

**XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica**

28º
Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20º
Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16ª
Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



**U III Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação**

23ª
Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8ª
Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8ª
Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Relação das vias calcineurina e TORC dependentes em levedura de fissão: integração das vias de sinalização e transporte de cálcio e prótons

Mayara Cristina de Freitas Correia, Daphne Alves Dias, Manuela Izabel Paes Pinto, Sílvia Aparecida Ribeiro dos Santos, Antonio Jesus Dorighetto Cogo, Anna Okorokova-Façanha

A calcineurina é uma proteína fosfatase ativada por Ca^{2+} /calmodulina, que se tornou o foco de pesquisas devido seu papel regulador e sinalizador em diversos processos celulares e por ser alvo de alguns fármacos imunossupressores. Em células fúngicas e vegetais, vacúolo é essencial para sinalização de Ca^{2+} e para controle de pH celular devido a presença de $V-H^+$ -ATPase e transportadores de Ca^{2+} . O presente estudo tem como objetivo aprofundar os mecanismos responsáveis pelo controle da proliferação celular relacionadas com a sinalização por fluxos iônicos usando como modelo a levedura de fissão *Schizosaccharomyces pombe*. Especificamente analisamos cepas selvagens e mutantes de *S.pombe* (deleção do gene *ppb1+* que codifica para a subunidade catalítica de calcineurina) comparando as atividades de sistemas primários de transporte de prótons de membrana plasmática, endomembranas e vacuolar, efeitos na morfologia e no crescimento. Para avaliar a participação da $V-H^+$ -ATPase e TORC1 foram usados os inibidores específicos concanamina A (22 μ M) e rapamicina (50nM), respectivamente. As membranas celulares foram isoladas para determinação do transporte de H^+ ATP-dependente. A sensibilidade a rapamicina foi maior em *ppb1*, evidenciando o papel protetor da calcineurina, e sugerindo que a sinalização TORC1 é dependente de cálcio. Observamos também as mudanças na morfologia celular pela rapamicina, indicando que TORC1 regula microtúbulos. A atividade de V -ATPase determinada em membranas isoladas de células cultivadas com rapamicina foi 2 a 3 vezes menor, quando comparada com células não tratadas, indicando que TORC1 modula atividade de $V-H^+$ -ATPases e contribui para processos mediados por vacúolo como controle de pH celular e sinalização de Ca^{2+} . A disfunção de TORC1 foi relatada em diversas doenças incluindo câncer. Assim, esperamos que a caracterização das mudanças no padrão de crescimento e morfologia celular associadas com efeitos sobre as H^+ -ATPases e Ca^{2+} -ATPases possibilita maior compreensão de mecanismos moleculares que integram os sistemas de controle do pH e de assinaturas iônicas e redox de fenômenos fisiopatológicos proliferativos.

*Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia- PGBB
Eixo temático: PPG biociência e biotecnologia Uenf
Faperj*

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:



XU Congresso
Fluminense
de Iniciação
Científica e Tecnológica

28^o

Encontro de
Iniciação
Científica
da UENF

20^o

Circuito de
Iniciação
Científica do
IFFluminense

16^a

Jornada de
Iniciação
Científica
da UFF



UIII Congresso
Fluminense de
Pós-Graduação

23^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UENF

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
do IFFluminense

8^a

Mostra de
Pós-Graduação
da UFF

Relationship of Calcineurin and TORC Pathways in Fission Yeast: Integration of Calcium and Proton Transport and Signaling

Mayara Cristina de Freitas Correia, Daphne Alves Dias, Manuela Izabel Paes Pinto, Sílvia Aparecida Ribeiro dos Santos, Antonio Jesus Dorighetto Cogo, Anna Okorokova-Façanha

Calcineurin is a Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein phosphatase, which has become the focus of research due to its regulatory and signaling role in several cellular processes, and as target of some immunosuppressive drugs. In fungal and plant cells, vacuole is essential for Ca^{2+} signaling and for cell pH control due to the presence of V- H^+ -ATPase and Ca^{2+} transporters. The present study aims to gain deeper understanding of mechanisms underlying the control of cell proliferation associated with ion flux mediated signaling, using the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe* as a model organism. Specifically, we analyzed wild-type and mutant strains of *S. pombe* (deletion of the *ppb1+* gene encoding for the calcineurin catalytic subunit) comparing the activities of plasma membrane, endomembrane and vacuolar proton pumps, cell growth and morphology. To evaluate the participation of V- H^+ -ATPase and TORC1, the specific inhibitors concanamycin A (22 μ M) and rapamycin (50 nM), respectively, were used. Cell membranes have been isolated for the determination of ATP-dependent H^+ transport. Sensitivity to rapamycin was higher in *ppb1*, revealing the protective role of calcineurin, and suggesting that TORC1 signaling is calcium dependent. We also observed changes in cell morphology induced by rapamycin, indicating that TORC1 regulates microtubule dynamics. The V-ATPase activity determined in membranes isolated from cells grown with rapamycin was 2 to 3 times lower, when detected in untreated cells, indicating that TORC1 modulates the activity of V- H^+ -ATPases and contributes to the vacuole-mediated processes such as cellular pH homeostasis and Ca^{2+} signaling. TORC1 dysfunction has been reported in a variety of diseases including cancer. Therefore, we expect that the characterization of changes in the cell growth pattern and morphology associated with effects on H^+ -ATPases and Ca^{2+} -ATPases should provide better understanding of molecular mechanisms that integrate control systems of pH, ion and redox signatures underlying pathophysiology of proliferative phenomena.

ORGANIZAÇÃO E REALIZAÇÃO:



APOIO:

