



## 3º Encontro dos alunos de Iniciação Científica e Inovação Tecnológica: “Incentivo a Jovens Cientistas e a uma Ciência Jovem”

**Butantan**

Incentivo a Jovens Cientistas  
e a uma Ciência Jovem



Escola Superior  
Instituto Butantan

fundação  
butantan

**INSTITUTO  
BUTANTAN**  
A serviço da vida

**Caracterização do efeito de compostos inibidores de enzimas do metabolismo de tirosina na fisiologia do parasita *Schistosoma mansoni*. Helena dos Santos Coelho, Orientador: Sergio Verjovski-Almeida; Co-orientador: MSc. Gilbert de Oliveira Silveira. Laboratório de Parasitologia.**

Existem milhões de casos de indivíduos infectados manifestando esquistossomose e, por isso, tem-se buscado a iniciativa de pesquisas mais elaboradas e aprofundadas para o desenvolvimento de vacinas ou medicamentos contra o agente causador. O *Schistosoma mansoni* é o parasita causador da esquistossomose, e o tratamento recomendado é o paraziquantel, medicamento que visa apenas a fase adulta do ciclo de vida do parasita. *S. mansoni* é um verme que passa por diferentes estágios para completar seu ciclo de vida, contando com 2 hospedeiros diferentes: um invertebrado e outro hospedeiro vertebrado mamífero (humano). Enquanto no hospedeiro mamífero, o *S. mansoni* ingere grandes quantidades de sangue levando à degradação de proteínas e liberação de aminoácidos, que precisam ser metabolizados. O acúmulo de aminoácidos pode causar estresse metabólico e toxicidade, semelhante à toxicidade relatada anteriormente em artrópodes hematófagos. Um determinado aminoácido que precisa ser desintoxicado é a tirosina, que ao se acumular leva à formação de cristais de tirosina que, no caso dos artrópodes hematófagos, causam a morte. Duas enzimas são cruciais na via de degradação da tirosina e sabidamente são inibidas pela droga A e pela droga B, ambas já utilizadas no tratamento de doenças humana. Corpúsculos De Inclusão da Proteína L1 Como Vacina Para Papilomatose Bovina, Julia P. Vizotto, orient. Dr Joaquin Cabrera-Crespo, Lab. de Desenvolvimento de Processos. Os papilomavírus são produtores de verrugas em mamíferos. Em humanos, os HPV podem causar câncer de útero. Na pecuária, os BPV geram perdas na produção de carne, leite e na qualidade do couro. O capsídeo dos BPV é formado principalmente pela proteína L1. Cinco L1 formam um capsômero e 72 capsômeros um capsídeo viral. A L1 possui a capacidade de automontagem, podendo formar capsídeos ocos de material genético chamados *Virus Like Particles* VLP, que são vacinas. Os vírus de HPV e BPV não têm cultivo industrial em células. O BPV afeta 70% do gado no Brasil, o uso de VLP na pecuária necessita de uma tecnologia fácil e econômica. A L1 pode ser produzida como corpo de inclusão, CI, em *E. coli*. A L1 solubilizada e renaturada pode formar VLP. O método de obtenção de CI inclui ruptura celular mecânica, múltiplas lavagens do CI, solubilização e purificação da proteína alvo e posterior renaturação. A proposta é realizar a lise celular e solubilização concomitante com CI. A L1 tem um pI alto 8,77 e facilita a purificação por cromatografia de troca catiônica. As bactérias induzidas e congeladas foram tratadas com um tampão de lise+solubilização. A composição foi BugBuster®, Tris, EDTA, DTT e 8M Ureia. Amostra lisada centrifugada e pré-filtrada foi aplicada na troca aniônica(+) para eliminação de contaminantes negativos. Em seguida, a L1+ foi adsorvida em troca catiônica(-) e eluída com NaCl. O processo é feito em 8M ureia. Análise por SDS-PAGE mostrou bandas entre 75 a 50 kDa, intervalo que abrange a L1. Necessário fazer ELISA ou Western blot para confirmação.

Análise parasitológica das serpentes do gênero *Bothrops*.

Aluna: Maria Luiza Eisinger Gualberto.

Orientadora: Dra. Selma Maria de Almeida Santos.

Coorientadora: Dra. Viviane Campos Garcia. Laboratório de Ecologia e Evolução – IB.

As serpentes são répteis passíveis de uma extensa quantidade de parasitas, o que torna um grande desafio aos criadores. A cada ano tem se aumentado o estudo com serpentes para pesquisas científicas. Muitos dos animais dos biotérios de centros de pesquisa, criatórios de animais silvestres e zoológicos vêm da natureza e passam por um programa de quarentena antes de entrar no plantel. Durante os procedimentos de quarentena são observados sintomas como: anorexia, desidratação, caquexia, emagrecimento progressivo e dermatite que podem ser causados por parasitas. O objetivo desse trabalho foi analisar a fauna parasitária das serpentes *Bothrops* do Laboratório de Ecologia e Evolução. Foram avaliados 27 amostras de fezes das serpentes do biotério: 10 *Bothrops insularis*, 5 *B. alcatraz* e 12 *B. jararaca* através dos exames direto, Willis Mollay e sedimentação. Na avaliação coproparasitológica não foram encontrados ovos e larvas de parasitas, apenas estruturas como peles e dentes de serpente e pelo de camundongo. A presença dessas estruturas são normais devido a alimentação baseada em camundongos, a troca contínua de dentes das serpentes e queratofagia (comem a própria muda durante a troca). A ausência de parasitas nesses animais já era esperado devido ao plantel já ter sido vermifugado.

**Estudo do efeito da crotoxina e sua subunidade fosfolipásica isoladas do veneno de *Crotalus durissus terrificus* sobre a ativação de células dendríticas por ligantes de receptores do tipo *Toll*.** Rafaela Cassa Misaca e Eliana Faquim de Lima Mauro. Laboratório de Imunopatologia-Instituto Butantan.

Estudos mostraram que a crotoxina (CTX) e suas subunidades: crotapotina (CA) e fosfolipase A<sub>2</sub> (FLA<sub>2</sub>-CB) não exercem ação pró-inflamatória e ainda, suprimem alguns parâmetros do sistema imune. Isto posto, estudamos a ação da CTX e/ou CB, principal toxina do veneno da *Crotalus durissus terrificus*, sobre a imunidade inata e adaptativa. A célula dendrítica (DC), elemento da imunidade inata, exerce papel essencial no sistema imune, ou seja, participa tanto da indução da imunidade adaptativa contra diferentes agentes patogênicos como dos mecanismos de tolerância periférica. Portanto, essas células apresentam plasticidade funcional dependente da interação com os agentes patogênicos ou produtos liberados por eles. Considerando o papel crucial das DCs na indução da resposta imune e o papel dos receptores do tipo *Toll* na atividade funcional destas células, neste projeto iremos estudar a capacidade da CTX e CB de modular a atividade das DCs estimuladas com ligantes de TLR3 e TLR2, os quais reconhecem padrões moleculares de patógenos como vírus e bactérias, respectivamente. Com esse estudo buscamos ampliar o conhecimento sobre o potencial modulador da CTX/CB, uma toxina de veneno de serpente, sobre as DCs que são essenciais para a geração da resposta imune adaptativa. Para atingir o objetivo proposto, até o presente momento, foi realizada a purificação da CTX a partir do veneno de *C.d.terrificus* e a diferenciação das DCs *in vitro* a partir de medula óssea de camundongos.

Projeto PIBIC: O PAPEL PRÓ-APOPTÓTICO DA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL  
CONTENDO 2-AEH2F EM CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA TRIPLO  
NEGATIVO – 4T1

Aluno: Alvaro Jorge Laiso Machado

Orientador: Prof. Dr. Durvanei Augusto Maria

Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Industrial

Divisão de Desenvolvimento e Inovação

**Resumo:**

Fosfolipídios antineoplásicos são uma nova classe de agentes antitumorais. Essas moléculas interagir com a membrana plasmática, mudando várias vias que induzem morte, com alta seletividade para células cancerosas. Um representante desta classe de os agentes antineoplásicos são di-hidrogenofosfato de 2-aminoetil (2-AEH2F). É um composto presente em altas concentrações intracelulares em vários tecidos e organelas com antitumorais, ação antiproliferativa e pró-apoptótica. Portanto, células tumorais triplo-negativas 4T1 foram tratados em diferentes concentrações a fim de avaliar o potencial citotóxico e sua efeitos sobre a modulação das vias de morte celular em associação com o droga quimioterápica Paclitaxel. 2-AEH2F promoveu citotoxicidade em células tumorais e mudanças morfológicas significativas, no entanto, não causou esses efeitos em normais células. Além disso, mudanças estruturais e de distribuição nas mitocôndrias, bem como diminuição da densidade celular e regressão do citoesqueleto.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO INSTITUTO BUTANTAN - LABORATÓRIO  
DE COLEÇÕES ZOOLOGICAS

**Bolsista: Larissa Dianes Ferreira**

**Orientadora: Dra. Flávia Virginio**

**DIVULGAÇÃO DA COLEÇÃO ENTOMOLÓGICA DO INSTITUTO  
BUTANTAN NAS REDES SOCIAIS: COMO ISSO PODE INFLUENCIAR NA  
VISÃO POPULAR SOBRE A IMPORTÂNCIA DOS INSETOS?**

Apesar de os insetos permearem o cotidiano humano, muitas vezes o seu valor ecológico, econômico e médico é negligenciado. Por outro lado, coleções entomológicas, as quais possuem grande importância científica e educativa, podem servir como ferramenta de divulgação científica para a população em geral. Mas como transportar este material e conhecimento majoritariamente isolado dentro de muros de instituições de pesquisa e de ensino, para as casas dos brasileiros? Redes sociais como o Instagram podem ser uma via promissora para este fim, pois possuem grande adesão e capilaridade na população brasileira. Portanto, o objetivo deste projeto tem sido verificar o impacto da divulgação científica realizada por meio da rede social Instagram, como possibilidade efetiva de ampliar o conhecimento popular a respeito de insetos. Para isso, semanalmente tem sido realizada a produção e divulgação de conteúdo digital didático na conta do Instagram @Entomologia por meio de publicações no feed de notícias, bem como interações nos stories. Dentre o conteúdo, destacam-se as fotografias do acervo da coleção entomológica, bem como sessões “tira-dúvidas” baseadas em questionamentos realizados pelos seguidores. Por fim, o pós-teste está sendo aplicado, a fim de investigar o impacto das ações realizadas até o momento. Espera-se com esta avaliação obter avaliação positiva e sugerir que é possível aproximar a população das coleções zoológicas institucionais brasileiras, por meio de redes sociais como o Instagram.

Projeto: Potencial zoonótico de Hantavírus de quirópteros e ectoparasitas no Parque do Instituto Butantan e outras áreas urbanas e periurbanas.

Aluno: Gabriel Lins Leitão

Orientadora: Dra. Erika Hingst-Zaher

Laboratório: Laboratório do Museu Biológico

Durante o período de Iniciação Científica foi possível realizar-se duas viagens de coleta para o Sítio Piraquara, São Lourenço da Serra (SP), onde ocorreu a captura de 78 quirópteros, classificados em 13 espécies (4 *Anoura caudifer*, 5 *Artibeus fimbriatus*, 3 *Artibeus lituratus*, 16 *Carollia perspicillata*, 5 *Desmodus rotundus*, 1 *Diphyla ecaudata*, 1 *Glossophaga soricina*, 1 *Mimon bennettii*, 26 *Sturnira lilium*, 3 *Sturnira tildae*, 1 *Eptesicus brasiliensis*, 11 *Myotis nigricans* e 1 *Myotis ruber*), e 44 amostras de ectoparasitas de morcegos.

Analisou-se 96 amostras de morcegos capturados no Parque do Instituto Butantan, pertencentes a 47 morcegos por PCR SYBR Green<sup>®</sup>, sendo que duas amostras foram suspeitas para hantavírus e verificadas em eletroforese como negativas. Posteriormente, analisou-se 36 amostras de ectoparasitas dos quirópteros da mesma localidade por PCR convencional e eletroforese, sendo que todas as amostras demonstraram-se negativas no gel de eletroforese. Não tendo sido ainda detectado nenhum hantavírus nos morcegos e ectoparasitas coletados e analisados. Entretanto, poucas amostras foram analisadas até o momento.

## **Padronização da técnica de eletroforese em gel nativo azul (BN-PAGE) bidimensional para venenos de serpentes**

Natacha Ferreira de Oliveira<sup>1</sup>, Ana Teresa Azevedo Sachetto<sup>1</sup>, Marcelo Larami Santoro<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Fisiopatologia, Instituto Butantan, São Paulo, São Paulo, Brasil.

**Resumo:** Muitos estudos são feitos para compreender a composição dos venenos de serpentes por meio de técnicas eletroforéticas, porém pouco se sabe sobre possíveis interações entre proteínas diferentes existentes nesses venenos. Uma técnica eletroforética que tem ganhado destaque para estudar interações interproteicas é a *Blue Native-Polyacrylamide Gel Electrophoresis* (BN-PAGE), que permite a separação em alta resolução de complexos de proteínas em sua forma nativa. Como não existe nenhum estudo sobre o uso do BN-PAGE com venenos de serpentes, este trabalho teve como objetivo inicial padronizar esta técnica para avaliar as interações interproteicas no veneno de *Bothrops jararaca* e avaliar se essas proteínas ainda apresentam atividade biológica após a separação eletroforética, quando analisadas por zimografia. Os resultados demonstraram que a BN-PAGE é eficaz para a separação dos complexos proteicos do veneno em sua forma nativa, sendo que a melhor visualização dos *spots* de proteínas foi observada quando se utilizou 200 µg de amostra. Após a realização das eletroforeses, as atividades proteolíticas e esterásicas se mantiveram preservadas e os *spots* mais evidentes foram aqueles observados entre 37 e 50 kDa para serinaproteases e entre 37 e 75 kDa para metaloproteinases. Ao analisar os resultados dessas duas atividades biológicas, foi observada concomitância dessas atividades, que sugerem a formação de complexos proteicos no veneno de *B. jararaca*. Portanto, a técnica se mostrou eficiente para a identificação e separação de complexos proteicos de venenos de serpentes, além de ser de fácil execução, prática, rápida e sem requerer o uso de equipamentos complexos e caros. Além disso, as proteínas ainda mantiveram suas atividades biológicas específicas. **Financiamento:** FAPESP e Fundação Butantan.



## **Papel da ciclina 5 no ciclo celular e de vida de *Trypanosoma cruzi* e na entrada em quiescência durante metaciclogênese.**

Aluna: Giovanna Nalin Parmegiani

Orientadora: Dra. Simone Guedes Calderano

Laboratório de Ciclo Celular - Instituto Butantan

O *Trypanosoma cruzi*, agente causador da Doença de Chagas, apresenta um complexo ciclo de vida em que transita entre o vetor inseto e hospedeiro mamífero, encontrando em seu caminho diferentes condições às quais as suas quatro formas de vida são adaptadas. Dentre estas formas de vida, amastigotas (no hospedeiro mamífero) e epimastigota (no inseto vetor) são capazes de replicar, expandindo a população de *T. cruzi* e se diferenciando para formas infectivas que são incapazes de replicar.

O bloqueio da proliferação na transição para formas infectivas é um evento marcante e sabe-se que o estresse nutricional e fatores ambientais o deflagram, mas permanece desconhecido como é regulado. CDKs e ciclinas regulam a proliferação celular e a entrada em quiescência em eucariotos modelos. Em *T. cruzi* os homólogos de CDKs, as CRKs (Cdc2-related kinase), e as ciclinas atuam no controle do ciclo celular e o controle da replicação é um fator importante envolvido na persistência deste parasito. A Ciclina 5 se destaca dentre as ciclinas por ser capaz de interagir com as duas CRKs caracterizadas (CRK1 e CRK3) e por apresentar sítios de fosforilação que são modulados durante a metaciclogênese em tripomastigotas após contato com matriz extra-celular.

Assim, essa pesquisa tem por objetivo caracterizar o papel da ciclina 5 ao longo do ciclo celular de *T. cruzi* e na entrada em quiescência, durante a metaciclogênese. Utilizando genética reversa por CRISPR/Cas9 será possível caracterizar o perfil de expressão e localização celular da ciclina 5 conjugada ao epítipo tag, além de gerar linhagens Knockout (ou hemi-knockout) a fim de avaliar o papel desta ciclina em *T. cruzi*.

Expressão e caracterização *in vitro* de uma “hemocianina” isolada do veneno da centopeia *Cryptops iheringi*. **Nome:** Danielle Oliveira Albuquerque; **Pesquisador responsável:** Dr. Geraldo Santana Magalhães, **Local da pesquisa:** Laboratório de Imunopatologia

As lacraias são um grupo de artrópodes venenosos vastamente distribuídos pelo mundo, e por serem animais bem adaptados a áreas urbanas frequentemente provocam acidentes em humanos. Apesar da pouca relevância médica o envenenamento por lacraias pode causar uma série de sintomas desagradáveis como dor ardente, parestesia, edema e necrose superficial no local da picada, podendo, em casos raros, evoluir para um quadro grave. Têm sido relatados na literatura que o veneno das lacraias contém vários compostos bioativos, alguns dos quais com potencial interesse terapêutico, no entanto, apesar da importância farmacológica significativa, muito pouco se sabe sobre os componentes ativos do veneno destes animais. Um estudo clínico com pacientes atendidos no Hospital Vital Brazil do Instituto Butantan, mostrou que a maioria dos acidentes com lacraias foram causados pelos gêneros *Cryptops* e *Otostigmus* representando cerca de 90% dos casos. Portanto, o veneno de lacraias pode ser uma excelente fonte de toxinas ainda desconhecidas e com potencial biotecnológico inexplorado. *Cryptops* é um dos gêneros mais associados a acidentes em humanos e que até o presente momento não há na literatura nenhum estudo sobre as toxinas de seu veneno. Através de uma análise transcriptômica e proteômica do veneno pelo nosso grupo, foi observada uma grande proporção de uma sequência codificante de uma proteína denominada de hemocianina. Além disto, na literatura não existem relatos sobre o estudo desta proteína no veneno de lacraias, dessa forma, esta pode ser a primeira vez que uma hemocianina é descrita nessa classe de venenos.

## **FabF8:Stx2 neutraliza a atividade citotóxica da toxina de Shiga em células epiteliais renais**

Raissa Lozzardo Ferreira, Daniela Luz, Luan Gavião Prado, Roxane Maria Fontes Piazza. Laboratório de Bacteriologia, Instituto Butantan - Av. Vital Brasil, 1500 - Butantã, São Paulo - SP, 05503-900

Toxinas de Shiga (Stx1 e Stx2) são potentes citotoxinas produzidas isoladamente ou em conjunto, por cepas de *Escherichia coli* produtoras da toxina de Shiga (STEC) e que podem conduzir à síndrome hemolítica urêmica (SHU), com falência renal como desfecho final por serem os rins os alvos dessas toxinas. A avaliação *in vitro* dessa atividade citotóxica é realizada em células Vero (células epiteliais renais de macaco-verde - *Cercopithecus aethiops*). Anticorpos que neutralizam o efeito citotóxico dessas toxinas, são ferramentas promissoras para o tratamento da SHU. Dessa forma, no presente trabalho, avaliamos a citotoxicidade de isolados de STEC produtores de Stx2 e Stx1/Stx2 em células HK-2 (originárias do tubo proximal dos rins humanos) e a capacidade do anticorpo recombinante FabF8:Stx2 em neutralizar essa atividade nas duas linhagens de células. O FabF8:Stx2 foi induzido e expresso em *E. coli* BL21(pLysE) e purificado em coluna para cromatografia de afinidade à proteína A. As cepas de STEC foram cultivadas e os sobrenadantes resultantes desses cultivos foram utilizados nos ensaios de citotoxicidade e neutralização nas células epiteliais. Essa atividade foi mensurada com MTT e a leitura da reação realizada na absorbância de 595 nm. Os resultados mostraram que as células HK-2 são mais sensíveis ao efeito de Stx do que as células Vero. O FabF8:Stx2 neutralizou a atividade citotóxica de 77% e 50% das cepas com taxas superiores a 20% e 50% de neutralização nas células HK-2 e Vero, respectivamente. Sendo assim, o FabF8:Stx2 demonstra ser uma molécula promissora para tratamento da SHU e futuros experimentos *in vivo* confirmarão esses resultados.

