadas, destacam-se as proteínas kinases NIK₁, NIK₂, NIK₃ que participam de uma via de defesa da planta contra infecção viral. Entretanto, os componentes dessa via de sinalização ativada pelo receptor NIK não foram identificados, o que constitui uma extensão lógica desse programa molecular. Assim também, a efetividade de manipulação dos níveis de NIK no processo de infecção viral ainda não foi avaliada e pode constituir uma alternativa eficaz para controle da doença. Além disso, propõe-se a elucidação dos mecanismos bioquímicos associados com as interações, biologicamente relevantes, entre a proteína NSP e outras proteínas do hospedeiro que agem como componentes positivos no processo de infecção viral. Esta abordagem levará, sem dúvida, à elaboração de novas estratégias de resistência transgênica, baseadas na inativação desses fatores. Assim sendo, como principais objetivos a serem alcançados destacam-se: (1) elucidação funcional da via de sinalização anti-viral mediada por NIK e sua abrangência como defesa inata da planta; (2) identificação e caracterização funcional da rede de interações proteína-proteína mediada pela proteína NSP de geminivírus e (3) desenvolvimento de processos biotecnológicos para obtenção de tolerância engenheirada contra geminivírus.

Publicações:

Sub-Projeto 1

- PINHEIRO, G. L.; CAROLINO, S. M.; COSTA, M. D. L.; REIS, P. A. B.; ALVES, M. S.; CARVALHO, C. M.; FIETTO, L. G.; FONTES, E. B. P. Complete inventory of soybean NAC transcription factors: sequence conservation and expression analysis uncover their distinct roles in stress response. *Gene* (Amsterdam), in press, doi:10.1016/j.gene.2009.05.012, 2009.

- VALENTE, M. A. S.; FARIA, J. A. Q. A.; SOARES-RAMOS, J. R. L.; REIS, P. A. B.; PINHEIRO, G. L.; PIOVESAN, N. D.; MORAIS, A. T.; MENEZES, C. C.; CANO, M. A. O.; FIETTO, L. G.; LOUREIRO, M. E.; ARAGAO, F. J. L.; FONTES, E. B. P. The ER luminal binding protein (BiP) mediates an increase in drought tolerance in soybean and delays drought-induced leaf senescence in soybean and tobacco. *Journal of Experimental Botany*, 60, 533-546, 2009.
- COSTA, M. D. L.; REIS, P. A. B.; VALENTE, M. A. S.; IRSIGLER, A. S. T.; CARVALHO, C. M.; LOUREIRO, M. E.; ARAGAO, F. J. L.; BOSTON, R. S.; FIETTO, L. G.; FONTES, E. P. B. A new branch of endoplasmic reticulum-stress signaling and the osmotic signal converge on plant specific asparagine-rich proteins to promote cell death. *The Journal of Biological Chemistry*, 283, 20209 – 20219, 2008.
- IRSIGLER, A. S. T.; COSTA, M. D. L.; ZHANG, P.; REIS, P. A. B.; DEWEY, R.; BOSTON, R. S.; FONTES, E. P. B. Expression profiling on soybean leaves reveals integration of ER- and osmotic-stress pathways. *BMC Genomics* 8, 431, 2007.
- FREITAS, R. L.; CARVALHO, C. M.; FIETTO, L. G.; LOUREIRO, M. E.; ALMEIDA, A. M.; FONTES, E. B. P. Distinct repressing modules on the distal region of the SBP2 promoter contribute to its vascular tissue-specific expression in different vegetative organs. *Plant Molecular Biology* 65, 603 – 614, 2007.

Apresentação de Trabalhos em Congressos:

- II simpósio de Genética Molecular de Plantas, Búzios, RJ
- Plant Biology 2007, 2008, 2009
- I Simpósio Brasileiro de Genética Molecular de Plantas- Natal
- 2nd World Stress Conference- Budapeste- Hungria
- Reuniao Anual da SBBq 2007 e 2008

Formação de Recursos Humanos:

- 02 Teses de doutorado concluídas- 2007 (Andre Irsigler e Maria Anete Santana Valente, 2008)
- 02 Dissertações de mestrado concluídas- Maximiller Costa, 2007 e Guilherme Luiz Pinheiro, 2008
- 01 Monografia de conclusão de graduação – Pedro A.B. Reis, 2008
- 01 Tese de doutorado em desenvolvimento (Humberto H. de Carvalho)
- 02 Dissertações de mestrado em andamento – Pedro A.B. Reis e Murilo S. Alves
- 02 Dissertações de mestrado em desenvolvimento (Jerusa Q. Faria e Giselle)
- 04 Bolsistas de Iniciação Científica envolvidos
- 01 Monografia de conclusão de graduação – Jerusa Quintão
- 02 Pos-doutores atualmente envolvidos- Humberto Ramos (Prodoc/Capes) e Juliana Soares-Ramos (DTI- projeto Finep)

Sub-Projeto 2

- SANTOS, A. A.; CARVALHO, C. M.; FLORENTINO, L. H.; RAMOS, H. J. O.; FONTES, E. P. B. Conserved Threonine Residues within the A-Loop of the Receptor NIK Differentially Regulate the Kinase Function Required for Antiviral Signaling. *PLoS ONE*, v. 4, p. e5781, 2009.
- CARVALHO, C. M., SANTOS A. A.; PIRES, S. R.; ROCHA, C. S.; SARAIVA, D. I.; MACHADO, J. P. B.; MATTOS, E. C.; FIETTO, L.G.; FONTES, E. B. P. Regulated nuclear trafficking of rpL10A mediated by NIK1 represents a defense strategy of plant cells against virus. *PLoS Pathogens*, V. 4, e1000247, 2008.
- CARVALHO, C. M.; FONTENELLE, M. R.; FLORENTINO, L. H.; SANTOS, A. A.; ZERBINI, F. M.; FONTES, E. P. B. A novel nucleocytoplasmic traffic GTPase identified as a functional target of the bipartite geminivirus nuclear shuttle protein. *Plant Journal* 55, 869-880, 2008.

4. CARVALHO, C. M.; MACHADO, J. P. B.; ZERBINI, F. M.; FONTES, E. B. P. NSP-Interacting GTPase: a cytosolic protein as cofactor for nuclear shuttle proteins. *Plant Signaling & Behavior*, 3, 752-754, 2008.
5. ROCHA, C. S.; SANTOS, A. A.; MACHADO, J. P. B.; FONTES, E. P. B. The ribosomal protein L10/QM-like protein is a component of the NIK-mediated antiviral signaling. *Virology* 380, 165-169, 2008.
6. FONTENELLE, M. R.; LUZ, D. F.; SOARES, A. P. G.; FLORENTINO, L. H.; ZERBINI, F. M.; FONTES, E. P. B. Functional analysis of the naturally recombinant DNA-A of the bipartite begomovirus Tomato chlorotic mottle virus. *Virus Research* 126, 262-267, 2007.

Capítulo de livros

1. SANTOS, A. A.; FLORENTINO, L. H.; PIRES, A. B. L.; FONTES, E. P. B. Geminivirus: Biolistic Inoculation and Molecular Diagnosis. In: Foster, G.; Johansen, E.; Hong, Y.; Nagy, P. (Eds.). (Org.). *Plant Virology Protocols, From Viral Sequence to Protein Function, Second Edition, Series: Methods in Molecular Biology*. Totowa, NJ: Humana Press, v. 451, p. 563-579, 2008.
2. FLORENTINO, L. H.; SANTOS, A. A.; ZERBINI, F. M.; FONTES, E. P. B. Begomovirus: Molecular Cloning and Identification of Replication Origin. In: Foster, G.; Johansen, E.; Hong, Y.; Nagy, P. (Eds.). (Org.). *Plant Virology Protocols, From Viral Sequence to Protein Function, Second Edition, Series: Methods in Molecular Biology*. 2 ed. Totowa, NJ: Humana Press, v. 451, p. 145-166, 2008.

Congressos:

1. Workshop in Plant Biotechnology. North Carolina State University, 2008. Conferência proferida: Geminivirus-host interactions: regulation and functional insights into NIK-mediated antiviral signaling.
2. Plant Biology 2008, organizado pela American Society of Plant Biologists, Mérida, México
3. XIII Reunión Latinoamericana y XXVII Reunión Argentina de Fisiología Vegetal, 2008, Rosario, Argentina. Geminivirus-host interactions: functional insights into nik-mediated antiviral signaling
4. XIX National Meeting of Virology- 2008, Caxambu, MG. Conferência: Characterization of the LRR-RLK signaling pathway and its interaction with the movement protein of geminivirus.
5. 5th International Geminivirus Symposium - Ouro Preto, Minas Gerais, Brazil. Conferência proferida: Interactions involving the NSP protein

Formação de Recursos Humanos:

- 01 Tese de doutorado concluída (Anésia A. Santos)
- 02 Dissertações de mestrado concluídas (Carolina Rocha e Silvana Pires)
- 02 Monografias de graduação concluídas (Daniela Ines e Eliciane Mattos)
- 01 Pós-doutoramento concluído (Claudine M Carvalho)
- 03 Teses de doutorado em andamento (Lilian Florentino, Cristiane Zorzato e Kênia V.G. Lopes)
- 02 Teses de mestrado em andamento (Jorge Alberto C. Apfata e Kelly Mayrink Balmant)
- 02 Bolsistas de IC em andamento (João Paulo e Fahyme)
- 03 Pós-doutoramentos em andamento (Anésia A. Santos, Marta Teixeira Leite e Francisco)

Projeto: "Proteômica estrutural e funcional aplicada à área biomédica"

Coordenação: Lewis Joel Greene – Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto

Tradicionalmente, abordagens bioquímicas, genéticas ou de biologia celular têm sido utilizadas para identificar e caracterizar os múltiplos componentes das vias de sinalização dos diversos processos celulares. De maneira geral, estas abordagens apresentam alto custo e demandam tempo considerável, uma vez que tipicamente a análise compreendia uma ou duas proteínas. Com base na miríade de respostas moleculares e elementos celulares que são eliciadas em eventos celulares, outras abordagens devem ser consideradas para o estudo e análise global destes eventos, as assim denominadas abordagens "ômicas", dentre elas a genômica, a transcriptômica e a proteômica.

A proteômica definida, estritamente definida como o estudo global do conjunto de proteínas de uma célula, tecido ou organismo, num determinado tempo, apresenta uma perspectiva que reconhece a importância das complexas inter-relações entre os componentes funcionais dos seres vivos, enquanto resiste à tentação de descrever toda a vasta coleção de proteínas expressas a partir do genoma, incluindo as modificações pós-traducionais. Em outras palavras, um inventário de proteínas que não contribui para o nosso entendimento dos processos biológicos.

Em oposição ao proteoma total, uma faceta mais aplicada é a proteômica funcional, ou seja, a análise de proteínas-alvo. Esta abordagem experimental é sempre direcionada por questões biológicas específicas e, desta forma, a identificação e a caracterização de proteínas adquirem importância e relevância.

Neste contexto direcionado para resolução de problemas específicos, na presente proposta pretendemos realizar estudos, utilizando a proteômica como abordagem experimental e, em alguns deles, associada à análise do transcriptoma (utilizando a metodologia SAGE). Os subprojetos foram agrupados de acordo com as linhas de investigação. A diferenciação celular será abordada em estudos utilizando diferentes estímulos de diferenciação e diferentes células, a saber: células progenitoras hematopoiéticas humanas (subprojetos 1 e 2, ver Tabela 1), células tronco mesenquimais humanas (subprojetos 3 e 10). A proteômica deve exercer um papel chave no estudo e tratamento do câncer, uma vez que esta abordagem experimental poderá definir e caracterizar "networks" funcionais e regulatórios, investigar os defeitos moleculares preciso em tecidos e fluidos, além de possibilitar o desenvolvimento de reagentes específicos para marcar os estágios de progressão da doença. Assim neste contexto, inserem-se os subprojetos 4 a 9 e 14. Os subprojetos 11, 12 e 13 estão focados no estudo de proteínas de protozoários e fungos de interesse médico e veterinário. O subprojeto 15 pretende investigar as proteínas relacionadas ao estresse oxidativo em pacientes com ou sem crises vaso-oclusivas, na tentativa de estabelecer uma associação entre estas proteínas e a clínica do paciente com anemia falciforme.

Tabela 1 - Subprojetos apresentados na presente proposta, coordenadores responsáveis e instituições envolvidas.

Titulo	Coordenador do subprojeto
1. Efeito de diferentes estímulos na maturação e perfil protéico de células dendríticas humanas.	L.J. Greene, FMRPUSP e FUNDHERP
2. Efeito de diferentes estímulos na diferenciação de células plasmocitoides	L.J. Greene, FMRPUSP e FUNDHERP
3. Estudo das frações microsomal e citosólica de linfócitos B de leucemia linfocítica crônica.	J.C. Rosa, FMRPUSP e FUNDHERP
4. Comparação da expressão de proteínas de células tronco mesenquimais humanas de cordão umbilical e medula óssea.	L.J. Greene, FMRPUSP e FUNDHERP
5. Identificação de genes alvo do mir-155 por transcriptoma e proteômica.	L.J. Greene, FMRPUSP e FUNDHERP
6. Abordagem proteômica na progressão tumoral de glioma.	
7. Níveis de algumas proteínas relacionadas à apoptose em células tronco hematopoéticas e células tronco leucêmicas.	L.J. Greene, FMRPUSP e FUNDHERP
8. Caracterização do fosfoproteoma, proliferação e migração em linhagens celulares tumorigênica e não tumorigênicas, derivadas de glioblastoma humano.	J.C. Rosa, FMRPUSP e FUNDHERP
9. Estudo das modificações pós-tradução em proteínas diferencialmente expressas em um modelo de melanoma murino.	J.C. Rosa, FMRPUSP e FUNDHERP
10. Análise proteômica em cultura de células osteoblásticas.	A.L. Rosa, FORPUSP
11. Análise proteômica de protozoários de interesse médico e veterinário.	R.J. Ward, FFCLRPUSP
12. Análise da expressão de proteínas de Leptospira.	A.L.T.O. Nascimento, Instituto Butantã
13. Identificação de proteínas diferencialmente expressas Aspergillus nidulans e fumigatus e Metarhizium anisopliae.	S.A. Uyemura, FCFRPUSP
14. Estudo molecular e funcional da oncoproteína Set.	A.M. Leopoldino, FCFRPUSP
15. Análise proteômica da membrana de eritrócitos de pacientes com anemia falciforme.	M.S.M. Cavalcanti, UFPE

Os recursos aprovados no Programa GenoProt permitiram a aquisição de um espectrômetro de massas tipo MALDI-TOF-TOF, um sistema de nanoHPLC e um sistema de coleta diretamente em placa de MALDI., os quais estão em operação desde outubro/novembro de 2008.

PRODUÇÃO CIENTÍFICA RESULTANTE

Dissertações e Teses

1. Ferreira GA. Identificação de fosfoproteínas em células de uma linhagem de linfoma do manto. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Área de concentração: Biologia Celular e Molecular. Orientador: Lewis Joel Greene, 2008.
2. Sousa LO. Determinação dos níveis de algumas proteínas relacionadas ao processo apoptótico e controle do ciclo celular de células precursoras hematopoéticas normais e células precursoras leucêmicas. Dissertação de mestrado. Universidade de São Paulo, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto. Área de concentração: Biologia Celular e Molecular. Orientador: Lewis Joel Greene, 2009.

3. Tomazella GG. Análise proteômica de neutrófilos humanos e procura por proteínas ligantes de galectina-3. Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Área de concentração: Bioquímica, 2009.
4. D'Ávila de Castro AC. Análise funcional e perfil proteômico. Efeito de diferentes estímulos sobre a diferenciação das células dendríticas plasmocitoides a partir de células CD34⁺ de sangue de cordão umbilical humano. Tese apresentada à Universidade Federal de São Paulo, Escola Paulista de Medicina. Área de concentração: Bioquímica, 2009.

Apresentações em reuniões científicas

1. SOUZA VCO, GIMENEZ M, IZUMI C, CATALAN AMC, VERÍSSIMO OFA, SIMÕES BP, ROSA JC. Correlation of proteomic and clinical data of patients with chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). **HUPO 7th World Congress**, 2008, Amsterdam.
2. ALMEIDA DC, FONTES AM, ORELLANA MD, OLIVEIRA FM, PALMA PVB, MELO FUF, CARUSO SR, CÂNDIDO KS, GREENE LJ, COVAS DT. Biological similarities among umbilical cord vein and bone marrow-derived mesenchymal stem cells. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009. Pôster (A-9).
3. FERREIRA GA, THOMÉ CH, CATALÁN AMC, SANTOS GAS, EBERLIN MN, ROSA JC, FAÇA VM, GREENE LJ. Analysis of mantle cell lymphoma phosphoproteome. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009. Poster A21.
4. GIMENEZ M, RAMÃO A, BARBIERI MR, IZUMI C, OBA-SHINJO SM, MARIE SKN, ROSA JC. Correlation of nucleophosmin, CRMP2 and RKIP with tumor progression in astrocytomas. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009.
5. LAURE HJ, BARBIERI MR, GIMENEZ M, IZUMI C, ZIMMERMANN L, CHAMMAS R, ROSA JC. Phosphoproteome of Melan-a, TM1 and TM5 cells using liquid chromatography off-line MALDI-TOF/TOF-MS. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009.
6. MIRANDA HC, GOMES GG, THOMÉ CH, PANEUCCI RA, COVAS DT, GREENE LJ. Proteomic comparison through 2D-DIGE of human mesenchymal stem cells from bone marrow and umbilical cord vein. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009. Poster A-23.
7. PAULA LB, GIMENEZ M, RAMÃO A, IZUMI C, LAURE HJ, ROSA JC. Optimization of trypsin digestion and mass spectrometry analysis for shotgun proteomics. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009. Poster A-36.
8. RAMÃO A, GIMENEZ M, IZUMI C, ORELLANA MD, OBA-SHINJO SM, MARIE SKN, ROSA JC. Evaluation of proliferation and migration of T98G and U87MG cells under EGF stimulus. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009.
9. SOUSA LO, SANTOS GAS, LAURE HJ, OLIVEIRA FM, HERRERO CF, DEFINO HLA, REGO EM, GREENE LJ. Proteome of precursor hematopoietic cells from patients with acute myeloid leukemia. **XXXVIII Annual Meeting of The Brazilian Society for Biochemistry and Molecular Biology (SBBq)**, Águas de Lindóia, São Paulo, Brazil, on May 16 to 19, 2009. Poster A-35.

Trabalhos em fase de submissão

1. GIMENEZ M, SOUSA VCO, IZUMI C, BARBIERI MR, CHAMMAS R, OBA-SHINJO S, MAIRE SKN, ROSA JC. Expression levels of nucleophosmin is correlated to tumor brain progression of low grade to high grade astrocytoma. Submetido a **Molecular and Cellular Proteomics**.

