

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE FÍSICA DE SÃO CARLOS**

FERNANDO ALESSANDRO

**Estudos estruturais e bioquímicos das
septinas 7 e 9 humanas**

São Carlos

2010

FERNANDO ALESSANDRO

Estudos estruturais e bioquímicos das
septinas 7 e 9 humanas

**Tese apresentada ao Programa de Pós-
Graduação do Instituto de Física de São
Carlos da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências.**

**Área de concentração: Física Aplicada
Opção: Física Biomolecular
Orientador: Prof. Dr. Otavio Henrique
Thiemann**

**São Carlos
2010**

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pelo Serviço de Biblioteca e Informação IFSC/USP

Alessandro, Fernando
Estudo estruturais e bioquímicos das septinas 7 e 9 humanas./Fernando Alessandro; orientador Otavio Henrique Thiemann - São Carlos, 2010.
144 p.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Física - Área de concentração: Física Aplicada – opção: Biomolecular) – Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo.

1. Septina 7. 2. Septina 9. 3. Clonagem. 4. Expressão. 5. Caracterização estrutural. 6. Atividade GTPásica I. Título.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Fernando Alessandro

Tese apresentada ao Instituto de Física de São Carlos da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de Concentração: Física Aplicada –
Opção: Física Biomolecular.

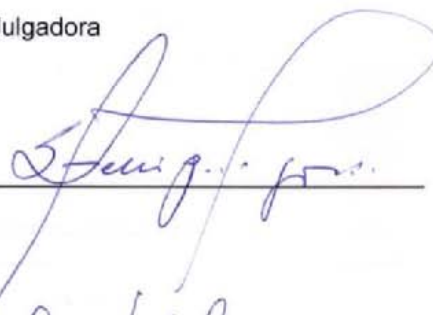
Aprovado(a) em: 07.06.2010

Comissão Julgadora

Prof(a). Dr(a). Stenio Perdigão Fragoso

Instituição: FIOCRUZ

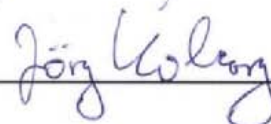
Assinatura



Prof(a). Dr(a). Jörg Kobarg

Instituição: LNLS

Assinatura



Prof(a). Dr(a). Iran Malavazi

Instituição: UFSCar


Assinatura



Prof(a). Dr(a). Richard Charles Garratt

Instituição: IFSC/USP

Assinatura



Prof(a). Dr(a). Otavio Henrique Thiemann

Instituição: IFSC/USP

Assinatura



Dedico esse título, essa tese de doutorado e todo tempo a ele empenhado a duas pessoas mais importantes da minha vida, minha avó e minha esposa. Minha avó educou-me ensinando com seus pensamentos simples e precisos o que é necessário saber para ser educado, esforçado, trabalhador, crítico e acima de tudo um homem honrado. À minha esposa por ser meu chão, meu céu, meu objetivo, o poema da minha história e por sempre me fazer feliz.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Dr. Otavio Henrique Thiemann pela orientação, ensinamentos, criatividade científica e acima de tudo a capacidade de manter seus alunos sempre motivados na busca de grandes resultados acadêmicos.

Ao Prof. Dr. Richard Charles Garratt pelo envolvimento no projeto, auxiliando na formulação de perguntas e resolução de respostas.

A Prof. Dra. Ana Paula Ulian de Araújo pelo apoio, atenção e contribuições importantes durante todo o doutorado.

Ao amigo e aluno de iniciação científica Vitor (B2) que participou do projeto, mostrando durante o desenvolvimento deste, capacidade de aprendizagem, organização, iniciativa e trabalho acima da expectativa esperada para um aluno de graduação.

Aos amigos e alunos de iniciação científica Victor (Wally) e Rafaela que participaram e mostraram empenho em trabalhos importantes para o projeto.

Ao aluno de Pós-Doutorado Humberto Pereira pelo auxílio, apoio, dedicação e enorme entusiasmo na realização do projeto.

Ao aluno de Doutorado Mario Oliveira Neto pelo seu auxílio e dedicação.

