



CNPEM
PIBIC
PROGRAMA INSTITUCIONAL
DE BOLSAS DE INICIAÇÃO
CIENTÍFICA

Livro de Resumos



CNPEM

Congresso Interno de Iniciação Científica do programa PIBIC no CNPEM

Realizamos o Congresso Interno do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC) do Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) com enorme satisfação. Entre agosto de 2012 e julho de 2013, 22 alunos participaram dessa iniciativa do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq). Esses estudantes, provenientes de cursos de Física, Química, Biologia e Engenharias de várias universidades de Campinas e região, desenvolveram trabalhos em diferentes áreas da ciência e tecnologia, incluindo física de aceleradores, materiais nano-estruturados, estrutura e função de proteínas e bioprocessos na geração de biocombustíveis. Os detalhes desses projetos estão reunidos nesse livro de resumos.

Agradecemos ao CNPq pelas bolsas concedidas ao nosso Programa e a todos do CNPEM que de alguma forma contribuíram para a realização deste evento. Gostaríamos de agradecer especialmente aos membros dos Comitês de Avaliação Internos e Externos pelos trabalhos prestados e aos alunos e orientadores que, com muita dedicação e empenho, desenvolveram seus projetos com extremo rigor científico.

Atenciosamente,

Coordenação do Programa PIBIC para o CNPEM



CNPEM

O Programa PIBIC no CNPEM

O Centro Nacional de Pesquisa em Energia e Materiais (CNPEM) coordena e viabiliza, através de seus Laboratórios Nacionais, o Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica (PIBIC), financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

O PIBIC tem como principal objetivo estimular a formação científica de estudantes de graduação e representa o primeiro passo na trajetória profissional de jovens que pretendem atuar em pesquisas nas áreas de ciência e tecnologia. Essa oportunidade de contato direto com as atividades científicas enriquece o currículo e beneficia o futuro profissional dos estudantes. A iniciação científica de excelência disponibiliza ao aluno a base necessária para a construção e a consolidação de uma sólida carreira profissional. Nesse sentido, o PIBIC é um valioso mecanismo de incentivo aos jovens talentos.

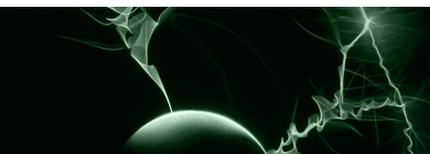
O PIBIC no CNPEM promove a participação ativa dos alunos em projetos de pesquisa com mérito científico e potencial para serem continuados na pós-graduação. Os Laboratórios Nacionais do CNPEM oferecem ainda um ambiente de pesquisa com infraestrutura e instrumentação científica de excelente qualidade.

Esse cenário favorece o sucesso do Programa. Mais de 60% de nossos ex-alunos de iniciação científica estão cursando pós-graduação, muitos deles continuam atuando nos laboratórios do CNPEM e cerca de 10% desses jovens estão trabalhando no setor privado. Dessa forma, reconhecemos a importância do Programa e acreditamos que o PIBIC/CNPEM atinge seu principal objetivo de contribuir significativamente para a formação de nossos alunos.

Atenciosamente,

Celso Benedetti

Coordenador do PIBIC para o CNPEM





Projeto: Estudos funcionais de hemicelulases microbianas com potencial aplicação biotecnológica em biorrefinarias de biomassa hemicelulósicas

Nome do bolsista PIBIC: Amanda Silva de Sousa

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Roberto Ruller

Resumo

O resíduo gerado pela produção de etanol resulta em uma biomassa que é composta por celulose, hemicelulose e lignina e a partir da metabolização desses polímeros é possível a produção do etanol de segunda geração. Aumentando assim, a produção nacional de etanol. Entretanto, a via de fermentação das hemiceluloses e ligninas possuem alguns empecilhos. Pois, as leveduras, principais fermentadoras, não conseguem metabolizar a xilose ou monômero de xilose, obtidos a partir do pré-tratamento da biomassa. Portanto, o uso de enzimas hemicelulósicas e xilose isomerase facilitam a entrada destes açúcares nas leveduras para que consigam fermentar e produzir etanol. Outra forma que existe para que as leveduras consigam incorporar os açúcares provenientes do pré-tratamento da biomassa é a partir de modificações genéticas e adaptações de leveduras ao meio rico em xilose.

No presente trabalho foi apresentada duas frentes a primeira o estudo de um sistema de expressão eficiente de hemicelulases aparentes em *E. coli* e levedura *Pichia pastoris*. Para posterior utilização na hidrólise de hemiceluloses e produção de xilose. Já a segunda frente foi o estudo da engenharia evolutiva “adaptativa” para o desenvolvimento de leveduras com absorção eficiente de xilose. Além do estudo do comportamento de diversas leveduras frente a concentrações variadas de xilose.

No futuro serão realizados estudos para unirem as duas frentes já estudadas visando a viabilidade destas cepas adaptadas frente ao consumo de xilose.



Projeto: Síntese de nanopartículas de prata com tentativa de revestimento de sílica

Nome do bolsista PIBIC: Ariadne Tuckmantel Bido

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Mateus Borba Cardoso

Resumo

Nanopartículas de prata tem, recentemente, atraído a atenção dos pesquisadores devido as suas propriedades distintas, como grande área superficial e propriedades químicas, físicas e biológicas únicas.¹ Além disso, com o aumento da resistência bacteriológica aos antibióticos clássicos, as investigações da atividade bacteriológica da prata tem aumentado, sendo mostrado que a mesma, em baixas concentrações, não é tóxica às células humanas.