2. D'ÁVILA DE CASTRO AC, DA SILVA I, OLIVEIRA CJ, MENEZES CCBO, PALMA PVB, ORELLANA MD, COVAS DT, CHAMMAS R, GREENE LJ. Human plasmacytoid dendritic cells matured with CpG 1826 + IL-3 present higher levels of migration, IFN- α secretion and induction of T lymphocyte proliferation than cells matured with CD40L + IL-3. Submetido a **Leukocyte Biology**.
3. TOMAZELLA GG, DA SILVA I, LAURE HJ, ROSA JC, CHAMMAS R, WIKER HG, DE SOUZA GA, GREENE LJ. Proteomic analysis of total soluble proteins of human neutrophils. Submetido a **Proteome Science**.
4. DA SILVA, I., CASTRO, A. C. D., MENEZES, C.C.B.O., PALMA, P.V.B., ORELLANA, M.D., COVAS, D.T., CHAMMAS, R., GREENE, L.J. When a mixture of IL-18 plus PGE₂ are used to mature human dendritic cells they gain the ability to migrate and secrete IL-12 when compared to the stimuli used individually. Submetido a **Journal of Immunology**.

Projeto: "GENPROSAUD – Proteômica Funcional para elaboração de ferramentas biotecnológicas para o tratamento de doenças negligenciadas com especial ênfase em malária e Leishmaniose"

Coordenação: Prof. Dr. Rodrigo Guerino Stábili (FIOCRUZ/UNIR, CEBio)

Subprojeto 1: Análise Proteômica associadas a moléculas bioativas para construção de sistemas nanoestruturados prevenção, tratamento e diagnóstico de malária e leishmaniose.

Prof. Dr. Pietro Ciancaglini (FFCLRP, IFSC/USP, CEBio)

Subprojeto 2: Implantação do banco de venenos e secreções para a Investigação de moléculas relevantes para desenvolvimento de insumos a partir de venenos de serpente e anuros.

Prof. Dr. Leonardo de Azevedo Calderon (UNIR-DEPMED, CEBio)

Subprojeto 3: Identificação de proteínas de *P. falciparum* associadas à superfície de eritrócitos infectados e diferencialmente reconhecidas por soros de assintomáticos ou sintomáticos.

Prof. Dr. Gerhard Wunderlich (ICB/USP, CEBio)

Instituições Envolvidas: Universidade Federal de Rondônia – UNIR, Instituto de Pesquisas em Patologias Tropicais – IPEPATRO, Fundação Oswaldo Cruz do Noroeste – Fiocruz Noroeste, Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto – FFCLRP/USP, Instituto de Física de São Carlos – IFSC/USP, Instituto de Ciências Biomédicas – ICB/USP e Universidade Federal do Acre Campus de Cruzeiro do Sul – UFAC/CZS

A abordagem moderna de desenvolvimento de medicamentos para doenças mais complexas, sobretudo as doenças endêmicas negligenciadas, como a malária e a leishmaniose, está baseada no uso de alvos moleculares definidos e mecanismos de dispersão de drogas. Entre outras vantagens, esta abordagem (i) permite encontrar moléculas líderes com mecanismos de ação definidos no alvo desejado, (ii) permite a análise de um grande número de compostos por um custo/benefício favorável, (iii) possibilita, já nos primeiros estágios, o desenvolvimento de fármacos com toxicidade seletiva (princípio básico da quimioterapia), (iv) permite avaliar o nível de dispersão controlada de drogas através de nanopartículas e nanossensores lipossomais ou nanoestruturas e, (v) avaliação do perfil imunomodulador, para confecção de vacinas e imunoterapia, de proteínas antigênicas relevantes do parasita perante a proteção adaptativa do hospedeiro.

O domínio destas abordagens está no momento concentrado nos países desenvolvidos, em especial nas grandes indústrias farmacêutica e é considerado o ponto mais relevante no desenvolvimento de fármacos por nanobiotecnologia. Tal fato contribui de forma significativa para a ausência de medicamentos inovadores para o tratamento das doenças dos países em desenvolvimento, sobretudo para as doenças negligenciadas e, mecanismos de diagnósticos mais efetivos.

O projeto GENPROSAUD propõe um estudo proteômico para a detecção de moléculas-alvo específicas em *Leishmania amazonense* e *Plasmodium falciparum* para desenvolvimento de novos fármacos ou imunomodulação. Ainda, as moléculas-alvo definidas serão desafiadas com moléculas da biodiversidade amazônica de origem vegetal ou secreções de anuros para proposição de novos fármacos desenhados especificamente para rotas metabólicas particulares do parasita ou contra soros de pacientes para o entendimento da imunoproteção para o desenho de vacinas. Nosso projeto traz uma proposta desafiadora e pode ser considerado inicial.

O financiamento aprovado no GENOPROT está sendo empregado para a melhoria da infra-estrutura para a análise proteômica através de géis bidimensionais associados a espectrometria de massa do tipo MALDI/TOF-TOF e microcalometria. O projeto já possui alguns resultados relevantes que estão apontando para a elucidação físico-química dos efeitos de proteção vacinal em *Leishmania* e os mecanismos de ação de alguns compostos isolados contra leishmaniose e malária.

Publicações:

1. COLHONE, M.; NOBRE, T.; ZANIQUELLI, M.; STABELI, R. G.; CIANCAGLINI, P. Incorporation of antigenic GPI-proteins from *Leishmania amazonensis* to membrane mimetic systems: influence of DPPC/cholesterol ratio. **Journal of Colloid and Interface Science**, 333, 373–379, 2009.
2. CALDERON, L. A.; MESSIAS, M. R.; SERRANO, R. P.; ZAQUEO, K. D.; SOUZA, E. S.; NIENOW, S. S.; CARDOSO-FILHO, J. L.; Delaix-Zaqueo, K.; STABELI, R. G. Amphibia, Anura, Phyllomedusinae, Phyllomedusa azurea: distribution extension and geographic distribution map. **Check List (UNESP)**, v. 5, p. 317-319, 2009.
3. CALDERON, L. A.; JARDIM, I. S.; ZULIANI, J.; SILVA, A. A.; CIANCAGLINI, P.; SILVA, L. H. P.; STABELI, R. G. Amazonian biodiversity: a view of drug development for leishmaniasis and malaria. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, 2009. No prelo.
4. ZANCHI, F. B.; CÁCERES, R.; STABELI, R. G.; AZEVEDO JR, W. F. Molecular dynamics studies of a hexameric purine nucleoside phosphorylase. **Journal of Molecular Modeling**, 2009. No prelo.

Projeto: Qualidade do Café - Aroma e Sabor a Partir de Proteínas e Metabólitos

Coordenador: Alan Carvalho Andrade – Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Tendo em vista a importância sócio-econômica do agronegócio café como importante fonte de renda e geração de empregos para o país, foi concluído em 2004 com o apoio do Consórcio Brasileiro de Pesquisa e Desenvolvimento do Café (CBP&D-Café), EMBRAPA e FAPESP, o Projeto Genoma Café, que consistiu no seqüenciamento de mais de 200 mil ESTs (Expressed Sequence Tags) e possibilitou a identificação de 35 mil genes distintos. Esses genes foram catalogados e organizados em Bases de Dados, permitindo o acesso de toda comunidade científica nacional envolvida na pesquisa genética do cafeeiro. Essa decisão estratégica do Consórcio assegurou ao país até o momento, a posição de líder mundial nas pesquisas em genômica do cafeeiro, com alta repercussão nacional e internacional. Vários trabalhos de prospecção de genes de interesse agrônomo e biotecnológico, direcionados principalmente para a identificação de genes envolvidos nas respostas aos estresses bióticos e abióticos, se encontram atualmente em andamento com o apoio do CBP&D-Café, FINEP e Fundações Estaduais de Apoio à Pesquisa. Entretanto, o cenário mercadológico mundial, exige atualmente das empresas dos diversos setores, seja de produtos ou de serviços, uma busca incessante da qualidade como fator de sobrevivência e competitividade. Na cadeia produtiva do café no Brasil a grande oferta do produto nos mercados nacional e internacional exige cada vez mais deste setor, eficácia e qualidade. O consumidor, percebendo a grande diferença entre as diversas qualidades do produto, passa a valorizar, junto com o expresso, também o torrado e moído de melhor sabor, aroma fragrância e pureza. A distinção entre os produtos demanda matérias-primas diferenciadas para a fabricação de expresso, cafés especiais e gourmet. Nisso, as vantagens naturais do Brasil para o cultivo do café, como

solo e clima, além de tecnologia, colocam o país em posição privilegiada para fornecer ao mundo todos os tipos de cafés demandados pelos mais diversos e exigentes mercados. A qualidade do café se acha estreitamente relacionada com os constituintes químicos responsáveis pelo sabor e aroma, presentes nos grãos verdes utilizados no processamento e torra. Os compostos químicos do grão de café verde dependem de fatores genéticos, influenciados pelo ambiente, pelas condições de manejo no campo e pelo processamento do produto após a colheita. Entre os compostos, se sobressaem os açúcares, os ácidos, os compostos fenólicos, a cafeína, os compostos voláteis, os ácidos graxos, as proteínas e algumas enzimas, que, de acordo com seus teores e atividades, conferem ao café sabores e aromas peculiares. Com exceção do metabolismo de cafeína, um número limitado de dados relacionados aos genes e enzimas envolvidos em rotas metabólicas importantes para a qualidade de bebida, está disponível. O desenvolvimento do fruto de café é um processo longo, caracterizado por várias mudanças e evoluções nos tecidos, sendo que importantes alterações bioquímicas quantitativas e qualitativas acompanham esse desenvolvimento do fruto, ilustrando a importância do seu estudo para melhor compreender as características finais dos grãos de café. Desta forma, a presente proposta visa a realização de análises integradas dos perfis de transcrição gênica, proteico e metabólico, de frutos de café em diferentes estágios de desenvolvimento e condições de cultivo, visando a elucidação de rotas biossintéticas ainda desconhecidas e que afetam diretamente a qualidade de bebida. A execução desta proposta visa também consolidar uma rede inovadora de pesquisa, trabalhando conjuntamente os diferentes níveis de constituição e regulação celular (expressão gênica, proteínas e metabólitos), sendo que os resultados a serem obtidos destas análises integradas, certamente irão propiciar um pacote metodológico robusto e eficaz para o rápido desenvolvimento de novas variedades de café com qualidade de bebida superior.

Publicações:

Capítulos de livros publicados:

LASHERMES, P.; ANDRADE, A. C.; ETIENNE, H. Genomics of Coffee, One of The World's Largest Traded Commodities. In: Paul H. Moore; Ray Ming. (Org.). **Genomics of Tropical Crop Plants**. New York: Springer, 2008, v. 1, p. 203-226.

Artigos completos publicados em periódicos:

1. BANDEIRA, R. D. C.; TOCI, A. T.; TRUGO, L. C.; FARAH, A. Composição volátil dos defeitos intrínsecos do café por CG/EM-Headspace. **Química Nova**, v. 32, p. 309-314, 2009.
2. DUARTE, G.; PEREIRA, A.; FARAH, A. Chlorogenic acids and other relevant compounds in Brazilian coffees processed by semi-dry and wet post-harvesting methods. **Food Chemistry**, 2009.
3. PERRONE, D.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M.; De PAULIS, T.; MARTIN, P. R. Comprehensive analysis of major and minor chlorogenic acids and lactones in green and roasted economically relevant Brazilian coffee cultivars. **Food Chemistry**, v. 106, p. 859-867, 2008.
4. FARAH, A.; TOCI, A. T. Volatile compounds as potential defective coffee beans markers. *IBN*, v. 108, p. 1133-1141, 2008.

Trabalhos completos publicados em anais de congressos:

1. MERA, A.C., ALVES, G.S.C., GUYOT, B., DAVRIEUX, F., RODRIGUES, G.C., MARRACCINI, P., ANDRADE, A.C. Efeitos de estresse hídrico na composição bioquímica de grãos de *Coffea arabica* cv. Rubi. In: VI Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, 2009, Vitória-ES.
2. ANDRADE, A. C. Advanced Biology Applied to Coffee Research - Current Status and Future Perspectives. In: 22nd ASIC, 2008, Campinas-SP. ASIC Proceedings, 2008.
3. DE ALMEIDA, J. D.; BARROS, L.M.G.; SANTOS, D.B.M.; COTTA, M.G.; BARBOSA, E. A.; CAÇÃO, S. M. B.; EIRA, M.T.S.; ALVES, G. S. C.; VINECKY, F.; PEREIRA, L. F. P.; DA SILVA, F. R.; ANDRADE, A. C.; MARRACCINI, P.; CARNEIRO, Mauro. Prospection of Tissue Specific Promoters in Coffee. In: 22nd ASIC, 2008, Campinas-SP. ASIC Proceedings, 2008.

4. ROCHA, E. A.; KURIBAYASHI, L. M.; PAIVA, L. V.; LACERDA, G.A.; PAULA, M.F.B. Obtenção de calos a partir de explantes foliares de cultivares de *Coffea arabica* L. para produção de cafés especiais. In: XVII Congresso de Pós-graduação da UFLA, 2008, Lavras. Anais do XVII Congresso de Pós-graduação da UFLA, 2008. p. 305-310
5. MARTINEZ, H E P; NEVES, Y. P.; FARAH, A.; PERRONE, D. Suprimento de Zinco, Produção e Qualidade do Grão de Café. In: XII Simposio Iberico de nutrición mineral de las plantas, 2008, Granada, Espanha. Anais del XII Simposio Iberico de nutrición mineral de las plantas, 2008.
6. TOCI, A. T., NETO, VJMF; TORRES, A.; FARAH, A. Storage of roasted coffee induces changes in unsaturated fatty acids from the triacylglycerol fraction. In: 22nd International Conference on Coffee Science, 2008, Campinas, SP. Proceedings on the 22nd International Conference on Coffee Science, 2008.
7. PERRONE, D.; NEVES, Y. P.; BRANDAO, J. M.; MARTINEZ, H E P; FARAH, A. Influence of zinc fertilization on chlorogenic acids and antioxidant activity of coffee beans. In: 22nd International Conference on Coffee Science, 2008, Campinas, SP. proceedings of the 22nd International Conference on Coffee Science, 2008.
8. FARAH, A.; BENEDETTI, M. New volatile compounds as Brazilian defective coffee beans's markers. In: 22nd International Conference on Coffee Science, 2008, Campinas, SP. Proceedings on the 22nd International Conference on Coffee Science, 2008.
9. PERRONE, D.; FARAH, A.; DONANGELO, C. M. Contribution of chlorogenic acids and melanoidins to coffee antioxidant activity. In: 22nd International Conference on Coffee Science, 2008, Campinas, SP. proceedings of the 22nd International Conference on Coffee Science, 2008.
10. DELIZA, R.; MARTINELLI; FARAH, A. Sensory profiling and external preference mapping of coffee beverages with different levels of defective beans. In: 22nd International Conference on Coffee Science, 2008, Campinas, SP. proceedings of the 22nd International Conference on Coffee Science., 2008

Resumos publicados em anais de congressos:

1. VIEIRA, L. G. E.; ANDRADE, A.C. Status and Perspectives of coffee functional genomics. In: II Simpósio Brasileiro de Genética Molecular de Plantas, 2009, Búzios. Programa e Resumos. Ribeirão Preto : SBG, 2009. p. 273
2. LIVRAMENTO, K. G. DO; JOSÉ, A. C.; BOREM, F. M.; PAIVA, L. V.; ALVES, J. D. Proteomic analysis of coffee beans submitted to different drying process. In: II Simpósio Brasileiro de Genética Molecular de Plantas, 2009, Búzios. Programa e Resumos. Ribeirão Preto: SBG, 2009.
3. BARBOSA, A.V., SALES, R.M.O.B., ANDRADE, A.C., DA SILVA, F.R. CoffEST: A Public Resource For *Coffea* spp. EST Analysis. In: Plant & Animal Genomes XVII Conference, 2009, San Diego, CA.
4. BARBOSA, E. A., HEIMBECK, I. G. R., SILVA, L. P., BLOCH JR, C., ANDRADE, A. C. Functional characterization of a novel lipid transfer protein (ltp) from coffee fruits In: 22nd ASIC, 2008, Campinas-SP. Book of Abstracts., 2008.
5. FELBERG, I.; FARAH, Adriana; SUNDFELD, E.; FARAH, Adriana; Donangelo, C.M. Preference mapping of instant coffee made from arabica and conillon beans. In: The 14th IUFOST World Congress of Food Science and Technology, 2008, Shanghai, China. Annals of the 14th IUFOST World Congress of Food Science and Technology, 2008. p. 455.

Teses:

Kalynka Gabriella do Livramento. Proteômica diferencial de café arábica submetido a diferentes processamentos e secagem. 2008. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal) - Universidade Federal de Lavras, Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior. Co-Orientador: Luciano Vilela Paiva.

Projeto: GENOPROT – DENGUE: Ferramentas de Genômica e Proteômica na Identificação de Alvos Moleculares para Diagnóstico e Terapia da Dengue

Coordenação: Paulo Mascarello Bisch - Universidade Federal do Rio de Janeiro

Execução: Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho (IBCCF) da UFRJ, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ); Instituto de Bioquímica Médica (IBqM) da UFRJ; Universidade Federal de Pernambuco (UFPE); Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC); Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ); Faculdade de Medicina São José do Rio Preto (FAMERP), Rede Proteômica do Rio de Janeiro.

Objetivo Geral

O objetivo geral deste projeto é a formação de uma rede de pesquisa multidisciplinar focada no estudo da doença causada pelo vírus da dengue, utilizando as técnicas avançadas de pós-genômica e proteômica. A complexidade das manifestações clínicas da dengue levanta a questão de que tanto componentes virais como fatores celulares estejam envolvidos no desenvolvimento da doença. Entretanto, os papéis exatos dos componentes virais e dos fatores do hospedeiro no comprometimento dos diferentes órgãos ainda são pouco conhecidos. O fígado aparece como alvo importante da infecção e especialmente correlacionado com a progressão da doença, mas tendo em vista as dificuldades de se trabalhar com biópsias hepáticas de humanos infectados e de se estabelecer linhagens primárias de hepatócitos humanos, os mecanismos moleculares envolvidos nas disfunções e morte das células hepáticas em decorrência da infecção ainda são obscuros. Assim, o uso de uma linhagem celular de hepatocarcinoma humano (HepG2) consiste na alternativa de escolha para estudo do papel do fígado humano na evolução da patologia assim como para a compreensão dos papéis dos componentes virais e dos fatores do hospedeiro da patogênese. Nossa hipótese é a de que com esse sistema poderemos obter informações importantes a respeito da interação do vírus da dengue com células hepáticas humanas, viabilizando a identificação de novos alvos terapêuticos assim como de marcadores para diagnóstico ou prognóstico de agravamento. A falta de um modelo animal que reproduza todas as manifestações da doença reforça a necessidade do estudo dos efeitos do vírus em suas células-alvo, assim como o mapeamento das proteínas virais e celulares envolvidas na patogênese. No presente projeto, pretendemos analisar o efeito da infecção com o vírus ou de proteínas virais expressas ou adicionadas isoladamente em três tipos células humanas, a saber, células hepáticas (HepG2) e células vasculares endoteliais (HUVEC, ECV304) e muscular lisa (A577). Os principais pontos a serem estudados são: a entrada do vírus na célula hospedeira, os mecanismos pelos quais são alteradas as cascatas de sinalização intracelular durante a infecção e os efeitos sobre o metabolismo energético celular. Também estudaremos as alterações na expressão e secreção de proteínas e peptídeos celulares. Estes estudos serão apoiados por uma análise global de expressão de proteínas obtida pelas técnicas de proteoma e microarray.

Objetivos Específicos

1. Determinação da estrutura tridimensional em alta resolução do peptídeo de fusão do vírus da dengue livre em solução e ligado à membrana;
2. Estudo da interação da glicoproteína E recombinante com membranas miméticas (lipossomas), usando calorimetria e métodos espectroscópicos, tais como fluorescência e dicroísmo circular;
3. Clonagem, expressão e purificação das proteínas E, NS1 e NS3 em *Pichia pastoris*;
4. Análise do efeito da infecção ou da expressão isolada das proteínas NS1 e NS3 em células HepG2 sobre o padrão de expressão de proteínas associadas à homeostase sintetizadas no fígado;
5. Análise da expressão diferencial de mRNA em células HepG2 durante a infecção pelo vírus da dengue;
6. Obtenção de mapas protéicos bidimensionais dos extratos de células HepG2 controle e infectadas com os diferentes sub-tipos de vírus da dengue;
7. Obtenção de mapas protéicos bidimensionais dos secretados de células HepG2 controle e infectadas;
8. Comparação dos mapas obtidos para os diferentes estágios de infecção pelo vírus, e estudo das proteínas diferencialmente expressas;

9. Análise proteômica de mitocôndrias isoladas de células HepG2 após a infecção com vírus ou a transfecção com as proteínas NS1 e NS3;
10. Identificação de proteínas celulares modificadas por fosforilação (usando a abordagem do fosfoproteoma);
11. Análise das vias de sinalização celular que levem à apoptose e/ou à secreção de proteínas relacionadas com a infecção;
12. Identificação de possíveis proteínas celulares que possam interagir com as proteínas NS1 e NS3 através de ensaios de imunoprecipitação seguidos de análises proteômicas;
13. Obtenção de lectinas de plantas purificadas;
14. Interação com resinas para confecção de colunas;
15. Análise de glicoproteínas plasmáticas que interagem com as colunas de lectinas;
16. Padronização da técnica de eletroforese bidimensional para análise de amostras de plasma humano, com ênfase na expressão de proteínas de fase aguda;
17. Comparação dos dados obtidos in vitro com os obtidos nos experimentos com os plasmas na busca de novos marcadores.

Impactos Esperados

Conhecer o mecanismo de proliferação viral e a resposta da célula hospedeira certamente contribuirá para a compreensão das bases moleculares da doença. Um aspecto relevante dentro do nosso projeto envolvido com pesquisa fundamental ou básica é a compreensão das estratégias utilizadas pelos vírus para interagir com as células hospedeiras. Com o sequenciamento de DNA foi muito simples identificar as proteínas que são codificadas pelo vírus da dengue e classificar os diferentes subtipos, mas isto agora levanta o desafio para entender como cada uma destas proteínas interage com a célula e manipula as diferentes funções como resposta imune, metabolismo, síntese de proteínas de estresse. Estamos estudando a mudança global de expressão gênica durante a infecção do vírus, utilizando como estratégia a técnica de microarray. Os resultados deste estudo têm complementado os esforços feitos pelo projeto Dengue-Proteoma, do qual participamos, para identificar mecanismos moleculares ativam a resposta celular. Os benefícios finais deste estudo serão a detecção de proteínas ativadas especificamente pelo vírus da dengue e poderá abrir novas oportunidades de desenvolvimento de vacinas e ensaios de detecção do vírus.

Além disso, os poucos estudos existentes indicando o envolvimento de determinadas proteínas na patogênese da dengue foram, em sua maioria, realizados através de ensaios de imunoafinidade. Apesar de sua alta sensibilidade, uma das limitações desses ensaios é a detecção de uma única proteína por vez. A proteína a ser detectada tem que ser conhecida de antemão, uma vez que os ensaios de imunoafinidade utilizam anticorpos específicos para cada antígeno. Com a abordagem proteômica, tem sido possível a realização de estudos que permitam a detecção de dezenas de proteínas alteradas durante a infecção da célula HepG2 pelo vírus da dengue ao mesmo tempo, obtendo-se uma visão global e integrada dos processos celulares implicados na doença. Trata-se de resultados inéditos na literatura e que poderão contribuir significativamente para o avanço do conhecimento científico na área.

Resultados Iniciais

Em 2008 no contexto do projeto foram defendidas: 2 Teses de Doutorado, 4 Dissertações de Mestrado e 2 monografias. Além disso, 2 doutores foram contratados com a bolsa DTI-1A para trabalhar em temas específicos do projeto e como fruto dos trabalhos preliminares estão sendo publicados os seguintes artigos:

1. Stauffer FJS, Melo MN, Carneiro FA, Sousa FJR, Juliano MA, Juliano L, Mohana-Borges R, Da Poian AT, Castanho MARB (2008) Interaction between dengue virus fusion peptide and lipid bilayers depends on peptide clustering. **Molecular Membrane Biology**, v. 25, p. 128-138.
2. Higa LM, Cardoso MB, Canellas F, Soares MR, Oliveira-Carvalho AL, Chapeaurouge A, Almeida PM, Perales J, Zingali RB, Da Poian AT (2008) Secretome of HepG2 cells infected with dengue virus: Implications for pathogenesis. **BBA - Proteins and Proteomics**, v. 1784, p. 1607-1616.

- Oliveira MDL, Correia MTS, Coelho LCBB, Diniz FB (2008) Electrochemical evaluation of lectin-sugar interaction on gold electrode modified with colloidal gold and polyvinyl butyral. **Colloids and Surfaces. B, Biointerfaces**, v. 66, p. 13-19.
- Pereira da Silva AP, El-Bacha T, Kyaw N, dos Santos R, da-Silva W, Almeida F, Da Poian AT, Galina A (2009) Inhibition of energy-producing pathways of HepG2 cells by 3-bromopyruvate. **Biochemical Journal** (London), v. 417(3), p. 717-726.
- Da Poian, AT; Almeida, F; Valente, AP; Mohana-Borges, R; Neto, FG. (2008) NMR to access the transient interactions between viral fusion peptides and their target membranes. In: Miguel A. R. B. Castanho. (Org.). **Membrane-active peptides: methods and results on structure and function**. 1 ed. La Jolla, California, EUA: International University Line, v. 1, chapter: 17, in press.

Projeto: “Respostas moleculares em camarões de cultivo, *Litopenaeus vannamei*, infectados com o vírus da mancha branca e sob condições de estresse”

Coordenação: Maria Risoleta Freire Marques – Universidade Federal de Santa Catarina

A intensificação da ocorrência de doenças na carcinicultura constitui um sério obstáculo para o crescimento e a sustentabilidade desta atividade aquícola em nível mundial. Dentre os agentes etiológicos de doenças em camarões peneídeos, destacam-se os vírus; em particular o vírus da síndrome da mancha branca (*White Spot Syndrome Virus*, WSSV), o qual tem causado alta mortalidade nos cultivos em diferentes países, associada a perdas econômicas significativas. No Brasil, apesar das fronteiras terem sido fechadas em 1999 para a importação de crustáceos, com o objetivo de evitar a introdução de doenças, os primeiros sinais clínicos da presença do WSSV foram registrados em novembro de 2004 em fazendas da região sul de Santa Catarina, resultando em um impacto socioeconômico sem precedentes. O diagnóstico da síndrome da mancha branca foi confirmado em janeiro de 2005, em fazendas nos municípios de Imariuí e Laguna, sendo o vazo sanitário uma das medidas sanitárias inicialmente adotadas na região. Neste contexto, o desenvolvimento de ferramentas e estratégias de diagnóstico e o estabelecimento de medidas sanitárias apropriadas representam aspectos relevantes de estudo. Entretanto, são ainda pouco estudadas e conhecidas as formas de dispersão do vírus e as respostas do hospedeiro frente à infecção pelo WSSV. Dado que os camarões em sistemas de cultivo apresentam maior contato entre si, restrição de movimento, estando sujeitos muitas vezes à baixa qualidade da água, mudanças repentinas na salinidade, temperatura e oxigênio dissolvido, exposição à xenobióticos, além da manipulação, o efeito destas condições como agentes estressores não pode ser negligenciado. O estresse pode afetar diretamente as respostas metabólicas e as repostas moleculares de defesa, podendo contribuir para uma maior susceptibilidade do hospedeiro à ação do agente patogênico. A identificação de genes e de proteínas associadas a estas respostas e a influência de agentes estressores sobre a expressão dos mesmos constitui, sem dúvida, uma contribuição importante para o conhecimento dos mecanismos relacionados ao estabelecimento da infecção viral, seus efeitos sobre o metabolismo e o sistema imune do hospedeiro, podendo contribuir para o desenvolvimento de estratégias que possam minimizar o impacto da doença, bem como abrir perspectivas para o desenvolvimento de um conjunto de marcadores moleculares de susceptibilidade e de monitoramento dos cultivos.

Resultado esperados do projeto: A) Contribuir para o conhecimento das respostas moleculares de camarões *Litopenaeus vannamei* desencadeadas com a infecção pelo vírus da síndrome da mancha branca (WSSV); B) Comparar as repostas moleculares à infecção pelo WSSV em condições de estresse causado pela salinidade e pelo xenobiótico permetrina; C) Delinear um conjunto de biomarcadores moleculares de susceptibilidade e de resposta ao WSSV.

Neste projeto estamos avaliando por métodos de proteômica, proteínas expressas diferencialmente em camarões de cultivo infectados naturalmente pelo WSSV. A detecção do WSSV para a seleção dos animais foi realizada através de PCR *nested* e a quantificação da carga viral nas amostras através de PCR quantitativo (*qPCR*). O perfil de proteínas expressas diferencialmente em brânquias e em

hemócitos está sendo comparado com aquele obtido em camarões de cultivo não-infectados pelo vírus. Através da mesma abordagem, por meio de eletroforese bidimensional, está sendo analisado o perfil de proteínas que apresentam expressão diferencial em camarões submetidos a estresse frente a salinidade e à exposição a permetrina. Os resultados iniciais mostraram níveis significativamente elevados da proteína de estresse HSP70 nos animais infectados pelo WSSV, o que foi confirmado por ensaios de imunodeteção (*Western Blotting*). Observamos ainda que a expressão da proteína ubiquitina parece ter sido alterada como consequência da infecção pelo WSSV. Esta observação encontra paralelo nos resultados que obtivemos por hibridização subtrativa supressiva (SSH), uma vez que identificamos o gene que codifica esta proteína, como um entre aqueles genes que se mostraram induzidos nos animais positivos para o WSSV. Até o momento, a clonagem em pGEM dos cDNAs expressos diferencialmente em animais expostos a salinidade baixa (10 ppm) e que codificam possíveis proteínas expressas diferencialmente nesta condição de estresse permitiu identificar uma seqüência compatível com a proteína tripsina.

Equipe envolvida neste projeto: UFSC - 2 professores (Afonso Celso Dias Bainy, Maria Risoleta Freire Marques), 4 doutorandos (Isabel Cristina Müller, Juliana Righetto Moser, Pedro Alexandre Valentim Neto, Daniela Maggioni), 1 mestrandia (Ana Paula de Medeiros Fraga); EPAGRI - 1 pesquisador (Sérgio Winckler), 1 extensionista (Albertino Zamparetti).

Projeto: “S-Nitrosilação de fatores de transcrição e morte celular programada em plantas”

Coordenação: Ana Carolina Maisonnave Arisi – Universidade Federal de Santa Catarina

Os mecanismos moleculares que modulam a expressão gênica por meio de óxido nítrico são ainda pouco explorados e conhecidos. Informações fragmentárias sugerem um papel para a S-nitrosilação; no entanto poucos estudos foram realizados para confirmar a importância desta modificação pós-traducional em plantas. Apesar que virtualmente cada proteína contém resíduos de cisteína e que muitas células produzem NO, somente uma fração precisa de alvos proteicos são nitrosilados. A identificação de proteínas suscetíveis a esta modificação é, sem dúvida, uma ajuda no entendimento das consequências funcionais e da relevância da S-nitrosilação.

A atividade dos fatores de transcrição da família MYB é fortemente influenciada por NO em animais. Em *Arabidopsis thaliana*, R2R3-MYB constitui a maior família de genes MYB presente, controlando vários aspectos do metabolismo secundário, assim com a identidade e destino final de desenvolvimento das células de plantas.

Araucária é uma conífera nativa do sul do Brasil considerada uma espécie em perigo de extinção, a embriogênese somática de araucária está sendo avaliada como alternativa para sua propagação. O conhecimento dos eventos que ocorrem durante o desenvolvimento inicial do embrião somático é fundamental para aumentar a eficiência dos protocolos de embriogênese de araucária. Observou-se que o tratamento de células embrionárias de araucária com putrescina levou ao aumento da liberação de óxido nítrico, sendo assim, a síntese de NO estaria relacionada à manutenção da polaridade do embrião somático de araucária.

Resultado Esperados do projeto: A) Contribuir para o conhecimento do mecanismo molecular da ação do óxido nítrico na expressão gênica em plantas; B) Avaliar a importância da S-nitrosilação como mecanismo regulatório de morte celular programada, resistência a patógenos e embriogênese em plantas.

Neste projeto estamos avaliando por métodos de proteômica, proteínas nitrosiladas em cultivo celular de araucária (*A. angustifolia*) em diferentes condições e fases da embriogênese. O proteoma durante a fase pró-embriônica, embriogênese inicial e final do embrião somático de *A. angustifolia* foi avaliado por meio da análise em eletroforese bidimensional e foram identificadas proteínas que apresentaram expressão diferencial durante os distintos estádios. Proteína de reserva vicilina foi observada em embriões somáticos no início da embriogênese final de forma similar ao observado na embriogênese zigótica.

O ensaio Biotin Switch foi padronizado para marcação das proteínas nitrosiladas nos cultivos de araucária e atualmente está sendo realizada a análise proteômica das proteínas nitrosiladas.

A clonagem em pGEM dos cDNAs que codificam possíveis fatores de transcrição R2R3-MYB de araucária e de genes envolvidos nos processos do desenvolvimento embrionário em plantas, tais como WOX, AGO, CUC, foi realizada.

As proteínas At Myb2 e a mutante em Cys 61, possivelmente insensível a modulação redox por adição de um grupo NO em Cys, foram subclonadas em vetor pET, expressas em bactéria e purificadas a homogeneidade. Ensaio de ligação ao DNA estão em andamento para determinar os parâmetros cinéticos e de afinidade de ligação aos sítios específicos e inespecíficos. Por outro lado, evidências diretas de adição de grupos NO em Cys63 estão sendo avaliados por metodologias de espectrometria de massa em tandem, utilizando ionização por electrospray.

Equipe envolvida neste projeto na UFSC: 3 professores (Miguel Pedro Guerra, Hernán Terenzi, Ana Carolina Maisonnave Arisi), 2 posdocs (Gabriela Cangahuala Inocente, Paulo Schogl) 1 doutorando (Neusa Steiner) e 2 mestrandos (Carla Souza Mello, Carolina Tavares). Pesquisadores Emanuel Maltempi de Souza, UFPR e Eny Floh, USP.

Publicações:

1. CANGAHUALA-INOCENTE, G.C.; VILLARINO, A.; SEIXAS, D.; DUMAS-GAUDOT, E.; TEREZI, H.; GUERRA, M. P. Differential proteomic analysis of developmental stages of *Acca sellowiana* somatic embryos. **Acta Physiologiae Plantarum**, v. 33, p. 45-53, 2009.
2. WENDT, A. L.; STEINER, N.; GUERRA, M. P.; ZOGLAUER, K.; MOERSCHBACHER, B. M. Somatic Embryogenesis in *Araucaria angustifolia*. **Biologia Plantarum**, v. 52, p. 195-199, 2008.
3. SILVEIRA, V.; SANTA-CATARINA, C.; BALBUENA, T. S.; MORAES, F. M. S.; RICARTS, C. A. O.; SOUZA, M. V.; GUERRA, M. P.; HANDRO, W.; FLOH, E. I. S. Endogenous abscisic acid and protein contents during seed development of *Araucaria angustifolia*. **Biologia Plantarum**, v. 52, p. 101-104, 2008.
4. STEINER, N.; CATARINA, C. S.; ANDRADE, J. B. R.; BALBUENA, T. S.; GUERRA, M. P.; HANDRO, W.; FLOH, E. I. S.; SILVEIRA, V. *Araucaria angustifolia* Biotechnology. **Functional Plant Science and Biotechnology**, v. 2, p. 20-28, 2008.

Projeto: "Software para análise genômica em ambiente computacional cooperativo e distribuído na Região Centro-Oeste – BIOFOCO III"

Coordenação: Maria Emilia Machado Telles Walter – Universidade de Brasília

Neste projeto, visamos desenvolver softwares para análises genômicas a serem executados em ambiente cooperativo e distribuídos na Região Centro-Oeste. Deste projeto fazem parte cientistas da computação e biólogos moleculares, afiliados a quatro instituições de pesquisa em Biologia Molecular e Bioinformática da Região Centro-Oeste, a saber, Universidade de Brasília – Departamento de Ciência da Computação e Departamento de Biologia Celular, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul - Departamento de Ciência da Computação e Estatística, Universidade de Goiás – Instituto de Informática e Instituto de Ciências Biológicas/Campus de Goiânia, e Departamento de Ciência da Computação/Campus de Catalão e Embrapa/Recursos Genéticos e Biotecnologia – Laboratório de Bioinformática.

O projeto foi dividido em três subprojetos, a saber, algoritmos, sistemas distribuídos e hardware reconfigurável. No subprojeto de algoritmos, vem sendo estudados especificamente tópicos em genômica comparativa, identificação de RNAs não-codificadores e redes metabólicas. Em genômica comparativa, já foram concluídos ou estão em fase de conclusão até julho/2009: o programa n3GC para comparação de três genomas e o sistema BioAgents para auxílio à anotação de seqüências biológicas. Estão sendo implementadas várias medidas para determinar quão similares são duas seqüências, que deverão ser utilizadas para criar uma nova versão do n3GC. Dentro do subprojeto de RNAs não-codificadores (ncRNAs), desenvolvemos dois programas para identificação de ncRNAs – otimização do SVM-PORTRAIT (baseado em um modelo de redes neurais denominado *Support Vector Machine*) e PROB-ncRNA (baseado em probabilidades), além de um programa para classificação de ncRNAs baseado em Complexidade de Kolmogorov. Por fim, um sistema para verificação e análise de vias metabólicas também foi concluído.

Todos estes softwares serão disponibilizados em um sistema distribuído, que corresponde ao subprojeto sistemas distribuídos, e deverão conectar quatro instituições integrantes deste projeto, em quatro cidades (Brasília, Campo Grande, Goiânia e Catalão). A tecnologia adotada para o sistema distribuído é baseada em *Desktop grid (Peer-to-Peer)*, e um protótipo desenvolvido em Brasília, ligando a UnB e a Embrapa/Recursos Genéticos e Biotecnologia, deverá ser concluído até agosto de 2009. Com base nestes estudos, previmos a implantação nestas quatro cidades até o primeiro semestre de 2010. Este sistema distribuído permitirá melhor compartilhamento e alocação de recursos computacionais, pelo gerenciamento da execução simultânea de tarefas computacionais, particionando-as entre um grupo de computadores de forma eficiente e tolerante a falhas, visando principalmente maximizar o potencial computacional das instituições integrantes do sistema.

Por fim, dentro do subprojeto de hardware reconfigurável, um algoritmo de comparação de uma seqüência biológica com uma família de seqüências, baseado em *Hidden Markov Model* com o algoritmo de Viterbi, foi implementado em hardware, e está em fase de testes.

Foi desenvolvido um portal para o projeto (<http://www.biofoco.org/biofoco3/>), contendo informações sobre a equipe, programas e projetos desenvolvidos, *links* e novidades. Este portal ainda permitirá o desenvolvimento de trabalho colaborativo entre os membros de diferentes instituições, sobretudo a elaboração de artigos científicos.

Este projeto pode ser contextualizado dentro dos esforços mundiais que hoje vem sendo realizados para buscar metodologias que tentem desvendar os segredos contidos nas seqüências dos genomas e nas suas interações, sobretudo considerando a recente disponibilidade de uso de seqüenciadores de alto desempenho. A Bioinformática tem um papel primordial neste contexto, pois nesta área, os pesquisadores têm gerado as ferramentas computacionais capazes de analisar genomas em larga escala, de forma relativamente rápida e a um custo baixo, quando comparado aos custos de laboratórios de Biologia Molecular. Assim, podemos afirmar que a Bioinformática é uma das chaves para o sucesso da análise de dados de projetos genômicos.

O fortalecimento da pesquisa nesta área é estratégico para fornecer o suporte necessário às áreas experimentais da Biologia Molecular e para impulsionar significativamente as descobertas científicas em genômica. Neste contexto, a análise computacional dos dados gerados ou existentes é de fundamental importância para concretizar as potencialidades oriundas de conhecer o genoma completo ou parcial de um organismo. Particularmente, este projeto visa unir esforços que vem sendo realizados pelos grupos de pesquisa que o compõem, visando consolidar a Região Centro-Oeste como um dos polos fortes de pesquisa em Bioinformática no Brasil.

Publicação:

1. GUIMARAES, K. S.; PANCHENKO, A.; PRZYTYCKA, T. M. (Eds.): BSB 2009, LNBI 5676, pp. 73–85, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2009. No prelo.
2. SOUSA, M. S.; MELO, A. C. M. A. AND BOUKERCHE, A. An adaptive multi-policy grid service for biological sequence comparison. **Journal of Parallel and Distributed Computing**, 2009. No prelo.
3. CARDOSO, M. C. AND COSTA, F. M. MPI Support on Opportunistic Grids based on the InteGrade Middleware. *Concurrency and Computation: Practice & Experience*, pp. 1-16, Wiley, 2009. No prelo.
4. RALHA, C.; SCHNEIDER, H. W.; FONSECA, L. O.; WALTER, M. E. M. T.; AND BRÍGIDO, M. M. Using Bioagents for supporting manual annotation on genome sequencing projects. In *Lecture Notes in Computer Science/Advances in Bioinformatics and Computational Biology (LNBI) 5167, 3rd Brazilian Symposium on Bioinformatics, BSB 2008, Santo André, Brazil, August 28-30. Proceedings, pages 127-139, 2008.*

Submetido para publicação na revista *Computers in Biology and Medicine*, em abril de 2009:

SCHNEIDER, H. W.; RALHA, C.; SILVA, C. D.; ALVES, J. C.; TOGAWA, R. C.; WALTER, M. E. M. T.; AND BRÍGIDO, M. M. BioAgents: A multiagent tool for annotation on genome sequencing programs.

Projeto: “Vibrios: genômica, proteômica e prospecção biotecnológica”

Coordenação: Ana Maria Abrantes Coelho – Universidade Federal do Rio de Janeiro

O projeto vem se desenvolvendo bastante bem, com algumas metas atingidas antes do tempo previsto, e outras ainda em fase mais precoce. Temos um conjunto de sete grupos participantes, sendo que um deles é na Bahia e outro em Brasília, e temos feito atividades integrativas, que tem tido bom resultado. Além disso, temos uma colaboração ativa com o Dr. Tetsuya lida, da Universidade de Osaka, Japão. Tivemos uma reunião inicial de todos os coordenadores dos grupos nacionais em março de 2008, na UFRJ. O Dr. T. lida esteve no Brasil inicialmente em outubro de 2007 (antes do início do projeto, na fase de elaboração do mesmo), e tivemos a oportunidade de fazer uma reunião em Brasília, durante Congresso de Microbiologia, com o Dr. Kruger, da UCB. Posteriormente o Dr. lida veio, já custeado pelo projeto, em setembro de 2008. Nesta última viagem, participamos, alguns dos membros do projeto, de uma mesa redonda no Congresso Brasileiro de Genética, em Salvador, sendo uma oportunidade aproveitada para uma reunião com o grupo da Bahia, incluindo uma ida do professor lida ao local dos corais, em Abrolhos. No momento atual o Dr. Fabiano Thompson está na Bahia, numa viagem de campo extensa, organizada por membros do projeto e incluindo ainda outros pesquisadores do exterior. Os grupos do Rio de Janeiro têm contato freqüente, principalmente os grupos de proteoma, que são membros ativos da Rede Proteômica do Rio de Janeiro.

Um desenvolvimento importante ocorreu no subprojeto de genômica, no qual o sequenciamento dos dois genomas propostos (*V. cholerae* Amazonia 3509 e *V. mimicus* Vm603) ocorreu de forma bem mais rápida do que o esperado. Através da colaboração com a Universidade de Osaka, foi possível fazer o sequenciamento pela técnica de pirosequenciamento, ao invés do método tradicional proposto no

projeto. Com isso, a fase inicial de preparação de clones e sequenciamento foi muito acelerada, e passou-se diretamente para uma fase de anotação de seqüências e outras atividades posteriores ao sequenciamento. No momento temos uma dissertação de mestrado submetida para apresentação em fevereiro, relatando esta fase de anotação de *V. cholerae* Amazonia (Mayla Gonçalves), e uma tese de doutorado em andamento com a anotação do genoma de *V. mimicus* (Cristiane Thompson). Além destes trabalhos relativos aos genomas em si mesmo, houve já a publicação de dois trabalhos que já vinham em desenvolvimento, e relativos ao super integron de *V. cholerae*, e à diferenciação entre *V. cholerae* e *V. mimicus* através da técnica de MLSA, que consiste no sequenciamento e comparação de alguns genes do genoma.

O subprojeto de proteômica também teve um desenvolvimento bom, com várias partes sendo abordadas. Avançou-se na descrição de proteínas diferenciais em caso de comparações de linhagens de *V. cholerae* selvagem e mutantes em genes regulatórios, e ainda em comparações de *V. cholerae* na presença de ambientes diversos, ou seja, na presença de N-acetilglicosamina e glicose. Um trabalho já foi submetido pelo grupo da Dra. W. Kruger, do Instituto de Biofísica, e houve uma contribuição do grupo do Dr. Paulo Bisch na questão da modelagem de uma nova proteína do tipo porina encontrada nesta análise e sintetizada em resposta à falta de fosfato. Por outro lado, o trabalho de análise comparativa de N-acetilglicosamina e glicose está em fase de escrita para publicação, com resultados importantes e novos de regulação por este amino-açúcar.

O subprojeto de prospecção biotecnológica, taxonomia e coleção de vibrios também está avançando de forma muito boa, com diversos alunos envolvidos, e produção de alguns trabalhos iniciais, já tratando tanto dos corais do local de trabalho na Bahia, quanto de bactérias isoladas destes corais. Conforme descrito em mais detalhe adiante, foram isoladas centenas de linhagens destes locais, principalmente do muco dos corais, formando uma coleção de grande importância. Esta coleção está sendo caracterizada, e escolheu-se duas linhagens locais, uma delas de *V. harveyi* e outra de *V. alginolyticus* para caracterização de produtos ativos, já que estas linhagens são dominantes na região, tendo sido isoladas diversas vezes, de locais afastados. Já foram encontrados diversos produtos importantes a partir destas linhagens.

Como consequência do andamento do projeto, dois grupos conseguiram mais espaço para seus laboratórios. O próprio grupo do Instituto de Biologia recebeu um espaço para construção de um anexo ao laboratório. O grupo da Bahia, da Dra. Zelinda Leão recebeu uma nova sala para ser equipada para o desenvolvimento de experiências de bioensaios.

Subprojeto GENOMAS:

Foi feito efetivamente o sequenciamento, pelo método de pirosequenciamento, dos genomas de *Vibrio cholerae* Amazonia 3509 e *Vibrio mimicus* Vm360. Em cada um destes casos a montagem de regiões contínuas a partir de aproximadamente 900.000 leituras produzidas em cada genoma levou a um número de contigs na faixa de 500 contigs.

Está sendo feita a anotação de cada um destes genomas, pois queremos ter, inicialmente, uma idéia dos produtos potencialmente sintetizados por estes organismos. Foram adotadas diferentes estratégias de anotação, no caso de *V. cholerae* uma anotação manual, e no caso de *V. mimicus* uma anotação automatizada. Em ambos os casos a anotação já foi completada, e está sendo apresentada em fevereiro uma tese de mestrado com a anotação do genoma de *V. cholerae* e em breve uma tese de doutorado com a anotação do genoma de *V. mimicus*. Os artigos correspondentes também serão enviados nos próximos meses. Foram determinados, além dos genes normais de síntese de proteínas, os operons ribossômicos. Foram encontrados vários genes potencialmente envolvidos com a virulências destas espécies, genes que deverão ser trabalhados em detalhe em projetos futuros. Foi encontrado um intron de tipo II em *V. cholerae*, a primeira vez que um intron deste tipo é encontrado neste gênero bacteriano.

Subprojeto PROTEOCOMP: O Subprojeto de proteômica possui as seguintes metas:

1. Análise proteômica geral de *V. cholerae* e *V. mimicus*
2. Proteômica comparativa de linhagens selvagens e mutantes de *V. cholerae* em genes regulatórios
3. Análise comparativa de *V. cholerae* na presença de quitina e amino-açúcares
4. Bioinformática aplicada a proteômica

Os estudos de expressão gênica em *V. cholerae* foram realizados considerando duas estratégias principais: a análise proteômica comparativa de uma mesma linhagem sendo cultivada em dois ambientes distintos e a análise de duas linhagens isogênicas, uma selvagem e uma mutante, cultivadas nas mesmas condições. Neste âmbito, foram desenvolvidos diferentes estudos para analisar genes regulatórios de *V. cholerae*, utilizando-se técnicas de proteômica e técnicas de bioinformática aplicada a proteômica.

Regulon *hlyU* de *Vibrio cholerae*

A caracterização do regulon *hlyU* de *V. cholerae* é um dos projetos de estudo. *hlyU* codifica uma proteína regulatória que regula a expressão da hemolisina e da proteína Hcp. Em um trabalho anterior, foi demonstrado que *hlyU* pode regular outros genes, além dos descritos acima. Com o intuito de detectar proteínas reguladas pela proteína *HlyU*, uma análise proteômica comparativa foi realizada com as proteínas solúveis totais das células da linhagem Amazonia 3509, e a mutante isogênica com inserção de um plasmídeo no gen *hlyU*. Como resultado obtivemos 276 proteínas identificadas, sendo 134 proteínas da linhagem selvagem e 142 da linhagem *hlyU*-. Entre alguns produtos importantes e encontrados em quantidade diferente nas duas linhagens temos: LuxS – maior quantidade na linhagem mutante, envolvido com a formação de biofilmes, OmpV – quantidade muito maior na linhagem selvagem, e Transportador do tipo TRAP de dicarboxilatos – quantidade muito maior na linhagem selvagem.

Resposta à limitação de fosfato inorgânico em *Vibrio cholerae*

O projeto de estudo da resposta à limitação de fosfato inorgânico em *Vibrio cholerae* inclui cinco vertentes. A primeira tem como objetivo o estudo da autoregulação do operon PhoB/PhoR de *V. cholerae* e a identificação de novos membros do regulon Pho. Para isto, a proteína PhoB^{vc} selvagem de *V. cholerae* foi expressa em *Escherichia coli* e purificada. Foi comprovado que a PhoB^{vc} selvagem purificada é uma proteína funcional in vitro, uma vez que ela apresenta a habilidade de ser fosforilada por acetilfosfato e de se ligar a uma sequência de DNA por ela regulada (região promotora do operon *phoBR*). Uma análise da sequência intergênica contendo o promotor do operon *phoBR*, de aproximadamente 200 pares de base, revelou três sítios de ligação da PhoB^{vc} selvagem (caixas *pho*): a -35 (cx1, fita senso), -60 (cx2, fita antisenso) and -80 (cx3, fita antisenso). A funcionalidade das *cx* 1 e 2 foi analisada via expressão de *lacZ* (fragmentos de fusão *phoBR* promotor-*lacZ*) mostrou que: PhoB-cx1 induz a expressão de *phoB/phoR* e PhoB-cx2 reduz a transcrição de *phoB/phoR* induzida por PhoB-cx1. Novos possíveis membros do regulon Pho foram identificados pela presença de *cx* Pho funcional (*gel shift*, fusão operon), e pela posição da *cx* Pho (*footprint*). Estes membros compreendem os genes envolvidos na cascata de virulência de *Vibrio cholerae* *aphB* e *tcpPH*, que apresentam caixas *pho* putativas, podendo ser alvos de regulação de PhoB^{vc} relacionados à colonização intestinal.

A identificação de funções independentes de fosfato inorgânico para o sistema PhoB/PhoR de *Vibrio cholerae* O1 foi realizada através da análise proteômica e a identificação das proteínas expressas por uma cepa selvagem de *V. cholerae* versus seu mutante *phoB*, em condições de abundância de fosfato inorgânico. Os resultados parciais mostraram que 61 proteínas foram expressas diferencialmente pelas cepas. A maioria das proteínas expressas especificamente pela cepa selvagem está envolvida no metabolismo e conversão de energia e no transporte e metabolismo de aminoácidos. O mutante *phoB* expressou preferencialmente proteínas de adaptação a condições atípicas, de síntese, estabilização e enovelamento de proteínas, e metabolismo de DNA. Além disso, não foram observadas diferenças entre as taxas de crescimento das cepas selvagem e mutante *phoB* nos meios de culturas testados

Um terceiro objeto de estudo foi a caracterização de um mutante de motilidade (WK13) de *Vibrio cholerae* O1, cepa O395. Através da observação por microscopia eletrônica revelou-se que a ausência de motilidade se deve provavelmente a ausência de flagelo em WK13. A análise de proteínas expressas pelas cepas selvagem e mutante, por eletroforese 2-D, mostrou que a cepa WK13 apresentou uma expressão diferenciada de proteínas. Dentre elas, algumas são associadas à captação e metabolismo de íons ferro. Foi demonstrado que a cepa selvagem apresenta maior taxa de crescimento que WK13 em meio deficiente em ferro e a cepa mutante apresentou maior habilidade de colonização de intestino de camundongos neonatos.

A análise proteômica da formação de biofilme induzida por sais biliares em limitação de fosfato inorgânico em *Vibrio cholerae* O1 também foi estudada. Os resultados indicaram que a cepa N16961 de *V. cholerae* O1 forma uma quantidade maior de biofilme em baixos níveis de fosfato inorgânico (MGLP) na presença do que na ausência do ácido deoxicólico (DOC), um componente majoritário da bile, a 37°C. O crescimento em placas de petri, sem agitação, no meio MGLP/DOC a 37°C por 48 horas foi considerado a condição mais eficiente, dentre as testadas, para formação de biofilme. As bactérias planctônicas cultivadas em MGLP e biofilme em MGLP/DOC expressaram inúmeras proteínas diferencialmente e a grande maioria delas foi proveniente de spots únicos no gel 2D utilizado para analisar a amostra de cada condição. O conjunto de proteínas expressas diferencialmente para as células em cada condição foi analisado para identificação, o que permitiu concluir que as células planctônicas cultivadas em MGLP nas condições do estudo mostraram características metabólicas de células na fase estacionária de cultura, e as células derivadas do biofilme em MGLP/DOC nas condições deste estudo mostraram características metabólicas de células na fase exponencial de cultura. A análise proteômica diferencial permitiu identificar proteínas do biofilme sem funções definidas no processo em *V. cholerae*, porém com funções definidas na produção de biofilme em outras espécies bacterianas. Estas poderão ser objetos de estudos futuros.

Bioinformática aplicada à proteômica

Neste caso, as ferramentas de bioinformática foram utilizadas no auxílio para os estudos de caracterização molecular e de expressão do produto de *vca1008* de *V. cholerae*, uma proteína de membrana externa induzida sob limitação de fosfato inorgânico. Os dados gerados permitiram a construção de um modelo 3D para VCA1008 com base na estrutura cristalina de PhoE, uma fosfoporina de *E. coli*. Demonstrou-se que VCA1008 é uma porina. A porina VCA1008 mostrou compartilhar com a fosfoporina de *E. coli*, PhoE, uma estrutura em forma de barril 16 folhas β , 3 resíduos de lisina (K) (essenciais para o caráter aniônico do poro de PhoE) e a habilidade de formar trímeros resistentes a SDS e temperatura. VCA1008 difere de PhoE no resíduo 18, havendo um ácido aspártico (E) ao invés de uma lisina, sugerindo que os poros destas porinas apresentam diferentes seletividades iônicas. A expressão de *vca1008* é induzida sob limitação de fosfato inorgânico e dependente do sistema de proteínas PhoB/PhoR.

Proteoma comparativo de *V. cholerae* no amino-açúcar N-acetil glicosamina, em comparação com a glicose.

Este projeto tem como lógica o fato de que *V. cholerae* sobrevive em dois ambientes muito distintos, o ambiente do intestino humano, e o ambiente aquático. Nos ambientes aquáticos ele sabidamente se associa a organismos com exoesqueleto quitinoso. A quitina é um polímero feito de subunidades de N-acetilglicosamina. Por outro lado, no intestino humano a N-acetil-glicosamina também está presente como componente dos sacarídeos da superfície celular, e pensa-se que este possa ser um vínculo entre os dois tipos de vida da bactéria.

Foram feitos diversos géis bi-dimensionais de proteínas de *V. cholerae* cultivado nas duas condições e por um período de cinco horas (início de fase exponencial). Já havíamos verificado anteriormente que, com este tempo, ocorre boa expressão dos genes do operon *nag*, ou seja, de alguns genes já descritos na literatura como induzidos por N-acetil glicosamina.

Foram analisadas diversas proteínas por espectrometria de massa, com a identificação de 118 proteínas. Dentre todas estas proteínas, algumas foram bastante notórias, na sua quantidade e regulação. Em particular a cisteína sintase foi produzida em grande quantidade na presença de N-acetilglicosamina.

Neste ambiente a linhagem tem produção adicional de amônia e acetato, e seu metabolismo está sendo descrito a partir da utilização destes compostos, e particularmente a formação de glutamato, dentro do processo de utilização de nitrogênio.

Um artigo sobre este trabalho está sendo escrito, e faz parte de uma tese de doutorado a ser apresentada em 2009.

