

Universidade de São Paulo
Instituto de Física de São Carlos

XII Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos

Livro de Resumos

São Carlos
2022

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos

SIFSC 12

Coordenadores

Prof. Dr. Osvaldo Novais de Oliveira Junior

Diretor do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Prof. Dr. Javier Alcides Ellena

Presidente da Comissão de Pós Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Profa. Dra. Tereza Cristina da Rocha Mendes

Presidente da Comissão de Graduação do Instituto de Física de São Carlos – Universidade de São Paulo

Comissão Organizadora

Adonai Hilario

Arthur Deponte Zutião

Elisa Goettems

Gabriel dos Santos Araujo Pinto

Henrique Castro Rodrigues

Jeffer Santiago Mares

João Victor Pimenta

Julia Martins Simão

Letícia Martinelli

Lorany Vitoria dos Santos Barbosa

Lucas Rafael Oliveira Santos Eugênio

Natasha Mezzacappo

Paulina Ferreira

Vinícius Pereira Pinto

Willian dos Santos Ribela

Normalização e revisão – SBI/IFSC

Ana Mara Marques da Cunha Prado

Maria Cristina Cavarette Dziabas

Maria Neusa de Aguiar Azevedo

Sabrina di Salvo Mastrantonio

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(12: 10 out. - 14 out. : 2022: São Carlos, SP.)
Livro de resumos da XII Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos/ Organizado por Adonai Hilario [et al.]. São Carlos: IFSC, 2022.
446 p.
Texto em português.
1. Física. I. Hilario, Adonai, org. II. Título

ISBN: 978-65-993449-5-4 CDD: 530

PG178

Septinas de *Magnaporthe oryzae*: uma abordagem estrutural

GARRATT, Richard; ARAUJO, Ana Paula Ulian de; PINTO, Andressa Patricia Alves; FERNANDEZ, Luis Alberto Valverde

lvalverde7@usp.br

As septinas são ubíquas em fungos e animais e podem ser encontradas em diversos locais nas células e podem-se envolver em muitos processos importantes na célula além da citocinese, como já foi mostrado na fagocitose, ciliogênese, polarização celular e morfogênese e outros que exigem reestruturação da membrana e/ou estruturas de suporte. (1) No fungo *Magnaporthe oryzae* que é o agente causador da brusone do arroz (2), uma rede de filamentos de actina toroidal se forma na base do apressório por meio de quatro septinas (sep3, sep4, sep5 e sep6), que formam uma estrutura de anel dinâmica, que se localiza com a os filamentos de actina. As septinas, fornecem a rigidez cortical e a curvatura da membrana necessárias para a protrusão de uma cavilha de penetração rígida para romper a superfície da folha. O objetivo deste trabalho e a caracterização estrutural das septinas de *M. oryzae*, individualmente e de seus complexos, para conseguir isso é necessário expressar em *E.coli* Rosetta (DE3), purificar e caracterizar as septinas de forma estável e depois avaliar o grau de oligomerização, teor de nucleotídeo além de realizar ensaios de cristalização; coletar dados de difração de raios-x dos cristais obtidos para resolução das estruturas, realizar ensaios de ME por contrastação negativa para confirmar a organização dos complexos com as proteínas integrais e resolver a estrutura dos complexos por Crio-ME. Atualmente conseguimos expressar sep3-sep4 em pET-28a(+), sep5-6 e sep7 em pETDuet-1 para o análise em complexo dimérico. Após purificação das amostras por cromatografia de afinidade (em coluna de níquel, as amostras foram purificadas por cromatografia de exclusão molecular (superdex200) e o cromatograma mostrou que sep3-4 e sep5-6 eluem em um volume que corresponderia ao fato de estarem formando tetrâmeros, concordando com a proposta de que o filamento seja composto da seguinte forma: sep5-sep6-sep3-sep4-sep4-sep3-sep6-sep5. Para fazer o complexo octamérico, foi expresso sep3-4 e sep5-6 em pETDuet-1 separadamente e depois copurificados em uma coluna de afinidade, o gel desnaturante SDS-PAGE mostrou que as septinas não estão sendo expressas equimolarmente e modificações nas condições também estão sendo feitas para melhorar a estabilidade e a expressão. Usando o método de Gibson Assembly (3) foram feitas subclonagens para expressar os domínios G das septinas: sep3G-sep4G, sep5G-sep6G, sep7G e sep8G e sep8GCDTM, essas subclonagens estão sendo sequenciadas para confirmar se as sequências estão corretas e continuar com os testes de expressão.

Palavras-chave: Septinas. Cristalografia. Biologia molecular.

Agência de fomento: FAPESP (2022/00152-4)

Referências:

1 VALADARES, N. F. *et al.* Septin structure and filament assembly. **Biophysical Reviews**, v. 9, n. 5, p. 481-500, 2017. DOI: 10.1007/s12551-017-0320-4.

2 OSÉS-RUIZ, M. *et al.* Appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe oryzae* is regulated by a Pmk1-dependent hierarchical transcriptional network. **Nature Microbiology**, v. 6, n. 11, p. 1383-1397, 2021. DOI: 10.1038/s41564-021-00978-w.

3 GIBSON, D. G. Enzymatic assembly of overlapping DNA fragments. **Methods in Enzymology**, v. 498, p. 349-361, 2011. DOI: 10.1016/B978-0-12-385120-8.00015-2.