O mecanismo de ação das nanopartículas de prata ainda não foi totalmente elucidado, mas há estudos que indicam que as nanopartículas de prata são carreadores de íons Ag^+ , altamente tóxico às células bacterianas. Uma outra possibilidade é que as AgNPs causam rompimento em alguns pontos a membrana da célula da bactéria, o que causa o “vazamento” do meio intracelular. A forma, tamanho, carga da nanopartícula influenciam na velocidade e quantidade de íons prata fornecidos e explicariam a importância desses parâmetros nos testes de susceptibilidade.

Por outro lado, nanopartículas de prata são reativas e tendem a agregar, dificultando sua aplicação biológica.^{5, 6} Dessa forma, AgNPs devem ser protegidas principalmente para evitar sua agregação e oxidação. Essa proteção pode ser obtida pela síntese de uma densa camada de agente protetor ou pelo recobrimento com um material inerte. Entre as diversas possibilidades, sílica tem atraído muita atenção para o recobrimento de nanopartículas metálicas. Os compósitos assim sintetizados são conhecidos como *core-shell*, que além de proteger as nanopartículas metálicas de agregação, aumentam sua biocompatibilidade e apresentam propriedades promissoras, tais como liberação controlada de fármacos (*drug delivery*), catalisadores, etc.

Dessa forma, o objetivo desse projeto é sintetizar e recobrir com sílica as nanopartículas de prata sintetizadas para posterior aplicação bacteriológica. Adicionalmente exploramos a atividade bactericida dos compostos sintetizados em *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. As estruturas formadas foram caracterizadas por espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis), espalhamento de raios X a baixos ângulos (SAXS) e microscopia eletrônica de transmissão (MET), por potencial zeta e por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).



CNPEM

Projeto: Fabricação e Caracterização de nanomembranas híbridas para aplicação em dispositivos

Nome do bolsista PIBIC: Davi Henrique Starnini de Camargo

Universidade: Centro Universitário Salesiano de São Paulo

Orientador: Carlos César Bof Bufon

Resumo

A incorporação de sistemas moleculares orgânicos em plataforma inorgânica é uma das rotas atuais para a criação de dispositivos com novas funcionalidades. Dentro do processo de microfabricação de dispositivos híbridos, a forma com que as moléculas são conectadas ao mundo exterior é um fator determinante na performance e propriedade dos dispositivos. Este trabalho se propõe a fabricar heterojunções moleculares a partir da combinação de materiais com naturezas distintas como semicondutores, metais, óxidos e moléculas orgânicas. Serão fabricadas as seguintes heterojunções: Au/Si:Br, Au/Al₂O₃/Si:Br, Au/SAM/Si:Br e Au/SAM/Al₂O₃/Si:Br, onde SAM é uma monocamada molecular de ácido octadecilfosfônico. Uma vez que as monocamadas orgânicas não são uniformes, e buracos podem estar presentes ao longo do filme, a utilização de métodos convencionais de deposição como evaporação térmica podem levar ao comprometimento da junção[1]. Assim, para efetuar o contato metálico superior da junção, utilizaremos como eletrodo uma nanomembrana de Au autoenrolada. Este tipo de eletrodo garante um contato suave sobre a superfície molecular.



CNPEM

Projeto: Bioprospecção, produção e estudo das características bioquímicas de potenciais hemicelulases de *Bacillus sp.*

Nome do bolsista PIBIC: Fernanda Lopes de Figueiredo

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Roberto Ruller

Resumo

Para esta etapa do trabalho foi dada continuidade nas frentes iniciadas no período anterior. Primeiro uma frente envolvendo um treinamento e desenvolvimento de um trabalho relacionado a clonagem, expressão e caracterização de 3 enzimas (xiloglucanase, galactanase e arabinanase) identificados no isolado bacillus BH19 que foi identificado como uma linhagem fenotipicamente diferente de *Bacillus licheniformis*. Paralelamente foi dada continuidade no isolamento, sequenciamento algumas linhagens de 3 consorcios microbianos que a principio foram direcionados em screening para Bacillus mas foram identificadas por sequenciamento do DNA 16S como sendo 6 variedades de proteobacterias. destas foram encontrado na literatura que além de apresentarem um potencial de enzimas hemicelulolíticas que podem ser usadas na degradação de biomassas vegetais e adicionadas a coquetéis enzimáticos, também apresentam um grande potencial biotecnológico como fixadoras de nitrogênio, degradadoras de compostos químicos (ex. Pseudomonas putida que degrada tolueno). Assim podendo serem alvos de estudos sub-sequentes que poderão explorar outras aplicações biotecnológicas em variadas áreas de atuação.



CNPEM

Projeto: Mecanismos de sobrevivência de organismos extremófilos em simulações de ambientes extraterrestres e planetários

Nome do bolsista PIBIC: Gabriel Guarany de Araujo

Universidade: Universidade Federal de São Carlos

Orientador: Douglas Galante

Resumo

As atividades foram desenvolvidas se utilizando a estrutura de três unidades do CNPEM, o LNLS, o LNBio e o LNNano, e do Laboratório de Astrobiologia do IAG/USP. Primeiramente, foi demonstrada a resistência dos esporos do fungo isolado da Antártica *Penicillium solitum* em câmaras de ultra-alto vácuo como simulação do vácuo espacial. A aplicabilidade de marcadores fluorescentes associados à citometria de fluxo como forma de se simplificar as medidas de viabilidade da bactéria radioresistente *Deinococcus radiodurans* foi evidenciada. Foram tomadas imagens de microscopia eletrônica de varredura desta bactéria na tentativa de se observar mudanças morfológicas induzidas por dessecação e exposição ao vácuo. Um método apropriado para se diferenciar os danos causados pelo tratamento aplicado dos causados no preparo da amostra deverá ser adotado. A avaliação destas metodologias servirá de base para estudos futuros com isolados extremófilos em condições simuladas de ambientes espaciais e planetários.



