

CONGRESSO INTERNO

PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

PIBIC

04 de julho de 2011

Coordenação:

Celso Eduardo Benedetti - Coordenador do PIBIC para ABTLuS

Tatiane Moraes - Apoio Administrativo

CONGRESSO INTERNO – PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

As apresentações dos bolsistas do Programa de Iniciação Científica PIBIC serão realizadas no dia 04 de julho de 2011 das 8:30 às 17:00 horas, na sala de Leitura da Biblioteca do LNLS. Cada aluno terá 20 minutos para expor suas atividades desenvolvidas no período de estágio. Após a apresentação o aluno terá 5 minutos para eventuais perguntas e questionamento por parte do Comitê externo de avaliação.

INFORMAÇÃO IMPORTANTE

É OBRIGATÓRIA A PRESENÇA DE TODOS OS BOLSISTAS DURANTE O CONGRESSO, SENDO QUE OS ORIENTADORES DEVERÃO ACOMPANHAR TAMBÉM OS SEUS RESPECTIVOS ALUNOS.

BOLSISTA		TÍTULO DO PROJETO	ORIENTADOR
08:30	Daniel S. Saito	Ensaio funcionais com Stanniocalcina-1 humana, proteína marcadora do microambiente tumoral em leucemia	Jörg Kobarg
09:00	Juliana F. Bueno	Validação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase de <i>Schistosoma mansoni</i> como potencial alvo para o desenvolvimento de novos fármacos contra esquistossomose	Arthur Cordeiro
09:25	Débora Camilotti	Identificação de interações da proteína Vam6, envolvida na regulação da quinase TOR	Juliana H.Smetana
09:50	Frederico P. Borges	Determinação de sítios de clivagem de alvos celulares e de matriz de ADAM-17 recombinante em culturas de células normais e cancerosas	Adriana P. Leme
10:15	INTERVALO		
10:45	Letícia F. Santana	Estudos estruturais e funcionais de transportadores tipo ABC	Andrea Balan
11:10	Flávio L. Pessanha	Expressão e caracterização de Swolanases provenientes de fungos filamentosos	Fábio Squina
11:35	Guilherme de Oliveira	Engenharia fisiológica da biomassa lignocelulósica	George Jackson
12:00	ALMOÇO		
13:35	Guilherme B. Fior	Estudo de vórtices magnéticos	Flávio Garcia
14:00	Marta S. K. Crouchan	Desenvolvimento de um Biossensor Amperométrico Descartável para Lactato utilizando Papel sobre uma Microcélula Eletroquímica Plástica.	Angelo Gobbi
14:25	Bárbara F. Augusto	Na busca de nanopartículas de prata com baixa polidispersão e alto poder bactericida	Mateus Cardoso
14:50	INTERVALO		
15:20	Eduardo B. Fonseca	Simulação física do processo de soldagem por atrito com pino não consumível em aço inoxidável duplex	Antonio Ramirez
15:45	Raquel R. M. de Queiroz	Avaliação da resistência à corrosão em meio contendo cloretos de juntas soldadas de aços inoxidáveis duplex.	Antonio Ramirez
16:10	Leandro M. Silva	Estudo da anisotropia magnética em nanotubos enrolados	Angelo Malachias
17:00	ENCERRAMENTO		

O CNPEM é gerido pela ABTLuS por meio de contrato de gestão com o MCTI

Campus: Rua Giuseppe Máximo Scolfaro, 10.000 - Polo II de Alta Tecnologia - Caixa Postal 6192 - 13083-970 - Campinas/SP

Fone: +55.19.3512.1010 | Fax: +55.19.3512.1004 | www.cnpem.org.br

RESUMOS

Clonagem e expressão de Stanniocalcina-1 em linhagens de células humanas para estudo de interação in vivo.

