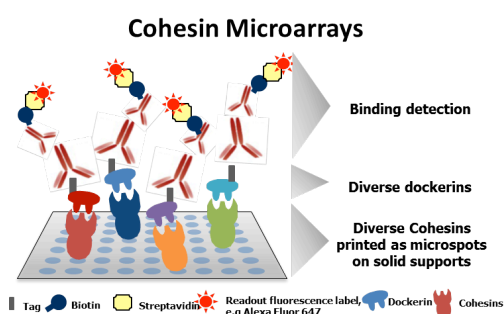


Proposta de Mestrado

Microarrays de coesina: revelando a formação do celulosoma à escala proteómica

Área Científica: Ciências Biológicas

Objectivos: A celulose é uma fonte renovável de energia, de onde é possível produzir etanol e outros produtos de valor económico. Os organismos celulolíticos são dos poucos organismos capazes de degradar a celulose, um substrato recalcitrante e de difícil degradação. Estes microorganismos contêm um complexo multi-enzimático muito elaborado de Enzimas Activas em Hidratos de Carbono (CAZYmes) para a degradação eficiente de polissacáridos da parede celular vegetal, designado como celulosoma. A formação do celulosoma requer que a doquerina não-catalítica, presente nas enzimas celulosomais, se ligue a um dos vários domínios coesina de um “andaime” molecular designado de *scaffoldin*. Pensa-se que a eficiência deste sistema catalítico provém da sinergia resultante da proximidade das enzimas e da flexibilidade característica do complexo coesina-doquerina (Fontes & Gilbert, *Annual review of biochemistry*, 79, 655-81, 2010). A sequenciação de genomas bacterianos revelou a presença de celulosomas previamente desconhecidos em vários microorganismos celulolíticos e, como resultado, levou à descoberta



um grande número de proteínas contendo coesinas e doquerinas. Neste projecto, o objectivo é desenvolver um novo *microarray* de proteínas de modo a rastrear, num modo *high-throughput*, interações proteína-proteína entre novos pares coesina-doquerina. Este trabalho desenvolve-se no âmbito dos projectos em curso: PTDC/QUI-QUI/112537/2009, EXPL/BBB-BEP/0506/2012 e RECI/BBB-BEP/0124/2012, da responsabilidade dos supervisores desta proposta.

Metodologias:

1. Clonagem, expressão e purificação de coesinas e doquerinas recombinantes usando técnicas *high-throughput* estabelecidas.
2. Impressão dos módulos coesina nos *slides* utilizando um *robot* de impressão.
3. Rastreio *high-throughput* de doquerinas no *microarray* de coesinas utilizando anticorpos específicos e um sistema de detecção de fluorescência.
4. Avaliação da capacidade de deslocação de coesinas específicas, através de ensaios realizados directamente nos slides.

Contactos:

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

Co-Supervisora: Doutora Maria Angelina Sá Palma (angelina.palma@fct.unl.pt)

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