Aluna: Giovanna da Fonseca Batista

Orientadora: Dra. Flávia Virginio Fonseca

Laboratório de Coleções Zoológicas

Instituto Butantan - Grupo de Pesquisa em Entomologia Médica

**Projeto conhecendo os mosquitos: ações de popularização da ciência, com foco em  
culicidologia e saúde pública.**

Apesar de apenas algumas espécies de mosquitos atuarem como vetores de patógenos prejudiciais aos humanos, são eles, os animais mais perigosos do mundo. Entretanto, apesar de sua importância, o conhecimento popular acerca destes insetos permanece baseado em boatos e notícias falsas em detrimento a notícias embasadas em evidências científicas. Contudo, as mídias sociais, como o Instagram, têm mudado o modo com que as pessoas vêm e interagem com os acontecimentos cotidianos. Portanto, o objetivo deste projeto tem sido promover a aproximação e o interesse do público geral com temas relacionados a mosquitos e doenças relacionadas a eles, por meio de ações virtuais na conta @conhecendoosmosquitos do Instagram. Para isso, inicialmente foi aplicado um pré-teste para avaliar o conhecimento prévio do público, seguido pela produção de conteúdo digital didático divulgado via postagens semanais no feed de notícias, interação nos stories, além de sequência de lives com colaboradores nacionais e internacionais. Os resultados preliminares do questionário apontaram que 42% dos entrevistados apresentaram neutralidade acerca da periculosidade destes insetos. Além disso, quando questionados sobre quais doenças os mosquitos transmitem, a maioria indicou corretamente as mais conhecidas, como Dengue, Zika, Chikungunya e Febre Amarela. Porém um número pequeno mas relevante, indicou erroneamente doenças como Gripe (n=6), Caxumba (n=4) e Hanseníase (n=3). Desse modo, percebemos que ainda há necessidade de trabalhar este assunto com a população, desmistificar a relação destes insetos com as doenças não-vetorizadas por eles, bem como abordar outros temas como curiosidades que são questionadas periodicamente.

**HEITOR FERNANDES LEME**

**INVESTIGAÇÃO DE VARIAÇÕES MORFOLÓGICAS E GEOGRÁFICAS EM  
*Lonomia* spp. WALKER, 1855 (SATURNIIDAE, HEMILEUCINAE) DAS  
REGIÕES SUL E SUDESTE DO BRASIL**

**Orientadora: Dra. Flávia Virginio  
Co-orientador: Dr. Simeão de Souza Moraes  
Grupo de Pesquisa em Entomologia Médica  
Laboratório de Coleções Zoológicas (LCZ)**

A subfamília Hemileucinae (Lepidoptera, Saturniidae) é amplamente conhecida por conter espécies tóxicas. Sobretudo, as fases larvais do gênero *Lonomia* apresentam importância médica devido à ocorrência de acidentes potencialmente fatais. No entanto, estudos tem indicado que diferentes espécies deste gênero podem causar distintas reações de envenenamento. Exceto estudos relacionados à toxilogia deste grupo, ainda é escasso o conhecimento acerca de sua distribuição, taxonomia e sistemática, descrição e aspectos morfológicos e ecológicos, em especial para os indivíduos adultos. Essa atual escassez de conhecimento deve ser tratada com urgência, a fim de melhorar a gestão dos casos de acidentes. Nesse contexto, o estudo da morfologia externa das mariposas, principalmente de suas asas, combinada à análise das genitálias, poderá auxiliar em identificações mais claras de espécies. Neste estudo, procurou-se encontrar padrões macro e/ou microevolutivos no gênero *Lonomia* nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, baseando-se na análise das morfologias de genitálias e asas. A amostra, composta por indivíduos adultos de ambos os sexos tombados na Coleção de Entomologia Médica do Instituto Butantan, se mostrou pertencer a uma única espécie de acordo com a morfologia da genitália dos machos, e apresentou uma segregação correlacionada com a distância geográfica entre as populações analisadas segundo a morfologia das asas. Novos estudos ainda devem ser realizados para que a tendência observada aqui possa ser avaliada mais a fundo. Investigações sobre diferentes pressões seletivas atuantes sobre as asas, bem como informações ambientais para os diferentes territórios fornecerão mais dados para dizer o que pode gerar as tendências de segregação observadas.

**Palavras-chave:** *Lonomia*, morfometria geométrica, Saturniidae, variação morfológica

### **Corpúsculos De Inclusão da Proteína L1 Como Vacina Para Papilomatose Bovina.**

Julia P. Vizotto, orient. Dr Joaquin Cabrera-Crespo, Lab. de Desenvolvimento de Processos. Os papilomavírus são produtores de verrugas em mamíferos. Em humanos, os HPV podem causar câncer de útero. Na pecuária, os BPV geram perdas na produção de carne, leite e na qualidade do couro. O capsídeo dos BPV é formado principalmente pela proteína L1. Cinco L1 formam um capsômero e 72 capsômeros um capsídeo viral. A L1 possui a capacidade de automontagem, podendo formar capsídeos ocos de material genético chamados *Virus Like Particles* VLP, que são vacinas. Os vírus de HPV e BPV não têm cultivo industrial em células. O BPV afeta 70% do gado no Brasil, o uso de VLP na pecuária necessita de uma tecnologia fácil e econômica. A L1 pode ser produzida como corpo de inclusão, CI, em *E. coli*. A L1 solubilizada e renaturada pode formar VLP. O método de obtenção de CI inclui ruptura celular mecânica, múltiplas lavagens do CI, solubilização e purificação da proteína alvo e posterior renaturação. A proposta é realizar a lise celular e solubilização concomitante com CI. A L1 tem um pI alto 8,77 e facilita a purificação por cromatografia de troca catiônica. As bactérias induzidas e congeladas foram tratadas com um tampão de lise+solubilização. A composição foi BugBuster®, Tris, EDTA, DTT e 8M Ureia. Amostra lisada centrifugada e pré-filtrada foi aplicada na troca aniônica(+) para eliminação de contaminantes negativos. Em seguida, a L1+ foi adsorvida em troca catiônica(-) e eluída com NaCl. O processo é feito em 8M ureia. Análise por SDS-PAGE mostrou bandas entre 75 a 50 kDa, intervalo que abrange a L1. Necessário fazer ELISA ou Western blot para confirmação.

**Título:** Predição de Peptídeos Anti-virais por Redes Neurais Recorrentes

**Nome:** Caio Fontes de Castro

**Orientador:** Milton Yutaka Nishiyama Junior

**Laboratório:** Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada

São mais de 100.000 espécies de organismos venenosos em vários filos como os equinodermas, moluscos, cnidários e artrópodes. Os venenos de aranhas e escorpiões são ricos em peptídeos antimicrobianos, e a saliva de carrapato promissora para peptídeos anti-virais, já que são vetores de vírus e bactérias. Um dos principais componentes dos venenos são os peptídeos bioativos, altamente estáveis, potentes e resistentes à degradação. A dificuldade na identificação de novos antivirais está associado ao alto custo, e tem permitindo que técnicas computacionais como aprendizado de máquina e redes neurais fossem empregadas na predição de peptídeos com base em suas características físico-químicas. Foram coletados peptídeos não bioativos, antimicrobianos e antivirais experimentalmente validados de repositórios públicos, resultando em 1 milhão, 15.587 e 2.812 peptídeos respectivamente. O preditor desenvolvido para identificação de AVPs e AMPs resultando em acurácia de 95% e 92% respectivamente.

## **Avaliação da ação citotóxica de metabólitos secundários produzidos por**

*Penicillium* sp.

**Aluna:** Rafaela de Castro Valente Ramos

**Laboratório de Desenvolvimento e Inovação - Instituto Butantan**

O câncer é uma doença que afeta milhões de pessoas, e existe uma grande demanda por novos agentes antineoplásicos. Os micro-organismos representam uma interessante fonte de novas moléculas, e nesse grupo, o fungo *P. maximae* isolado da Caatinga está sendo estudado em nosso laboratório com relação a ação citotóxica de seus metabólitos secundários. O fungo foi cultivado em meio batata dextrose ágar (BDA) por 7 dias e a 28 °C, e na sequência em meio líquido batata dextrose (BD) por 15 dias, a 150 rpm e 28 °C. A biomassa foi removida por filtração, e o sobrenadante foi submetido a extração em fase sólida (SPE) com cartucho C18 e solvente metanol a 20% e 100%, resultando nas frações SPE20 e SPE100, respectivamente. A fração SPE100 foi seca em rotaevaporador e fracionada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE/HPLC) em 7 frações de F1 a F7. A citotoxicidade dessas frações e da fração bruta SPE100 foi avaliada pelo teste de MTT em células MCF-7 (ATCC<sup>®</sup> HTB-22<sup>TM</sup>) e MDA-MB231 (ATCC<sup>®</sup> HTB-26<sup>TM</sup>), ambas de câncer de mama humano, e em MIA-PACA-2 (ATCC<sup>®</sup> CR61420<sup>TM</sup>) (câncer de pâncreas humano) e SK-MELL-28 (ATCC<sup>®</sup> HTB-72<sup>TM</sup>) (melanoma humano), nas concentrações de 125 a 500 µg/mL por 24, 48 e 72 h. As frações F6 e F7 foram as mais citotóxicas para as células MIA-PACA-2 e MCF-7. A fração F6 a 250 e 500 µg/mL inibiu o crescimento da linhagem MCF-7 em 66,6 e 72,2%, respectivamente. Em 72 h, as frações F6 e F7 a 500 µg/mL inibiram o crescimento das células MIA-PACA-2 em 42,7 e 64,3%, respectivamente. Os resultados indicam que o fungo *P. maximae* é uma importante fonte de metabólitos secundários citotóxicos, e novas análises estão em andamento para purificação e caracterização físico-químicas dos compostos bioativos.