Subprojeto: Coleção de *Vibrio*, análise taxonômica e prospecção biotecnológica-PROSPEC

Este subprojeto tem várias vertentes, e apesar de descrito como prospecção biotecnológica, inclui atividades de base importantes, tais como trabalhos de campo de coletas de bactérias, a purificação de bactérias dos locais de estudo, e em particular do muco de corais da região de Abrolhos, a preparação de uma coleção de bactérias destes locais, o estudo taxonômico destas bactérias, permitindo uma verificação de quais as espécies presentes, e qual a sua dispersão, e ainda a obtenção de produtos ativos a partir destas bactérias. Todas estas vertentes estão sendo desenvolvidas, e a quantidade de resultados é grande.

Já temos mais de 500 linhagens de bactérias purificadas e organizadas em uma coleção. Esta coleção inclui isolados dos corais *Mussismilia hispida*, *Mussismilia brasiliensis* e *Phyllogorgia dilatata*, bem como água do mar.

Desta coleção foram selecionadas duas linhagens, uma delas da espécie *V. harveyi* e outra da espécie *V. alginolyticus*. Estas duas linhagens são dominantes na região estudada, e foram selecionadas para ter os seus produtos ativos estudados.

A análise da coleção está sendo feita por MLSA, amplificando alguns genes de interesse a partir de bactérias e fazendo o seu sequenciamento. Já temos o sequenciamento de 149 isolados, alguns deles a partir do gene *pyrH* e em outros casos o 16S rDNA. O gene *pyrH* foi escolhido por ter um grau de variabilidade adequado a este tipo de estudo dentro de um gênero, mostrando diversidade até o nível intraespecífico. Existe a possibilidade de haver quatro espécies novas entre as bactérias já estudadas.

Para o estudo de produtos ativos estão sendo usadas duas abordagens: uma delas o uso de diversos meios indicadores para vários tipos de produtos. Por outro lado já estão sendo preparadas bibliotecas a partir do genoma de linhagens de *V. harveyi* e *V. alginolyticus*, preparando clones com fragmentos de tamanho médio (~8kb) e fragmentos maiores, de 30kb, em fosmídeo. O objetivo é, uma vez descoberto um produto, buscar rapidamente nesta coleção de clones, algum clone contendo o gene de interesse. Algumas atividades testadas foram: amilase, protease, lipase, xilanase, celulase, fitase. Várias destas atividades foram encontradas nas linhagens em estudo.

Publicações

- REIS, A. M. M.; ARAUJO JUNIOR, S. D.; FRANCINI-FILHO, R. B.; MOURA, R. L.; PAPPAS JR, G.; COELHO, A. M. A.; KRUGER, R.; THOMPSON, F. L. Bacterial diversity associated with the Brazilian endemic reef coral *Mussismilia brasiliensis* (Aceito). *Journal of Applied Microbiology*, v. 000, p. 000-000, 2009. aceito para início de 2009.
- FONSECA, E. L.; dos SANTOS FREITAS F.; VIEIRA V. V.; VICENTE, A. C. New *qnr* gene cassettes associated with superintegron repeats in *Vibrio cholerae* O1. *Emerg Infect Dis.* 14 (7):1129-31, 2008.
- THOMPSON, C. C.; THOMPSON, F. L.; VICENTE, A. C. Identification of *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus* by multilocus sequence analysis (MLSA). *Int J Syst Evol Microbiol.* 58 (Pt 3):617-21, 2008.

- CHIMETTO, L. A.; BROCCHI, M.; THOMPSON, C. C.; MARTINS, R. C.; RAMOS, H. R.; THOMPSON, F. L. *Vibrios* dominate as culturable nitrogen-fixing bacteria of the Brazilian coral *Mussismilia hispida*. *Syst Appl Microbiol.* 31 (4):312-9, 2008.
- FRANCINI-FILHO, R. B.; MOURA, R. L.; THOMPSON, F. L.; REIS, R. M.; KAUFMAN, L.; KIKUCHI, R. K.; LEÃO, Z. M. Diseases leading to accelerated decline of reef corals in the largest South Atlantic reef complex (Abrolhos Bank, eastern Brazil). *Mar Pollut Bull.* 56 (5):1008-14, 2008.
- DRYSELIUS, R.; IZUTSU, K.; HONDA, T.; IIDA, T. Differential replication dynamics for large and small *Vibrio* chromosomes affect gene dosage, expression and location. *BMC Genomics.* 9 (1):559, 2008. Outros 4 trabalhos em 2008 do Dr. T. Iida.
- LEÃO, Z.; KIKUCHI, R. K. P.; OLIVEIRA, M. de D. M. Branqueamento de corais nos recifes da Bahia e sua relação com eventos de anomalias térmicas nas águas superficiais do oceano. *Biota Neotropica* (Ed. Portuguesa), v. 8, p. 69-82, 2008.
- LEÃO, Z.; OLIVEIRA, M. de D. M.; KIKUCHI, R. K. P. Os recifes de coral da APA Ponta da Baleia, Bahia. *OLAM Ciência & Tecnologia*, v. 8, p. 287-315, 2008.
- SPANÓ, S.; LEÃO, Z.; KIKUCHI, R. K. P. Diagnóstico do estado de conservação dos recifes em franja do Parque Nacional Marinho dos Abrolhos. *OLAM Ciência & Tecnologia*, v. 8, p. 245-277, 2008.
- REIS AM, ARAÚJO SD JR, MOURA RL, FRANCINI-FILHO RB, PAPPAS G JR, COELHO AM, KRÜGER RH, THOMPSON FL. Bacterial diversity associated with the Brazilian endemic reef coral *Mussismilia brasiliensis*. *J Appl Microbiol.* 2009 April 106 (4):1378-87. Epub 2009 Jan 30.
- CHIMETTO LA, BROCCHI M, GONDO M, THOMPSON CC, GOMEZ-GIL B, THOMPSON FL. Genomic diversity of vibrios associated with the Brazilian coral *Mussismilia hispida* and its sympatric zoanths (*Palythoa caribaeorum*, *Palythoa variabilis* and *Zoanthus solanderi*). *J Appl Microbiol.* 2009 Mar 9. [Epub ahead of print]

Capítulo de livro

RODRIGUEZRAMIREZ, A.; BASTIDAS, C.; RODRIGUEZ, S.; LEÃO, Z.; KIKUCHI, R. K. P.; OLIVEIRA, M. de D. M.; GIL, D.; GARZONFERREIRA, J.; REYES-NIVIA, M. C.; NAVAS-CAMACHO, R.; SANTODOMINGO, N.; DIAZ-PULIDO, D.; VENERA-PONTON, D.; FLOREZ-LEIVA, L. The effects of coral bleaching in Southern Tropical America: Brazil, Colombia and Venezuela. In: Clive Wilkson & David Souter. (Org.). *Status of Caribbean Coral Reefs after Bleaching and Hurricanes in 2005*. Townsville: Global Coral Reef Monitoring Network & Reef and Rainforest Research Center, 2008, v. 1, p. 105-114.

Teses, Dissertações, Monografias

- Livia Carvalho Barbosa- dissertação de mestrado- Análise proteômica da formação de biofilme induzida por sais biliares em limitação de fosfato inorgânico em *Vibrio cholerae* O1. 2008. Mestrado em Ciências Biológicas (Biofísica) – UFRJ – CAPES – orientadora: Wanda Maria Almeida Von Kruger.
- Janaina Leme- dissertação de mestrado- Análise do regulon HlyU em *Vibrio cholerae* Amazonia selvagem e um mutante isogênico hlyU- dezembro de 2008- Mestrado em Ciências Biológicas (Genética)- orientadora: Ana Coelho.
- Guilherme Garcia Dias dos Santos- monografia de fim de curso de bacharelado- Construção de plasmídeos para a obtenção de mutantes *ompU*, *toxR* e *phoEvc* e caracterização do mutante *phoEvc* de *Vibrio cholerae* O1. 2008. Graduação em Ciências Biológicas – Modalidade Genética – Universidade Federal do Rio de Janeiro, CNPq- orientadora: Wanda Maria Almeida Von Kruger
- Rodrigo Carvalho Reis – Mapeamento físico do cromossomo 2 da linhagem Amazonia de *Vibrio cholerae*, orientado de Ana Coelho. Dissertação de mestrado, Pós-graduação em Ciências Biológicas (Genética) UFRJ, maio de 2009.
- Mayla Stelman de Medeiros Gonçalves – Anotação do genoma de *Vibrio cholerae* Amazonia 3509 obtido por pirosequenciamento, orientada de Ana Coelho. Dissertação de mestrado – Pós-graduação em Ciências Biológicas (Genética) UFRJ, fevereiro de 2009.

Artigos em preparação

1. GOULART, C. L.; LERY, L. M.; DINIZ, M. M.; VIANEZ-JUNIOR, J. L.; NEVES-FERREIRA, A. G. C.; PERALES, J.; BISCH, P. M.; von KRUGER, W. M. Artigo submetido: Molecular and expression analysis of VCA1008: a novel porin of *Vibrio cholerae*. BBA - Proteins and Proteomics
2. SANTOS, E. O.; SOARES, C. A. G.; LEME, J. M. M.; DIRITA, V. J.; COELHO, A. The N-acetylglucosamine regulon in *Vibrio cholerae* El Tor: a proteome study. Journal of Bacteriology.
3. COELHO, A.; GONCALVES, M. S. G.; FIGUEIREDO, S. C. A.; REIS, R. C.; THOMPSON, F. L.; IIDA, T. The complete genome of *Vibrio cholerae* Amazonia.
4. FIGUEIREDO, S. C. A.; REIS, R. C.; GONCALVES, M. S. M.; BELTRÃO, P. J.; COELHO, A. The pathogenicity island 2 (VPI-2) of *Vibrio cholerae* Amazonia.
5. THOMPSON, C. C.; THOMPSON, F. L.; VICENTE, A. C. P. The complete genome of *Vibrio mimicus*.

Anexo B

Relatórios dos Consultores sobre a Avaliação do Programa GENOPROT

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO SOBRE O PROGRAMA GENOPROT

Consultor: Carlos Bloch Jr.

Introdução

O processo de avaliação do programa GENOPROT organizado pelo MCT foi realizado no formato de um *workshop*, no qual os coordenadores de mais de trinta projetos contratados dispuseram de cerca de vinte e cinco minutos para apresentação de resultados, considerações e eventuais dificuldades. De forma geral, estas apresentações dividiram-se em três partes: I) breve histórico do tema; II) estado atual da infra-estrutura, comprometimento do financiamento junto à Finep e cronograma de execução; III) resultados preliminares, publicações científicas, recursos humanos formados ou em formação.

Ao longo das apresentações evidenciou-se uma considerável heterogeneidade das equipes e estágios de implantação das propostas, ou seja, algumas apenas iniciantes, outras com algum tempo de contato real com o tema e as mais experientes, estas geralmente oriundas de redes estaduais de genoma/proteoma ou com décadas de experiência em Bioquímica e Química de Proteínas. Casos específicos referentes à liberação de recursos envolvendo a Finep foram expostos diretamente aos membros daquela instituição que se fizeram presentes durante todo o *workshop*. Problemas referentes à desvalorização cambial, entraves burocrático-ideológicos com o CGEN e a propostas de garantia de continuidade do programa via financiamentos, especialmente no quesito manutenção de equipamentos, foram discutidos e acolhidos pelo Secretário Luiz Antônio Barreto de Castro.

Das Propostas

Com poucas exceções, no que diz respeito à hipótese de trabalho e ao desenho metodológico, as propostas apresentadas concentraram-se na investigação da presença de possíveis marcadores de estados metabólicos (por exemplo, estresse biótico ou abiótico) contrastantes de uma determinada espécie, por meio de separações de seus extratos protéicos em eletroforese bidimensional, digestão enzimática das respectivas bandas (*spots*) e subsequente identificação por espectrometria de massa com auxílio de bancos de dados, preferencialmente de um genoma anotado.

A escolha dessa estratégia por parte da maioria dos projetos demonstra: a) estreita concordância com a chamada do edital, ao mesmo tempo em que indica claramente o estágio inicial da maioria dos grupos de proteoma no país. b) pouca, ou nenhuma ênfase em metodologias e estratégias de maior poder de resolução e sensibilidade para enfrentar problemas de identificação não previstos a partir do conhecimento dos genomas base tais como, cromatografias uni-, multidimensional ou capilar e seqüenciamento *de novo* para análise de possíveis modificações pós-traducionais de fundamental importância para o sucesso do projeto, por exemplo. c) baixa interação e troca de conhecimentos básicos, especialmente nas áreas de bioinformática e de grupos trabalhando com estresses. d) modesto nível de inovação até o momento, apesar do óbvio potencial para tanto em boa parte das propostas.

Nos casos das propostas que pretendem avaliar mudanças metabólicas fundamentais induzidas por estresse, notou-se um intrigante nível de desinformação relativo a moléculas comuns, já conhecidas em inúmeras espécies (provavelmente codificadas por genes altamente conservados) quando submetidas a semelhantes estímulos. Tal fato certamente pode ser creditado a uma aparente deficiência dos experimentos controle, sejam estes *in silico* ou mesmo de bancada que precisam ser executados com o devido critério científico.

Neste sentido, o Professor Lewis Greene, coordenador da proposta intitulada "Proteômica Estrutural e Funcional Aplicada à Área Biomédica" proporcionou a todos uma sábia e necessária provocação sobre os fundamentos das técnicas proteômicas, seu potencial e limitações. Em sua apresentação ficou claro que os coordenadores dos projetos GENOPROT devem mirar com maior eficiência e cuidado às

hipóteses científicas fundamentadas na fisiologia e na bioquímica dos sistemas de interesse, do que na técnica de produzir milhares de seqüências que acabam em bancos de dados por não possuírem qualquer significado de maior impacto e/ou compreensão.

Das Recomendações

O GENOPROT apresenta-se como um oportuno programa de financiamento capaz de resgatar as iniciativas anteriores de formação de uma rede nacional de proteoma, a partir das redes estaduais que, à exceção da Rede Proteômica do Estado do Rio de Janeiro, sofreram enormemente com a falta de apoio consistente das FAPs locais. De fato, a maior parte dos grupos componentes do atual programa provém dos projetos genoma e proteoma nacionais e estaduais extintos ou natimortos.

Portanto, para que o GENOPROT alcance o sucesso pretendido é necessário que as deficiências em continuidade de financiamento sejam minimizadas e que iniciativas de avaliação contínua de cada projeto e do programa como um todo, sejam sistematicamente efetuadas.

Seria de grande valia para o GENOPROT se houvesse um incentivo claro e formal por parte do MCT para que os projetos coordenados independentemente (e em teoria autônomos) pudessem colaborar mais entre si, especialmente nos quesitos infra-estrutura de grandes equipamentos e intercâmbio de pessoal. Problemas advindos de manutenção e prazos de defesa de teses e monografias seriam assim minimizados, além de produzir um efeito multiplicador de maior abrangência.

Desta maneira, projetos com menor respaldo local poderiam ser acolhidos, apoiados e fortalecidos, a exemplo do que se pode verificar entre os grupos da UFMG e do Pará.

Faz-se necessário que o MCT considere uma linha de financiamento que apóie um programa de manutenção preventiva e *upgrade* de equipamentos de grande porte para o GENOPROT. Ficou claro com as apresentações das propostas que, ao final do GENOPROT, o país terá adquirido pelo menos mais quinze novos espectrômetros de massa, os quais deverão somar-se a quase uma centena deles já instalados por todo o território nacional. É imperativo que investimentos dessa natureza, volume e importância operacional devam ser considerados estratégicos para além do tempo de vigência dos projetos contratados.

Considerações Finais

É por demais preocupante que programas da importância do GENOPROT, e, por conseguinte de toda a política de Ciência e Tecnologia do Governo Federal, bem como as dos Governos Estaduais, possam estar sob risco de suspensão, de atrasos e de paralisações em decorrência da atual Medida Provisória que regula o Acesso ao Patrimônio Genético Nacional, associada a assimétricas interpretações de certos órgãos governamentais. O exercício da presente legislação por parte do CGEN parece-nos soberano em expedientes ideológicos doutrinários que em muito dificultam o avanço da Ciência Brasileira e do conhecimento dos bens materiais e imateriais oriundo precisamente dos mesmos recursos, os quais, a referida legislação pretende zelar, ao mesmo tempo em que este aparenta-se indigente ao ofertar soluções práticas que auxiliem aqueles que detêm, de fato e de direito, o necessário conhecimento para efetiva e competentemente fazê-lo.

Desta forma, não somente no caso do GENOPROT, é necessário que o MCT, os pesquisadores e as instituições de pesquisa revelem ao Governo Federal o atual quadro de incongruência administrativa, de prejuízo ao bem público e de grave erro histórico que se criou. Se por um lado o próprio Governo demonstra interesse concreto no avanço científico nacional, a partir de financiamentos para pesquisa jamais registrados anteriormente por qualquer governo ou fonte externa, por outro, aceita uma legislação obscura que dá margens a todo tipo de interpretação falaciosa, servindo apenas aos oportunistas e/ou ignorantes do real patrimônio que se possui.

“O patriotismo é o último reduto dos canalhas”

Leon Nikolaievitch Tolstoi (1828-1910).

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO SOBRE O PROGRAMA GENOPROT

Consultor: Fernando Araripe Gonçalves Torres

Entre os dias 4 e 5 de dezembro de 2008 foi realizado no Hotel Comfort Inn (Taguatinga) a reunião para avaliação do andamento dos projetos aprovados no edital MCT/FINEP/Ação Transversal – REDE GENOPROT – 08/2007.

A reunião foi marcada em seu início por uma longa discussão sobre as dificuldades enfrentadas sendo que o atraso da Finep no desembolso das parcelas foi apontado como um dos principais problemas. Entraves burocráticos para importação também mereceram amplo destaque. Também foram identificadas algumas dificuldades enfrentadas com as Fundações de Apoio que nem sempre têm apoiado os projetos de forma adequada.

Dos 29 projetos listados para avaliação, 27 foram apresentados pelos seus respectivos coordenadores/vice-coordenadores. De um modo geral, os projetos apresentam resultados importantes, destacando-se a forte formação de recursos humanos na área e interações nacionais/internacionais. Dentre as áreas beneficiadas, destacam-se a agronomia e a saúde humana.

Ficou evidente também, que alguns resultados apresentados referem-se a atividades que já estavam em andamento antes da liberação de recursos do edital Genoprot. Trata-se de grupos consolidados que já possuíam infraestrutura de equipamentos e que, desta forma, apresentam uma vantagem sobre os demais. Somente na segunda rodada de avaliação é que poderemos apreciar com mais clareza os resultados que realmente formam fruto do Genoprot.

É notório o fortalecimento da capacidade nacional para organizar redes de genômica e proteômica. Boa parte desta organização se deve ao apoio do Genoprot. A aquisição de equipamentos modernos terá impacto significativo levando a ciência nacional a um nível elevado de competência. Também foi salutar a constatação de que alguns projetos aprovados estão interagindo entre si (vide o caso dos projetos coordenados pela Profª Célia Soares e pelo Prof. Augusto Schrank). No entanto, foi apontada uma carência no que tange à distribuição dos recursos e benefícios da bioinformática entre os grupos. Neste sentido, o Prof. Edmundo Grisard ofereceu a plataforma desenvolvida na Rede de Santa Catarina para todos os interessados. Talvez seja difícil a generalização das soluções de bioinformática para todos os interessados devido ao tipo de *output* dos dados, mas é louvável a iniciativa realizada no Centro-Oeste dentro do projeto coordenado pela Profª Maria Emília Walter.