Projeto: Estudo da Morfologia e Composição Química de Nanofios III-V contendo Heteroestruturas

Nome do bolsista PIBIC: Gabriel Stefanini Vicente

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Luiz Fernando Zagonel

Resumo

Os avanços nas descobertas no campo da Física dos semicondutores têm posto conhecimentos teóricos à prova e, como resultado, inúmeras aplicações e inovações tecnológicas têm se apresentado tanto na esfera industrial quanto na de consumo. É claro que também fica evidente uma significativa contribuição à Ciência fundamental.

O grande aperfeiçoamento nas técnicas de preparação de materiais dos últimos anos levou à concepção de componentes cujas propriedades dependem intimamente de detalhes finos em sua estrutura. Tem havido uma grande expectativa na aplicabilidade de tais sistemas, levando em conta sua baixa dimensionalidade, seu potencial na construção de circuitos lógicos e novas utilidades. Esses componentes poderiam ser substitutos mais eficientes e baratos dos dispositivos eletrônicos vigentes e poderiam abrir uma família de elementos inteiramente inusitada. Um excelente exemplo foi publicado recentemente por Rigutti et al. (2010). Um trabalho que estuda a relação entre as propriedades óticas desses sistemas e suas estruturas. O objetivo deste trabalho é de caracterizar nanofios semicondutores do grupo III-V por mapeamento químico e determinar a morfologia de suas heteroestruturas. Como as características eletrônicas dependem da qualidade das interfaces e dos poços quânticos, esse estudo tem um grande peso para esse ramo de pesquisa. Os nanofios propostos para análise neste projeto foram crescidos pelo método VLS (Vapor - Líquido - Sólido) e apresentam regiões intercaladas de compostos binários e/ou ternários (InAs_xP_{x-1} e InP). A composição química local dos nanofios será determinada através da espectroscopia de raios-X dispersiva em energia (EDS, do inglês, Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) em um microscópio eletrônico de varredura (SEM, do inglês, Scanning Electron Microscopy). Também a Análise de Componentes Principais (PCA, do inglês, Principal Component Analysis), para melhorar a relevância estatísticas dos conjuntos de dados medidos. Esse estudo permitirá a avaliação quantitativa da composição química, averiguar qualidade de crescimento e morfologia dos nanofios. Ao final, nossos resultados poderão ajudar a compreender as particularidades do método VLS para esse tipo de amostra e também poderão contribuir, no futuro, para aplicações em dispositivos.



Projeto: Avaliação da inibição da via de sinalização “Target of Rapamycin” (TOR) por rapamicina no crescimento de plantas.

Nome do bolsista PIBIC: Luis Guilherme Furlan de Abreu

Universidade: Universidade Federal de São Carlos

Orientador: Camila Caldana

Resumo

O crescimento vegetal é um processo altamente coordenado e dependente da integração entre fatores ambientais como disponibilidade de nutrientes ou status energético em decisões moleculares. Uma das vias de sinalização bastante conservada em eucariotos responsável pela integração de parâmetros

intra- e extracelulares que controlam o metabolismo e crescimento envolve a quinase TOR (“Target Of Rapamycin”). Em plantas, apesar da conservação de TOR, estudos funcionais vem sendo baseados em modulação dos níveis de expressão de TOR por plantas transgênicas, método bastante laborioso, quando comparado ao uso de inibidores específicos desta quinase, como a rapamicina, que é bastante utilizada na maioria dos sistemas eucarióticos, onde o papel desta via vem sendo elucidada.

O uso de inibidores desta quinase, em plantas, poderia acelerar a elucidação de processos biológicos envolvidos com crescimento, uma vez que esta via foi recentemente identificada como uma potente rota biotecnológica na produção de compostos com valor em bioenergia. Tendo em vista esta informações, este trabalho tem como o objetivo testar a sensibilidade de espécies vegetais, com enfoque em plantas com potencial em bioenergia (metabolismo C4), à rapamicina como ferramenta para estudos funcionais da quinase TOR. Para tal, diferentes condições de crescimento (temperatura e fotoperíodo) foram testadas primeiramente com as espécies *Setaria italica* e *Sorghum bicolor*. Após identificarmos as melhores condições de crescimento, ensaios de sensibilidade à rapamicina foram estabelecidos. Resultados indicam uma redução no crescimento em plantas de *S. italica* e *S. bicolor* tratadas com rapamicina em comparação com plantas crescidas nas condições controle (DMSO).

Estes resultados estão de acordo com o fenótipo encontrado em plantas transgênicas de *Arabidopsis thaliana* que apresentam redução dos níveis de expressão de TOR. Além da redução no crescimento, plântulas expostas a rapamicina mostraram uma alterações no metabolismo de açúcar (amido e açúcares solúveis), conteúdo de RNA total e clorofila a. Surpreendentemente, nossas análises indicam que a inibição do crescimento das espécies C4 *S. italica* e *S. bicolor* resultam em um fenótipo mais severo que em plantas de *Arabidopsis* com redução nos níveis de expressão da quinase TOR através de rapamicina ou plantas transgênicas. Estes resultados abrem excelentes oportunidades para estudos funcionais em TOR, evitando a necessidade da geração laboriosa de plantas transgênicas para modular a expressão de proteínas desta via. Tais estudos poderão auxiliar na compreensão da produção de biomassa, possibilitando melhorias na produção do etanol de primeira e segunda geração.