Aos colegas e, sobretudo, aos amigos do grupo de septinas, em especial, Joci, Júlio e Ivo.

Aos colegas do grupo de Cristalografia de Proteínas e Biologia Estrutural.

Aos técnicos e colegas do grupo de Biofísica e Cristalografia: Bel, Suzana, Bianca e Kelvin.

Aos professores dos grupos de Biofísica e Cristalografia.

À minha família - meu irmão Lauro, minhas irmãs Fernanda e Claudinéia, minhas sobrinhas Bárbara e Julia, meu sobrinho João Pedro, meus cunhados Marco, Marcos e João, minha sogra Maria, meu sogro Marcos e por último a minha mãe Marisa e ao meu padasto Marcos.

Aos meus filhos de coração: Gaia, Lelé, Tocha, Doce e Burguesa.

Aos amigos que fiz Livia Manzine, Marcos Michel, Sheila Couto e Marcel Nakahira.

Agradeço à Universidade de São Paulo, em especial, ao programa de Pós-Graduação em Ciências, área de concentração Física Aplicada: opção Física Biomolecular do Instituto de Física de São Carlos.

À FAPESP e à CNPq pelo apoio financeiro

O HOMEM QUE AGE MULTIPLICA SUAS
FORÇAS DOMINA-SE E SE APERFEIÇA.
MARIA MONTESSORI

RESUMO

ALESSANDRO, Fernando. **Estudos estruturais e bioquímicos da septinas 7 e 9 humanas**. 2010. 144p. Tese (Doutorado) - Instituto de Física de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2010.

As proteínas pertencentes à família das septinas foram originalmente descobertas em 1971 em decorrência de estudos genéticos em células mutantes. Essas proteínas – encontradas em fungos e animais, mas não em plantas – apresentam como principais características a presença de um domínio conservado de ligação aos nucleotídeos de guanina (GTP) e a formação de filamentos homo- e hetero-oligoméricos, que são estruturas altamente organizadas. Estudos filogenéticos e moleculares em humanos identificaram 14 septinas que são divididas em 4 grupos (I, II, III e IV). Estas moléculas associam-se com membranas celulares, actina, microtúbulos do citoesqueleto e estão envolvidas em inúmeros processos que ocorrem no córtex celular e requerem organização espacial, tais como: citocinese, ciclo celular, formação de barreiras de difusão, alinhamento de fuso. Alterações na expressão das septinas estão associadas a vários tipos de tumores e a doenças de Parkinson e Alzheimer. Neste trabalho, com o objetivo de obter informações estruturais e bioquímicas das septinas 7 e 9 humanas. Este projeto é parte de um esforço conjunto coordenado pelo Prof. Dr. Richard C. Garratt e conhecido informalmente como “Septimoma”. As construções recombinantes SEPT 7, SEPT 7G, e SEPT 9G foram expressas em *Escherichia coli* e as proteínas recombinantes obtidas. As análises em eletroforese SDS-Page e em gel nativo indicam que essas proteínas foram purificadas com sucesso. A atividade GTPase e o estado oligomérico na forma dimérica foram verificados. Estudos de dicroísmo circular e fluorescência determinaram que esses recombinantes são formados por uma mistura de estruturas secundárias α e β , e também que o C e o N terminais aumentam a estabilidade das proteínas. Foram obtidos cristais da SEPT 7G e, por meio da técnica de raios-X, foi determinado um modelo tridimensional da proteína com resolução de 3,4°.

Palavras-chave: Septina 7. Septina 9. Clonagem. Expressão. Caracterização estrutural. Atividade GTPásica.

Gracias por visitar este Libro Electrónico

Puedes leer la versión completa de este libro electrónico en diferentes formatos:

- HTML(Gratis / Disponible a todos los usuarios)
- PDF / TXT(Disponible a miembros V.I.P. Los miembros con una membresía básica pueden acceder hasta 5 libros electrónicos en formato PDF/TXT durante el mes.)
- Epub y Mobipocket (Exclusivos para miembros V.I.P.)

Para descargar este libro completo, tan solo seleccione el formato deseado, abajo:

