

Universidade de São Paulo
Instituto de Física de São Carlos

XIV Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos

Livro de Resumos da Pós-Graduação

São Carlos
2024

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Informação do IFSC

Semana Integrada do Instituto de Física de São Carlos
(13: 21-25 ago.: 2023: São Carlos, SP.)

Livro de resumos da XIII Semana Integrada do Instituto de
Física de São Carlos – Universidade de São Paulo / Organizado
por Adonai Hilário da Silva [et al.]. São Carlos: IFSC, 2023.
358p.

Texto em português.

1.Física. I. Silva, Adonai Hilário da, org. II. Título.

ISSN: 2965-7679

30

Condensados aberrantes das proteínas fused in sarcoma e anexina A11: implicações na esclerose lateral amiotrófica

SIMÕES, Kevin Felipe¹; MENDES, Luís Felipe Santos¹

kevin.simoes@usp.br

¹Instituto de Física de São Carlos - USP

Proteínas intrinsecamente desordenadas (IDP's) são uma classe de proteínas que não adotam uma conformação tridimensional fixa sob condições fisiológicas. Consequentemente, elas são flexíveis, permitindo que sua longa cadeia peptídica exposta interaja livremente consigo mesmo (proteína-proteína) e com o meio. Tal fato favorece a ocorrência de numerosas interações intermoleculares fracas, como as dipolo-dipolo e π - π , cujas quais resultam no fenômeno de separação de fase, formando condensados líquidos de proteínas. A condensação de proteínas, reversível, dentro das células, é responsável pela formação das organelas sem membrana (Membraneless organelles - MLO's), como grânulo de estresse, Corpo de Cajal, Nucléolo e etc. Por outro lado, condensados de proteínas podem sofrer separação de fase aberrante (irreversível) sob determinadas condições de estresse, resultando em doenças neurodegenerativas, como Esclerose Lateral Amiotrófica (ELA), Alzheimer, Parkinson e Demência. (1) Estudos recentes mostraram que a proteína FUS (Fused in Sarcoma) e Anexina A11 (ANXA11) estão envolvidas nessas doenças quando em estado de condensado aberrante, gerado pelos seus domínios do tipo Príon (PrLD's - Prion-like Domain). (2-3) Este trabalho está avaliando as condições nas quais Anexina A11 pode agir como um agente de estresse na FUS, levando o sistema ao estado de condensado patológico. As proteínas foram obtidas por expressão heteróloga usando E. coli Rosetta (DE3) e purificadas seguindo protocolos estabelecidos. Através de visualização em microscopia óptica, conseguimos observar com sucesso a reprodução dos condensados de proteínas in vitro. Experimentos de turbidez revelaram que força iônica do meio (controlada pela concentração de NaCl) e a concentração de proteínas são fatores que modulam fortemente a condensação, e esse comportamento é temperatura-dependente. Experimentos com marcadores fluorescentes Atto 633 e Alexa 350 indicaram que as proteínas FUS e Anexina A11 separam de fase juntas, no mesmo condensado, um resultado também confirmado por eletroforese em gel das fases densa e solúvel, obtidas por centrifugação. Ciclos de aquecimentos e resfriamento na solução de proteínas levam à diminuição da taxa de condensação após cada ciclo, indicando que pode haver percolação. Microscopia Óptica e por fluorescência, assim como resultados preliminares de FRAP confirmaram a fluidez dos condensados, entretanto notou-se diminuição na fluidez com o envelhecimento dos mesmos, como visto por gelificação na solução quando armazenada por semanas na geladeira. Experimentos futuros estão sendo agendados e pensados, como espectroscopia Raman, FTIR e microscopia confocal, para revelarem mais detalhes na organização interna desses condensados.

Palavras-chave: Condensados de proteínas; Proteínas intrinsecamente desordenadas; Doenças neurodegenerativas.

Agência de fomento: CAPES (88887.901482/2023-00)

Referências:

- 1 Rai, S. K. *et al.* Heterotypic electrostatic interactions control complex phase separation of tau and prion into multiphasic condensates and co-aggregates. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 120, n. 2, 2023. DOI: 10.1073/pnas.2216338120.
- 2 Chen, C. *et al.* Fused in sarcoma: properties, self-assembly and correlation with neurodegenerative diseases. **Molecules**, v. 24, n. 8, p. 1622, 2019. DOI: 10.3390/molecules24081622.
- 3 Lillebostad, P. A. G. *et al.* Structure of the ALS mutation target annexin A11 reveals a stabilising N-terminal segment. **Biomolecules**, v. 10, n. 4, p. 660, 2020. DOI: 10.3390/biom10040660.