

**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

Jefter 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 Mastrandiono

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

PG142

Caracterização bioquímica e estrutural de Shs1: uma septina única de *Saccharomyces cerevisiae*

SALADINO, Giovanna Christe dos Reis; CAVINI, Italo Augusto; ARAUJO, Ana Paula
giovanna.saladino@usp.br

Septinas são proteínas de uma família altamente conservada de GTPases, consideradas o quarto componente do citoesqueleto. As septinas de *S. cerevisiae* foram as primeiras descritas na literatura (1), mas informações sobre sua estrutura e bioquímica ainda estão incompletas. Este é o caso de Shs1, única septina de levedura não essencial para a divisão celular (2), mas que merece atenção, pois: Shs1 substitui a septina Cdc11 como subunidade terminal do octâmero de septinas, ligando-se a Cdc12, bloqueando a polimerização e, em seu lugar, promovendo a formação de anéis e redes. (3) Uma vez que o estudo de septinas integrais apresenta muitas dificuldades e Shs1-Cdc12 e Cdc11-Cdc12 interagem por seus domínios G, estes domínios foram escolhidos como objetos de estudo deste trabalho. Assim, nosso foco está na caracterização do domínio G de Shs1, visando compreender seu papel na formação de filamentos e sua interação com Cdc12, de forma comparativa a interação Cdc11-Cdc12. Para isso, as sequências de DNA codificantes dos domínios G foram clonadas por *Gibson Assembly* e expressas em *E. coli* BL21(DE3). Shs1 foi expressa isoladamente e também foi co-expressa com Cdc12, que por sua vez foi paralelamente co-expressa com Cdc11. As proteínas e complexos foram purificadas por cromatografia de afinidade e exclusão molecular e utilizadas em ensaios para determinação de estado oligomérico, teor de nucleotídeo, atividade de GTPásica, caracterização de estrutura secundária, estabilidade térmica e cristalização. Cdc12, que é cataliticamente ativa, foi co-purificada ligada a GDP. Entretanto, Shs1 não foi co-purificada com nenhum nucleotídeo ligado e apresentou-se como um monômero, independente de nucleotídeos em solução. O dímero Shs1-Cdc12 apresentou apenas GDP ligado, indicando que pelo menos uma subunidade é cataliticamente ativa no dímero. Diferentemente, Cdc11-Cdc12, apresentou-se ligado tanto a GDP quanto a GTP, como é comumente observado para heterodímeros de septinas onde apenas uma das subunidades é cataliticamente ativa. Já no ensaio de atividade GTPásica, Shs1 não mostrou nenhuma atividade catalítica quando GTP foi adicionado em excesso. Usando dicroísmo circular (CD), todas as proteínas mostraram-se enoveladas, com prevalência de α -hélices. Ainda por CD, foi possível observar maior estabilidade térmica do dímero Shs1-Cdc12 em relação à Shs1 monomérica, porém menor estabilidade se comparado ao dímero Cdc11-Cdc12. Por fim, foram obtidos cristais de Shs1 e também de Shs1-Cdc12, os quais foram congelados e serão submetidos à difração de raios X. Em suma, Shs1 não possui atividade catalítica enquanto um monômero, mas também não liga GTP mesmo quando parceira de Cdc12. Porém, aparentemente afeta a atividade catalítica de Shs1-Cdc12 em relação a Cdc11-Cdc12, ainda que a estabilidade térmica do primeiro dímero seja menor. Assim, informações estruturais obtidas a partir da estrutura destas proteínas deverão esclarecer o funcionamento e papel da Shs1 no bloqueio da polimerização de filamentos.

Palavras-chave: Septina. Polimerização. *Saccharomyces*.

Agência de fomento: FAPESP (2022/00125-7)

Referências:

- 1 HARTWELL, L. Genetic control of the cell division cycle in yeast 1IV:genes controlling bud emergence and cytokinesis. **Experimental Cell Research**, v. 69, n. 2, p. 265-276, Dec.. 1971. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827\(71\)90223-0](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4827(71)90223-0).
- 2 MINO, A. *et al.* Shs1p: a novel member of septin that interacts with spa2p, involved in polarized growth in *Saccharomyces cerevisiae* **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 251, n. 3, p. 732-736, Oct. 1998. DOI: <http://dx.doi.org/10.1006/bbrc.1998.9541>.
- 3 GARCIA, G. *et al.* Subunit-dependent modulation of septin assembly: budding yeast septin shs1 promotes ring and gauze formation. **Journal of Cell Biology**, v. 195, n. 6, p. 993-1004, Dec. 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.201107123>.