Gostaria de destacar os seguintes projetos como os avançados em termos de resultados:

- 1) "Integrando genômica funcional e biotecnologia para melhorar a tolerância a estresses bióticos e abióticos",
- 2) "Identificação e caracterização de marcadores biológicos e diagnósticos em tripanossomatídeos patogênicos através de genômica e proteômica comparativas",
- 3) "Genômica e proteômica de leucemias",
- 4) "Proteoma estrutural e funcional do veneno do escorpião amarelo *Tityus serrulatus*",
- 5) "Rede de proteoma do estado de SP",
- 6) "S-nitrosilação de fatores de transcrição e morte celular programada em plantas",
- 7) "Análise proteômica de Mycoplasma de interesse em suinocultura",
- 8) "Qualidade do café – aroma e sabor a partir de proteínas e metabólitos",
- 9) "Análise proteômica do estresse hídrico em cafeeiro".

O projeto coordenado pela Profª Elizabeth Pacheco merece um destaque especial pela qualidade dos resultados, pelo impacto que está causando na área e, sobretudo, pelas publicações em revistas de alto impacto.

Embora a maioria dos projetos apresente um desenvolvimento satisfatório, cinco estão mais atrasados no cumprimento de suas metas:

- 1) "Análise proteômica de cultivares de cana-de-açúcar em ambientes de estresse hídrico",
- 2) "Rede proteômica do Amazonas – *Chromobacterium violaceum*",
- 3) "Rede proteômica do Amazonas – guaranazeiro",
- 4) "Proteoma do músculo esquelético do búfalo",
- 5) "Implantação do 1º Lab. de Oncogenética e Radiobiologia de Goiás".

As razões para estes atrasos são diversas, mas estes projetos merecem um acompanhamento mais especial para garantir seu andamento. Os projetos coordenados pelos professores Adriana Hemerly e Rodrigo Stabeli merecem uma observação especial. O primeiro ainda nem recebeu recursos devido a questões burocráticas inaceitáveis. Já o segundo apresenta um quadro mais grave, pois o coordenador tem encontrado dificuldades seriíssimas junto ao CGEN para ter acesso à biodiversidade. Estes dois projetos são de relevância altíssima para o País e deveriam também receber uma atenção especial por parte do MCT e Finep.

Diante do exposto, gostaria de finalizar minha análise fazendo as seguintes recomendações:

- 1) Agilidade da Finep no desembolso de recursos e na resposta às solicitações feitas pelos coordenadores,
- 2) Como discutido na reunião, o MCT poderia interceder junto ao CGEN a fim de facilitar o acesso aos recursos da biodiversidade. A proposta de consulta junto ao STF merece ser analisada com carinho,
- 3) Não me parece pertinente fornecer bolsas com valores diferenciados e fora do padrão CNPq para fixação de alunos nos projetos. Isto poderia levar a indesejável formação de "castas" entre os bolsistas brasileiros.
- 4) As soluções de bioinformática deveriam ser mais divulgadas e compartilhadas entre os diversos projetos,

Finalmente, gostaria de tecer algumas considerações sobre uma proposta levantada no final da reunião para compensar as perdas decorrentes da crise cambial que afeta as importações de equipamentos. Não me parece justo abrir um "edital de encomenda" junto à Finep para complementar financeiramente os projetos prejudicados pela desvalorização do real. Isto poderia abrir um sério precedente que poderia ser estendendo a TODOS os projetos em andamento no País, desde aqueles do edital Universal até os do INCT, que também foram prejudicados pela crise cambial. Uma alternativa para amenizar este problema seria uma maior flexibilização e agilidade por parte da Finep para atender as solicitações de mudança de rubrica (custeio-capital) em face às dificuldades enfrentadas com o câmbio desfavorável para importação de equipamentos.

Qualquer edital que venha a ser proposto deverá ser aberto a todos os pesquisadores do País e não só àqueles que coordenam projetos no Genoprot e deve observar critérios de mérito e competência. Nem todos os projetos apresentados nesta reunião merecem este aporte adicional de recursos já que os resultados apresentados ainda são insatisfatórios.

No meu entender, um edital mais justo na atual fase dos projetos seria um que envolvesse o apoio a estudos que levassem ao desenvolvimento de produtos como decorrência dos projetos Genoprot, de preferência em parceria com empresas. É evidente que alguns projetos já possuem produtos concretos que podem ser transferidos ao setor produtivo. Como exemplo destes projetos, cito os seguintes:

- "Integrando genômica funcional e biotecnologia para melhorar a tolerância a estresses bióticos e abióticos",

- “Rede genoma RS”,
- “Genômica e proteômica de leucemias”,
- “Proteoma estrutural e funcional do veneno do escorpião amarelo *Tityus serrulatus*”.

Da mesma forma, o projeto que envolve estudos proteômicos da “vassoura-debruxa” deve ser apoiado com muita ênfase para a geração de produtos que levem ao controle desta praga. O mesmo raciocínio deve ser estendido aos projetos que estudam o estresse abiótico em cana de açúcar.

A Biotecnologia brasileira precisa se voltar para a transferência de tecnologia e produtos para a sociedade e é esta a fase que precisa ser mais apoiada no momento. A Finep já cumpre com esta missão por meio de editais específicos que temos observado desde 2006, e que têm movimentado o setor produtivo nacional. É por isso que julgo importante que este próximo edital contemple os grupos competentes e produtivos para que possam transformar seus estudos proteômicos e genômicos em produtos, processo e serviços para o bem da sociedade.

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO SOBRE O PROGRAMA GENOPROT

Consultor: Genaro Ribeiro de Paiva, Ph.D.

Resultados apresentados pelos projetos GenoProt (Ano I)

(Resumos e apresentações 4-5/12/08)

Fundamentos da Relatoria

O Edital GenoProt (FINEP, 2007) objetivou *Selecionar propostas para apoio financeiro a projetos de pesquisa interdisciplinares em Genômica e Proteômica que, por meio da formação e do fortalecimento de grupos de pesquisa, contribuam para a compreensão de processos epigenéticos, de processos de controle da expressão gênica, da estrutura de proteínas e suas funções, incluindo fatores que regulam a transcrição, marcadores biológicos de processos celulares normais, patológicos ou de estresse, e que possam ser usados para geração de novos produtos e processos biotecnológicos, cujo potencial de aplicação se caracterize em avanço nas áreas de saúde humana, saúde animal, agricultura, indústria, ou meio ambiente, preferencialmente em parceria com empresas públicas ou privadas.*

O critério adotado por este relator para a análise dos resumos e dos relatórios apresentados pela liderança de cada projeto considerou principalmente: (a) a qualidade inerente dos resultados científicos apresentados; (b) o cumprimento do cronograma dos projetos considerando transcorridos 1/3 do tempo de vigência dos projetos e (c) resultados que possam ser usados para geração de novos produtos e processos biotecnológicos cujo potencial de aplicação se caracterize em avanço nas áreas de saúde humana, saúde animal, agricultura, indústria, ou meio ambiente, preferencialmente em parceria com empresas públicas ou privadas. Embora considerando a importância do estabelecimento de competência institucional e científica nas diferentes regiões da Nação, em respeito à titulação de todos os profissionais líderes dos projetos GenoProt, não foram consideradas dificuldades institucionais ou regionais quando do julgamento do desempenho científico dos projetos.

Escopo dos projetos em face ao Edital GenoProt

Ao todo, resumos e relatórios de 31 projetos beneficiados pela seleção GenoProt foram apresentados. No que refere aos termos do objeto específico de contrato estabelecido pela chamada do edital GenoProt (FINEP, 2007), não foram aprovados projetos nas áreas de *controle da expressão gênica, estrutura de proteínas, ou de fatores que regulam a transcrição.*

Excetuando-se parcerias com a EMBRAPA e com a Associação de Combate ao Câncer (Goiás), em geral não foram mencionadas as parcerias com empresas públicas ou privadas quando da relatoria dos projetos; tampouco, houve qualquer indicador dos termos legais das parcerias com empresas públicas ou privadas; particularmente referentes a eventuais descobertas de valor agregado que possam advir do financiamento GenoProt.

Verificado que nenhum dos programas Genoprot foi precedido por programas de genoma funcional caracterizado por estratégias de mpss, posto o reduzido número de sequências ESTs produzidas para a maioria dos projetos GenoProt sob análise, não há como verificar neste instante se haverá qualquer sucesso de vinculação entre os dados de proteoma ainda por serem acumulados e os dados de genoma estrutural e funcional assumidos pela FINEP como critério para pontuação dos projetos aprovados pelo GenoProt. Faz exceção a esta consideração projetos que eventualmente tenham como referência dados de genoma estrutural, assumindo cobertura adequada.

Aspectos Administrativos

Com exceção de alguns projetos com dificuldades operacionais - i.e. não celebração de acordo e não disponibilização de recursos - todos os demais foram contemplados pela transferência de recursos dentro do cronograma previsto. Destarte, expostos à atual conjuntura econômica, alguns dos gestores dos projetos, solicitaram complementação orçamentária para contornar a perda de parte do orçamento como consequência da desvalorização cambial. Recomendo que, caso possível, tal complementação orçamentária ocorra apenas para aqueles projetos cuja alocação de verbas tenha atrasado por responsabilidade da FINEP, exclusivamente para a aquisição dos equipamentos originalmente previstos quando da licitação pública. Um dos projetos contratados com a missão de

desenvolver softwares de bioinformática solicitou valores diferenciados para as bolsas ITI a serem alocadas em privilégio dos quadros de desenvolvimento de software. Recomendo o não acolhimento desta reivindicação posto, entre outros, conferir tratamento desigual entre bolsistas executando atividades igualmente importantes naquele ou em outros projetos.

Recomendações e Considerações Finais

- (1) A questão da representatividade é fundamental para a caracterização qualitativa e quantitativa de populações moleculares heterogêneas. Desta maneira, parece adequado que as equipes executoras fiquem atentas e sejam monitoradas quanto à necessidade de maximizar tanto a extração (ex. fase do desenvolvimento do organismo doador, distintos tampões de extração, uniformidade de produto), como a detecção (ex. distintos métodos de caracterização das populações) dos grupos moleculares referência, considerando taxas de degradação. Neste particular, foi notável a conspícua ausência de controles positivos e negativos nos resultados apresentados. Também preocupante foi verificar ausentes teste de hipóteses na condução dos experimentos relatados, bem como, verificar ausentes esforços de quantificação e determinação dos níveis de detecção molecular com os quais os projetos operam.
- (2) Há exemplos de redundância de projetos – particularmente na questão do estresse hídrico em cana-deaçúcar – que devem ser evitados no futuro. Fato consumado, sugiro que as lideranças destes projetos e o MCT-FINEP, considerem harmonizar os esforços de maneira a permitir a comparação dos resultados obtidos pelos distintos projetos. O monitoramento dos experimentos de campo para averiguação dos efeitos moleculares de estresses ambientais é urgente. A caracterização genético-molecular e fenotípica (em condições de campo) de transgênico de soja indicado como tolerante a estresse hídrico é também ação prioritária e urgente.
- (3) A maioria dos projetos GenoProt propôs a vinculação de dados moleculares (genômica e proteômica) a processos biológicos complexos, normalmente determinados por vias moleculares redundantes. De fato, os projetos GenoProt lidam com espécies procariontes ou eucariontes, em geral caracterizadas por genética poliplóide e por redundância genética ortóloga em famílias oligogênicas ou poligênicas, bem como, sendo os produtos de expressão objeto de mudanças pós-transcricionais e/ou pós-traducionais. Portanto, recomendo que os projetos GenoProt considerem tais fatos, tanto na sua estratégia de prospecção molecular, como quando reportando os seus resultados. Neste particular, caso tivesse sido tentada, a própria produção/identificação de genótipos contrastantes para as processos/características de interesse não teria sido atividade trivial. Considerando a imensa quantidade de moléculas constitutivas e específicas presentes durante o desenvolvimento do indivíduo, parte da diversidade de populações de uma espécie, bem como, distribuídas em distintas espécies parte da diversidade biológica - verificadas estabilidades distintas e processos ativos de turnover - os projetos GenoProt provavelmente enfrentarão dificuldades intransponíveis à consecução das suas finalidades específicas. Adicionalmente, parece pouco provável que resultados, concluído o cronograma de execução para a maior parte dos projetos, possam ser usados para geração de novos produtos e processos biotecnológicos, cujo potencial de aplicação se caracterize em avanço nas áreas de saúde humana, saúde animal, agricultura, indústria, ou meio ambiente, preferencialmente em parceria com empresas públicas ou privadas.
- (4) Preocupa que os projetos GenoProt tenham sido julgados e aprovados sem qualquer preocupação com o indispensável teste de função correlacionando genes/moléculas a processos biológicos. Novamente, a ausência de linhagens contrastantes - geneticamente caracterizadas e selecionadas – dificultará sobremaneira os estudos de correlação entre a detecção/caracterização da estrutura de moléculas e a função biológica especificada pelas mesmas. Neste particular, considero recomendável que as equipes sejam estimuladas a buscar formas ortólogas em sistemas modelo-genético como indicador da eventual função das moléculas que serão identificadas pelas pesquisas GenoProt. Por outro lado, é fundamental que especialistas sejam consultados(as) quando dos eventuais esforços de geração de mutantes por técnicas de RNAi (1 projeto) ou de mutagênese insercional (2 projetos). Por sua vez, a própria varredura para identificação de mutantes não deve ser considerada matéria trivial.

- (5) As pesquisas GenoProt são fundamentalmente descritivas, portanto seria recomendável que os projetos, considerados os itens (1) e (2) acima, fossem solicitados a organizar e integrar bancos de dados de qualidade. Sugiro como adequado que as lideranças dos projetos apresentem proposta de organização (a) dos bancos de dados Genômicos (estrutural e/ou funcional) (originalmente utilizados pela FINEP para justificar a contratação dos projetos GenoProt sendo analisados!); (b) dos bancos de dados Proteômicos (sendo produzidos pelos projetos financiados); bem como, (c) dos bancos de dados GenoProt correlacionando os bancos de dados genômicos (estrutural e/ou funcional) e proteômicos mencionados acima. Na minha opinião, subestimar a importância dos bancos de dados produzidos em excelência científica e organizacional - inclusive como instrumento de avaliação de desempenho tecnológico e de precisão conceitual das equipes executoras - seria incorrer em grave erro.
- (6) É importante que ao final do próximo ano, as equipes estressem os resultados experimentais como contratados pelo projeto GenoProt. De fato, consideradas poucas exceções, os relatórios pareciam apenas repetir o resumo dos projetos, e não a apresentação dos resultados experimentais dos projetos financiados. Outros relatórios, aparentemente, apresentaram resultados pré-existentes aos projetos GenoProt. Normalmente questões administrativas (ex. contratação de projeto e importação de equipamentos, entre outros) ocupam parte dos primeiros seis meses de execução do projeto; porém, fica a impressão que, até o momento - 34% do cronograma dos projetos GenoProt já completos – as questões administrativas foram preponderantes sobre as análises científicas previstas no projeto. É fundamental que a FINEP crie as condições e demande a execução/conclusão do específico objeto de contrato respeitado o seu cronograma de 03 anos. Neste particular, a grande maioria dos projetos está com o cronograma de execução atrasado.
- (7) É desafio recorrente do MCT-FINEP identificar e financiar projetos estabelecedores de hipóteses testáveis e mensuráveis, seja como parte de pesquisas fundamentais, seja como fonte de insumos ao desenvolvimento de produtos tecnológicos. É tarefa complexa e de grande responsabilidade consequencial. Desta maneira, a estratégica identificação de processos importantes por si só não deveria ser motivo bastante para assegurar o financiamento de projetos científicos e/ou tecnológicos. Antes, sugiro como importante considerar as inovações e buscar antever as possíveis consequências científicas e/ou tecnológicas da abordagem proposta; a disponibilidade de know-how apropriado; e o rigor de aplicação do método científico para identificar moléculas, caracterizar a sua estrutura, determinar a sua localização, mapear a sua inserção em redes moleculares e a real possibilidade de execução dos testes de função essenciais a projetos de pesquisa modernos. Neste particular, é certo que o uso de pareceristas ad-hocs - independentes e desvinculados de grupos de interesse, dispendo do tempo necessário para analisar as propostas concorrentes - composto a sistema de relatoria independente e autônoma das propostas concorrentes, poderão auxiliar o MCT e a FINEP na identificação de projetos com maior probabilidade de sucesso científico e tecnológico.
- (8) Estrategicamente, esforços de capacitação institucional e/ou regional têm sido uma das principais prioridades do MCT. Não obstante, considero importante, porém, (a) assegurar que os equipamentos adquiridos sejam devidamente protegidos por contratos de manutenção; (b) minimizar o impacto que projetos propondo a constituição de plataformas para uso comum de projetos em rede tenham sobre a destinação dos recursos públicos para financiamento de Ciência e Tecnologia; e (c) minimizar o impacto que plataformas de uso comum já constituídas tenham sobre a aprovação de projetos em chamadas competitivas sob regras de licitação pública. De fato, sugiro que poderia ser instrumento adicional para seleção de projetos a ser financiados o julgamento do mérito científico do mesmo, a precisão da sua abordagem, a consistência e rigorosa qualidade científicas dos dados pré-existentes, e a indicação de desenvolvimento de protótipos básicos e aplicados como indicadores de unidades de mensuração de desempenho, tão ou mais importantes do que a publicação de artigos científicos óbvios em revistas de baixo ou médio índice de citação. Seja nos núcleos já constituídos, seja nos núcleos em estágio de capacitação, sugiro que o MCT e as lideranças científicas e institucionais intentem substituir a aquisição de equipamentos, pelo regime de uso por comodato, resguardando termos contratuais que atendam o melhor interesse da Administração.

- (9) À margem esforços, percepção e propaganda as análises de bioinformática no Brasil ainda são rudimentares. Neste particular, os esforços do GenoProt em bioinformática são tímidos e improdutivos. Sugiro que o MCT faça ampla consulta, incluindo no seio dos projetos GenoProt, para identificar áreas estratégicas que aguardam soluções de bioinformática, e considere lançar editais específicos e competitivos para contratar projetos novos na área. Interponho como urgente que o MCT promova a diversidade e o contraditório competitivo no desenvolvimento da bioinformática no Brasil: a inclusão de novos quadros profissionais e intelectuais para desenvolvimento da área de bioinformática é absolutamente estratégica! O Brasil possui competência na área de programação, basta convidar estes talentos - privados ou públicos, indivíduos e instituições - a participar de licitações competitivas.

Soluções importantes e particularizadas serão produzidas. Chega de Plataformas de Bioinformática que vão a lugar nenhum!

- (10) Como recomendações administrativas específicas registro (a) não considerar apropriado estabelecer cotas de bolsa ITI com valores distintos para quadros em treinamento exercendo atividades estratégicas em qualquer área de projeto GenoProt; (b) não considerar apropriado complementar o orçamento de projetos para aquisição de equipamentos, ressalvados aqueles cuja alocação atrasada do financiamento contratado tenha ocorrido por responsabilidade da FINEP; e (c) entender que as instâncias públicas de gestão de políticas públicas em Ciência e Tecnologia - incluindo nas questões referentes ao acesso de organismos e produtos biológicos da diversidade biológica nacional! – precisam, urgentemente, harmonizar procedimentos de maneira a assegurar o melhor interesse da Administração e dos recursos públicos.
- (11) Sugiro que alguns projetos em estágio mais avançado da coleta de dados, incluindo com o patenteamento de moléculas de potencial interesse, sejam convidados a apresentar formalmente as suas estratégias para produção de protótipos de interesse para o setor privado.

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO SOBRE O PROGRAMA GENOPROT

Consultor: Georgios Pappas Jr.

1. Considerações iniciais

A iniciativa da realização do workshop de avaliação do programa GENOPROT realizada em Taguatinga-DF nos dias 4 e 5 de Dezembro de 2008 constitui-se em uma oportunidade ímpar não somente para a discussão técnica sobre os diversos projetos, mas também pela oportunidade de identificar diversos fatores que influenciam positiva e negativamente o andamento dos mesmos.

Devido ao grande número de projetos a logística de apresentação foi afetada resultando em um tempo relativamente curto (~ 15 min) para a exposição dos resultados obtidos, o que poderia afetar a avaliação. No entanto, os trabalhos foram muito bem encaminhados pelo Dr. Luiz Antônio B. de Castro, que permitiu que todos os pesquisadores apresentassem os seus relatos sem maiores prejuízos para a avaliação. Adicionalmente, deve-se ressaltar a ótima organização do evento.

2. Avaliação geral

Em termos gerais, os resultados apresentados pelos projetos indicam o sucesso do programa GENOPROT. Fica claro, a despeito de variados níveis de problemas, que os projetos são meritórios. O sucesso dos projetos pôde ser mensurado por diversos indicadores objetivos como o número de publicações ou teses de doutorado, com especial destaque para a rede proteômica do Rio de Janeiro, com 48 trabalhos científicos publicados desde 2004. Por outro lado, houve projetos que não atingiram o mesmo grau de produção, mas que mesmo assim têm méritos sob a ótica de outros indicadores, como o estabelecimento de competências regionais nas áreas de genômica e proteômica.

Os projetos apresentaram um gradiente dos resultados alcançados, sendo que poucos grupos ainda não geraram dados à altura do financiamento obtido. Mas a avaliação da grande maioria dos projetos é de que as pesquisas vêm sendo realizadas a contento e que os recursos do GENOPROT realmente estão tendo um impacto positivo na pesquisa brasileira.

Os grandes centros de proteômica de diversos estados são mobilizadores de competências e apresentaram resultados muito animadores. Outros grupos, como o da Dra. Marie-Anne Van Sluys (USP), co-responsável pelo Centro Avançado de Tecnologias Genômicas, apesar de não ter gerado dados no momento, com certeza servirá como um ponto focal para as pesquisas genômicas no Brasil.

Ficou evidente que alguns projetos em execução possuem um alto grau de intersecção tanto no tema central dos estudos quanto em abordagens metodológicas. Este fato foi marcante para os três projetos sobre a análise proteômica de cana-de-açúcar sob condições de estresse hídrico. Apesar de compartilharem, em linhas gerais, os mesmos objetivos e analisar algumas variedades em comum, não foi explicitada nenhuma interação entre os grupos. A condução paralela dos projetos implica em duplicação de esforços e uso sub-ótimo de recursos.

Estudos proteômicos foram mais freqüentes do que os genômicos. A linha teórica que sustentou a maioria destes foi a expectativa de que a comparação entre perfis proteômicos entre amostras controle e sob condições de estresse (bióticos ou abióticos) poderia ajudar no entendimento das bases moleculares da resposta fisiológica/celular. Entretanto, no momento nenhum dos projetos conseguiu demonstrar de forma inequívoca que proteínas diferencialmente expressas nos ensaios tinham uma relação causal com o fenômeno analisado. Também foi colocado pelo Dr. Fábio Pedrosa (UFPR) que a análise das proteínas diferencialmente expressas é uma das tarefas mais problemáticas. Uma intervenção muito oportuna e didática foi a do Dr. Lewis Greene (FMRP/USP), que fez uma análise crítica dos resultados proteômicos por comparação de géis bi-dimensionais ressaltando que alterações quantitativas em algumas proteínas são conseqüências de uma cascata de processos celulares, envolvendo um grande número de componentes celulares. Assim, a premissa de causalidade nem sempre é verificada e as técnicas proteômicas estão aquém de responder a pergunta biológica principal levantada pelos projetos.

Do lado da genômica, poucos projetos se propuseram a utilizar as tecnologias de seqüenciamento de próxima geração, como 454, Illumina/Solexa e SOLiD. Vale a menção de que a Dra. Ana Coelho (UFRJ) utilizou a tecnologia 454 para o seqüenciamento de dois genomas de vibrios em associação com um

grupo japonês. Já o Dr. Robert Miller (UCB) planeja utilizar tanto a tecnologia 454 quanto SOLiD para a análise de patógenos em banana.

Seria importante que mais grupos utilizassem estas novas tecnologias, pois inúmeros casos de sucesso vêm sendo reportados na literatura internacional, em função da resolução e aplicabilidade destas para diversos problemas, inclusive muitos de temas tratados no GENOPROT. Por exemplo, o artigo abaixo descreve como a tecnologia 454 pode dar suporte a análises proteômicas:

Bräutigam A. *et al.* (2008): Low-coverage massively parallel pyrosequencing of cDNAs enables proteomics in non-model species: comparison of a species-specific database generated by pyrosequencing with databases from related species for proteome analysis of pea chloroplast envelopes. *J. Biotechnol.* 136(1-2):44-53.

3. Recomendações

a. Incentivar cooperação entre projetos

Visando a melhoria da alocação de recursos e potencialmente uma melhor efetividade nas pesquisas seria muito importante incentivar a formação de redes de pesquisa para projetos versando sobre a mesma temática. A sobreposição de esforços e ausência de interação é algo que deve ser evitado no contexto da carência de recursos financeiros e humanos da pesquisa brasileira.

Uma das opções para minimizar este problema pode vir da própria forma como o edital para eventuais novas chamadas do GENOPROT. A seleção dos projetos contemplados poderia ser feita em duas etapas, sendo a primeira através da análise tradicional dos projetos e posteriormente uma segunda etapa onde proponentes pré-selecionados fossem reunidos para a defesa oral dos projetos, sendo orientados por um comitê científico externo.

b. Bioinformática

Especial atenção deve ser dispensada para a área de Bioinformática, responsável pela análise do grande volume de dados obtidos pelas técnicas de genômica e proteômica empregadas pelos projetos contemplados no GENOPROT. A disponibilidade de um apoio efetivo em Bioinformática é um dos determinantes para o sucesso dos estudos, em função de transformar os dados obtidos em conhecimento biológico.

No entanto, verificou-se uma carência crônica de mão-de-obra especializada nesta área não só no Brasil, mas em nível mundial. Isto pode ser explicado pela natureza inter-disciplinar e seu recente advento, fazendo com que a Bioinformática constitua-se em um dos maiores gargalos para a biotecnologia brasileira.

Foram levantadas algumas alternativas para tentar mitigar este problema, como o pagamento de bolsas diferenciadas e a realização de cursos de especialização. Entretanto, somente estas ações não seriam sustentáveis a médio e longo prazo. É necessário que se atue na formação de base para que se garanta um fluxo contínuo de candidatos devidamente qualificados. Uma das opções viáveis seria o fortalecimento dos grupos de pesquisa em Bioinformática no Brasil, de forma a criar centros de nucleação, tanto de recursos humanos quanto de soluções computacionais para problemas de pesquisa das áreas "ômicas".

O recente advento de novas tecnologias de seqüenciamento de DNA, aumentando em ordens de magnitude a geração de seqüências, vai acentuar ainda mais o problema de carência de mão-de-obra e software moldado especificamente para nossa realidade de pesquisa. A obtenção de um grande volume de dados genômicos tornar-se-á corriqueira e acessível para os grupos de pesquisa no país. A análise destes será o grande desafio. As ações para alavancar a Bioinformática uma prioridade.

c. Proteômica/Genômica

Muitos dos projetos visam criar uma infra-estrutura e competência local para a análise proteômica. Diante da demanda, seria interessante a criação de algumas "core facilities" que contariam com equipamentos mais onerosos, como MALDI-TOF, e que poderiam oferecer serviços para a comunidade científica. Isto levaria a uma economia de recursos e diminuição da potencial ociosidade de equipamentos comprados sem o devido dimensionamento das demandas de análises. Isto também vale para a área de genômica, principalmente no estabelecimento e manutenção de centros nacionais com equipamentos de próxima geração de seqüenciamento de DNA (454, SOLiD).

d. Outras áreas que merecem atenção

Uma temática recorrente nos projetos foi a análise de estresses bióticos e abióticos em plantas. Tolerância à seca, salinidade e metais no solo, bem como resistência a um amplo espectro de pragas foram temas bastante explorados. Dada a sua importância inquestionável e o fato de que muitos destes problemas podem ser acentuados no futuro em função das alterações climáticas globais, seria importante incrementar o financiamento para esta área e também incentivar a criação de institutos nacionais encampando estes temas.

e. A atuação da agência de fomento (FINEP)

Diversos coordenadores apontaram claramente que a atuação da agência financiadora, a FINEP, por muitas vezes é morosa e extremamente burocratizada. Em diversos momentos ficou claro que os coordenadores tiveram que devotar mais esforços para sanar entraves burocráticos impostos pela FINEP do que com a própria pesquisa. Em casos extremos, como o do projeto de fixação biológica de nitrogênio, coordenado pela Dra. Adriana Hemerly, não houve o depósito dos recursos previstos após um ano de vigência do projeto. Outro exemplo foi o do Dr. Fábio Gozzo (LNLS) que reportou a demora de um ano para a FINEP e FAPESP se entenderem para o depósito de recursos para o pesquisador.

Ficou clara a falta de agilidade e carência de interlocutores por parte da FINEP. Uma sugestão seria a criação de um sistema informatizado para o acompanhamento de pendências e informações administrativas dos projetos.

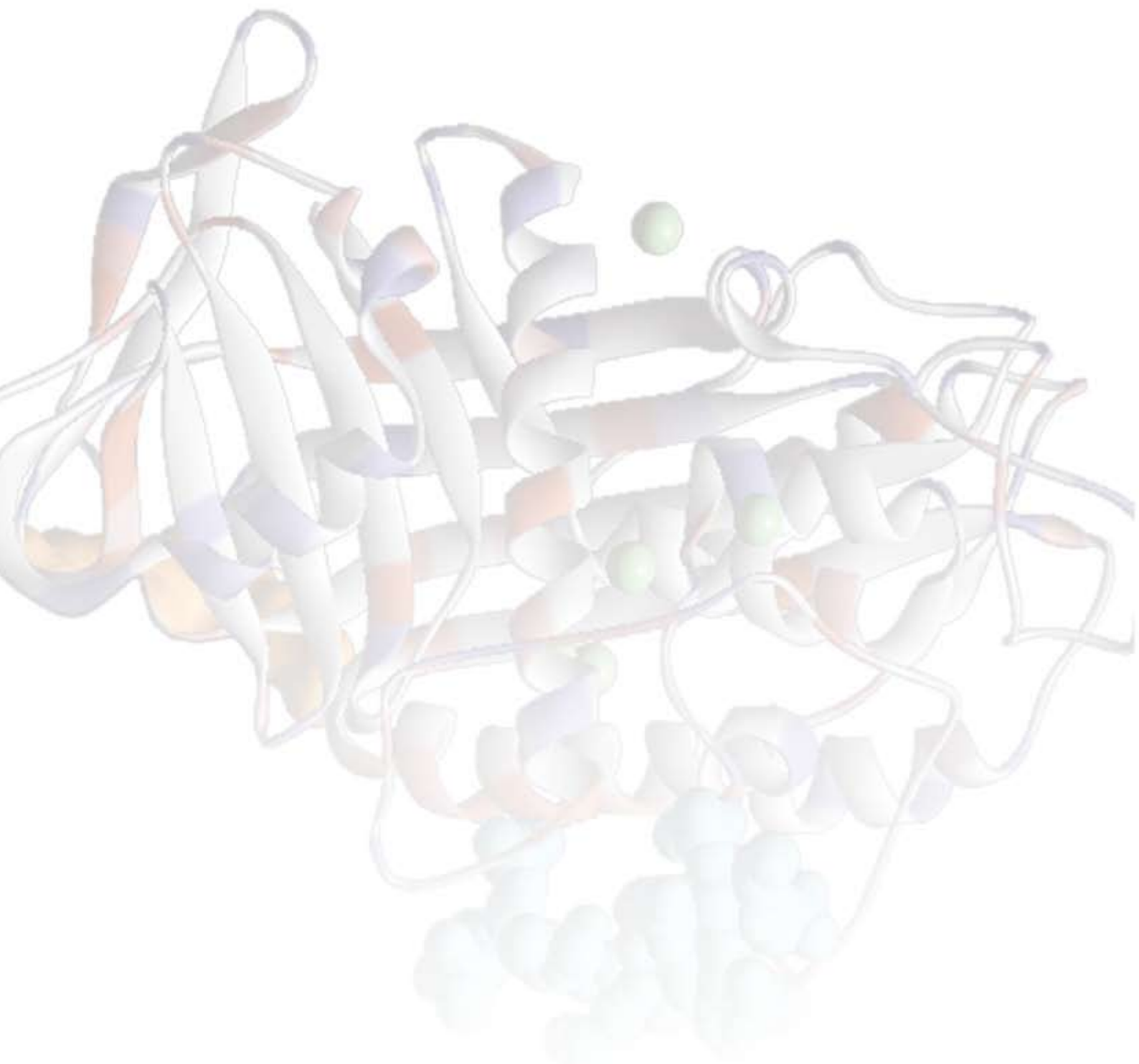
Por outro lado, a representante da FINEP colocou que a atuação do órgão é fortemente regulada pelo Tribunal de Contas da União e portarias do ministério do planejamento.

Seria importante uma reflexão da atuação da FINEP como agência de fomento para pesquisa. O MCT, FINEP e pesquisadores deveriam criar fóruns específicos para identificar imperfeições no sistema que geram ruídos na quase totalidade dos projetos. Estes deverão fornecer subsídios para a mobilização das diversas partes para instrumentar uma ação coordenada junto a esferas do poder executivo e legislativo de forma a se atingir um objetivo comum, qual seja, viabilizar pesquisas de alto nível e gerar um impacto positivo para a sociedade brasileira.

4. Conclusões

O formato do evento, onde todos os grupos apresentaram resultados, foi bastante proveitoso, no sentido de expor os pesquisadores aos resultados, abordagens científicas e até mesmo problemas administrativos de outros grupos. Além de facilitar a solução de problemas comuns este modelo de acompanhamento pode induzir novas cooperações, mesmo para grupos que trabalhem com diferentes temáticas.

Em suma, o programa GENOPROT é uma ação louvável do MCT devendo ser continuado e até mesmo ampliado.



RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO SOBRE O PROGRAMA GENOPROT

Consultor: Dr. Giancarlo Pasquali

Inicialmente, informo que possuo conflito de interesse para avaliar dois dos Projetos apresentados: (i) "Rede Proteoma RS", coordenado pelo Prof. Dr. Augusto Schrank, por ser membro da equipe executora; e (ii) "Estudo do Proteoma de *Crinipellis pernicioso* e Rede Integrada de Estudos Genômicos e Proteômicos - Rede Proteômica do Estado da Bahia - Fungo *Crinipellis pernicioso* e sua Interação com *Teobroma cacao*. Rede Proteoma da Bahia", por manter fortes laços de amizade com o Coordenador, Prof. Dr. Júlio C.M. Cascardo. Assim, absteve-me de emitir conceito para ambos os Projetos. Adianto, também, que não pude estar presente nas apresentações realizadas na manhã do dia 4 de dezembro de 2008, realizando minha avaliação apenas pela leitura dos resumos encaminhados. O mesmo procedimento foi realizado para avaliar os Projetos cujos coordenadores estiveram ausentes no *Workshop*.

A avaliação técnica e científica dos desenvolvimentos e resultados de cada Projeto foi dificultada pelo meu desconhecimento das datas exatas da liberação dos recursos financeiros pela Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) e pelas co-financiadoras, isto é, as Fundações de Amparo à Pesquisa (FAP's) de cada Estado. A demora na liberação e a dificuldade de uso dos recursos financeiros foi a mais forte e predominante crítica realizada pelos coordenadores. Para o julgamento dos Projetos individualmente, classifiquei-os em três categorias conforme a Tabela abaixo. Assim, entendo que os avaliadores vinculados ao próprio MCT deverão levar em conta esses atrasos e dificuldades para considerar a classificação dos Projetos por mim aferida.

Tabela. Avaliação individual de Projetos desenvolvidos sob o Programa GENOPROT e conceitos aferidos: (A) Atenderam plenamente os objetivos propostos; (B) Atenderam parcialmente os objetivos propostos; e (C) Não atenderam os objetivos propostos.

Título do Projeto	Coordenador	Conceito	Observação
01 - Análise proteômica de cultivares de cana-de-açúcar em ambientes de estresse hídrico	Antonio E.G. Sant'Anna (apresentado por Alessandro)	C (Resumo)	Avaliador ausente na apresentação. Recursos financeiros não liberados ou repassados para/pela FAPEAL
02 - Fixação biológica de nitrogênio – cana-de-açúcar e <i>Gluconacetobacter diazotrophicus</i> .	José I. Baldani	C (Resumo)	Avaliador ausente na apresentação. Nenhum recurso financeiro liberado
03 - Caracterização fisiológica e molecular da resposta à seca em cana-de-açúcar	Marcelo M. Teixeira	C (Resumo)	Avaliador ausente na apresentação. Nenhum resultado descrito no resumo, apenas objetivos
04 - Identificação de genes de cana-de-açúcar diferencialmente expressos em condições de estresse hídrico	William L. Burnquist	Sem Conceito	Avaliador ausente na apresentação. Resumo não encaminhado.
05 - Qualidade do Café – aroma e sabor a partir de proteínas e metabólitos.	Alan C. Andrade	C (Resumo)	Avaliador ausente na apresentação. Nenhum resultado descrito no resumo, apenas objetivos
06 - Análise proteômica do estresse hídrico em cafeeiro.	Fábio O. Pedrosa	A (Resumo)	Avaliador ausente na apresentação. Bom volume de resultados descritos no resumo
07 - (a) Rede Proteômica do Amazonas: Análise proteômica de <i>C. violaceum</i> – peptídeos e proteínas com potencial biotecnológico. (b) Rede Proteômica do Amazonas - Análise proteômica do fruto e semente do guaranazeiro (<i>Paullinia cupana</i>).	Jorge L. L. Lozano	B (Resumo)	Avaliador ausente na apresentação. Resultados pouco relevantes descritos no resumo.

Título do Projeto	Coordenador	Conceito	Observação
08 - Descoberta de genes de resistência na interação entre <i>Musa acuminata</i> e <i>Mycosphaerella fijiensis</i> .	Robert N. G. Miller (apresentado por Marta)	A (Resumo)	Avaliador presente. Dados em bom volume. Muito boa produção científica. Equipamentos instalados e operantes.
09 - Rede Integrada de Estudos Genômicos e Proteômicos – Rede Proteômica do Estado da Bahia – Fungo <i>Crinipellis perniciosa</i> e sua interação com <i>T. caçã</i>	Júlio C. M. Cascardo (apresentado por Carlos P. Priminho)	Sem conceito	Avaliador presente, porém possui conflito de interesses.
10 - Aplicação e estudos moleculares do agente de controle biológico <i>Trichoderma harzianum</i> .	Cirano J. Uilhôa	B	Nenhum resultado descrito no resumo, apenas objetivos. Não está clara a participação da UEG e da UCG. Importação não concluída. Padronizações em andamento.
11 - Proteomas de feijão-de-corda e cajueiro sob condições de estresses bióticos e abióticos	Joaquim A. G. Silveira (ausente)	B (Resumo)	Apresentador ausente. Bom volume de resultados descritos no resumo. Porém, "as metas foram superdimensionadas e os resultados alcançados permitiram na realidade operar eficientemente apenas com a etapa inicial da proteômica: a análise por eletroforese 2-D"
12 - Integrando genômica funcional e biotecnologia para melhorar a tolerância a estresses em plantas.	Elizabeth P. B. Fontes	A	Muito bom volume e qualidade de resultados.
13 - S-nitrosilação de fatores de transcrição e morte celular programada em plantas.	Ana C. M. Arisi (apresentado por Hernán Terenzi)	A	Bom volume de resultados científicos e bom uso do equipamentos.
14 - Análise proteômica de Mycoplasmas de interesse em suinocultura.	Hernán Terenzi	B	Em fase inicial de andamento de experimentos de proteômica. Equipos não adquiridos.
15 - Respostas moleculares em camarões de cultivo <i>Litopenaeus vannamei</i> infectados com o vírus da mancha branca e sob condições de estresse.	Maria R. F. Marques	C	Resultados pouco relevantes. Equipos não adquiridos ou não instalados. Em fase inicial e com muitas dificuldades burocráticas.
16 - Implantação de análise proteômica no RS.	Augusto Schrank	Sem Conceito	Avaliador possui conflito de interesses.
17 - Proteoma do músculo esquelético do búfalo.	Paula Schneider (apresentado por Artur L. Silva)	B	Resultados modestos, proporcionais aos recursos obtidos.
18 - (a) Proteomas de interesse médico e biotecnológico: <i>Paraccoccidioides brasiliensis</i> e arroz. (b): <i>P. brasiliensis</i> (c): <i>P. brasiliensis</i> . e <i>Cryptococcus Neoformans</i>	Célia M. A. Soares	A	Excelente volume de resultados e publicações, bem como formação de recursos humanos.
19 - Proteoma estrutural e funcional do veneno do escorpião amarelo <i>Tityus serrulatus</i> .	Adriano M. C. Pimenta	A	Excelente uso da infra-estrutura adquirida e ótimos resultados.

Título do Projeto	Coordenador	Conceito	Observação
20 - Genômica e proteômica das Leucemias	Hector N. S. Abreu (apresentado por Eliana Abdelhay)	A	Excelente volume e qualidade de resultados.
21 - Implantação do 1º Lab. De Oncogenética e Radiobiologia de Goiás.	Renata B. A. Soares	C	Nenhum resultado associado à proteômica e genômica.
22 - Proteômica funcional para elaboração de ferramentas biotecnológicas para tratamento de doenças tropicais com especial ênfase em malária e leishmaniose.	Rodrigo G. Stabeli	A	Adequado volume de resultados e publicações frente à recente disponibilização dos recursos.
23 - Identificação e caracterização de marcadores biológicos e diagnósticos em tripanosomatídeos patogênicos através de genômica e proteômica comparativas.	Edmundo C. Grisard	C	Bons resultados de bioquímica, biol. celular e biol. molecular. Sem dados gerados em genômica ou proteômica. Nenhuma publicação. Maior volume de recursos recebidos entre FINEP e FAPESC.
24 - Proteômica estrutural e funcional aplicada à área biomédica.	Lewis J. Greene	B	Equipamentos adquiridos muito recentemente. Desde a instalação, muitos dados gerados.
25 - Genética e proteômica do carcinoma de células escamosas de orofaringe.	Carmen S. P. Lima	C (Resumo)	Apresentador ausente. Nenhum resultado descrito no resumo, apenas objetivos
26 - Consolidação da Rede de Pesquisa em Proteoma do Estado do Rio de Janeiro.	Paulo M. Bisch	A	Excelentes resultados e alta produção científica. Ótima formação de RH.
27 - Rede GENOPROT Dengue: Ferramentas de genômica e proteômica na identificação de alvos moleculares para diagnóstico e terapia da dengue.	Paulo M. Bisch	A	Excelentes resultados e alta produção científica. Ótima formação de RH.
28 - Rede Proteoma do Estado de São Paulo.	Fabio C. Gozzo	A	Excelentes resultados e alta produção científica. Ótima formação de RH.
29 - Software para análise genômica em ambiente computacional cooperativo e distribuído na Região Centro-Oeste.	Maria E. M. T. Walter	C	Poucos resultados científicos e de desenvolvimento de softwares. Falta de RH. Dificuldades no uso dos recursos financeiros.
30 - Vibrios: genômica, proteômica e prospecção biotecnológica.	Ana M. A. Coelho	A	Recente liberação de recursos financeiros. Boa produção bibliográfica.
31 - Identificação e caracterização de novos genes e proteínas de interesse biotecnológico para o Brasil.	Maria J. M. Alves (apresentado por Marie A. Van Sluys)	A	Equipamento principal recém adquirido e em fase de treinamento. Centro multiusuário em operação.

Finalmente, gostaria de emitir opinião sobre alguns dos temas e propostas sugeridos durante o *Workshop*, conforme seguem:

i. “Solicitação ou disponibilização de recursos financeiros adicionais à FINEP para importação de produtos cujos valores aumentaram em virtude da supervalorização do dólar americano”. Concordo parcialmente. Concordo com a disponibilização de recursos adicionais somente àqueles cujos processos de importação já foram iniciados e que se encontram pendentes da complementação financeira. Discordo da disponibilização de recursos financeiros adicionais àqueles que ainda não iniciaram a importação. Trata-se de mercado de risco que, à semelhança da valorização, pode desvalorizar-se igualmente.

ii. “Fortalecimento da infra-estrutura e da formação de recursos humanos em bioinformática”. Concordo plenamente. É uma das áreas mais deficitárias à maioria dos Projetos e grupos de pesquisa em genômica e proteômica. Recomendo que recursos financeiros sejam disponibilizados a grupos estabelecidos e para a nucleação de novos grupos na área, para a realização de cursos de especialização (360 h) e fomento a novos cursos de graduação e pós-graduação na área.

iii. “Oferecimento de bolsas especiais (maior valor) para dedicação a temas de bioinformática para acadêmicos em graduação”. Discordo totalmente da proposta. Creio que não deveria ser estimulado financeiramente o interesse à pesquisa em bioinformática. Como em todas as demais áreas, é a vocação dos acadêmicos que deve direcioná-los à pesquisa ou ao serviço melhor remunerado em empresas privadas. Adicionalmente, muitos outros acadêmicos estariam sendo atraídos à bioinformática não por vocação, mas por interesse financeiro, além de causar enorme desconforto aos grupos multidisciplinares onde parte dos IC’s receberiam bolsas de valor muito mais alto do que outra parte.

iv. “Estímulo à colaboração e à integração entre redes e centros que atuam em temas de pesquisa semelhantes”. Concordo plenamente. Causa, de fato, estranheza o fomento a tantos grupos distintos de pesquisa que trabalham eminentemente com os mesmos objetivos como, por exemplo, cana-de-açúcar e tolerância a estresses hídricos. Estes grupos (e também outros com temas afins) deveriam colaborar intimamente para acelerar e dinamizar resultados. Dentro desta proposta, entendo que é premente a necessidade de indução de formação de centros avançados em “biologia dos sistemas”, conforme discutido no *Workshop*.

v. “Fortalecimento financeiro dos grupos do Genoprot em 2009/2010”. Concordo parcialmente. Discordo da disponibilização de novos recursos financeiros a grupos que ainda não foram capazes de utilizar recursos já obtidos ou que não foram capazes de gerar resultados quantitativa e qualitativamente proporcionais aos recursos recebidos. Concordo plenamente em disponibilizar recursos financeiros a todos os grupos do Genoprot que, tendo utilizado plenamente os recursos anteriormente obtidos, geraram resultados satisfatórios.

Finalmente, entendo que novo edital Genoprot deveria ser lançado visando apoiar grupos distintos de pesquisa em outras linhas de genômica e proteômica, e que não submeteram propostas ou não foram anteriormente selecionados por questões de imaturidade dos grupos ou projetos ou por possuírem projetos “Genoma” ainda em andamento.

RELATÓRIO DE AVALIAÇÃO SOBRE O PROGRAMA GENOPROT

Consultor: Sandro José de Souza

Comentários Gerais

Há vários pontos gerais que devem ser considerados quanto ao Programa GENOPROT. Em primeiro lugar, creio que o programa se constitui em uma das poucas iniciativas governamentais que busca dar uma continuidade aos investimentos feitos em Genômica no Brasil. Neste contexto, a iniciativa é não somente válida como merecedora de aplausos. Outro ponto importante é a tentativa de se estabelecer uma integração entre a Genômica e a Proteômica. Estes são certamente dois aspectos positivos do programa.

Quanto às apresentações dos projetos, alguns pontos devem ser enfatizados:

- 1) A grande disparidade entre os grupos. Embora tal característica seja esperada em um país com uma comunidade científica heterogênea como o Brasil, tal desproporção poderia ser minimizada com o estímulo a maiores interações entre os grupos. Na manhã do primeiro dia, por exemplo, houve a apresentação de pelo menos 03 projetos sob stress hídrico em cana-de-açúcar. Aparentemente, os grupos não interagem de forma efetiva além de contatos esporádicos. Fica claro que alguns dos grupos se aproveitariam de um contato maior entre eles.
- 2) A ausência de um grupo mais sólido em Bioinformática, com clara experiência em projetos de Genômica e/ou Proteômica. A presença de um grupo forte em Bioinformática permitiria um fluxo de expertise deste grupo aos outros grupos da rede. Há um claro hiato entre a habilidade destes grupos em gerar dados e a capacidade de analisá-los.
- 3) O predomínio de abordagens exploratórias nos projetos. Poucos projetos usaram estratégias funcionais para a validação de genes/proteínas candidatos oriundos das abordagens exploratórias.

Comentários Específicos das Apresentações

A minha análise abaixo é tanto individual quanto comparativa. Os critérios adotados incluem: status do projeto, qualidade dos grupos envolvidos, produtividade e recursos disponibilizados. Classifiquei os grupos em 03 categorias: aqueles com notas de 0-5, 6-8 e 9-10.

Notas 9-10

- Integrando genômica funcional e biotecnologia para melhorar a tolerância a estresses em plantas. Coordenador: Elisabeth Fontes

Nota 10

Certamente a melhor apresentação entre todos os projetos. Excelente!!!

- **Caracterização fisiológica e molecular da resposta à seca em cana-de-açúcar.** Coordenador: **Marcelo Menossi.**

Nota 09

Excelente projeto que progride de forma significativa. Equipe com tradição na área e que cobre várias regiões do país. Há a necessidade de um avanço mais significativo na área de proteoma.

- **Projeto 1: Proteomas de interesse médico e biotecnológico: *Paraccoccidioides brasilienses* e arroz.** Coordenador: **Celia Maria Soares**

Nota 09

Excelente projeto com várias publicações em revista de bom impacto. Equipe diversificada com o domínio de várias abordagens.

Notas 6-8

- Consolidação da Rede de Pesquisa em Proteoma do Estado do Rio de Janeiro. Coordenador: Paulo Bisch

Nota 08

Projeto de muito boa qualidade de um grupo com tradição na área de proteômica.

- Qualidade do Café – aroma e sabor a partir de proteínas e metabólitos. Coordenador: Alan Carvalho Andrade.

Nota 08

Excelente projeto! Equipe bem estruturada com expertises diversos. Um aspecto positivo é a inclusão de abordagens de metaboloma no projeto. A parte de proteômica do projeto encontra-se bem avançada.

- Identificação e caracterização de novos genes e proteínas de interesse biotecnológico para o Brasil. Coordenador: Maria Julia Alves

Nota 08

Apresentado por Marie-Anne van Sluys. Excelente projeto com equipe de primeira qualidade. O aparelho adquirido já se encontra instalado.

- Proteômica estrutural e funcional aplicada à área biomédica. Coordenador: Lewis Greene

Nota 07

Excelente projeto de um dos grupos mais tradicionais na área de proteômica no Brasil. Em dois meses de funcionamento, o aparelho adquirido já foi usado por dezenas de grupos.

- Identificação de genes de cana-de-açúcar diferencialmente expressos em condições de estresse hídrico. Coordenador: William Lee Burnquist

Nota 07

Projeto bem encaminhado. Os dados de fisiologia já foram obtidos. O grupo caminha com boas perspectivas de sucesso.

- Análise proteômica do estresse hídrico em cafeeiro. Coordenador: Fábio de Oliveira Pedrosa

Nota 07

Equipe com tradição na área de Biologia Molecular e Genômica. Projeto com grande chance de ser concluído com sucesso. Um aspecto positivo é que os equipamentos obtidos com recursos do programa estão sendo utilizados em vários outros projetos por grupos diferentes espalhados pelo Paraná.

- **Proteoma estrutural e funcional do veneno do escorpião amarelo *Tityus serrulatus*. Coordenador: Adriano Pimenta**

Nota 07

Projeto bem encaminhado com boas chances de sucesso. Há inclusive aplicação de patentes tanto no Brasil como no exterior.

- Rede Proteoma do Estado de São Paulo. Coordenador: Paulo Gozzo

Nota 07

Projeto bem desenvolvido, mas aquém de outros projetos similares apresentados no mesmo workshop

- Vibrios: genômica, proteômica e prospecção biotecnológica. Coordenadora: Ana Coelho

Nota 06

Projeto com relação custo/benefício ruim. Os sub-projetos apresentados são interessantes mas ainda não está claro as chances de sucesso dos mesmos.

- **Rede Integrada de Estudos Genômicos e Proteômicos – Rede Proteômica do Estado da Bahia – Fungo *Crinipellis perniciosus* e sua interação com *T. cacao*. Coordenador: Julio Cascardo**

Nota 06

Projeto bem encaminhado e com uma abordagem bastante multi-disciplinar. Apresentado por Carlos Pirovani. Várias publicações em revistas de impacto médio.

- Genômica e proteômica das leucemias. Coordenador: Hector Abreu

Nota 06

Projeto apresentado por Eliane Abdelhay. Projeto bem desenvolvido. Pouca discussão sobre genômica/proteômica durante a apresentação.

Notas 0-5

- **I) Rede Proteômica do Amazonas: Análise proteômica de *C. violaceum* – peptídeos e proteínas com potencial biotecnológico. II) Rede Proteômica do Amazonas – Análise proteômica do fruto e semente do guaranzeiro (*Paullinia cupana*). Coordenador: Jorge Luis Lopes-Lozano.**

Nota 05

Os projetos são bastante interessantes aproveitando-se do sequenciamento do genoma do *C. violaceum* (projeto I) e da importância do guaraná na economia amazonense. O primeiro projeto se encontra em fase mais adiantada.

- Implantação de análise proteômica no RS. Coordenador: Augusto Schrank

Nota 05

Projeto de infra-estrutura em um estado carente em proteômica.

- **Descoberta de genes de resistência na interação entre *Musa acuminata* e *Mycosphaerella fijiensis*. Coordenador: Robert Miller**

Nota 05

Projeto interessante. Porém algumas metodologias adotadas estão ultrapassadas. A parte de Bioinformática está pouco desenvolvida e não creio que os pesquisadores responsáveis por esta parte do projeto conseguirão explorar de forma competente os dados gerados.

- I) Análise proteômica de Mycoplasmas de interesse em suinocultura. II) Snitrosilação de fatores de transcrição e morte celular programada em plantas. Coordenador: Hernan Terenzi

Nota 05

Projeto com potencial. Resultados apresentados até o momento não permitem uma avaliação precisa sobre as chances de sucesso.

- Identificação e caracterização de marcadores biológicos e diagnósticos em tripanosomatídeos patogênicos através de genômica e proteômica comparativas. Coordenador: Edmundo Grizard

Nota 05

Apresentação com muitas propostas mas poucas coisas feitas.

Proteômica funcional para elaboração de ferramentas biotecnológicas para tratamento de doenças tropicais com especial ênfase em malária e leishmaniose. Coordenador: Rodrigo Stabelli

Nota 04

Proposta de infra-estrutura com resultados ainda bem preliminares. Um aspecto positivo é a localização geográfica do grupo.

- Análise proteômica de cultivares de cana-de-açúcar em ambientes de estresse hídrico. Coordenador: Antônio Euzébio Goulart Santana.

Nota 04

Projeto apresentado pelo colaborador Alessandro Riffel da Embrapa. Este é um grupo forte no contexto da comunidade científica de Alagoas. O presente projeto, aparentemente, progride de forma lenta. Os dados fisiológicos da cana-de-açúcar estão caminhando relativamente bem mas ainda não há dados de análises proteômicas.

- **Aplicação e estudos moleculares do agente de controle biológico *Trichoderma harzianum*. Coordenador: Cirano Ulhoa**

Nota 04

Apresentação de resultados muito preliminares. Relação custo/benefício da presente proposta é ruim.

- Software para análise genômica em ambiente computacional cooperativo e distribuído na Região Centro-Oeste. Coordenadora: Maria Emilia Telles

Nota 04

A implantação da rede é louvável e deve ser estimulada. Mas tenho muitas dúvidas quanto ao desenvolvimento da proposta. Não fiquei nada impressionado com a qualidade dos trabalhos desenvolvidos e a produtividade dos grupos envolvidos é preocupante.

- Implantação do 1º Lab. de Oncogenética e Radiobiologia de Goiás. Coordenador: Renata Soares

Nota 03

Projeto de infra-estrutura. Apresentação de resultados muito preliminares. Chance de sucesso indefinida.

- **Respostas moleculares em camarões de cultivo *Litopenaeus vannamei* infectados com o vírus da mancha branca e sob condições de estresse. Coordenadora: Maria Ribeiro Marques**

Nota 03

Proposta com claro apelo biotecnológico porém sem um bom encaminhamento. Praticamente nada em termos de resultados.

- Proteoma do músculo esquelético do búfalo. Coordenador: Maria Paula Schneider

Nota 03

Projeto apresentado por Artur Luis Silva. Fiquei bastante incomodado pela atitude do palestrante. Ao invés de apresentar dados e propostas construtivas, passou boa parte do tempo reclamando de tudo e de todos. Não está claro se as chances de sucesso da proposta.

Comentários Finais

Durante o encontro foram discutidos vários aspectos importantes da Genômica e Proteômica atual e propostas foram feitas. Por exemplo, o estabelecimento de um Instituto Nacional de Biologia do Sistema de Stress em Plantas me parece uma proposta concreta com boas chances de sucesso, principalmente se houver bom-senso na escolha dos grupos envolvidos. Da mesma forma, medidas para o desenvolvimento da Bioinformática também são urgentes e necessárias.