Projeto: Desenvolvimento de rotas via catálise heterogênea para obtenção de produtos químicos de interesse industrial a partir da biomassa lignocelulósica

Nome do bolsista PIBIC: Igor Rovina Gava

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Cristiane Barbieri Rodella

Resumo

Catalisadores heterogêneos de sílica, alumina e mistos de sílica-alumina foram sintetizados e aplicados na conversão da glicose para a obtenção de compostos químicos de maior valor agregado, especialmente a frutose. Os catalisadores foram sintetizados pelo método sol-gel a partir de precursores alcóxidos. Após a síntese foram caracterizados por fisissorção de N₂ para determinar a área superficial específica, volume de poros e distribuição do tamanho de poros. Na sequência, foi realizada a caracterização estrutural dos catalisadores por difração de raios X nas linhas de luz XPD e XRD2. Após isso, foram realizados testes catalíticos de conversão de glicose em frutose em um reator batelada a 120 °C em tempos variados.

Os produtos formados foram enviados ao Laboratório Nacional de Ciência e Tecnologia do Bioetanol (CTBE) para serem avaliados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Com os resultados foi possível perceber que os catalisadores com alumina pura ou os mistos com elevado teor de alumina, obtiveram conversão maior de glicose e rendimento para frutose. A alumina pura também apresentou elevado rendimento para HMF. Além disso, parece que as reações catalíticas devem ser conduzidas com maior tempo de reação para melhor conversão da glicose.



CNPEM

Projeto: Caracterização dos sítios de interação de proteínas envolvidas na insuficiência cardíaca

Nome do bolsista PIBIC: Irene Layane De Sousa

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Carolina F. M. Z. Clemente Palhares

Resumo

A autofagia é um componente essencial no processo de degradação intracelular pela via do lisossomo. Sob condições normais, este é um mecanismo contínuo, reparador, autossustentado, para a reciclagem de componentes celulares, como proteínas de meia vida longa e organelas danificadas. Entretanto, a desregulação da autofagia tem sido associada a fisiopatologias como câncer, doenças neurodegenerativas e insuficiência cardíaca. Dentre as proteínas que regulam a autofagia, aquelas pertencentes do complexo de iniciação ULK-Atg13-FIP200 são cruciais para o processo. Este projeto tem como objetivo caracterizar os sítios de interação entre as proteínas de autofagia FIP200 e Atg13 por ensaio de *crosslinking* acoplado a espectrometria de massas. O conhecimento dos sítios de interação entre estas proteínas possibilitará o desenvolvimento de compostos que modulem os níveis de autofagia.



Projeto: Bioprospecção por Estratégias de Metagenômica de Enzimas Envolvidas na Conversão de Biomassa Vegetal

Nome do bolsista PIBIC: Isabela De Oliveira Pereira

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Fabio Squina

Resumo

A metagenômica é um novo campo de investigação que, fazendo uso de ferramentas de biologia molecular e bioquímica, acessa o genoma de microrganismos incultiváveis por técnicas tradicionais de microbiologia. Tais microrganismos são enorme fonte de biodiversidade e apresentam grande potencial para o isolamento de novas enzimas de apelo biotecnológico, como celulases e hemicelulases que podem ser usadas na conversão de biomassa lignocelulósica e, portanto na produção de biocombustíveis. Assim, o objetivo deste trabalho foi prospectar genes que codificam para tais enzimas por meio de análise funcional de bibliotecas metagenômicas de solos provenientes de canavial já construídas e cuja construção e os resultados foram apresentados no ultimo relatório entregue (referente à bolsa 2011/2012).

Neste relatório apresentamos os resultados referentes às atividades que tiveram como objetivos: (1) busca por novas glicosil hidrolases através da triagem funcional das bibliotecas metagenômicas já construídas, (2) mapeamento das ORFs codificantes para as enzimas identificadas através dos *screenings*. (3) clonagem e caracterização das enzimas encontradas. Através de *screenings* funcionais, identificamos dois clones positivos com atividade em CMC denominados E-1 e E-2, dois clones positivos com atividade em xilano, denominados X-1 e X-2, e um clone positivo em manana, denominado M-1. Através do sequenciamento dos insertos desses clones e da aplicação de ferramentas de bioinformática mapeamos as ORFs codificantes para quatro desses clones (E1, E2, X1 e X2), clonamos, expressamos, purificamos e fizemos a caracterização bioquímica da celulase E1 e da xilanase X1. A ORF do clone M-1 está sendo codificada e posteriormente pretende-se fazer a caracterização bioquímica desses clones ainda não caracterizados.



Projeto: Produção de camundongos *knockout* por agregação

Nome do bolsista PIBIC: Jessica Marcelino Toscaro

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Carolina Fernanda Manfredi Zambon Clemente

Resumo

A tecnologia de geração de camundongos *knockout/knockin* tem sido uma ferramenta importante para a criação de modelos de doenças humanas e para a descoberta e validação de novos alvos de compostos com potencial terapêutico. A técnica convencional de produção de camundongos knockout inclui a obtenção da linhagem de células-tronco embrionárias (CTEs) modificadas e a microinjeção das células em blastocistos. Esta é uma técnica demorada, que consome cerca de 1 ano e meio. Nos anos 90, uma técnica foi desenvolvida para a obtenção de camundongos knockout/knockin derivados exclusivamente das CTEs modificadas: agregação. Na agregação, CTEs modificadas são agregadas com embriões tetraplóides. Os agregados CTE-embrião tetraplóide são atrativos pela tecnologia simples de produção de animais geneticamente modificados, uma vez que não fazem uso do processo de microinjeção. Os embriões e animais F0 gerados são derivados totalmente das CTEs e podem ser submetidos a estudos fenotípicos diretos. O projeto PIBIC inicial teve como objetivo atualizar o conhecimento e deter a tecnologia de produção de camundongos knockout por agregação de CTEs com embriões tetraplóides.