Aluno: Daniel Seiji Saito

Orientador: Prof. Dr. Jörg Kobarg

Resumo

Stanniocalcina (STC) é uma glicoproteína hormonal que regula a homeostase mineral em peixes ósseos, porém sua forma homóloga em mamíferos, Stanniocalcina – 1 (STC 1) parece estar relacionada ao processo de carcinogênese e angiogênese. Funções específicas para esta proteína ainda são incertas em vista da expressão em vários tecidos de mamíferos, diversas interações proteína-proteína e dificuldade em obter uma proteína estável para estudos de alta resolução estrutural. Devido a poucas informações funcionais sobre STC1, screenings no sistema duplo híbrido em leveduras, para encontrar algumas proteínas que interagem com a STC-1 e uma caracterização estrutural de baixa resolução para investigar suas possíveis funções, já foram realizadas por nosso grupo. Este presente projeto de Iniciação Científica visa gerar dados funcionais sobre esta proteína para identificarmos potenciais vias de atuação e funções não descritas. Após termos realizado sua clonagem em vetor de expressão em células de mamíferos, estamos padronizando o processo de transfecção celular e geração de clones estáveis, para então realizarmos análises por espectrometria de massas para investigar, confirmar e caracterizar de forma funcional, mais parceiros de interação para esta proteína. As interações identificadas que forem sinônimas as já encontradas pelas outras técnicas terão sua relevância melhor caracterizada por ensaios funcionais bioquímicos e de biologia celular com co-localização sub-celular e GST Pull down para buscar uma melhor compreensão de suas vias de atuação principalmente na leucemia infantil.

Validação da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase de *Schistosoma mansoni* como potencial alvo para o desenvolvimento de novos fármacos contra esquistossomose

Aluna: Juliana F. Bueno

Orientador: Artur Cordeiro

Resumo

O trabalho realizado como parte do programa de Iniciação Científica, teve como objeto de estudo a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase de *Schistosoma mansoni*. Este trabalho envolveu principalmente duas áreas de estudos: biologia molecular e bioquímica.

A parte de biologia molecular refere-se à subclonagem do gene da smg6pd gentilmente cedido pelo Dr. Humberto Pereira Muniz, do Instituto de Física de São Carlos, USP e a expressão deste gene em bactérias *Escherichia coli*. A parte bioquímica envolve a purificação da enzima SmG6PDH.

Identificação de interações da proteína Vam6, envolvida na regulação da quinase TOR

Aluna: Débora Camilotti

Orientadora: Juliana Smetana

Resumo

As células controlam seu crescimento em resposta à presença de nutrientes e fatores de crescimento por meio de uma via de sinalização conservada, na qual a quinase TOR (Target of Rapamycin) é o principal participante. Essa quinase é encontrada em todos os eucariotos e existe na forma de dois complexos, TORC1 ou TORC2 em levedura, em TORC1 ou em TORC2 em mamíferos, os quais diferem em sua sensibilidade à droga imunossupressora rapamicina. A desregulação dessa via em humanos está relacionada a doenças como câncer e diabetes. A quinase TOR é ativada na presença de aminoácidos, especialmente a leucina, e o mecanismo exato dessa regulação é uma questão que permaneceu sem resposta durante muito tempo. Recentemente, foi descoberto que as pequenas GTPases da família Rag (Gtr1 em levedura) são mediadoras da sinalização por leucina. Essas GTPases são ancoradas na superfície do lisossomo por meio da interação com um complexo de três proteínas denominado Ragulator. Diversos processos celulares são regulados por pequenas GTPases, que ciclam entre dois estados - ligado a GTP (ativado) ou a GDP (inativo), funcionando como interruptores moleculares.

Ao contrário das outras pequenas GTPases, que são monoméricas, as Rags funcionam obrigatoriamente como heterodímeros, sugerindo que sua regulação possa ser mais complexa. O objetivo deste projeto é a clonagem, expressão e purificação das GTPases Rag e de componentes do complexo Ragulator para estudos estruturais, tendo como objetivo final a resolução de sua estrutura cristalográfica, o que permitirá um melhor entendimento de seu papel como mediadores da sinalização por leucina.

