

22^o Encontro de Iniciação Científica da UENF14^o Circuito de Iniciação Científica do IFFluminense10^a Jornada de Iniciação Científica da UFF

IX

Congresso Fluminense de Iniciação Científica e Tecnológica

II

Congresso Fluminense de Pós-Graduação

17^a Mostra de Pós-Graduação da UENF2^a Mostra de Pós-Graduação do IFFluminense2^a Mostra de Pós-Graduação da UFF

Ciência, tecnologia e inovação no Brasil: desafios e transformações

Calcineurina regula o conteúdo de polifosfatos em levedura

Bárbara Pessanha Poggian, Lev A. Okorokov

Os polifosfatos inorgânicos (PolyP) estão presentes em bactérias, fungos, plantas e células humanas. PolyP participam em preservação da energia, homeostase iônica, formação de canais de cátions, regulação da expressão gênica, em coagulação sanguínea, proliferação e diferenciação celular de osteoclastos e neurônios. Pouco é conhecido sobre a regulação de sua síntese a partir de ATP. Recentemente demonstramos que a ativação de H⁺-ATPases de membrana plasmática e vacuolar de levedura, V-H⁺-ATPase pela glicose extracelular, necessita a atividade de uma proteína fosfatase calcineurina (CaN). Sabendo, que a V-H⁺-ATPase participa em síntese de polyP, formulamos o primeiro alvo de trabalho: comparar o conteúdo de PolyP em levedura selvagem e mutante *cnb1* deficiente da calcineurina. Os PolyP ácido-solúveis foram extraídos a 0-4°C pelo 1N HClO₄ e hidrolisados a 100°C. A diferença de conteúdo de ortofosfato determinado depois e antes da hidrólise de PolyP corresponde de conteúdo destes polímeros. Os PolyP insolúveis de alto peso molecular foram determinados em restante de células como resultado de sua hidrólise (100°C, 0,5N HClO₄) depois de extração pelo ácido frio através de conteúdo de ortofosfato. Detectamos que o conteúdo de PolyP foi significativamente menor em células mutante *cnb1* em comparação com células selvagens. A diminuição foi no mínimo 50% para PolyP solúveis de vacúolos, e aproximadamente 60% para PolyP insolúveis. O conteúdo de ortofosfato também foi diminuído no mínimo 60%. Os resultados mostram que CaN é extremamente importante para biossíntese de PolyP, e revelam que decréscimo do transporte de ortofosfato através da membrana plasmática é regulado pela CaN. Sabendo que CaN é importante para resistência de fungos aos metais pesados, formulamos o segundo alvo de trabalho: verificar se esta resistência ocorre devido a capacidade celular de sintetizar mais PolyP. Mostramos que o crescimento de mutante *cnb1* foi inibido por 3 mM Mn²⁺. Em outro ensaio 3 mM Mn²⁺ foi adicionado com 100 mM glicose. Observamos que nestas condições o mutante deficiente de CaN também apresentou a diminuição de conteúdo de ortofosfato, de PolyP solúveis e PolyP insolúveis.

Palavras-chave: Morfogênese, *Yarrowia lipolytica*, Transporte de prótons.

Instituição de fomento: Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).