Como o biotério do LMG não produz fêmeas c57BL6 em quantidade suficiente para realizarmos os ensaios de agregação semanalmente, a aluna Jéssica Toscaro ingressou em outro projeto: Influência da autofagia na diferenciação miogênica de células C2C12. A linhagem celular C2C12 é um modelo bem estabelecido para a diferenciação miogênica *in vitro*. Apesar de o modelo ser bem estabelecido, ainda pouco se sabe sobre a importância da autofagia durante o processo de diferenciação miogênica. A autofagia é um mecanismo de degradação intracelular pela via do lisossomo. Sob condições normais, este é um mecanismo contínuo, reparador, autossustentado, para a reciclagem de componentes celulares, como proteínas de meia vida longa e organelas danificadas.

Entretanto, alterações nos níveis de autofagia têm sido associadas a fisiopatologias como câncer, doenças neurodegenerativas e insuficiência cardíaca. Este estudo tem como objetivo caracterizar e avaliar a importância da autofagia durante a diferenciação de mioblastos C2C12 em miotubos.



CNPEM

Projeto: Desenvolvimento e caracterização de vetores lentivirais de shRNA para efetuar o silenciamento gênico dos fatores de transcrição gata4, gata5 e gata6

Nome do bolsista PIBIC: Jéssica Natalia Azevedo

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Marcio Chaim Bajgelman

Resumo

O RNA de interferência (RNAi) é uma poderosa ferramenta que possibilita o silenciamento da expressão e estudo da função de um determinado gene. Uma das formas de utilização deste sistema consiste em veicular moléculas de RNAi quimicamente sintetizadas, ou mesmo vetores que codificam sequências de RNAi em células alvo. Estes vetores podem ser plasmídios ou mesmo partículas virais recombinantes. As partículas virais, como lentivirus recombinantes, apresentam uma alta eficiência de transdução de células primárias, além de possibilitar a integração no genoma da célula alvo, permitindo-se o estabelecimento de linhagens permanentes ou mesmo a geração de animais transgênicos.

A proposta deste projeto consiste em desenvolver e caracterizar vetores lentivirais carreadores de shRNA para silenciar a expressão dos genes gata4, gata 5 e gata6, que estão associados à embriogênese e função de células cardíacas.



Projeto: Reconstrução in Vitro do complexo Ragulator para estudos estruturais

Nome do bolsista PIBIC: Letícia Adorno Bassan

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Juliana Helena Costa Smetana

Resumo

mTORC1 é um complexo de proteínas sensíveis a nutrientes, nas quais o desajuste de suas funções está ligado a um grande número de doenças, tais como a diabetes e o câncer. Este complexo responde a fatores de crescimento e as mudanças do nível de aminoácidos no meio intracelular. Estudos recentes com culturas de célula humana demonstraram que, em resposta a estímulos externos, variação no fornecimento de aminoácidos, por exemplo, a mTOR passa a ser transportada a compartimentos endossomais e lisossomais tardios, onde por sua vez foi descoberta a existência de um outro complexo, Ragulator-Rag, no qual a mTOR liga-se e forma um complexo ativo. Pesquisadores do Instituto de Tecnologia de Massachusetts aprofundaram-se em árduos estudos no funcionamento e estrutura do novo complexo, sendo assim, em parceria com estes pesquisadores o projeto a seguir foi desenvolvido. Com base em pesquisas anteriores sabe-se que o Ragulator é formado por cinco proteínas: MP1, p14, p18, HBXIP e c7orf59. O principal objetivo deste projeto era reconstruir o complexo Ragulator in vitro para futuros estudos estruturais. Para que isto fosse possível realizamos uma série de procedimentos ligados à subclonagem e expressão das proteínas do complexo. A subclonagem foi realizada através da criação de um vetor de expressão codificado com os genes do heterodímero HBXIP Short+c7orf59 e sua posterior expressão em cepas de *E.coli*. O vetor de expressão da p18 foi clonado pelo próprio grupo e o vetor do outro heterodímero MP1+p14 foi doado por outros pesquisadores da mesma área, com isso pudemos realizar experimentos para padronização das proporções de cada componente e das condições mais favoráveis à expressão do Ragulator.



Projeto: Desenvolvimento de software para classificação rápida de imagens de crio-microscopia eletrônica de partículas isoladas

Nome do bolsista PIBIC: Marcos Felipe Gomes Monteiro

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Rodrigo Villares Portugal

Resumo

Este relatório descreve as atividades realizadas entre agosto/2012 e maio/2013. No período de agosto/2012 a janeiro/2013 foram realizadas as seguintes atividades: estudo sobre criomicroscopia eletrônica e análise de partículas isoladas, para fundamentar e situar o desenvolvimento da ferramenta de classificação rápida de imagens; implementação da estrutura básica do programa e testes dos algoritmos de busca utilizados.