Determinação de sítios de clivagem de alvos celulares e de matriz de ADAM-17 recombinante em culturas de células normais e cancerosas

Aluno: Frederico P. Borges

Orientadora: Adriana Paes Leme

Resumo

As ADAMs (A Desintegrin and Metalloproteinase) são representantes de uma família de proteases que apresentam domínios extracelulares relacionados à atividade proteolítica e adesiva e domínio citoplasmático envolvido na sinalização celular. Dentre suas propriedades está a realização do shedding, sendo capaz de clivar proteínas e solubilizar os ectodomínios de citocinas, moléculas de adesão, receptores e fatores de crescimento. Por esta atuação, vários estudos correlacionam sua porção extracelular à tumorigênese. A ADAM-17, também conhecida como TACE (Tumour Necrosis Factor α -Converting Enzyme), é descrita atuando na liberação de ectodomínios de proteínas de superfície celular, regulando a sinalização de EGFR (receptor do fator de crescimento epidermal), que é associado a vários tipos de câncer. Possui alta expressão no carcinoma de cólo de útero e no câncer de mama, em contrapartida, atua no desenvolvimento do músculo cardíaco. Na superfamília das Metazincinas onde são classificadas as ADAMs, as MMPs (Matrix Metallo-Proteinases) merecem também destaque por sua atuação tecidual e por estarem envolvidas na progressão de diversos tipos de câncer, mas estas possuem como inibidores naturais os TIMPs (Tissue Inhibitor Metalloproteinases). Entretanto, os mesmos não possuem total efeito sobre as ADAMs, fazendo-se necessária a realização de novos estudos para a descoberta de novos alvos terapêuticos e desenvolvimento de possíveis fármacos que atuem inibindo as mesmas. A partir disso, os objetivos desse trabalho serão buscar novos alvos para a ADAM-17 e determinar os sítios de clivagem específicos de uma parte de sua porção extracelular chamada de MDCE, que incluem os domínios metaloproteinase (M), tipo-desintegrina (D), rico em cisteínas (C) e tipo fator de crescimento epidermal (E). Para tanto utilizaremos abordagens de biologia molecular e proteômica/espectrometria de massas. Esperamos com isso identificar novos alvos celulares e de matriz extracelular da ADAM-17 em células tumorigênicas e não tumorigênicas, compreender os mecanismos de regulação e sinalização celular através da modificação pós-traducional via proteólise da ADAM-17, elucidar os sítios de preferência de uma proteinase intrínsecos ao seu mecanismo de ação, e também o desenvolvimento de substratos peptídicos e inibidores.

No período a que se refere esse relatório, foram realizados experimentos para expressão dos domínios recombinantes MDCE. Além disso, foram realizados testes de atividade com

proteínas de matriz extracelular.

Estudos estruturais e funcionais de transportadores tipo ABC

Aluna: Letícia F. Santana

Orientadora: Andrea Balan

Resumo

Durante o trabalho que antecede a caracterização e estrutural e funcional das proteínas periplasmáticas de escolha, a saber, AfuA (ligadora de ferro), PhoX (ligadora de fosfato), PheC (ligadora de aminoácidos polares), PotF (ligadora de putrescina) e Pbp (ligadora de fosfonatos), foi possível o aperfeiçoamento do manejo de equipamentos e técnicas necessárias para estudos nas áreas de Biologia Molecular e Estrutural. Desse modo, foram executados os mais diversos testes de indução com as proteínas periplasmáticas AfuA, PheC, PhoX, PotF e PBP de sistemas transportadores do tipo ABC de *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*. Extratos celulares de linhagens de *E. coli* como BL21(DE3), BL21-C41 (DE3), BL21- AI, Arctic Express (DE3) e BL21 (DE) Δ SlyD, foram utilizadas com o objetivo de obter a máxima concentração na fração solúvel do extrato celular. A solubilidade das proteínas periplasmáticas foi determinada depois de sua extração e visualização em gel de acrilamida (SDS-PAGE). A proteína ligadora de fosfonatos (Pbp) foi a que apresentou os melhores resultados, expressa na forma solúvel e em alta quantidade, purificada por cromatografia de afinidade a metal. Os resultados obtidos mostraram pouca estabilidade da proteína durante o processo de purificação. Houve, contudo, proteína suficiente para ser concentrada a fim de que sejam realizados os primeiros testes para as análises de sua estrutura e função. A expressão solúvel da proteína PotF também foi obtida após testes em diversas temperaturas e condições a fim de aumentar a concentração de proteína solúvel. Esta condição foi alcançada a partir da expressão em *E. coli* DH5a artic, à 13°C, durante 18 horas. A proteína foi extraída e purificada por cromatografia de afinidade a metal e gel filtração e poderá ser usada nos futuros ensaios de atividade/interação com ligantes e cristalização.

Expressão e caracterização de Swolanases provenientes de fungos filamentosos

Aluno: Flávio L. Pessanha

Orientador: Fábio Squina

Resumo

O presente trabalho objetivou-se a produção de duas β -glucosidases hipertermofílicas, *Thermotoga petrophila*, Tpet 0898 e Tpet 0952 e uma β -glucosidases, *Pyrococcus furiosus*, Pfur 3638, assim com suas purificações e caracterizações. As proteínas de interesse se mostraram indutível, portanto, foram produzidas a partir de um cultivo bacteriano sob indução com IPTG, recuperadas com a ruptura celular seguida de purificação do extrato solúvel. A etapa de purificação teve como agente facilitador a presença de uma calda de histidina na proteína heteróloga, que facilita a interação com íons Níquel presentes na coluna de afinidade. E caracterizações como DLS, pH e temperatura ótimos de operação também foram realizados, sendo os últimos realizados na presença de pNPG como substrato. A temperatura e pH ótimos foram otimizados com estudos estatísticos de superfície fornecendo resultados de 94°C e pH 4,2 para Tpet 0898, com valor predito de 7,10 U/mg que representa uma variação de 23% com relação ao dado experimental, 82°C e pH 6,0 para a Tpet 0952 com valor predito de 9,37 U/mg representando uma variação de -1,48% em relação ao dado experimental e por fim 99°C e pH6,0 para a Pfur 3638, com valor predito de 93,5 U/mg representando uma variação de 6,38%.

Uma comparação da ação enzimática a diferentes substratos foi realizada a fim de estipular os diferentes substratos aos quais as enzimas atuam e diferencia-las segundo sua ação catalítica do tipo β 1-3 e β 1-4. Portanto, as três enzimas apresentaram atividade nos substratos laminarin, lichenan, β -Glucam e sigma cell.

Engenharia fisiológica da biomassa lignocelulósica

Aluno: Guilherme de Oliveira

Orientador: George Jackson

Resumo

Para conseguir transformar, em um meio viável de aplicar no campo, o inibidor químico capaz de aumentar a digestibilidade da parede celular estão sendo estudadas técnicas de liberação controlada, empregando-se a própria lignina obtida do bagaço de cana, como matriz de liberação controlada do princípio ativo. O inibidor escolhido para estudo foi o MDCA. Variando-se a proporção lignina-soluto na amostra, variou-se a quantidade de MDCA liberada na água, essa variação foi medida por meio de análise por cromatografia líquida de alta performance - HPLC a concentração de MDCA liberada diariamente durante a primeira semana e depois em intervalos de aproximadamente 7 dias. Essa liberação foi acompanhada durante um período de pouco mais que 3 meses.

Estudo de vórtices magnéticos

Aluno: Gabriel B. Fior

Orientador: Flávio Garcia

Resumo

Na primeira etapa do trabalho foi feito um estudo de filmes de cobalto e permalloy depositados sobre um substrato de silício, de forma a obter discos magnéticos.

Para entender esses discos, foi feito um estudo teórico sobre magnetismo em geral, em especial sobre nanomagnetismo. Ainda na abordagem teórica, foram feitas simulações computacionais, utilizando o software livre OOMMF, para obter ciclos de histerese e configurações magnéticas das amostras.

Na parte experimental, foram feitas medidas de AFM e MFM.

Na segunda parte deste trabalho, foi dado um enfoque maior na parte de simulação micromagnética, em especial no que tange as propriedades dinâmicas de vórtices magnéticos.

Desenvolvimento de um Biossensor Amperométrico Descartável para Lactato utilizando Papel sobre uma Microcélula Eletroquímica Plástica.

Aluna: Marta S. K. Crouchan

Orientador: Angelo Gobbi

Resumo

A busca por dispositivos que oferecem análises rápidas, simplificadas e de baixo custo, tanto para diagnóstico clínico quanto para implantação nas indústrias, vem crescendo exponencialmente devido à necessidade de resultados imediatos para acelerar e facilitar o socorro de pacientes e os processos industriais.

Neste cenário, a nova classe de dispositivos do tipo point-of-care tornou-se uma alternativa promissora e demasiadamente vantajosa quando comparados aos métodos tradicionais de análises. Isso porque as técnicas convencionais deixam a desejar no que se referem à rapidez, simplicidade e custos.

Assim, no período referente à 2010/2011 desenvolveu-se e caracterizaram-se dois diferentes dispositivos biossensores para detecção de lactato, sendo um deles utilizando papel sobre microcélula eletroquímica plástica e outro com eletrodos impressos sobre papel.

Desta forma, a partir destes dispositivos será possível a realização de análises quantitativas simplificadas para diagnósticos rápidos. Outro aspecto relevante deste projeto é o intento de desenvolver dispositivos adequados à implantação comercial.

Na busca de nanopartículas de prata com baixa polidispersão e alto poder bactericida

Aluna: Barbara F. Augusto

Orientador: Mateus Cardoso

Resumo

Neste trabalho foram realizadas sínteses de nanopartículas de prata através de três métodos de redução diferentes. As partículas tiveram a sua forma, tamanho e concentração caracterizadas para posterior teste com bactérias.

Nanopartículas de prata têm sido estudadas devido ao seu já conhecido efeito bactericida. Porém esse efeito depende do tipo de síntese utilizado, do tamanho e da concentração dessas partículas. Não se sabe exatamente como as nanopartículas de prata atuam nas células das bactérias para matá-las. Existem estudos que apontam que as partículas atuam mais fortemente nas mitocôndrias celulares induzindo a apoptose através da produção de ROS (Reactive oxygen species) o que leva a morte da célula.

Podem ser utilizados diferentes métodos para a obtenção de nanopartículas. Esses métodos de síntese se dividem em métodos físicos e métodos químicos. Dentre os métodos químicos, o mais utilizado é o método da redução, que consiste em utilizar um sal de prata, um agente redutor e um estabilizante. O agente redutor é o responsável pela redução do íon Ag^+ a Ag^0 enquanto que surfactantes são utilizados para controlar o crescimento e estabilizar as partículas.

Neste trabalho utilizou-se o método químico da redução para a obtenção das partículas de prata, espectroscopia de UV-Vis, microscopia eletrônica de transmissão e espalhamento de raios-X a baixos ângulos (SAXS) para a caracterização das partículas, como forma, tamanho e concentração. Testes bacteriológicos foram realizados com o objetivo de investigar o efeito bactericida das nanopartículas.

Simulação física do processo de soldagem por atrito com pino não consumível em aço inoxidável duplex

Aluno: Eduardo B. Fonseca

Orientador: Antonio Ramirez

Resumo

Este projeto trata da implementação da simulação física do processo de soldagem por atrito com pino não consumível (SAPNC), também conhecido, em inglês, como Friction Stir Welding, utilizando o módulo de torção do simulador físico termomecânico Gleeble® 3800. O material estudado foi o aço inoxidável duplex (AID) UNS S32205. As principais aplicações do processo SAPNC estão na soldagem de materiais metálicos com baixa temperatura de fusão, como as ligas de alumínio e magnésio, enquanto a aplicação em materiais com temperatura de fusão mais elevada, como as ligas a base de cobre, ferro e níquel, ainda é escassa, pois a tecnologia está em desenvolvimento. A simulação física do processo SAPNC pode fornecer informações de grande importância para o melhor entendimento do processo e das condições termomecânicas às quais o material é submetido, de forma que os esforços de simulação numérica do processo possam contar com os dados experimentais necessários, como, por exemplo, as taxas de deformação impostas e seu efeito no aquecimento da amostra, o que hoje é desconhecido. O simulador físico termomecânico foi utilizado para simular as condições termomecânicas impostas ao material durante o processo SAPNC, levantando dados de história térmica e torque. A microestrutura obtida pelo processo de simulação foi comparada com a microestrutura observada na SAPNC do mesmo AID, fornecendo diretrizes para os próximos ensaios.

Avaliação da resistência à corrosão em meio contendo cloretos de juntas soldadas de aços inoxidáveis duplex.

Aluna: Raquel R. M. de Queiroz

Orientador: Antonio Ramirez

Resumo

Aços inoxidáveis duplex (AIDs) possuem uma microestrutura formada por frações aproximadamente iguais de ferrita (cúbico de corpo centrado) e de austenita (cúbico de face centrada). O balanço destas fases proporciona aos AIDs alta resistência a corrosão-sob-tensão, corrosão localizada e uma resistência mecânica superior a dos aços inoxidáveis austeníticos convencionais, combinada a uma boa tenacidade. Como resultado da soldagem por fusão de aços inoxidáveis duplex (AID) e superduplex (AISD), fases intermetálicas podem precipitar e causar a diminuição da resistência à corrosão e da tenacidade à fratura da junta soldada (LIPPOLD et al., 2005).

A técnica de soldagem por atrito com pino não-consumível – SAPNC – (do inglês, Friction Stir Welding) permite a união de aços abaixo da temperatura de fusão dos mesmos. Como consequência direta tem-se que a microestrutura favorável duplex pode ser mantida. Nesse trabalho, foi realizado um estudo do comportamento de resistência à corrosão por pites e intergranular de juntas soldadas por atrito com pino dos AIDs UNS S32101, e S32205 e dos AISDs S32750 e S32760. Dentre as inúmeras aplicações dos AIDs, tem-se a utilização desses em ambientes marinhos, o que faz da resistência à corrosão em meios clorados especialmente importante para aplicação destes.

O comportamento de resistência à corrosão apresentados nas juntas soldadas para todos os materiais foram similares, exceto para UNS S32101 que tem sua temperatura crítica de pites abaixo da temperatura ambiente, portanto, a formação e crescimento de pites já são estáveis à temperatura ambiente para este material. De modo geral, as juntas dos aços UNS S32205, S32750 e S32760 apresentaram potencial de pites, potencial e corrente de corrosão similares; densidade de corrente reversa menor do que a corrente direta indicando que o crescimento de pites não é estável para aquela condição. Os ensaios de corrosão intergranular apresentaram também resultados semelhantes para as juntas soldadas e os metais base, mostrando que não houve modificação na resistência à corrosão intergranular após o processo de soldagem.

Estudo da anisotropia magnética em nanotubos enrolados

Aluno: Leandro M. Silva

Orientador: Angelo Malachias

Resumo

Uma das principais preocupações quanto ao futuro das tecnologias baseadas em gravação magnética é quanto aos limites de armazenamento de dados por unidade de área. Diversas alternativas têm sido então levantadas para quando os limites físicos dos sistemas utilizados hoje forem alcançados. Uma dessas alternativas baseia-se nos vórtices magnéticos, termo que se refere à organização dos vetores momento magnético em sistemas magnéticos de baixa anisotropia e dimensões micrométricas ou submicrométricas, cujo estudo constituiu uma das principais motivações iniciais desse projeto.

Também é de conhecimento comum na sociedade científica a importância da elasticidade em sólidos atualmente. Entender suas implicações na escolha de materiais para se moldar e/ou fabricar algo, seja uma amostra, uma peça ou um prédio, e as aplicações de suas propriedades após a fabricação destes é fundamental, tanto na Física, nas Engenharias, na Química e na Biologia, entre outros.

Uma outra forma de analisar nossas amostras se baseia em entendê-las em termos de seus parâmetros elásticos, as diferentes tensões entre os filmes depositados via sputtering e como estas interferem na forma final do tubo obtido, quando se obtém.