**Apoio financeiro:** FAPESP, Fundação Butantan, CNPQ/PIBIC



Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan

Aluna: Beatriz Kopel

Orientadora: Anita Mítico Tanaka-Azevedo

### Variações ontogenéticas em PLA2 e SVMP em *Bothrops sp.* e *C. d. terrificus*:

Um estudo em neonatos.

Até o momento, foram realizados três ensaios: SDS-PAGE sob condições redutoras e não redutoras, atividade fosfolipásica e atividade proteolítica sobre azocaseína. Foram utilizados os venenos de 11 indivíduos de *C. d. terrificus* e pools de machos e fêmeas. Os indivíduos tinham até 6 meses de idade na época da extração do veneno. Os resultados de atividade fosfolipásica indicam uma forte atividade em todos os indivíduos, porém mais acentuada em indivíduos do sexo feminino. É importante ressaltar a variação individual apresentada pelos indivíduos, com uma diferença estatisticamente significativa entre a menor e a maior atividade. Já os resultados obtidos no ensaio de atividade proteolítica sobre azocaseína indicam que há pouca atividade em todos os indivíduos, apesar de haver uma diferença sexual, em que fêmeas apresentam maior atividade. Analisando os géis de SDS-PAGE sob condições redutoras, é possível observar variações individuais em proteínas minoritárias, acentuada comparando machos e fêmeas. Todos os indivíduos apresentaram bandas bastante marcadas na faixa correspondente ao peso molecular das fosfolipases A2. Esse resultado é consistente com a alta atividade fosfolipásica observada no ensaio correspondente, porém, como existem fosfolipases A2 enzimáticas e não enzimáticas, não é possível traçar um paralelo quantitativo entre a intensidade das bandas e a atividade enzimática. Também é possível observar que todos os indivíduos apresentam uma banda de intensidade variável, que corresponde às serino e metaloproteases. As variações e pouca intensidade dessa banda são consistentes com a atividade proteolítica encontrada, no qual os valores obtidos foram baixos.

**Análise do ciclo e comportamento reprodutivo de *Chironius bicarinatus* (Serpentes, Colubridae)**

**Aluna:** Gabrieli Santos de Araújo **Orientadora:** Selma Maria de Almeida Santos

Laboratório de Ecologia e Evolução do Instituto Butantan

**Resumo:** *Chironius bicarinatus* é uma serpente ovípara, de grande porte, pertencente à família Colubridae. Apresenta hábitos diurnos, semi-arborícola, alimentação baseada em anuros e está distribuída na Mata Atlântica. Estudos acerca da sua biologia reprodutiva indicam que sejam animais sazonais, com início da vitelogênese e cópula ocorrendo no outono e ovulação na primavera e verão. Foram coletadas medidas, tais como CRC, CC e CCAB, além de fragmentos teciduais do trato reprodutivo de ambos os sexos, de 90 exemplares de *C. bicarinatus* oriundos de coleções zoológicas. As análises de comprimento rostro-cloacal (CRC) para obtenção de dimorfismo sexual no tamanho entre machos e fêmeas não apresentaram significância estatística. No trato reprodutivo feminino foi possível observar a presença de espermatozoides na vagina durante todas as estações do ano, indicando cópula nas respectivas estações. Foi observada pela primeira vez em uma espécie de colubrídeo uma pequena torção muscular na junção útero-vaginal, muito parecida com o UMT de viperídeos, em algumas fêmeas coletadas durante o outono e inverno com a presença de espermatozoides, o que sugere ser um sítio de estocagem de espermatozoides. No trato reprodutivo masculino os testículos apresentaram produção de espermatozoides durante o ano, bem como estocagem de espermatozoides nos ductos deferentes e o rim hipertrofiado. As cópulas foram observadas no outono e inverno, entretanto, nossos dados sugerem que essa espécie apresenta um período de acasalamento estendido. Os combates rituais entre machos foram observados no outono, inverno e primavera, portanto estão associados à época de acasalamento da espécie.

## **Caracterização funcional do lincRNA *PVT1* associado ao receptor de andrógeno em câncer de próstata.**

Aluno de Iniciação Científica: Gabriel Nakanishi Fortes

Orientador: Dr. Sérgio Verjovski-Almeida

Co-orientadora: Dra. Maria Gabriela B. Coelho

Laboratório: Laboratório de Expressão Gênica em Eucariotos

O câncer de próstata é o um dos principais diagnosticados entre o sexo masculino. O desenvolvimento dessa patologia é altamente dependente do receptor de andrógeno, um fator de transcrição que medeia o efeito do hormônio androgênico e modula a transcrição de genes em células da próstata, promovendo sua ativação ou inibição.

Além disso, os RNA longos não codificantes (lncRNAs), ácidos nucléicos com 200 ou mais nucleotídeos e que não são traduzidos em proteína, também estão associados ao desenvolvimento de câncer, uma vez que a desregulação deles parece impactar funções celulares como proliferação, apoptose e indução de metástases. Entre os lncRNAs relacionados ao câncer de próstata está o *PVT1*, que parece se ligar ao receptor de andrógeno e auxiliar na repressão transcricional dependente de andrógeno, resultando na inibição de diversos genes, incluindo os supressores de tumor.

Nesse sentido, o presente estudo visa investigar os mecanismos celulares que são afetados pelo *PVT1* no câncer de próstata in vitro. Para isso, linhagens celulares de câncer de próstata terão o silenciamento do lncRNA *PVT1* para a avaliação da resposta das células com relação aos processos celulares de apoptose, proliferação e potencial de invasão. Os resultados obtidos permitirão um melhor entendimento da fisiopatologia da doença bem como a busca de um potencial novo alvo farmacológico.

## **Obesidade e seu tratamento com exenatida na neurotransmissão colinérgica no hipocampo de ratos. Cristian Pereira Rafael.**

**Resumo:** A obesidade pode influenciar a plasticidade sináptica, o aprendizado e a memória. No que diz respeito transmissão colinérgica muscarínica, estudos têm mostrado um envolvimento desse sistema em áreas cerebrais envolvidas com a memória. Entretanto, a interação entre a obesidade e a transmissão colinérgica muscarínica, no hipocampo, não tem sido devidamente explorada. Os resultados da literatura sugerem que a obesidade pode influenciar de maneira importante a transmissão colinérgica no sistema nervoso central. Porém, os mecanismos responsáveis por essa ação não estão totalmente esclarecidos, podendo envolver tanto vias pré- como pós-sinápticas. O papel dos receptores muscarínicos na regulação da atividade colinérgica central na obesidade e tratamento com exenatida, um peptídeo isolado do veneno do lagarto *Heloderma suspectum* que promove a redução da ingestão de alimento e a redução de peso, não tem ainda sido estudado no hipocampo, uma área cerebral envolvida com a memória. O objetivo do presente estudo é avaliar o possível efeito da obesidade induzida pelo glutamato monossódico (MSG) (grupo MSG) e o tratamento de animais MSG com exenatida (grupo MSG+E) sobre a neurotransmissão colinérgica muscarínica (afinidade, expressão e sinalização intracelular), em hipocampo de ratos.

## **Predição de Splicing Alternativo como biomarcadores e associação com vias responsivas em câncer de mama triplo-negativo**

**Nome:** Nathan de Oliveira Nunes

**Orientador:** Milton Yutaka Nishiyama Junior

**Laboratório:** Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada - LETA

Estabelecemos uma metodologia para o tratamento de amostras brutas para identificação dos variantes de splicing dos genes, iniciando pela etapa do pré-processamento dos dados de RNA-seq bruto, seguido pelo alinhamento das amostras no genoma de referência, até a quantificação dos variantes de *splicing*. Baseado nas análises comparativas de maior taxa de alinhamento e literatura, escolhemos o método de alinhamento Hisat2 e o preditor de variantes de splicing rMATS, baseado nas maiores frequências dos tipos de *splicing* preditos como *Intron retention*, corroborando com a literatura e no maior nível variação do perfil de expressão dos variantes entre as condições.

*Exon Skipping* foi o tipo de variante mais comum, sendo o maior número na maioria dos métodos, enquanto pela literatura o *Intron Retention* é um dos mais importantes para câncer de mama, o que torna a escolha do rMATS apropriada já que foi o método que identificou mais ocorrências. Interessantemente, foi observado um grande número de genes onde foi identificado ocorrências simultâneas de *Exon Skipping* e *Multi Exon Skipping*, o que é esperado dado que são tipos de variantes complementares. O rMATS também foi o método que mais identificou isoformas significantes, o que indica que é um método mais preciso e robusto dentre os analisados.

Foram encontrados genes que estão envolvidos em processos tumorais, como o gene PPP1R12B, descrito previamente como um repressor tumoral, dando indícios de que esse comportamento pode estar associado aos variantes de *splicing* deste gene.

## **Análise parasitológica das serpentes do gênero *Bothrops*.**

Aluna: Maria Luiza Eisinger Gualberto.

Orientadora: Dra. Selma Maria de Almeida Santos.

Coorientadora: Dra. Viviane Campos Garcia. Laboratório de Ecologia e Evolução – IB.