Para o período de janeiro/2013 a maio/2013 têm-se: auxílio no desenvolvimento de biblioteca C++ para o software do grupo de pesquisa; implementação de algoritmo para caracterização de espaço vetorial através de matriz esparsa; experimento de validação do algoritmo de busca em raio fixo como classificador de imagens de crio-microscopia eletrônica.

O algoritmo desenvolvido realiza busca de pontos que estejam dentro de um volume determinado em um espaço vetorial de dimensão elevada e os retorna como resultado.

Foram analisadas abordagens para a busca, uma envolvendo a ordenação dos dados e outra sem nenhum pré-processamento. Foi escolhida então a alternativa sem ordenação, pois, devido à intenção de utilizar o algoritmo em conjuntos pequenos de imagens, o custo computacional da ordenação seria muito maior que a da busca simples, apesar de suas vantagens posteriores. A eficiência do algoritmo foi testada e os resultados foram positivos, visto que a pureza da classificação se manteve alta em todos os casos de teste, confirmando que a abordagem de classificação de imagens proposta é coerente e passível de maior estudo.

Porém, a definição dos parâmetros que devem ser utilizados na classificação de uma imagem qualquer ainda é subjetiva por estar fortemente associada ao conjunto de dados que gera o espaço vetorial onde se faz a análise e o conjunto de dados que se está classificando, pois, existem problemas de normalização espacial.



CNPEM

Projeto: Characterization of semiconductor nanostructures by scanning nearfield optical microscopy

Nome do bolsista PIBIC: Mayara Maria Beltani Auricchio

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Christoph Deneke

Resumo

In this project, the characterization of different nanostructures was carried out using Scanning Near-field Optical Microscopy (SNOM). The microscope is based on an Atomic Force Microscope (AFM) able to detect the optical signal from the near-field interaction between the microscope tip and the sample. The SNOM used in this work (NeaSNOM from Neaspec, Germany) is adapted to scattering-type or aptureless SNOM, AFM and infrared spectroscopy (IR spectroscopy).

The research was conducted at the Scanning Probe Microscopy group (MTA) of the LNNano (Brazilian National Laboratory of Nanotechnology). The instrument is operated in collaboration with the LNLS (Brazilian National Laboratory of Synchrotron Light).

During the work, topological and optical images were obtained from Si/Au test structures, images from self-assembled semiconductor nanostructures (Ge islands on Si substrate) and from Pt/ TiO₂/ Pt structures. On the example of Si/Au, basic image formation is discussed.



Projeto: Síntese de nanopartículas de prata com possível efeito viricida

Nome do bolsista PIBIC: Murilo Izidoro Santos

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Mateus Borba Cardoso

Resumo

Doenças virais, dentre elas a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) passam por um processo de esgotamento das terapias medicinais existentes à medida que novas cepas de microorganismos se tornam cada vez mais resistentes. O desenvolvimento de terapias alternativas às já existentes se faz então necessário. Nesse sentido, o emprego de nanopartículas de prata (AgNP) se mostra uma escolha viável, devido ao seu grande potencial biocida. No entanto, seu uso como medicamento envolve riscos ligados à toxicidade frente às células eucarióticas. Sendo assim, a síntese de estruturas hierárquicas do tipo caroço-casca, em que as nanopartículas de prata estão cobertas por uma casca de sílica, pode reduzir a toxicidade, pois a prata não está diretamente exposta às células, e pode aumentar a seletividade das interações com os vírus, pois permite a inserção de grupos funcionais na superfície. O presente trabalho priorizou a síntese de nanopartículas de prata estabilizadas por cetiltrimetilamônio (AgNP-CTAB) revestidas por sílica mesoporosa (AgNP@mSiO₂) funcionalizada. A caracterização por espectroscopia na região do UV-visível (UV-vis) e por espalhamento de raios-X a baixos ângulos (SAXS) mostrou que as AgNPs sintetizadas apresentam forma predominantemente esférica com diâmetro médio de 16 nm. O revestimento das nanopartículas por sílica envolveu hidrólise e condensação de tetraetoxisilano (TEOS) em meio básico empregando-se CTAB como agente direcionador de estrutura. Caracterizações por SAXS e microscopia de varredura em modo de transmissão (STEM) mostraram que a sílica se ligou às nanopartículas, que apresentaram diâmetro final próximo de 95 nm. Caracterizações por potencial zeta e espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) sugerem a presença de grupos funcionais após as reações de funcionalização com os silanos aminopropiltrimetoxisilano (APTES) e mercaptopropiltrimetoxisilano (MPTMS). O efeito citotóxico das nanopartículas foi testado frente a células de inseto Sf9 com o objetivo de determinar a concentração ótima para testes viricidas contra baculovírus.



Projeto: Dinâmica de crescimento e sucessão de comunidades bacterianas e fúngicas durante a compostagem da torta de filtro de cana-de-açúcar

Nome do bolsista PIBIC: Naiane Rios

Orientador: Juliana Velasco de Castro Oliveira

Resumo

A compostagem pode ser definida como um processo biológico de oxidação aeróbica de um dado substrato orgânico, por meio da ação de microrganismos autóctones. O processo de compostagem em toneladas de torta de filtro da cana-de-açúcar é realizado para aumentar o teor de matéria orgânica e adequar a taxa C:N.

