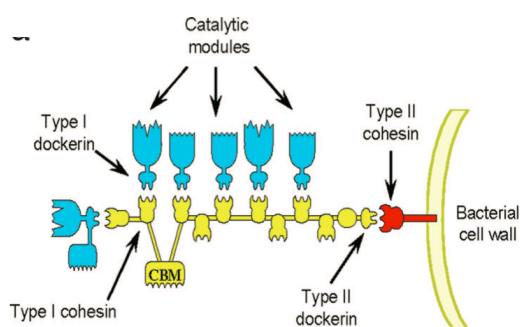


Proposta de Mestrado

Visão estrutural da formação de uma máquina molecular: o Celulossoma

Área Científica: Ciências Biológicas

Objectivos: A celulose é uma fonte renovável de energia, da qual é possível produzir-se etanol e outros produtos de valor económico. Poucos organismos são capazes de degradar a celulose, mas alguns microorganismos anaeróbios como o *Clostridium thermocellum* são capazes de o fazer através da síntese do celulossoma. Os celulossomas são nano-máquinas complexas que degradam eficientemente os polissacáridos da parede celular. A formação do celulossoma resulta da interação da doquerina tipo I presente nas sub-unidades catalíticas e os nove domínios coesina presentes na sub-unidade não-catalítica integrativa do celulossoma (CipA) que funciona como um "andaime" molecular. Os nove domínios coesina do CipA apresentam diferenças significativas ao nível da sua estrutura primária, especialmente a primeira, segunda e nona coesina (presentes nas extremidades do CipA), comparativamente às proteínas do interior da molécula. Por electroforese em gel de acrilamida não-desnaturante, foi



possível verificar diferenças de especificidade das doquerinas em relação às várias coesinas do CipA. As diferenças na especificidade poderão ser responsáveis pela alta eficiência catalítica do celulossoma, conferindo-lhe flexibilidade ao nível da estrutura quaternária. Neste projecto, o nosso principal objectivo prende-se com a obtenção, por cristalografia de raios-X, de evidências estruturais para as diferenças observadas. O trabalho

encontra-se no âmbito dos projectos financiados em curso: PTDC/QUI-BIQ/100359/2008, EXPL/BBB-BEP/0506/2012 e RECI/BBB-BEP/0124/2012, sob responsabilidade dos supervisores desta proposta.

Metodologias:

1. Co-clonagem, expressão e purificação de pares coesina-doquerina seleccionados.
2. Co-cristalização dos complexos coesina-doquerina.
3. Recolha de dados de difracção de raios-X.
4. Análise computacional dos dados e resolução das estruturas tridimensionais.
5. Análise das interações proteína-proteína dos pares coesina-doquerina.

Contactos:

Supervisora: Doutora Ana Luísa Carvalho (almc@fct.unl.pt)

Co-Supervisora: Doutora Benedita Andrade Pinheiro (b.pinheiro@fct.unl.pt)

Localização: Laboratório de Cristalografia de Proteínas, Dep. de Química da FCT-UNL (<http://xtal.dq.fct.unl.pt>).