As serpentes são répteis passíveis de uma extensa quantidade de parasitas, o que torna um grande desafio aos criadores. A cada ano tem se aumentado o estudo com serpentes para pesquisas científicas. Muitos dos animais dos biotérios de centros de pesquisa, criatórios de animais silvestres e zoológicos vêm da natureza e passam por um programa de quarentena antes de entrar no plantel. Durante os procedimentos de quarentena são observados sintomas como: anorexia, desidratação, caquexia, emagrecimento progressivo e dermatite que podem ser causados por parasitas. O objetivo desse trabalho foi analisar a fauna parasitária das serpentes *Bothrops* do Laboratório de Ecologia e Evolução. Foram avaliados 27 amostras de fezes das serpentes do biotério: 10 *Bothrops insularis*, 5 *B. alcatraz* e 12 *B. jararaca* através dos exames direto, Willis Mollay e sedimentação. Na avaliação coproparasitológica não foram encontrados ovos e larvas de parasitas, apenas estruturas como peles e dentes de serpente e pelo de camundongo. A presença dessas estruturas são normais devido a alimentação baseada em camundongos, a troca contínua de dentes das serpentes e queratofagia (comem a própria muda durante a troca). A ausência de parasitas nesses animais já era esperado devido ao plantel já ter sido vermifugado.

**PROJETO: TRIAGEM DE EXTRATOS DE MACROALGAS MARINHAS CULTIVÁVEIS PARA ATIVIDADE ANTIESQUISSOMOSE.**

**Bolsista:** Leticia Mathias Patrocinio

**Orientadora:** Dra. Eliana Nakano

**Colaborador:** Dr. Levi Pompemayer Machado.

**Laboratório:** Parasitologia – Moluscos de água doce e terrestre, Biologia.

**Linha de pesquisa:** Busca de compostos de uso potencial no controle da esquistossomose a partir de fontes naturais.

A esquistossomose é uma parasitose endêmica em 78 países da África, Oriente Médio, Sudeste da Ásia e América do Sul, afetando pelo menos 258 milhões de pessoas, Especialmente em comunidades pobres, sem acesso a água tratada e saneamento básico (WHO 2016). O Brasil apresenta mais de 6,8 milhões de infectados, com 25 milhões de pessoas vivendo em áreas endêmicas (do Amaral et al., 2006, Gryseels et al., 2006). O objetivo do presente estudo é avaliar a atividade esquistossomicida e moluscicida de diferentes extratos de algas marinhas, coletadas no litoral Brasileiro, no helminto *S.mansoni* e no caramujo *Biophalaria glabrata*. Até presente momento foram coletadas as macroalgas; *Gracilaria birdae* e *Osmundaria obtusiloba* o processo de extração foi realizado com exposição da biomassa a solventes de diferentes polaridades na proporção 1:10 (m/v) de gramas de alga para mL de solvente. Os solventes utilizados foram selecionados em função da polaridade em ordem crescente: hexano; diclorometano, acetato de etila e metanol. Os ensaios in vitro com *Schistosoma mansoni*: serão realizados com vermes acasalados. O Praziquantel (que atualmente é o único fármaco para o tratamento clínico esquistossomal) será utilizado como controle positivo e DMSO como controle negativo. As culturas serão analisadas diariamente por 4 dias quanto à atividade motora, contração muscular, alterações morfológicas no tegumento e a capacidade reprodutiva. O estudo da atividade moluscicida será realizado em desovas de *B. glabrata* nos estádios embrionários de blástula, gástrula, trocófora e véliger, onde serão analisados embriões mortos e malformações.

DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO E INOVADOR DOS PROCESSOS DE PRODUÇÃO E PURIFICAÇÃO DO POLISSACARÍDEO CAPSULAR DE *HAEMOPHILUS INFLUENZAE B*

Aluno: Alan Gomes Lima

Orientadora: Mickie Takagi

*Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) é uma bactéria Gram negativa, que causa doenças em crianças, idosos e imunodeprimidos: pneumonia e septicemia. Hib apresenta o exopolissacarídeo capsular constituído de poli-ribosil-ribitol-fosfato (PRP) que é o principal fator de virulência, e utilizado como antígeno nas vacinas. A produção da vacina de Hib envolve três processos: 1. *Upstream* ou síntese do PRP, que costuma apresentar baixa produção (~1,2g/L), 2. *Downstream*—purificação do PRP, que envolve etapas de fracionamento com etanol e perdas significativas, rendimento ~14% e 3. Conjugação química do PRP ao toxóide tetânico, com rendimento ~30%. A proposta do projeto é de inovar os processos de *upstream e downstream*, estabelecendo o cultivo contínuo, em substituição a batelada alimentada. E adotar a microfiltração tangencial na separação celular em substituição à centrifugação, permitindo aumentar os rendimentos da vacina Hib, que poderá ser incorporado à vacina pentavalente composta por DTP + HepB, sendo todos os antígenos produzidos no IB. A taxa de diluição ótima foi de 0,247 (h<sup>-1</sup>), nessa taxa o cultivo contínuo apresentou uma produtividade 3 vezes maior (240,6±0,76 mg<sub>prp</sub>. L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>) que o cultivo em batelada alimentada (79,43 mg<sub>prp</sub>. L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>), e uma concentração de 971,5±20,6 mg/L. O método gerou ~11 L de caldo em um biorreator de 1L em 90 horas com só duas autoclavações contra um teórico de 220 h e 22 autoclavações na batelada alimentada. O cultivo contínuo mostrou ser promissor em relação ao cultivo tradicional.



## **ESTUDO DA COMPOSIÇÃO PROTEICA E FUNCIONAL DO VENENO DE SERPENTES SENIS DO GÊNERO *BOTHROPS***

Leticia Sartori Valota, Anita Mítico Tanaka Azevedo

Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan, São Paulo, Brasil.

O envenenamento ofídico configura-se como um problema de saúde pública mundial, o que levou à reclassificação desse acidente como Doença Tropical Negligenciada. Apenas no Brasil, estima-se 26 mil envenenamentos por ano, a maioria deles causados por serpentes do gênero *Bothrops*. Seu envenenamento causa proteólise, distúrbios na coagulação e hemorragia, além de dor, edema e equimose no local da picada. O estudo da composição química de suas peçonhas e da variação delas possui significativa importância para a saúde da população, auxiliando na produção de soros antiofídicos, cuja eficácia depende dessas variações. Estas podem ocorrer de forma intra e interespecífica, de acordo com a sazonalidade, distribuição geográfica, idade e sexo. Apesar da importância do estudo dessas variações, a realização de estudos com serpentes senis é escassa. Assim, este projeto visa estudar os venenos de serpentes senis do gênero *Bothrops* e compará-los com os venenos de serpentes adultas. Até o momento, foi realizada a extração e liofilização dos venenos de 31 indivíduos da espécie *Bothrops atrox*, contando com 10 indivíduos adultos para controle. Em seguida, foi feita a dosagem de proteínas pelo método Bradford e foi obtida a curva padrão. Foi observado que as serpentes do sexo feminino não apenas possuem peso e comprimento maior, como também tendem a continuar crescendo mesmo após atingirem a maturidade, diferentemente dos machos. Isso ocorre por motivo da relação entre fecundidade e tamanho, visto que fêmeas maiores comportam mais filhotes, e também em razão do custo energético para a vitelogênese. Por fim, é vantajoso que os machos sejam menores, visto que eles realizam busca ativa de parceiras, necessitando de maior mobilidade.

**Avaliação das presas da dentição das *Bothrops insularis* e *B. alcatrazes* com a *Bothrops jararaca*.** Aluna: Mariana Milosevski Paixão. Orientadora: Dra. Selma Maria de Almeida Santos. Coorientadora: Dra. Viviane Campos Garcia. Laboratório de Ecologia e Evolução – IB

Os dentes das serpentes são pleurodontes, não tem raiz e estão implantados em alvéolos, nas superfícies dentárias. As *Bothrops*, conhecidas como jararacas apresentam o dente do tipo solenóglifo, que são grandes, agudos e ocos. Com a diferenciação alimentar, a evolução das presas também ocorreu nessas espécies. Foram coletadas fezes das *Bothrops* do biotério, e presas soltas encontradas dentro das caixas. Elas foram analisadas morfológicamente e medidas o seu comprimento com o auxílio de uma régua. Os dados obtidos foram comparados entre as espécies e o sexo. A *B. jararaca* tem as presas com 12 - 15 mm, sendo maior entre as espécies estudadas, ela tem como habitat ambientes florestais e áreas antrópicas, sendo muito encontrada na Mata Atlântica, os jovens predam principalmente anuros, e adultos se alimentam de roedores. As presas de *B. insularis* tem 8 - 9 mm, com hábitos arbóreos e alimentam-se de aves migratórias. As *B. alcatrazes* têm as presas com menor tamanho, com aproximadamente 7 mm. Essa serpente vive no chão da mata ou na vegetação baixa e se alimenta de centopeias e de anfíbios de pequeno porte. Essas variações estão ligadas ao tipo de alimentação e de ambiente de cada serpente, porém não demonstraram grande variação quando comparados entre os sexos. Acreditamos que as pequenas variações entre os sexos estão ligadas ao tamanho das serpentes.

**Estudo de modulação gênica promovida por fração de alta massa molecular do veneno de *Bothrops moojeni* em modelo de diferenciação de osteoclastos.** Gabriela Magnólia Melo Vina; Irina Kerkis.

Os osteoclastos atuam na manutenção, reparo e remodelação dos ossos. Doenças ósseas, como osteoporose e artrite reumatoide, possuem osteoclastogênese aumentada, sendo esse efeito devastador para a perda óssea e, existindo assim uma importância crítica no estudo de proteínas específicas ou vias de sinalização no processo de diferenciação de osteoclastos. Tal processo será estudado em cultura de osteoclastos humanos diferenciados a partir de células mononucleares de sangue periférico (PBMCs), com interferência de fração de alta massa molecular do veneno de *Bothrops moojeni*. Dados do nosso grupo de pesquisa mostram que essa fração é capaz de reduzir a diferenciação de osteoclastos e capaz de causar diferenças morfológicas nessas células. Dados preliminares de secretômica sugerem que essa fração apresenta ação em vias que modulam a expressão proteica e gênica. O estudo dessas vias envolverá diferentes estratégias de investigação como experimentos de imunofluorescência, ensaio cometa e PCR.

# **AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTITUMORAL DA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL DODAC/ 2-AEH<sub>2</sub>F E DO ARTEPELIN C EM CÉLULAS DE MELANOMA**

**Projeto de Iniciação Científica PIBITI-CNPq**

**Aluno: Lucas Adrião Giovannini**

**Orientador: Prof. Dr. Durvanei Augusto Maria**

**Laboratório de Desenvolvimento e Inovação**

**Instituto Butantan, São Paulo, 2021**

O melanoma é uma neoplasia originária a partir da disfunção dos melanócitos normais e por diversas alterações genicas. As categorias III e IV do melanoma, o paciente não responde satisfatoriamente aos tratamentos convencionais: cirurgia, quimio e radioterapia. Na busca por novas terapias com baixa citotoxicidade, temos o Artepelin C, um bioativo natural extraído do alecrim do campo, que apresenta diversas atividades biológicas, tais como: antimoral, anti-inflamatórias, antioxidantes e antibactericidas. Os lipossomas são Nanocarreadores que maximizam a eficácia de fármacos antitumorais com maior especificidade e com menores efeitos colaterais.

Os resultados pré-eliminares da citotoxicidade em células de melanoma B16F10 e de fibroblasto FN1 tratadas com Artepelin C, resultou uma IC<sub>50</sub>% de 0.4036 nM e 1.366 nM, respectivamente. O Nanocarreadores lipossomal DODAC, resultou uma IC<sub>50</sub>% de 0.55 nM em células de melanoma B16F10 e de 0.755 nM nas de fibroblasto FN1. Na formulação lipossomal DODAC + Artepelin C, resultou um IC<sub>50</sub>% de 0.007567 nM em células de melanoma B16F10 e de 2.999 nM nas de fibroblasto FN1. Com base nos resultados pré-eliminares da citotoxicidade, iremos dar continuidade ao projeto para a verificação da apoptose, ciclo celular e índice proliferativo.

**Laboratório de Coleções Zoológicas**  
**Nome: Ana Cristina de Souza Caixeta**  
**Orientadora: Flávia Virgíneo**

**ESTRATIFICAÇÃO DE *Culex nigripalpus* (Diptera: Culicidae) EM ÁREAS COM  
DIFERENTES NÍVEIS DE ANTROPIZAÇÃO: PORQUE É IMPORTANTE  
ESTUDAR ESTE FENÔMENO EM UM PARQUE PÚBLICO?**

A espécie *Culex nigripalpus* tem sido incriminada como vetor de patógenos em áreas urbanas e está presente em alta densidade nos parques do município de São Paulo, inclusive no parque do Instituto Butantan. Estes mosquitos se alimentam de fontes sanguíneas variadas, porém apresentam maior predileção por aves, que são hospedeiras de diversos patógenos perigosos para humanos. Estudos anteriores realizados no parque do Instituto Butantan demonstraram que indivíduos desta espécie que ocupam diferentes estratos florestais (solo e copa), apresentam morfologias alares distintas, sugerindo a existência de estratificação populacional, a qual por sua vez, pode estar relacionada a oferta alimentar disponível em cada um dos estratos (solo: humano; copa: aves). Considerando, a importância epidemiológica de *Cx. nigripalpus* em São Paulo, faz-se necessário o estudo dos seus diferentes hábitos de forrageamento. Em especial, os diferentes estratos florestais, bem como áreas com maior e menor concentração humana. Dessa forma, o objetivo deste estudo tem sido testar a hipótese de que quanto mais antropizado é o ambiente, maior será a estratificação populacional de fêmeas de *Cx. nigripalpus*. Para tanto, mosquitos têm sido coletados em diferentes anos, diferentes ambientes (mais e menos antropizados) e fragmentos florestais (solo e copa), e por meio de morfometria geométrica, padrões morfológicos estão sendo examinados. Espera-se que em áreas com maior antropização, haja maior discrepância entre as populações ‘copa’ e ‘solo’, já que *Cx. nigripalpus*, possa estar se adaptando cada vez mais a se alimentar deste tipo de hospedeiro que vive exclusivamente em solo.

**Projeto:** “Análise da influência de frações de veneno de *Bothrops jararaca* na formação de biofilme e interação de amostras de *Escherichia coli* com padrão de aderência agregativo com células epiteliais “in vitro”.”

**Aluna:** Ana Vitória Dos Santos Souza

**Orientador:** Marcelo Palma Sircili

**Laboratório de Genética**

**Bolsista:** PIBIC/PIBITI-Fundação Butantan

Resultados preliminares.

Para determinar a influência das frações de baixo peso molecular do veneno da *Bothrops jararaca* foi realizado um ensaio de formação de biofilme em placa de microtitulação com a amostra de *EAECC* 042 (O:44:H18). A placa depois de corada com cristal violeta, foi lida sua absorbância no leitor de Elisa com o filtro de 595nm.

A medida em que aumenta as concentrações de veneno pode-se observar uma coloração levemente mais forte, o que indicar maior formação de biofilme.

Esse resultado foi corroborado pelos valores obtidos na leitura da absorbância da placa.

A partir desses valores foram calculados suas médias e desvio padrão. O resultado foi analisado estatisticamente pelo método anova, com o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

Houve resultados significativos nos dados obtidos entre (042vs042+0,05), (042vs042+0,2), (042vs042+0,3), (042vs042+0,4) e 042vs042+0,5).

Projeto: Caracterização do perfil coagulotóxico de venenos de serpentes *Crotalus durissus terrificus* e *Crotalus durissus collilineatus*

Aluno: Luccas Daniel Padueli

Orientadora: Dra. Karen de Moraes Zani

Instituto Butantan - Laboratório de Herpetologia

Na realização deste projeto, foram observadas quantidades semelhantes de mg de proteína/mg de veneno liofilizado em ambas subespécies sem diferenças significativas entre machos e fêmeas. Nos géis de SDS-PAGE, foram observadas bandas de aproximadamente 125 kDa, 60 kDa, 30 kDa, 14 kDa e 10 kDa que são associadas respectivamente à lectinas *C-types*, metaloproteinases tipo III e L-aminoácidos oxidases (LAAO), serinoproteases, fosfolipases A<sub>2</sub> e crotamina, sendo esta última presente em maior quantidades em machos do que em fêmeas. Também foi observada a presença de uma banda a aproximadamente 15 kDa nas serpentes 4, 9 e 11 que, no resultado de atividade fosfolipásica, demonstraram maiores atividades. Nos teste de atividades proteolítica sobre o colágeno II, foram obtidos resultados inesperados, pois este gênero não apresenta altas concentrações de SVMPs em seu veneno enquanto que os resultados obtidos demonstraram atividades próximas senão maiores do que serpentes do gênero *Bothrops*, que apresentam altas concentrações de SVMPs. É importante notar que as serpentes Cdc 1 a 4 apresentaram resultados opostos: ausência de atividade. Na análise da atividade proteolítica sobre a caseína foram observadas grandes variações entre os espécimes, em especial com relação ao sexo: todas as serpentes machos da subespécie Cdc apresentaram alta atividade enquanto que a maioria das serpentes fêmeas apresentaram baixa atividade, enquanto o oposto foi observado nas serpentes Cdt.

## **Biologia Reprodutiva de *Ameiva ameiva* (Squamata: Teiidae)**

Renan Augusto Ramalho<sup>1</sup>, Luis Miguel Lobo<sup>1</sup>, Serena Najara Migliore<sup>1</sup>, Selma Maria Almeida-Santos<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Ecologia e Evolução, Instituto Butantan.

**Resumo:** *Ameiva ameiva* é um teiídeo ovíparo, de médio porte. No território brasileiro é amplamente distribuído em áreas da Floresta Amazônica, Cerrado, Caatinga e Mata Atlântica. Estudos direcionados a sua biologia reprodutiva são escassos, principalmente a respeito do ciclo e comportamentos reprodutivos. Este trabalho tem como objetivo estudar a biologia reprodutiva de machos e fêmeas de *Ameiva ameiva*. Foram analisados animais do acervo de coleções científicas e vídeos para a descrição dos comportamentos reprodutivos. Os dados foram agrupados de acordo com a localização e proximidade entre os limites dos biomas. Foram observadas diferenças nas estratégias reprodutivas refletidas na distribuição geográfica da espécie. Essas diferenças foram relacionadas ao ciclo reprodutivo da espécie e ligadas aos comportamentos de corte e cópula. Os resultados indicam que existe dimorfismo sexual, sendo que os machos apresentam tamanhos maiores. Não foi constatada estocagem de espermatozoides em fêmeas até o momento. Os principais comportamentos do macho durante a corte são: circular ao redor da fêmea, passar por cima e esfregar seu corpo contra o dela. A variação nos eventos reprodutivos da espécie conforme sua distribuição geográfica corrobora com indicativos da literatura e contribui para o manejo e conservação dessa espécie.



Histona H2BV: análise de parasitos heminocautes e seu papel na organização nuclear de *Trypanosoma cruzi*.

Bolsista de iniciação científica: Thaina Rodrigues dos Santos

Orientador: Julia Pinheiro Chagas da Cunha

Laboratório de Ciclo Celular

### **Resumo**

Devido a pandemia e a impossibilidade da permanência dos estudantes de IC no instituto, os objetivos desse projeto foram modificados para contemplar análise *in silico*. Nosso grupo de trabalho está interessado em entender aspectos epigenéticos em *T. cruzi*, como as histonas são chaves na organização da cromatina, é importante o estudo sobre essas proteínas e seu papel nos mecanismos regulatórios do parasito. Sendo assim, o presente trabalho tem como objetivo obter uma melhor compreensão sobre a estrutura genômica nos loci de histonas em *T. cruzi*, através de análises *in silico* e verificação de formação de estruturas similares aos HLBs (*Histone locus body*) através de ensaios de FISH. Por meio dos estudos realizados *in silico*, utilizamos as ferramentas IGV, TrytripDB, Clustal Omega, juntamente com os dados dos arquivos FASTA, GFF, BED de histonas. Determinamos o número de genes de histonas em cinco cepas de *T. cruzi* e em dois outros tripanossomátídeos. Observamos que os genes de diferentes histonas estão presentes em cromossomos distintos e organizados tanto em *clusters* como sozinhos. Identificamos possíveis genes da Histona H4 variante nas cepas Dm28c, CL Brener e TCC. Ainda encontramos homólogos de proteínas de HLB em *T. cruzi*. Nossos resultados apontam para uma peculiar organização gênica desses loci que difere dos demais eucariotos sugerindo que deva existir um outro mecanismo de regulação ciclo-celular dependente da expressão desses genes.

## Projeto de manejo da vegetação do parque do Instituto Butantan

Aluna: Maria Fernanda Feitosa

Orientadora: Erika Hingst-Zaher

Laboratório: Laboratório do Museu Biológico

Ao longo dos últimos meses foi feito um levantamento bibliográfico sobre planos de manejo e controle de espécies exóticas, e programas de monitoramento de fauna e flora, ademais, deu-se início ao levantamento e identificação de indivíduos arbóreos determinando a quantidade de espécies com potencial invasor, uma listagem de espécies nativas arbóreas adequadas para o reflorestamento, e a elaboração de planilhas de acordo com os inventários de quirópteros, aves e lepidópteros, realizados nos últimos 4 anos na área do Horto Oswaldo Cruz (HOC). O levantamento arbóreo realizado até o momento registrou 2330 indivíduos com diâmetro acima do peito (DAP) > 5 cm, pertencentes a 17 famílias, sendo as espécies mais representadas: *Archontophoenix cunninghamiana*, *Matayba elaeagnoides*, *Caesalpinia leiostachya* e *Allophylus edulis*. De acordo com o inventário de quirópteros realizado, foram registradas 10 espécies sendo pertencentes a 2 famílias e 5 subfamílias. A família Phyllostomidae foi a que apresentou mais indivíduos sendo destacada pela sua alimentação versátil podendo consumir frutos, néctar, pólen, folhas, insetos e vertebrados. As aves foram representadas por 47 espécies e 19 famílias, sendo que insetívoros, frugívoros e onívoros foram os mais representativos compondo mais de 50% do total. Os lepidópteros são composta por 87 espécies e distribuídas em 6 famílias e 18 subfamílias. Por pertencerem a grupos distintos, apresentam uma grande variedade de hábitos alimentares, sendo importante que haja recursos como néctar de flores, para borboletas nectarívoras e líquidos fermentados, para frugívoras.

## **“Levantamento das espécies de lepidópteros de ocorrência no município de São Paulo e contextualização da fauna de borboletas do parque do Instituto Butantan”**

Aluna: Amanda Pereira Duarte e Silva

Orientadora: Dra. Erika Hingst-Zaher

Laboratório do Museu Biológico

Os lepidópteros são considerados excelentes indicadores em levantamentos, determinação de prioridades, planejamento e administração de reservas naturais por atuarem nos ecossistemas desempenhando funções de desfolhadores, decompositores, presas ou polinizadores, e também pelo seu rápido ciclo de vida, sensibilidade e rápidas respostas a alterações ambientais, fácil amostragem e por serem comuns o ano inteiro. Apesar do importante papel das borboletas como bioindicadores, existe uma escassez no Brasil, de pesquisas básicas, a respeito desses insetos. Por isso, o envolvimento das pessoas na chamada “ciência colaborativa” é de enorme ajuda a projetos de pesquisa voltados à biodiversidade, pois a coleta de dados não depende somente de profissionais.

Tendo em vista a importância dos inventários de fauna para pesquisas de monitoramento e conservação, este trabalho tem como objetivo inventariar as espécies de borboletas que podem ser encontradas no município de São Paulo, através de levantamento bibliográfico, contextualizando com a lepidopterofauna do Parque do Instituto Butantan, comparando os resultados com levantamentos realizados no sudeste do Brasil, e verificando como diferentes métodos de coleta de dados amostram diferentes espécies e categorias de borboletas.

Até o momento foram feitas buscas em 8 plataformas (Google, Google Acadêmico, Scielo, Esa, Redalyc, ResearchGate, GBIF e iNaturalist) e encontradas 3 listas de espécies. Juntamente com o inventário de borboletas ainda não publicado do Parque do Instituto Butantan, encontramos 646 espécies das quais 40,9% das espécies foram compartilhadas pelos dois tipos de fontes, 34,5% foram exclusivas de fontes acadêmicas e 24,6% exclusivas de ciência cidadã.

Projeto PIBIC: O PAPEL PRÓ-APOPTÓTICO DA FORMULAÇÃO LIPOSSOMAL  
CONTENDO 2-AEH2F EM CÉLULAS DE CÂNCER DE MAMA TRIPLO  
NEGATIVO – 4T1

Aluno: Alvaro Jorge Laiso Machado

Orientador: Prof. Dr. Durvanei Augusto Maria

Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Industrial

Divisão de Desenvolvimento e Inovação

**Resumo:**

Fosfolipídios antineoplásicos são uma nova classe de agentes antitumorais. Essas moléculas interagir com a membrana plasmática, mudando várias vias que induzem morte, com alta seletividade para células cancerosas. Um representante desta classe de os agentes antineoplásicos são di-hidrogenofosfato de 2-aminoetil (2-AEH2F). É um composto presente em altas concentrações intracelulares em vários tecidos e organelas com antitumorais, ação antiproliferativa e pró-apoptótica. Portanto, células tumorais triplo-negativas 4T1 foram tratados em diferentes concentrações a fim de avaliar o potencial citotóxico e sua efeitos sobre a modulação das vias de morte celular em associação com o droga quimioterápica Paclitaxel. 2-AEH2F promoveu citotoxicidade em células tumorais e mudanças morfológicas significativas, no entanto, não causou esses efeitos em normais células. Além disso, mudanças estruturais e de distribuição nas mitocôndrias, bem como diminuição da densidade celular e regressão do citoesqueleto.

## **Avaliação ex vivo da eficácia inibitória de peptídeos sobre a ação de enzimas trombina símile**

Discente: Amarylis Lins Torres

Orientadora: Sonia Aparecida de Andrade Chudzinski

Laboratório: Laboratório Especial de Dor e Sinalização Celular

O envenenamento por *Bothrops jararaca* promove mudanças na função plaquetária e trombocitopenia, que estão correlacionadas à hemorragia e severidade do quadro clínico dos pacientes. O tratamento do envenenamento consiste na administração do antiveneno botrópico poliespecífico, eficiente na neutralização das metaloproteinases, porém pouco eficaz na neutralização de serinoproteinases, como as enzimas trombina símile. As serinoproteinases são corresponsáveis por diversas alterações na hemostasia, como a formação de uma rede de fibrina instável e de agregados de plaquetas. Visando a melhoria do antiveneno, foram desenvolvidos dois peptídeos inibidores seletivos de serinoproteinases trombinas símile, o PPTyr e o PPAArg, que tiveram bons resultados preliminares em reduzirem a atividade hemorrágica local do veneno. Neste contexto, o presente projeto avaliou a eficácia inibitória dos peptídeos PPAArg e PPTyr na agregação de plaquetas humanas induzida pelo veneno de *B. jararaca*. Além disso, foi analisado se PPAArg e PPTyr alteram o padrão de agregação plaquetária em presença de agonistas endógenos, como a trombina e o colágeno. Nesse sentido, foi observado que PPTyr e PPAArg não alteram a agregação plaquetária induzida pelo veneno de *B. jararaca* ou pelos agonistas endógenos analisados.

Projeto: Potencial zoonótico de Hantavírus de quirópteros e ectoparasitas no Parque do Instituto Butantan e outras áreas urbanas e periurbanas.

Aluno: Gabriel Lins Leitão

Orientadora: Dra. Erika Hingst-Zaher

Laboratório: Laboratório do Museu Biológico

Durante o período de Iniciação Científica foi possível realizar-se duas viagens de coleta para o Sítio Piraquara, São Lourenço da Serra (SP), onde ocorreu a captura de 78 quirópteros, classificados em 13 espécies (4 *Anoura caudifer*, 5 *Artibeus fimbriatus*, 3 *Artibeus lituratus*, 16 *Carollia perspicillata*, 5 *Desmodus rotundus*, 1 *Diphylla ecaudata*, 1 *Glossophaga soricina*, 1 *Mimon bennettii*, 26 *Sturnira lilium*, 3 *Sturnira tildae*, 1 *Eptesicus brasiliensis*, 11 *Myotis nigricans* e 1 *Myotis ruber*), e 44 amostras de ectoparasitas de morcegos.

Analisou-se 96 amostras de morcegos capturados no Parque do Instituto Butantan, pertencentes a 47 morcegos por PCR SYBR Green<sup>®</sup>, sendo que duas amostras foram suspeitas para hantavírus e verificadas em eletroforese como negativas. Posteriormente, analisou-se 36 amostras de ectoparasitas dos quirópteros da mesma localidade por PCR convencional e eletroforese, sendo que todas as amostras demonstraram-se negativas no gel de eletroforese. Não tendo sido ainda detectado nenhum hantavírus nos morcegos e ectoparasitas coletados e analisados. Entretanto, poucas amostras foram analisadas até o momento.

Daniel Carvalho de Souza  
Orientadora: Prof.a Dra. Anita Mitico Tanaka-Azevedo  
Laboratório de Herpetologia – Instituto Butantan

### **3º Encontro dos alunos dos Programas PIBIC e PIBITI**

#### **Resumo: Estudo comparativo dos venenos de neonatos de serpentes dos gêneros *Bothrops* e *Crotalus* do plantel do Instituto Butantan**

O gênero *Bothrops* é responsável por cerca de 90% dos acidentes ofídicos no Brasil, apresentando em seu veneno fosfolipases-A2 (PLA2), metaloproteases (SVMP) e serinoproteases (SVSP) que, combinadas, são responsáveis pelos efeitos miotóxicos, hemorrágicos e distúrbios coagulantes do envenenamento. Acidentes ofídicos com *Crotalus durissus*, por sua vez possuem alta mortalidade devido ao efeito miotóxico e neurotóxico de PLA2 abundante em seu veneno.

A variação ontogenética pode ser um agravante no tratamento do acidente ofídico. Um estudo do Hospital Vital Brasil demonstrou que a maior parte dos acidentes ofídicos em São Paulo são causados por serpentes fêmeas e juvenis. Além disso, a OMS recomenda a inclusão de veneno de indivíduos de diferentes idades na produção de soros antiofídicos. Dessa forma, este estudo tem como objetivo analisar o veneno de neonatos de *B. jararaca*, *B. leucurus*, *B. moojeni*, *B. alternatus* e *C. d. terrificus* em cativeiro no Laboratório de Herpetologia do Instituto Butantan.

Os resultados parciais demonstraram que variações interespecíficas observadas na atividade enzimática de venenos de indivíduos adultos também estão presentes em neonatos da mesma espécie. Além disso, o dimorfismo sexual pode ser observado no perfil eletroforético e na atividade enzimática dos componentes do veneno dessas serpentes nos primeiros meses de vida. Também foi observado que as variações individuais dos neonatos são mais acentuadas em proteínas minoritárias dessas espécies, enquanto que os principais componentes do veneno apresentam maior conservação.

As informações obtidas serão complementadas por testes de imunorreconhecimento dessas serpentes pelo soro antibotrópico e anticrotálico comercial, além de novos experimentos para maior caracterização do veneno dos neonatos analisados.

**Decifrando a dinâmica de replicação de DNA em *Trypanosoma cruzi* através de modelagem computacional.** Aluna: Ligia Corunha Palma. Orientador: Marcelo da Silva Reis. Center Of Toxins, Immune-response and Cell Signaling (CeTICS) Laboratório de Ciclo Celular, Instituto Butantan

Tripanossomatídeos são protozoários endoparasitas cujos genes estão organizados em policistrons e têm transcrição constitutiva ao longo de todo ciclo celular. Esses fatos sugerem que conflitos entre as maquinarias de replicação de DNA e de transcrição levam a um aumento do disparo de origens de replicação na fase S do ciclo celular. Para investigar essa hipótese, desenvolvemos um modelo de replicação de DNA para *Trypanosoma brucei* que foi calibrado com dados de MFA-seq e utilizado para prever que um aumento dos níveis de transcrição constitutiva de fato leva a um aumento do número de origens disparadas. Recentemente, foi concluído o mapeamento das origens de *T. cruzi* através de ensaios de MFA-seq, que revelou que diversas origens estão localizadas em regiões codificadoras de DGF-1, uma família de genes que é relevante para o ciclo de vida do parasita. Uma vez que genes DFG-1 têm uma grande variabilidade genética, uma possibilidade é que a mesma seja uma consequência de conflitos entre as maquinarias de replicação de DNA e de transcrição, o que implicaria que a distribuição de origens de replicação em *T. cruzi* é condicionada pela organização genômica do parasita. O objetivo geral desta proposta é o uso de modelagem computacional para investigar a dinâmica de replicação de DNA de *T. cruzi*, o agente etiológico da doença de Chagas. Para este fim, adaptariamos para *T. cruzi* o modelo dinâmico desenvolvido originalmente para *T. brucei*. Como metas específicas, melhorariamos o desempenho do simulador desse modelo dinâmico, que é codificado em C++, o que por sua vez nos permitiria testar a hipótese de que a organização genômica do parasita combinada com conflitos entre as maquinarias de replicação de DNA e de transcrição são importantes tanto para a programação da replicação de DNA em *T. cruzi* quanto para a variabilidade genética verificada nos genes da família DFG-1.



## RESUMO

**Ricardo Feitosa da Silva**

A alimentação de carrapatos em um ambiente de laboratório é uma técnica que tem ganhado grande interesse na atualidade, pelo fato de muitos carrapatos serem vetores biológicos de doenças e causa direta de perdas na pecuária, sendo também de grande importância para a saúde pública em vários países. O presente trabalho se debruça sobre a técnica de alimentação artificial realizada com a espécie *Ornithodoros brasiliensis* dentro de uma rotina laboratorial, no período de Iniciação Científica no Laboratório de Parasitologia durante o qual analisamos as glândulas salivares de fêmeas da mesma espécie antes e após protocolo de alimentação artificial e em hospedeiro vivi (coelho) com a pretensão de identificar as possíveis alterações de perfil proteico através de processos cromatográficos, análises eletroforéticas e de espectrometria de massas e análise por ativação Neutrônica, de modo a validar a metodologia de alimentação artificial.

### **Laboratório de Desenvolvimento de Processos**

Título: Estabelecimento do processo de produção de L-Asparaginase

Orientadora: Dr<sup>a</sup> Mickie Takagi

Aluna: Thaylana Santiago Pereira

A leucemia linfóide aguda (LLA) é a neoplasia maligna mais frequente na infância, proveniente da proliferação de células linfóides imaturas que se acumulam na medula óssea e substituem a população saudável. O tratamento consiste na combinação de diversos agentes quimioterápicos capazes de induzir a remissão das células comprometidas e restaurar a hematopoiese saudável, dentre eles, destaca-se a L-asparaginase (ASNase). Essa enzima atua catalisando a conversão de asparagina, privando as células deste aminoácido essencial e levando-as à morte. A ASNase recombinante produzida por *E. coli* BL21 (DE3) é sintetizada no citoplasma e destinada ao espaço periplasmático, onde são maturadas. Deste modo, a recuperação envolve a extração periplasmática que pode ser realizada por algumas metodologias capazes de desestabilizar e/ou romper a membrana externa. No entanto, as metodologias tradicionais rompem as células liberando todo o conteúdo celular, o que é desvantajoso industrialmente. Sendo assim, a proposta deste projeto é contribuir com o desenvolvimento do processo de produção da enzima e este trabalho, teve como objetivo avaliar o efeito da glicina, Triton X-100 e sacarose na extração e liberação seletiva de ASNase. A concentração dos agentes sensibilizantes testados variou de 0,2 a 2%, e também foi avaliado o efeito sinérgico a partir da combinação dos mesmos. A produção e liberação periplasmática máxima foi observada na condição utilizando 0,2% de Triton X-100, comparado ao controle e as outras condições avaliadas. O Triton X-100 é capaz de formar poros na membrana externa, o que ocasiona na translocação da ASNase e essa abordagem pode ser muito valiosa na extração e recuperação seletiva de enzimas.

**Título:** “Avaliação dos sistemas de anticoagulação em pacientes infectados pelo SARS-CoV-2.”

**Aluno:** Matteo Celano Ebram

**Orientadora:** Dra Sonia Aparecida de Andrade Chudzinski

**Laboratório de Dor e Sinalização**

**Resumo:** Um novo coronavírus, posteriormente denominado SARS-CoV-2, emergiu em dezembro de 2019 na China como um agente causador de pneumonia. Em março de 2020, a entidade clínica determinada pelo SARS-CoV-2, chamada de COVID-19, foi considerada pandemia pela Organização Mundial de Saúde. Sabe-se que além dos sintomas respiratórios, há desequilíbrio no sistema hemostático em diversos pacientes infectados por esse vírus, ao passo que estudos já demonstraram alterações laboratoriais como elevação de dímero-D, fator de von Willebrand, elevação de fibrinogênio e de fator VIII. Para melhor compreender esses processos, um estudo coordenado pela Dra. Sonia A. de Andrade Chudzinski foi desenhado para dosar diversos parâmetros hemostáticos e bioquímicos em 120 pacientes da rede municipal de Taubaté. O presente estudo objetiva, desse modo, dosar os níveis séricos das proteínas C e S nesses pacientes, além de comparar os níveis dessas proteínas entre grupos compostos por pacientes em diferentes gravidades da doença, e em relação a um controle negativo.

Ação farmacológica no sistema nervoso central de neurotoxinas do veneno do escorpião  
*T. bahiensis*

Aluna: Vanessa Florentino Ferreira

Orientadora: Ana Leonor Abrahão Nencioni

Laboratório: Farmacologia

Os escorpiões são um dos principais responsáveis por acidentes com animais peçonhentos no Brasil, e a espécie *T. bahiensis* é uma das mais relevantes. Seu veneno possui neurotoxinas que alteram o funcionamento dos tecidos, atuando nos canais iônicos de sódio, potássio e cloreto. O objetivo do trabalho é avaliar os efeitos farmacológicos sobre o sistema nervoso central de duas toxinas isoladas e identificadas bioquimicamente a partir do veneno do *T. bahiensis*. No experimento são utilizados ratos; machos; Wistar; de aproximadamente 250 gramas. É realizada uma cirurgia estereotáxica, na qual com o animal anestesiado, são implantados uma cânula e um eletrodo no hipocampo. Três a cinco dias após a cirurgia os animais foram submetidos à injeção intrahipocampal e observação eletrográfica e comportamental por um período de 4 horas. O grupo controle, injetado com 1,0 µL de solução salina, não apresentou nenhuma alteração comportamental e nos registros. No grupo experimental recebeu a injeção de 2,0µL da toxina que supostamente atua em canal de potássio, verificou-se que houve alteração na atividade elétrica cerebral, mas não houve alteração comportamental. Após uma semana dos registros eletrográficos, foi feita a perfusão e retirada do encéfalo do grupo controle e do grupo que recebeu a injeção da toxina. A próxima etapa do projeto será a parte de histologia, na qual é feita a contagem de neurônios íntegros das áreas hipocampais CA1, CA3 e CA4 ipsi e contralateral a injeção intracerebral para avaliar lesão neuronal em decorrência da injeção da toxina.