Assim, é de extrema importância conhecer as mudanças das propriedades físico-químicas do substrato durante este processo e de relacioná-las com os microrganismos presentes. Portanto, os principais objetivos deste trabalho são: 1) compreender a dinâmica de crescimento e sucessão de comunidades de diferentes populações de bactérias e fungos e como ela contribui para a decomposição da torta de filtro de cana-de-açúcar durante o processo de compostagem; e 2) Isolamento de espécies mesofílicas e termofílicas que apresentem produção considerável de celulases e xilanases. A compreensão deste processo poderá ter utilidade não somente para a aceleração do processo de compostagem, através de alterações controladas das populações microbianas pelo inóculo das mesmas, como também poderá servir para o isolamento de microrganismos que produzam as enzimas necessárias para degradação da biomassa vegetal, o que é de extrema importância para a produção do etanol de segunda geração.



CNPEM

Projeto: Desenvolvimento de algoritmo computacional para a análise de bibliotecas de cDNA provenientes de sequenciamento em alta demanda

Nome do bolsista PIBIC: Pedro Geraldo Morelli Rodrigues Alves

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Marcio Chaim Bajgelman

Resumo

A tecnologia de sequenciamento em alta demanda pode gerar milhões de leituras por corrida. Neste projeto tivemos a proposta de desenvolver um software para análise de bibliotecas de cDNA oriundas desse tipo de sequenciamento. Este software permite filtrar, selecionar e estimar frequências, possibilitando identificar eventos que apresentem alta prevalência em uma amostra de biblioteca. Essa ferramenta possibilita a análise massiva de uma extensa matriz de dados em computadores pessoais, podendo ser utilizado para diversas finalidades biotecnológicas como a identificação de clones altamente prevalentes numa amostra ou mesmo aplicado na área médica para o desenvolvimento de testes diagnósticos para a identificação e determinação de frequências de mutações e polimorfismos em amostras clínicas, entre outros.



Projeto: Glicosiltransferases de interesse biotecnológico no desenvolvimento de novos antibióticos aminoglicosídeos

Nome do bolsista PIBIC: Priscila Dos Santos Bury

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Marcio Vinicius Bertacine Dias

Resumo

Muitos dos antibióticos em uso são de moléculas de origem natural, que após sua descoberta e isolamento vêm contribuindo para controle de doenças infecciosas, como tuberculose e sepse, além de muitas outras infecções causadas por diversos microrganismos. Entretanto, muitos desses antibióticos naturais apresentam efeitos colaterais, como por exemplo, nefrotoxicidade e ototoxicidade. Além disso, devido ao uso indiscriminado e incorreto, muitas cepas de bactérias apresentam mecanismo de resistência à várias classes dessas moléculas. Assim, ocorre uma grande necessidade de desenvolvimento de novas moléculas antibióticas que ofereçam efeitos colaterais reduzidos, contornem os mecanismos de resistência e apresentem perfis farmacológicos superiores as moléculas existentes. As empresas farmacêuticas e centros de pesquisa estão cada vez mais utilizando a engenharia molecular para alterar genes ou enzimas de organismos produtores de antibióticos, principalmente do grupo dos actinomicetos, na qual se encontra o gênero *Streptomyces*, na qual mais de 30% das moléculas bioativas são extraídas. Geralmente uma classe de enzima que é alvo de modificações são as glicosiltransferases. Essas enzimas estão relacionadas com a transferência de um açúcar ao núcleo centro de diversas classes de antibióticos, e entre eles, os antibióticos aminoglicosídeos, que apresentam como exemplo a neomicina e gentamicina, que são medicamentos de uso tópico, não sendo utilizados no trato de infecções internas, devido a seus efeitos colaterais, apesar de seu grande potencial. Assim nesse trabalho nós estamos estudando glicosiltransferases e deacetilases dos organismos produtores de alguns aminoglicosídeos que tem potencial biotecnológico na produção de derivados de aminoglicosídeos. Para isso, efetuamos a clonagem, expressão, purificação e alguns testes de cristalização para as enzimas que se apresentaram solúveis ou que foi possível purificar uma quantidade suficiente. As enzimas que foram estudadas neste projeto foram NeoF (da biossíntese de neomicina), *ParF* (da biossíntese de paronomicina), *LivF* (da biossíntese de lividomicina) e da *BtrD* (da biossíntese de butirosina).



Projeto: Estudos bioquímicos de receptores nucleares

Nome do bolsista PIBIC: Tábata Renée Doratioto

Universidade: Pontifícia Universidade Católica de Campinas

Orientador: Ana Carolina Migliorini Figueira

Resumo

Durante este trabalho foram realizados dois projetos diferentes; um deles, no segundo semestre de 2012, foi relacionado ao receptor nuclear PPAR gama e diabetes; o outro, no primeiro semestre de 2013, relacionado ao receptor nuclear de hormônio tireoidiano (TR) e sua interação com o coativador GRIP. O PPAR e o TR são proteínas do grupo de receptores nucleares (NRs) os quais regulam a transcrição de diversos genes. Muitos desses NRs estão relacionados a síndrome metabólica, condição essa associada a fatores como obesidade, alimentação inadequada e sedentarismo; além de níveis elevados de triglicerídeos, colesterol elevado, hipertensão e hiperglicemia, representando um risco para doenças cardiovasculares. A outra proteína envolvida em nossos estudos, GRIP, é uma proteína do grupo dos coativadores, os quais interagem com os NRs de forma estabilizar a interação destes com o complexo de transcrição.

Como objetivos deste estágio temos: (i) a busca por ligantes que atuem como antagonistas ao PPAR gama e (ii) um estudo da interação TR-GRIP. Em ambos os projetos, após expressão e purificação das proteínas, foram realizados ensaios de caracterização estrutural e biofísica como, thermoshift para verificar a estabilidade da estrutura terciária das proteínas (PPAR e ligantes), eletroforese nativa, além de ensaios de DLS e dicroísmo circular para o complexo TR-GRIP. Com base nos resultados obtidos foi possível pré selecionar dois possíveis ligantes para o PPAR gama (2c e Y7), embora seja necessário realizar testes confirmatórios. Quanto a formação do complexo TR-GRIP, pudemos observar que o coativador garantiu ao receptor nuclear uma maior estabilidade. Para melhor organização do relatório, decidiu-se por dividir a apresentação dos resultados em Parte I e Parte II.



CNPEM

Projeto: Processamento de imagens em volumes de tomografia para análise quantitativa de fibras naturais

Nome do bolsista PIBIC: Vinicius de Araujo Barboza

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Augusta Cerceau Isaac Neta

Resumo

Este trabalho tem como objetivo principal a caracterização microestrutural de fibras vegetais, em uma perspectiva tridimensional. Imagens 3D de fibras de piaçava foram obtidas no anel de armazenamento de elétrons BESSY (Berlim, Alemanha) usando a técnica de tomografia de raios X por contraste de fase. Em seguida, técnicas de processamento de imagens foram utilizadas para extrair informações quantitativas dos volumes tomográficos. A metodologia proposta para análise desses volumes se baseia no uso de métodos de Morfologia Matemática. Informações das estruturas internas das fibras naturais, como diâmetro e comprimento e também propriedades externas como volume e área superficial foram obtidas.



CNPEM

Projeto: Estudo de propriedades óticas de Discos Quânticos

Nome do bolsista PIBIC: Gabriel Ziviani Vitiello

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Luiz Fernando Zagonel

Resumo

A pesquisa em nanotecnologia desperta interesse nas mais diferentes áreas da ciência (física, química, biologia entre outras) e esta intimamente ligada com o desenvolvimento e produção de materiais e técnicas de estudo na escala nano. Particularmente, a física dos nanofios semicondutores permite o desenvolvimento de estruturas complexas, auto-organizadas e livres de defeitos. A P&D nesta área tem permitido a criação de heteroestruturas dentro do nanofio que permitem o confinamento de elétrons, em especial os poços quânticos ou sanduíches semicondutores. O objetivo deste trabalho é com catodoluminescência em um STEM (Microscopio de transmissão em varredura) estudar as propriedades óticas de QDs (Discos Quânticos) em nanofios. A possibilidade de excitar uma região muito pequena do nanofio contendo QDs permite um estudo extremamente preciso de características desses objetos como a difusão de portadores de carga, a energia de poços individuais e os efeitos do seu tamanho, posição e excitação. Os dados obtidos com o uso desta técnica foram analisados via softwares interativos, como o Igor Pro, com foco em métodos de análise automatizada. Sua capacidade de tratar grandes conjuntos de dados de forma rápida e eficiente aliada a possibilidade da criação de rotinas especializadas para o tratamento de dados permite uma análise extremamente robusta e confiável. Essa análise mostrou que os QD emitem em condições de resposta linear em alguns casos ou que ocorre acúmulo de carga dentro do QD, quando a intensidade de excitação (criação de portadores) é maior que a taxa de recombinação (radiativa e não-radiativa). Esse acúmulo altera o campo elétrico interno e conseqüentemente muda os níveis de energia do QD em análise.



Projeto: Prospecção de hemicelulases oriundas do fitopatógeno *Xanthomonas axonopodis* pv *citri* com potencial aplicação na hidrólise de biomassa

Nome do bolsista PIBIC: Vanesa Peixoto de Matos Martins

Universidade: Universidade Estadual de Campinas

Orientador: Mário Tyago Murakami

Resumo

Esse relatório compreende as atividades iniciais de desenvolvimento do projeto de iniciação científica com foco no estudo estrutural e funcional de hemicelulases do fitopatógeno *Xanthomonas axonopodis* pv *citri*, buscando compreender as particularidades dessas enzimas e acumular insumos para utilizá-las em novas e/ou melhoradas aplicações biotecnológicas.

Devido a complexidade das hemiceluloses, é necessária a atuação em conjunto de diferentes tipos de enzimas para sua degradação. Por isso, dentre as enzimas em estudo estão duas xilanases (XAC4249, XAC4254), três β -xilosidases (XAC4058, XAC4258, XAC2533), uma α -xilosidase (XAC1733), uma arabinofuranosidase (XAC1286), uma mananase (XAC1796) e uma β -manosidase com duas construções (XAC3075, XAC3075 Δ C). Essas classificações foram possíveis através de análises de bioinformática, contudo, apenas serão confirmadas a partir dos ensaios enzimáticos correspondentes.

A abordagem experimental desse projeto divide-se em: clonagem dos genes apresentados em um vetor de expressão (pET28a); expressão e purificação dessas enzimas; ensaios estruturais, biofísicos e funcionais.

Até o momento destacam-se os seguintes resultados: clonagem de sete construções em vetor pGEM®-T-Easy (XAC1286, XAC1796, XAC3075, XAC4058, XAC4249, XAC4254, XAC4258); subclonagem de cinco genes em vetor de expressão pET28a (XAC1796, XAC4058, XAC4249, XAC4254, XAC4258); expressão na fração solúvel de três construções (XAC4058, XAC4249, XAC4254); expressão em larga escala, purificação e cristalização da xilanase XAC4249.

As perspectivas futuras do projeto são: finalização da etapa de clonagem para todas as construções; refinamento da condição de cristalização para a xilanase XAC4249; realização de estudos biofísicos e funcionais para a XAC4249.

